UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE



DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS A PLANTAS SILVESTRES EN UN BOSQUE DE SABINO EN TLAXCALA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

PRESENTA:

SANDRA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

REALIZADA BAJO LA DIRECCIÓN DE

DR. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ Y PÉREZ DR. SANTOS CARBALLAR HERNÁNDEZ

TUTORES

DR. HÉCTOR SANTOS LUNA ZENDEJAS DR. CUAUHTÉMOC MORALES CRUZ





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Código:

Publicación:

9001:2015

oian.

Diciembre 2020

505-RGE-04

C. SANDRA HERNÁNDEZ PÉREZ

PRESENTE

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de evaluación de examen de grado ha revisado el trabajo de investigación titulado: "Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados a plantas silvestres en un bosque de sabino en Tlaxcala", realizado bajo la dirección de los Dr. José Luis Martínez y Pérez y el Dr. Santos Carballar Hernández. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

Dra. Elizabeth García Gallegos

Dr. Santos Carballar Hernández

M.C. Gema Lilia Galindo Flores

Dr. Cuauhtémoc Morales Cruz

Dr. Héctor Santos Luna Zendejas

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A Ixtacuixtla, Tlax., 2 Turbi Carballer

A JUSTICIA SOCIAL"

CENTRO DE INVESTIGACIÓN

DR. HÉCTOR SANGENESICALMANDEMIDEJAS
COORDINADOR GENERASSTRIAESCRENCIASPOSGRADO
EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

c.c.p. Expediente



Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

Agradeciminetos

AGRADECIMIENTOS PROFESIONALES

Doy gracias al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca otorgada 1153537 durante los dos años de duración de la maestría.

Gracias a la Universidad Autónoma de Tlaxcala y al Centro de Investigación en Genética y Ambiente por permitirme estudiar mi posgrado con ustedes.

Asi mismo, agradezco profundamente a mi comité tutoral integrado por los doctores José Luis Martínez y Pérez, Santos Carballar Hernández, Héctor Santos Luna Zendejas y Cuauhtémoc Morales Cruz, por su valioso apoyo y guía durante todo el proceso de mi investigación, así como su dedicación, conocimiento y paciencia en el proceso de mi aprendizaje para concluir este trabajo. De igual manera, les agradezco profundamente por su amistad y por los valiosos consejos que me han brindado. Su orientación ha sido clave para mi crecimiento, tanto profesional como personal. Su apoyo incondicional ha sido esencial en el desarrollo y conclusión de este trabajo.

Quiero agradecer de nuevo al Doctor Santos Carballar por haberme recibido en múltiples estancias en la Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán, las cuales fueron cruciales para adquirir conocimientos y habilidades para desarrollar el tema de investigación.

También deseo expresar mi agradecimiento a la Doctora Elizabeth García Gallegos por su gran apoyo en los análisis de suelos, que han sido una parte fundamental de esta investigación. Su experiencia y dedicación han sido importantes para el desarrollo de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Estoy profundamente agradecida a mis hijos, Joaquín y Emiliano, por su comprensión y apoyo incondicional durante todo este proceso. Su paciencia y adaptación a las demandas de mis estudios han sido una fuente continua de motivación y fortaleza. Su amor me ha impulsado a esforzarme por ser una mejor mamá y a demostrarles, a través de mi ejemplo, que siempre es posible superar los desafíos, incluso cuando las circunstancias parecen poco favorables.

Deseo expresar mi agradecimiento a mi esposo, Óscar, por su apoyo y amor a lo largo de todo este proceso. Su presencia constante en los momentos difíciles y su compromiso de nunca dejarme sola han sido primordiales para mí. Agradezco sinceramente cómo, a su manera, siempre ha buscado brindarme el apoyo necesario y alentarme a seguir siempre adelante.

Quiero dar un enorme gracias a mis papás, Joaquín y María Roma. Su respaldo total y su cariño han sido clave para que llegue hasta aquí. Quienes siempre han estado ahí para darme ánimo y ayudarme en todo lo que necesité. Este logro también es gracias a ellos.

Índice general

Ą	grade	cimine	etos		II
ĺn	dice	genera	I		IV
ĺn	dice	de figu	ras		VII
ĺn	dice	de tabl	as		VIII
Re	esum	en			IX
ΑI	ostra	ct			ΧI
ı	Intro	oducci	ón		1
	1.1.	Marco	teórico .		. 2
		1.1.1.	Diversid	ad biológica	. 2
		I.1.2.	Micorriz	a	. 3
			1.1.2.1.	Micorriza arbuscular	. 4
			I.1.2.2.	Ciclo de vida de los Hongos Micorrizicos Arbusculares (HMA)	. 4
			I.1.2.3.	Clasificación de HMA	. 5
			I.1.2.4.	Beneficios de los HMA	. 6

			I.1.2.5.	Aporte de fósforo de los HMA a la planta	. 6
			I.1.2.6.	Micorrizas y estrés hídrico	. 7
			1.1.2.7.	Importancia de los HMA para el control de patógenos	. 8
			I.1.2.8.	Hongos micorrízicos arbusculares y sus beneficios en el suelo	. 9
		I.1.3.	Plantas	silvestres	. 10
			I.1.3.1.	Estudios de plantas silvestres y HMA	. 11
		1.1.4.	Bosque	de Juniperus	. 12
	I.2.	Antec	edentes .		. 12
	I.3. Preguntas de investigación			. 14	
	1.4.	Hipóte	esis		. 15
	1.5.	Justifi	cación		. 15
	I.6.	Objeti	vos		. 16
		I.6.1.	General	l	. 16
		1.6.2.	Específic	icos	. 16
II	Mete	odolog	ıía		17
	II.1.	Descr	ipción de	la localidad	. 17
	II.2.	.2. Muestreo			. 18
	II.3.	3. Recolección de raíces y suelo de las especies seleccionadas			. 19
	II.4.	.4. Preparación de la muestra			. 20
	II.5.				. 20
	II.6.				. 22
	II.7.	7. Identificación taxonómica de HMA			. 23
	II.8.	Anális	is de suel	elo	. 24
	II 9	Anális	is ecológi	uicos v estadísticos	24

Ш	Resultados	26				
	III.1. Porcentaje de colonización	26				
	III.2. Número de esporas	28				
	III.3. Diversidad de HMA	30				
	III.4. Caracterización del suelo	38				
IV	Discusión	40				
V	Conclusiones	45				
VI	Referencias	46				
VI	ANEXOS	50				
Anexo 1						
	VI.1 NOM-021-RECNAT-2000: Interpretación de resultados de suelo	50				

Índice de figuras

1.	Ciclo de vida de HMA	5
2.	Distribución de partículas de suelo	10
3.	Ubicación de la zona de muestreo	17
4.	Sitios de muestreo	18
5 .	Plantas silvestres	19
6.	Toma de muestras de raíces	20
7.	Manejo de la muestra	21
8.	Clareo y tinción de raíces	22
9.	Montaje de raíces en porta objetos	22
10.	Estructuras de HMA dentro de las raíces	26
11.	Porcentaje de colonización por especie vegetal	27
13.	Porcentaje de colonización en especies vegetales agrupados por sitios	27
12.	Porcentaje de colonización por sitio	28
14.	Número de esporas en especies vegetales	29
16.	Variación del número de esporas en especies vegetales agrupados por sitio de muestreo	29
15.	Número de esporas por sitio	30
17.	Especies de esporas de HMA	33
18.	Dendrograma	35
19.	Abundancia relativa de especies de HMA	36

Índice de tablas

1.	Ubicación taxonómica de HMA	31
2.	Especies de HMA asociados a plantas silvestres	32
3.	Especies de HMA asociados a tres sitios	37
4.	Medidas de diversidad de HMA en especies vegetales	37
5.	Medidas de diversidad de HMA en tres sitios	38
6.	Características físicas y químicas en suelo rizosférico	39
7.	Características físicas y químicas de suelo rizosférico de los sitios de muestreo	39
8.	Valores para la clasificación del suelo en cuanto a pH	50
9.	Interpretación de resultados de Fósforo de Bray y Kurtz	50
10.	Interpretación de resultados de Materia Orgánica	50

Resumen

En el estado Mexicano de Tlaxcala, se han registrado alrededor de 456 especies de plantas silvestres que se distribuyen en diferentes tipos de ecosistemas. Entre estos ecosistemas, destacan los bosques de coníferas que incluyen el bosque de *Juniperus deppeana*; los cuales se encuentran en áreas reducidas y afectadas por actividades humanas y fenómenos naturales, lo que genera que las condiciones del suelo sean poco favorables para el desarrollo, crecimiento y reproducción de las plantas silvestres. A pesar de estas adversidades, las plantas silvestres logran sobrevivir y adaptarse a estos ambientes. Un factor crucial para esta adaptación es la asociación simbiótica con Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), que facilita la absorción de nutrientes y mejora la resistencia de las plantas ante el estrés ambiental.

En la localidad de Santa María Ixcotla, Tlaxcala, se realizó un estudio con cinco especies de plantas silvestres: *Brickellia veronicifolia*, *Muhlenbergia rigida*, *Castilleja tenuiflora*, *Stevia salicifolia* y *Loeselia mexicana*. El estudio se llevó a cabo en tres sitios con diferentes tipos de cobertura vegetal para investigar la riqueza y abundancia de hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de estas plantas, así como para determinar el porcentaje de colonización y el número de esporas. Los análisis revelaron la presencia de 28 especies de HMA pertenecientes a 10 géneros y siete familias, destacándose Acaulosporaceae y Glomeraceae como las familias más representativas, con *Funneliformis geosporum* como la especie más abundante. *Loeselia mexicana* mostró la mayor riqueza de especies entre las plantas estudiadas. En términos de colonización micorrízica, esta varió entre un 39 % y un 60 % en las especies analizadas, siendo *Loeselia mexicana* y *Stevia salicifolia* las que presentaron los mayores porcentajes. Asimismo, *Stevia salicifolia* es la especie que presentó mayor cantidad de esporas. Los análisis físicos y químicos del suelo rizosférico de las cinco especies vegetales estudiadas, muestran propiedades

similares como pH neutro, textura franco-arenosa y bajos niveles de fósforo y materia orgánica. Estos resultados resaltan la importancia de los HMA en la capacidad de las plantas silvestres para adaptarse a sus entornos naturales. Además, los resultados sugieren como pequeñas variaciones en las condiciones específicas del suelo podrían jugar un papel en la organización y funcionamiento de estas asociaciones simbióticas.

Abstract

In the mexican state of Tlaxcala, around 456 species of wild plants have been recorded, distributed across different types of ecosystems. Among these ecosystems, the coniferous forests, including the *Juniperus deppeana* forest, stand out; these are found in limited areas and affected by human activities and natural phenomena, resulting in soil conditions that are unfavorable for the development, growth, and reproduction of wild plants. Despite these adversities, wild plants manage to survive and adapt to these environments. A crucial factor for this adaptation is the symbiotic association with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), which facilitates nutrient absorption and enhances the plants' resistance to environmental stress.

In the locality of Santa María Ixcotla, Tlaxcala, a study was conducted with five species of wild plants: *Brickellia veronicifolia*, *Muhlenbergia rigida*, *Castilleja tenuiflora*, *Stevia salicifolia*, and *Loeselia mexicana*. The study was carried out in three sites with different types of vegetation cover to investigate the richness and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of these plants, as well as to determine the percentage of colonization and the number of spores. The analyses revealed the presence of 28 AMF species belonging to 10 genera and seven families, with Acaulosporaceae and Glomeraceae being the most representative families, and *Funneliformis geosporum* being the most abundant species. *Loeselia mexicana* showed the highest species richness among the plants studied. In terms of mycorrhizal colonization, this varied between 39The physical and chemical analyses of the rhizospheric soil of the five plant species studied showed similar properties such as neutral pH, sandy-loam texture, and low levels of phosphorus and organic matter. These results highlight the importance of AMF in the ability of wild plants to adapt to their natural environments. Moreover, the results suggest how small variations in specific soil conditions could play a role in the organization and functioning of these

symbiotic associations.

I Introducción

Las condiciones fisiográficas presentes en México han favorecido la presencia de una amplia diversidad biológica, convirtiéndola en una de las más importantes a nivel mundial, ya que las casi 20 000 especies de plantas con flores conocidas de manera silvestre la ubican en el quinto lugar a nivel mundial (Sarukhán et al., 2017). En el estado de Tlaxcala se conocen cerca de 456 especies de plantas silvestres distribuidas en diferentes tipos de vegetación, entre los que resaltan los bosques de coníferas que incluye al bosque de Juniperus deppeana, los cuales florísticamente han sido poco estudiados. (Castillejos-Cruz y Ramírez-Ramírez, 1992). Este bosque está presente en áreas reducidas y afectadas por actividades antrópicas y fenómenos naturales, donde las condiciones de suelo no son muy favorables para el desarrollo, crecimiento y reproducción de plantas silvestres (Herrerías Mier y Nieto de Pascual Pola, 2020); sin embargo, es importante hacer notar que pese a estas condiciones, las plantas silvestres sobreviven y se adaptan a estos sitios, en donde la asociación con Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) es importante para su establecimiento y para su sobrevivencia; de los cuales se han descrito 330 especies a nivel mundial y 160 especies para México (Polo-Marcial et al., 2021) Los HMA se asocian de forma mutualista con un gran número de plantas por medio de una red de hifas que están especializadas para la absorción de nutrientes (principalmente fosfatos) y agua (Feddermann et al., 2010). Esta asociación provee de nutrientes y agua a las plantas y los HMA obtienen carbohidratos de ellas, lo que puede llegar a representar hasta el 20 % de los productos de la fotosíntesis de las plantas que equivale a aproximadamente 5 mil millones de toneladas de carbono por año. Por lo tanto, la asociación contribuye significativamente al ciclo global del fósforo y carbono; de igual manera influye en la productividad primaria de los ecosistemas terrestres. Las interacciones mutualistas entre plantas y HMA contribuyen en la regulación y mantenimiento de la biodiversidad de las plantas, así como a la composición de las comunidades de los HMA, es por ello que se consideran como uno de los componentes biológicos más importantes de la microbiota del suelo (Parniske, 2008).

I.1 Marco Teórico

I.1.1 Diversidad Biológica

La diversidad biológica o biodiversidad es el resultado del proceso evolutivo que se manifiesta en la existencia de diferentes formas de vida, en donde la mutación y selección tanto natural como la dirigida por el hombre determinan las características de cada organismo que existen en un lugar y momento determinado. Por ello se considera un parámetro útil para su estudio y la descripción de las comunidades ecológicas, ya que puede explicar la forma en cómo se distribuyen los recursos y la energía en los sistemas complejos, por lo que se considera como una medida de la heterogeneidad de un ecosistema, lo que permite su comparación a través de dicha información (Lumbreras et al., 2008). La diversidad biológica ha sido abordada para su estudio en dos formas, la primera atendiendo el nivel de organización y con ello se menciona a nivel genético, a nivel específico y a nivel de ecosistema la segunda se basa desde el punto de vista espacial en donde se refiere a la diversidad puntual o también llamada alfa (α) y se denota al número de especies que se encuentran en un área particular, la diversidad beta (β) o también conocida como el recambio de especie que mide el grado de fragmentación del ambiente en parches o mosaicos biológicos y a nivel regional o diversidad gamma (δ). Es importante hacer mención que la biodiversidad no depende sólo de la riqueza de especies, sino también de la dominancia relativa de cada una de ellas y se han propuesto diferentes índices para poder comprender de manera más fácil el comportamiento de la misma y su interpretación, considerando la riqueza (número de especies), abundancia (número de individuos de cada especie), abundancia relativa (proporción de la abundancia de cada especie relacionado con la de todas las especies listadas), lo que permite conocer que algunas de ellas pueden ser muy abundantes y otras muy raras o poco representadas, lo que puede representar un problema de conservación, y en algunos casos, como para encontrarse amenazadas de extinción. Por ello, la conservación de la biodiversidad es fundamentalmente un problema vinculado al comportamiento ecológico de las especies raras (Halffter y Ezcurra, 1992).

I.1.2 Micorriza

El término micorriza, que literalmente significa "hongo-raíz", fue propuesto por Frank (1885), para definir asociaciones simbióticas, definido como "vivir conjuntamente dos o más organismos", mutualistas, no patógenas, entre raíces de plantas y micelios de hongos, en las que ambos resultan beneficiados (García, 2009). En tal interacción mutuamente beneficiosa, existe intercambio de nutrimentos; los hongos reciben ácidos grasos y azúcares producto de la fotosíntesis de las plantas y ellos proporcionan agua y nutrientes, especialmente fósforo (P) y nitrógeno (N). Este intercambio de nutrientes afecta los procesos clave del suelo y el ciclo de nutrientes, así como la salud de las plantas y, por lo tanto, tiene una fuerte influencia en el funcionamiento del ecosistema vegetal (Genre et al., 2020). Durante la asociación mutualista, los hongos micorrízicos pueden mediar en las interacciones de las plantas con el microbioma de la micorrizósfera, lo que puede incrementar el intercambio de nutrientes con otros microorganismos, contribuyendo aún más al crecimiento de las plantas y tolerancia al estrés biótico y abiótico (Philippot et al., 2013). Debido a la importancia de esta asociación hongo-planta así como los tipos de organismos que participan en ella, se han descrito cuatro tipos principales de micorrizas en función de sus estructuras y funciones: Ectomicorrizas, Micorrizas Ericoides, Micorrizas Orquidioide y Micorrizas Arbusculares. Cada tipo tiene una historia evolutiva, anatomía y ecología, lo que afecta de manera diferente a la adquisición de nutrientes de las plantas, el ciclo de nutrientes y la población de las plantas (Tedersoo et al., 2020).

I.1.2.1 Micorriza Arbuscular. Los hongos micorrízicos arbusculares forman una interacción mutualista con las raíces de las plantas (alrededor del 80 % de las plantas vasculares) en donde el micelio penetra a las células del córtex de la raíz, desarrollando una estructura característica de esta asociación conocida como "arbúsculo", en donde se realiza el intercambio de nutrientes, tales como, fósforo (P), nitrógeno (N), zinc (Zn) y cobre (Cu) elementos esenciales en el metabolismo de las plantas (Lanfranco et al., 2016) los cuales son obtenidos del suelo. Se ha calculado que la red de hifas puede llegar a sitios menos accesibles para las raíces y tener una densidad de 100 m/cm³ que también influye en las propiedades físicas y químicas del suelo, pero, además, afectan positivamente en la respuesta de las plantas a condiciones extremas de sequía, salinidad y contaminación por metales pesados (Pozo y Azcón-Aguilar, 2007).

I.1.2.2 Ciclo de Vida de los Hongos Micorrizicos Arbusculares (HMA). El ciclo de vida de los HMA consta de varias fases que en algún momento depende de la presencia de la planta hospedera, al inicio se da el reconocimiento, la señalización y comunicación entre el hongo y la planta; mientras que, la germinación de las esporas y el crecimiento inicial de las hifas no necesariamente requiere la presencia de la planta (Gonzalez et al., 2020). Parniske (2008) indica que el ciclo de vida de los HMA inicia cuando las raíces de las plantas exudan hormonas conocidas como estrigolactonas que estimulan el metabolismo y ramificación de las hifas y los hongos producen factores de micorriza (MyC) que se definen operativamente a través de la capacidad de inducir oscilaciones de calcio en las células de la raíz y activan genes que favorecen el reconocimiento de las raíces y facilitan su llegada hasta la parte del tejido del córtex (Figura 1).

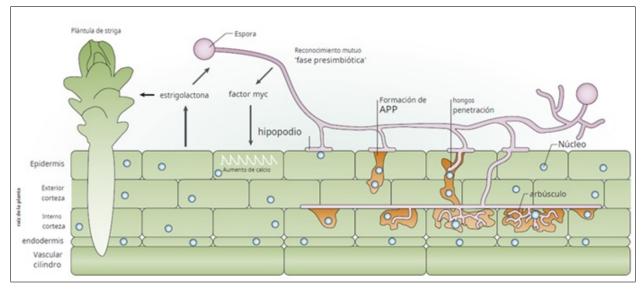


Figura 1. Ciclo de vida de Hongos Micorrizicos Arbusculares Tomado de Parniske (2008)

Los HMA forman tipos especiales de apresorios llamados hifopodios, que se desarrollan a partir de hifas maduras y como consecuencia de la estimulación química y mecánica secuencial, las células vegetales producen un aparato de prepenetración (PPA) el cuál guía al hongo a través de las células de la raíz hacia el córtex. A partir de este proceso el hongo sale de la célula vegetal y entra en el apoplasto, donde se ramifica y crece lateralmente a lo largo del eje de la raíz, las cuales pueden tener dos tipos morfológicos denominados parís (por parecer una espiral) y arum (por ser lineal). Posteriormente entran en las células del córtex para ramificarse dicotómicamente, reduciéndose a lo ancho de la hifa y formar arbúsculo (Lanfranco et al., 2016). Después de la formación de los primeros arbúsculos se forman vesículas conocidas como inflamaciones hifales que contienen lípidos y citoplasma, pero que pueden localizarse dentro o fuera de la célula, las cuales se consideran como órganos de almacenamiento para el hongo, las esporas nuevas normalmente se forman (no siempre) fuera de la raíz de la planta, en la punta delantera de las hifas fúngicas individuales (Brundrett et al., 2008).

I.1.2.3 Clasificación de HMA. Los HMA se encuentran clasificados en el phylum Glomeromycota, el cual se caracteriza por su micelio cenocítico (carente de septos), ausencia de reproducción sexual y distribución cosmopolita. A lo largo del tiempo, este grupo ha experimentado pocas variaciones evolutivas desde su origen en el periodo Ordovícico, lo cual se atribuye a la eficiencia de sus adaptaciones. Esto podría explicar por qué la diversidad de especies de HMA a nivel mundial es menor en comparación con otros grupos de hongos (Vargas-Vázquez et al., 2021); limitándose a tres clases, cinco órdenes, 16 familias, 48 géneros y 330 especies descritas en el mundo. Para México se reportan, 13 familias, 34 géneros y 160 especies, registradas lo que representa el 49 % de especies a nivel mundial; siendo los géneros *Acaulospora* y *Glomus* los mejor representados (Polo-Marcial *et al.*, 2021).

I.1.2.4 Beneficios de los HMA. Los hongos micorrízicos arbusculares establecen una simbiosis con la mayoría de las plantas terrestres, ofreciendo una gama de ventajas como la absorción de nutrientes y agua, así como una mayor resistencia a enfermedades radiculares, lo que favorece el desarrollo vegetal (Almaraz-Suárez *et al.*, 2021).

I.1.2.5 Aporte de Fósforo de los HMA a La Planta. La escasez de fósforo en el suelo a nivel mundial afecta significativamente la capacidad de los suelos para mantener cultivos productivos sin la aplicación de fertilizantes (Smith *et al.*, 2015). Las plantas han desarrollado estrategias adaptativas para optimizar la adquisición y el uso de este nutriente esencial. Estas estrategias incluyen la ramificación extensiva de las raíces y la capacidad de solubilizar el fósforo del suelo mediante la secreción de ácido orgánico y fosfatasa, procesos regulados por vías de detección y señalización genéticamente controladas. Una estrategia comúnmente empleada por las plantas

para superar la deficiencia de fósforo es establecer una relación simbiótica mutualista con hongos del suelo, conocida como micorrizas arbusculares. Estos hongos colonizan la corteza de la raíz y forman un micelio externo que se extiende en el suelo circundante, facilitando así la absorción de fósforo por parte de las plantas (Ferrol et al., 2019). El fosfato inorgánico (Pi) destaca como la forma principal de fósforo absorbida por las plantas y los hongos micorrízicos arbusculares, siendo liberado al suelo por microorganismos a partir de formas orgánicas (Smith et al., 2015). El proceso de captación y transferencia de fósforo por parte de los hongos micorrízicos arbusculares también es vital en la dinámica del fósforo en el suelo. El fósforo es inicialmente captado por el micelio de los hongos micorrízicos arbusculares, transferido a las estructuras fúngicas dentro de las raíces y liberado en el espacio periarbuscular (PAS). Las proteínas de transporte probablemente juegan un papel crucial en este proceso simbiótico mediado por los hongos (Rui et al., 2022). Sin embargo, la fuerte retención de los aniones Pi por cationes como hierro (Fe), aluminio (Al) y calcio (Ca) limita su disponibilidad en la solución del suelo, generando concentraciones típicamente inferiores a 10 μM. Esta baja solubilidad obstaculiza su movilidad y da lugar a zonas de agotamiento de Pi alrededor de las raíces, reduciendo la absorción a través de la epidermis y los pelos radiculares. Aunque este agotamiento es menor alrededor de las hifas de los hongos micorrízicos arbusculares de diámetro pequeño, sugiere que la capacidad del sistema radicular para acceder al Pi en suelos con fósforo disponible es crucial para su absorción (Smith et al., 2015).

I.1.2.6 Micorrizas y Estrés Hídrico. Silva y Montoya (2022) hace mención que las plantas que se desarrollan en suelos con déficit de humedad y escasos nutrientes, crean una simbiosis con los hongos micorrízicos arbusculares que les permite aumentar el área de absorción efectiva de agua y algunos nutrientes, por medio de micelio extrarradical, el cual beneficia en el crecimiento y reproducción de la planta. Por otro lado, la presencia de HMA puede mejorar la resistencia de

las plantas a la sequía al aumentar la eficiencia en el uso del agua y la capacidad de retención de agua en el suelo. Además, los HMA pueden inducir respuestas fisiológicas en las plantas que las hacen más tolerantes al estrés hídrico, como la síntesis de compuestos osmoprotectores (Augé, 2001).

- I.1.2.7 Importancia de los HMA Para el Control de Patógenos. La asociación con HMA tiene la capacidad de eliminar los hongos patógenos y las enfermedades que provocan lo que ha sugerido que los cambios físicos y fisiológicos en las plantas asociadas a micorrizas, junto con las interacciones directas, podrían ser el mecanismo subyacente; esto podría estar vinculado a alteraciones en la estructura de las raíces. Además, se ha observado una activación local de nuevas variantes enzimáticas relacionadas con la defensa de las plantas mediante análisis bioquímicos (Rukavina, 2024). El proceso mediante el cual las plantas adquieren una capacidad defensiva mejorada después de asociarse con HMA se conoce como resistencia inducida por micorrizas" (MIR, por sus siglas en inglés). La MIR podría ofrecer a las plantas una protección sistémica contra patógenos y necrotróficos, así como nematodos y artrópodos herbívoros (Bastida Rodríguez et al., 2022). Para Jaizme-Vega y Rodríguez-Romero (2006) la resistencia inducida puede atribuirse a diversas causas como:
 - a) Mejoría de nutrición, tanto un incremento en el estatus nutricional como un aumento de la biomasa radical pueden compensar los daños producidos por patógenos de suelo en los tejidos radicales
 - b) Competencia por productos de fotosíntesis y lugares de colonización. Ambos microorganismos (simbióticos mutualistas y patógenos) dependen de la fotosíntesis para su desarrollo, por lo tanto, una situación de competencia puede ser la causa de una

- depresión del patógeno en plantas micorrizadas
- c) Cambios en la anatomía y arquitectura radical. Está comprobado que los hongos micorrízicos arbusculares producen cambios en la morfología y topología del sistema radical y que estas trasformaciones en algunos casos consisten en acortamiento de las raíces principales y un incremento de las ramificaciones de las raíces secundarias
- d) Una micorriza activa modifica los exudados radicales y el pH del suelo. Como consecuencia, se produce una selección de microorganismos rizosférico en las raíces de las plantas micorrizadas. Estos microorganismos pueden exhibir una actividad antagonista contra los patógenos de suelo, protegiendo indirectamente a la planta hospedera.
- e) Cambios en los constituyentes químicos de los tejidos vegetales. Se han registrado cambios fisiológicos relacionados con la presencia de patógenos de suelo en raíces micorrizadas, tales como un incremento en las concentraciones de quitinasas.
- I.1.2.8 Hongos Micorrízicos Arbusculares y Sus Beneficios en el Suelo. Los hongos micorrízicos arbusculares tienen un impacto positivo en la estructura del suelo. Se ha observado la abundante presencia de micelio de HMA en diferentes zonas del suelo. Estos micelios tienen la capacidad de formar agregados estables en el suelo. La acción de los hongos micorrízicos persiste durante un largo período de tiempo gracias a la producción de una glicoproteína llamada glomalina por parte del micelio extraradical. Su función principal es estabilizar los agregados del suelo colaborando en la adhesión de las partículas, lo que asegura el drenaje y la tasa de aireación, reduciendo la compactación y el potencial de erosión, además de mejorar la capacidad de retención del agua y la cantidad disponible para la vegetación y define el grado de disponibilidad de los nutrientes del suelo (Gonzalez et al., 2018) (Figura 2). Es importante resaltar que la red

de hifas se renueva constantemente y las hifas muertas mantienen la estructura del suelo hasta que se degradan; y estos micelios muertos contribuyen al almacenamiento de materia orgánica y actúan como aglutinante físico en la formación de agregados del suelo. Todos estos mecanismos contribuyen a reducir el riesgo de compactación del suelo y promover la fertilidad del suelo (Fall et al., 2022).

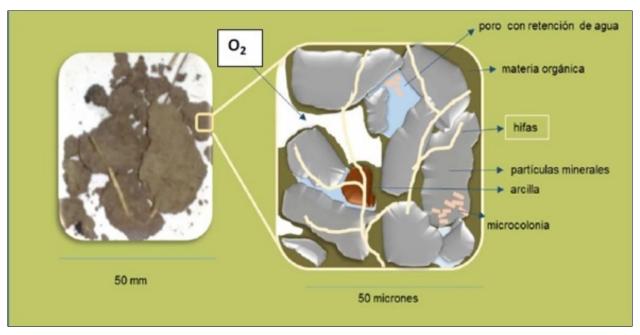


Figura 2. Distribución de Partículas de suelo. Tomado de Gonzalez et al. (2018)

I.1.3 Plantas Silvestres

Las plantas silvestres son aquellas que se encuentran dentro de su ámbito de distribución natural («Ley General de Vida Silvestre», 2000), crecen de forma natural y espontánea en la naturaleza, y que no fueron tomadas para su cultivo por el hombre. Estas plantas, a diferencia de las cultivadas, poseen un acervo genético amplio, que no ha perdido su fuerza por la manipulación de los cultivadores. Las plantas silvestres poseen una mejor capacidad para adaptarse al medio y presentan una mayor vitalidad y calidad biológica que las de cultivo, justamente porque no han sido modificadas por el hombre para su aprovechamiento (Ulian *et al.*, 2019). Las plantas

silvestres conforman un grupo muy diverso en México, ya que están representados por los musgos, helechos, Gymnospermas y Angiospermas o plantas con flores, conociéndose de este último más de 20000 especies para el país (Villaseñor y Ortiz, 2014) lo cual forma parte de lo que se ha llamado el Capital Natural de México y que ha captado mucho la atención de especialistas tanto para ampliar el conocimiento de dicha diversidad como su distribución y sobre todo, su conservación debido a las grandes presiones que los ambientes naturales están sufriendo en los últimos años (CONABIO, 2008) y que muchas de ellas han desarrollado diferentes estrategias ecológicas, entre ellas, asociarse con hongos micorrízicos arbusculares que les permiten sobrevivir a estos ambientes cambiantes y son potenciales de utilizarse en programas de reforestación (Martínez-Orea et al., 2024).

I.1.3.1 Estudios de Plantas Silvestres y HMA. Los estudios sobre las interacciones entre plantas silvestres y hongos micorrízicos arbusculares han tendido a centrarse en evaluar el impacto de esta asociación en plantas de interés agronómico. Sin embargo, la investigación en plantas de ecosistemas naturales se ha limitado a unas pocas especies, representando menos del 10 % de las estimadas en México, especialmente en zonas desérticas y bosques tropicales húmedos (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012). Por otro lado, se han realizado algunos informes aislados que examinan la respuesta de ciertas especies vegetales en suelos muy erosionados, como arbustos, leguminosas y pinos, existe un número significativamente mayor de especies arbustivas y herbáceas capaces de establecerse y desarrollarse en suelos con erosión severa, incluso en presencia de tepetates. Estas plantas tienen el potencial de ser utilizadas en procesos de revegetación en áreas afectadas por la erosión, pero es crucial comprender previamente sus hábitos y características ecológicas (Martínez y Pérez *et al.*, 2011).

I.1.4 Bosque de Juniperus

Esta comunidad vegetal se engloba en la categoría de "bosque escuamifolios". A pesar de que no cubre importantes áreas en México (menos de 0.04% de la superficie del país), se encuentra bien distribuido desde Baja California y Tamaulipas hasta Chiapas y se desarrolla en condiciones ecológicas diversas. Este bosque prospera sobre una gran variedad de suelos, incluyendo alcalinos, así como los de contenido moderadamente elevado en sales solubles, compuestos de calcio y con drenaje deficiente, algunas veces se les observa en suelos poco profundos y más bien pedregosos en laderas de cerros. Una especie muy difundida es que compone al bosque de sabino es *Juniperus deppeana*, comúnmente conocida como sabino, el cual forma bosques en muchas partes del país, por ejemplo, en la franja ubicada entre Perote, Veracruz y Apizaco, Tlaxcala, cubre importantes extensiones, incluyendo áreas con suelos profundos de llanuras (Rzedowski, 2006). El sabino habita en ambientes que van desde los templados hasta los semiáridos, y en el estado de Tlaxcala ocupa una extensión aproximada de 16,288 ha, formando bosques de *Juniperus deppeana* (Martínez *et al.*, 2007).

I.2 Antecedentes

La alteración del hábitat ejerce un impacto significativo en la diversidad fúngica, especialmente en términos de composición e interacciones, con una tendencia hacia una disminución general en la riqueza de hongos en respuesta a los cambios en el uso de suelo. Los hongos micorrízicos pueden verse afectados negativamente por la alteración del hábitat cambiando la relación entre simbiontes micorrízicos cambió, sugiriendo un posible aumento en la abundancia de especies tolerantes a perturbaciones y una disminución en especies sensibles (Grilli *et al.*, 2017).

Chávez-Hernández *et al.* (2021) en un bosque templado de Guerrero mencionaron a catorce especies de plantas silvestres con propiedades medicinales y reportan que todas las especies

presentan colonización de HMA y la estructura de la comunidad de HMA no tuvo variación en abundancia de esporas, riqueza de especies e índice de diversidad; sin embargo, encontraron una relación significativa entre la composición de las especies de los HMA con la identidad de la planta medicinal y las propiedades del suelo. En cuanto a la riqueza de HMA se distribuyó en un 40 % en la familia Acaulosporaceae seguida de las familias Gigasporaceae y Glomeraceae que reportaron cada una un 16.6 %. Por otro lado, el porcentaje de colonización de especies vegetales varió de 15.3 a 73.3 %.

Polo-Marcial *et al.* (2021) realizaron una compilación bibliográfica del número de especies de HMA reportadas para México y obtiene 160, mencionando que la riqueza encontrada representa el 49 % de especies a nivel mundial, distribuida en 34 géneros, 13 familias y cinco órdenes de Glomeromycota. Mencionando que los ambientes registrados son agroecosistemas con 135 spp, matorrales xerófilos con 74 spp, pastizales con 53 spp, bosque nuboso con 58 spp, bosque tropical perennifolio con 57 spp, bosque tropical caducifolio con 53 spp, bosque templado con 39 spp, vegetación acuática y submarina con 38 spp y en dunas costeras con 28 spp. Cabe hacer mención que para bosques de sabino en particular no existe algún registro de la riqueza de los HMA.

Existen varios estudios sobre la diversidad de HMA en el estado de Tlaxcala, como el realizado por (Nava, 1998) Este estudio exploró la asociación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) con cactáceas en diferentes áreas, incluidos los bosques de *Juniperus*, donde se tomaron muestras de *Mammillaria uncinata* y *Mammillaria discolor*. Se identificaron seis especies de HMA, destacándose los géneros *Acaulospora* y *Scutellospora* como los más representados. Además, se realizó un análisis de diversidad de HMA en dos localidades con condiciones de tepetate, donde se muestrearon plantas herbáceas, arbustivas y arbóreas. Se identificaron un total de 13 morfoespecies de HMA, siendo *Glomus claroideum* la especie más abundante. También se reportó un porcentaje de colonización de hasta el 100 % en algunas plantas.(Hernández,

2009) En otro estudio en dos localidades de Tlaxcala, Altzayanca y Atlangatepec, se llevaron a campo plantas de *Amelanchier denticulata* y *Eysenhardtia polystachya* inoculadas con *Glomus claroideum*, *Acaulospora morrowae* y *Acaulospora laevis*. Después de doce meses de trasplante, se observó un porcentaje de colonización del 20 % en Altzayanca y del 30 % en Atlangatepec (Rodriguez, 2009).

Un estudio publicado por Jiménez Martínez et al. (2019) identificó 10 especies de HMA, siendo *F. mosseae* la más abundante, en suelos Andosoles del estado de Tlaxcala, específicamente en una zona de bosque de pino. Se atribuye a estos HMA ser un componente biótico que contribuye a la estabilidad de los Andosoles y previene la degradación del bosque de pino.

Resultados aún no publicados revelan un listado de 16 plantas silvestres con potencial para la restauración en un bosque de sabino con suelos de tepetate. Este estudio se llevó a cabo en Santa María Ixcotla, Tlaxcala. Las especies identificadas en el listado son: Juniperus deppeana, Brickelia veronicifolia, Muhlenbergia rigida, Bouvardiaternifolia, Eupatorum deltoideum, Lycurus phalaroides, Castilleja tenuiflora, Piptochaetium virescens, Bouteloua hirsuta, Schizachyrium sanguineum, Stevia salicifolia, Hilaria cenchroides, Loesea mexicana, Monnina ciliolata, Eysenhardtia polystacya y Tagetes lucida; las cuales a nivel literatura fueron reportada que presentan asociación con HMA.

I.3 Preguntas de Investigación

1 ¿Cuál es la diversidad de especies de HMA asociados a plantas silvestres de un bosque de sabino?

2 ¿La diversidad de HMA es dependiente de la especie de planta silvestre?

3 ¿Los diferentes sitios de muestreo dentro del bosque de sabino tienen influencia en la

diversidad de HMA?

I.4 Hipótesis

La diversidad de HMA está influenciada por el tipo de planta silvestre y por el sitio de muestreo

I.5 Justificación

Los estudios sobre la interacción de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) con las plantas han estado principalmente enfocados en especies de importancia agronómica, como el maíz y el trigo, debido al interés en desarrollar fertilizantes orgánicos y aumentar la producción agrícola. En contraste, hay una notable escasez de investigaciones en ambientes no agrícolas y con plantas silvestres, que generalmente se consideran de menor importancia económica. Esta situación ha resultado en un conocimiento limitado de la interacción HMA con menos del 10 % de las especies de plantas con flores conocidas en México. Además, existe una falta significativa de información sobre el papel de los HMA en plantas que habitan en entornos extremos, áreas afectadas por la deforestación y regiones donde la capa fértil del suelo ha desaparecido casi por completo, como es común en el centro de México, donde aflora el basamento volcánico conocido como tepetate. En lo que respecta a la condición micorrízica de las plantas silvestres, también hay escasez de estudios, lo que resalta la importancia de comprender las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en estos sitios, así mismo, investigar la relación de los HMA con algunas especies de planta silvestres es crucial desde un punto de vista ecológico. Por lo tanto, es fundamental conocer la estructura e identidad de la comunidad de HMA en estos ambientes degradados o con cobertura vegetal fragmentada. Este conocimiento puede proporcionar valiosos resultados sobre el uso potencial de los HMA como inoculantes en programas de restauración de áreas degradadas, como el tepetate, explicando así la capacidad de sobrevivencia de algunas especies vegetales en estos entornos adversos.

I.6 Objetivos

I.6.1 General

Determinar la riqueza y abundancia de hongos micorrízicos arbusculares asociados a cinco plantas silvestres presentes en áreas con diferente cobertura vegetal en un bosque de sabino en el estado de Tlaxcala.

I.6.2 Específicos

- 1. Conocer el porcentaje de colonización y número de esporas en cinco especies de plantas silvestres provenientes de tres sitios diferentes de un bosque de sabino.
- 2. Determinar los índices de diversidad de HMA posiblemente asociados a cada especie de planta silvestre de un bosque de sabino.
- 3. Analizar las características físicas y químicas del suelo donde se desarrollan plantas silvestres en tres sitios de un bosque de sabino

II Metodología

II.1 Descripción de La Localidad

El presente trabajo se realizó en la localidad de Santa María Ixcotla, municipio de Hueyotlipan, Tlaxcala, el cual se ubica en las coordenadas 19°25'10.1"N 98°19'37.9.º (Figura 3) y a 2,591 m de altura. Lugar donde prevalece el clima templado subhúmedo con lluvias en verano y una temperatura promedio máxima anual registrada de 22.5 °C; la precipitación promedio máxima registrada es de 219.6 mm. Con frecuencia se encuentran suelos con horizontes duripán o tepetate y vegetación compuesta principalmente por bosque de *Juniperus*, el cual en la mayoría del sitio se encuentra fuertemente perturbado.



Figura 3. Ubicación de la zona de muestro

II.2 Muestreo

En el mes de octubre del 2021, durante la época de lluvias se eligieron tres sitios de muestreo con diferente proporción de cobertura vegetal; Sitio 1 escasa cobertura vegetal, Sitio 2 cobertura vegetal reducida, sitio 3 cobertura vegetal abundante como se aprecia en la figura 4. En cada uno de los sitios se tomaron muestras de suelo rizosférico y de raíces de las especies silvestres: Brickellia veronicifolia, Muhlenbergia rigida, Castilleja tenuiflora, Stevia salicifolia y Loeselia mexicana como se pueden observar en la figura 5. Se seleccionaron estas especies porque fueron las más abundantes en los tres sitios y son empleadas por los pobladores. Rzedowski (2006) menciona que algunos de sus beneficios son:

- a) Brickellia veronicifolia se utiliza para tratar problemas gastrointestinales.
- b) Muhlenbergia rigida se emplea en la elaboración de escobetas.
- c) Castilleja tenuiflora actúa como antiinflamatorio.
- d) Stevia salicifolia se le atribuyen propiedades antirreumáticas.
- e) Loeselia mexicana es conocida por sus beneficios capilares que promueven el crecimiento del cabello.



Figura 4. Sitios de muestreo con diferente cobertura vegetal en Santa María Ixcotla, Tlaxcala: a) sitio 1: cobertura vegetal escasa, b) sitio 2: cobertura vegetal reducida y c) sitio 3: cobertura vegetal abundante.)



Figura 5. Plantas silvetres seleccionadas a) *Brickellia veronicifolia*, b) *Muhlenbergia rigida*, c) *Castilleja tenuiflora*, d) *Stevia salicifolia*, e) *Loeselia mexicana*)

II.3 Recolección de Raíces y Suelo de las Especies Seleccionadas

La selección de cada individuo se realizó con base en su presencia en un área de 100 m² aproximadamente, procurando una distancia mayor a 10 m entre ellos. Con el apoyo de una pala plana, pico, pala de jardinería, tijeras para podar, bolsas de plástico y marcador indeleble se recolectaron las muestras de raíces (procurando la presencia de raíces finas o muy delgadas) de las especies seleccionadas, así mismo, se recogió aproximadamente 1 kg de suelo rizosférico de cada individuo. El método de muestreo fue extractivo como lo menciona Hernández-Cuevas et al. (2008) y para no impactar a las poblaciones de las especies seleccionadas, se extrajeron tres individuos de cada especie, en cada sitio de muestreo, para obtener 45 muestras en total. Dichas muestras fueron rotuladas adecuadamente y trasladadas al Laboratorio de Toxicología y Química Ambiental del Centro de Investigación en Genética y Ambiente, donde fueron almacenadas en un refrigerador a una temperatura de 4°C hasta su posterior procesamiento (figura 6).



Figura 6. Toma de muestras de raíces y suelo rizosférico de plantas silvestres en el bosque de sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

II.4 Preparación de La Muestra

Las muestras de suelo rizosférico y raíces de plantas fueron secadas a temperatura ambiente y a la sombra. Las raíces secas se etiquetaron y guardaron en bolsas de papel estraza y se refrigeraron a una temperatura de 4°C. Los terrones más grandes se destruyeron con la ayuda de un martillo para poder ser tamizados, empleando un tamiz de 2 mm de abertura de malla (Figura 7). Las muestras de suelo tamizadas fueron almacenadas en bolsas de polietileno y refrigeradas (4-6°C). Para la extracción de esporas se ocuparon 50 g de suelo y el restante (950 g aproximadamente) se destinó para realizarle los análisis fisicos y químicos.

II.5 Determinación del Porcentaje de Colonización por HMA en La Raíz

Para cada individuo, se seleccionaron las raíces finas, principalmente de la periferia y se cortaron 20 fragmentos de 1.0 a 1.5 cm de largo los cuales se lavaron con agua de la llave para quitarles los residuos de suelo, fueron aclaradas con una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10 % a temperatura ambiente durante 24 h; posteriormente se retiró el KOH, se enjuagaron con agua de la llave y se les agregó una solución de ácido clorhídrico (HCI) al 10 % por 10 min, se retiró el ácido y se tiñeron con azul de tripano al 0.05 % por 10 min. Por último, se enjuagaron con



Figura 7. Manejo y procesamiento de las muestras de suelo y raíz de las especies vegetales. a) secado de suelo a temperatura ambiente, b) separación de raíz, c) secado de raíz a temperatura ambiente, d) tamizado y e) almacenamiento de la raíz y del suelo

ácido láctico al 50 % para eliminar el exceso de colorante (Phillips y Hayman,1970). El proceso descrito se puede apreciar en la figura 8. Cabe mencionar que, en el caso de *Stevia salicifolia* se modificó la técnica debido a que la raíz presentó una fuerte pigmentación, lo que dificultó su observación, para ello después de permanecer en el KOH, las raíces se dejaron 24 h más en peróxido de hidrógeno al 3 % Para luego continuar con el proceso de tinción.

Para la determinación del porcentaje de colonización, los 20 fragmentos de raíces finas seleccionados se colocaron en un portaobjetos para ser observados en el microscopio a 10x. La observación de las estructuras fúngicas dentro de la raíz se realizó dividiendo en 3 niveles (superior, centro e inferior) el portaobjetos y se observaron un total de 60 campos por cada muestra con la finalidad de encontrar estructuras que forman los HMA dentro de la raíz, tales como micelio, arbúsculo, enrollamiento hifal o vesículas (Figura 9). Se registró la presencia o ausencia de las estructuras de los HMA en los campos observados y se calculó el porcentaje de colonización

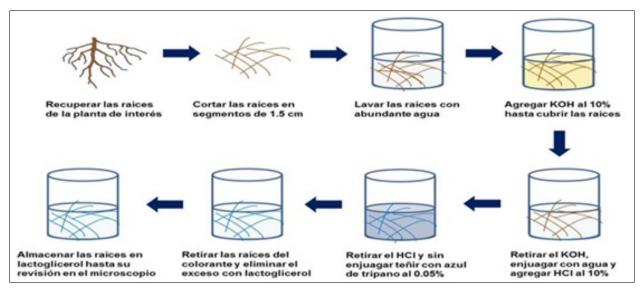


Figura 8. Proceso de clareo y tinción de raíces. Tomado de Carballar-Hernández et al. (2020)

siguiendo la expresión mostrada en la ecuación II.1.

$$\%Colonizacion = \left(\frac{\text{campos colinizados}}{\text{campos observados}}\right) \times 100 \tag{II.1}$$

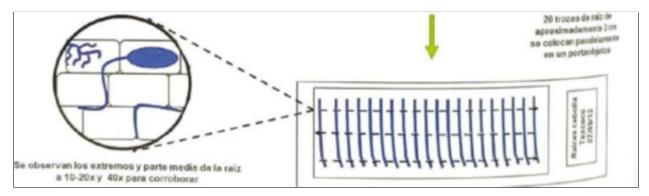


Figura 9. Distribución en portaobjetos de los fragmentos de raíz para su observación, ubicando 20 fragmentos de raíz y observando de manera superior, media e inferior. Dando un total de 60 campos en total a observar por muestra (Carballar-Hernández *et al.*, 2020)

II.6 Aislamiento y Cuantificación de Esporas de HMA

El proceso de aislamiento de esporas se llevó a cabo mediante la técnica de tamizado húmedo, decantación y centrifugación con gradiente de sacarosa al 60 % y 20 %, la cual fue modificada según los métodos de Gerdman y Nicolson (1963), así como de Daniels y Skipper (1972). Para

iniciar, se pesaron 50 q de suelo previamente tamizado en un tamiz de 2 mm. Posteriormente, la muestra se colocó en un frasco con agua y se agitó enérgicamente durante 30 s, seguido de un reposo de 40 a 45 s. Luego, se vertió el aqua (sin el sedimento) sobre tamices sobrepuestos con aberturas de 0.045 mm y 0.59 mm, repitiendo este proceso cinco veces. La muestra recuperada del tamiz de 0.59 mm se transfirió a una caja Petri con aqua con el fin de detectar esporas de mayor tamaño. Por otro lado, el material recuperado del tamiz de 0.045 mm se depositó en tubos de centrifuga con el gradiente de sacarosa al 20 % y 60 %, y se centrifugaron a 2800 rpm durante cuatro min. Se recuperó el sobrenadante con ayuda de un tamiz de 40 micras, el cual fue enjuagado con abundante agua para eliminar el exceso de sacarosa. Finalmente, el contenido se transfirió a una caja Petri para la observación y separación de esporas. Las esporas fueron separadas utilizando un microscopio estereoscópico y extraídas con una micropipeta para su posterior colocación en portaobjetos. Luego, se realizaron montajes de esporas en preparaciones fijas utilizando una solución de alcohol polivinílico ácido-láctico-glicerol (PVLG) y reactivo de Melzer, modificado, según los métodos de Kooks y Tessier (1983) y Brundett et al, (1996). Estas preparaciones se dejaron secar durante varios días a temperatura ambiente antes de ser observadas con un microscopio óptico para realizar el conteo de esporas correspondiente y la identificación taxonómica.

II.7 Identificación Taxonómica de HMA

Para la identificación de las esporas, se utilizó un microscopio óptico para examinar las preparaciones fijas a 40x de aumento. Se realizó una descripción de las características morfológicas de las esporas, incluyendo color, tamaño, ornamentación, presencia de hifas y reacción al reactivo de Melzer. Esto permitió la comparación con las descripciones disponibles en sitios web especializados como The International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (http://invam.wvu.edu/) y en la Colección de Glomeromycota del Profesor Janusz Blaszkoski

(http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/Taxonomy.html).

II.8 Análisis de Suelo

A las 45 muestras se les realizó el análisis de las propiedades físicas y químicas, se determinó el pH (relación suelo: agua 1:2 p/v), la textura a través del procedimiento del hidrómetro de Bouyoucos y posteriormente se empleó el triángulo de texturas para determinar la clase textural, la materia orgánica por el método de oxidación en húmedo con dicromato de potasio, el P extractable por el método de Bray y Kurtz de acuerdo a los métodos establecidos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002)., la densidad aparente por el método de la probeta que establece la NMX-FF-109-SCFI-2008 (DOF, 2008) y la porosidad a través de la fórmula II.2 que propone Rodríguez y Rodríguez (2002).

% de porosidad =
$$\left(\frac{\mathrm{Dr}}{\mathrm{Dap}}\right) \times 100$$
 (II.2)

II.9 Análisis Ecológicos y Estadísticos

Se determinó la riqueza de especies y se denoto con la letra *S*. Se calculó el índice de dominancia de Simpson (D) mediante fórmula II.3 que se menciona a continuación:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^{s} P_i^2 \tag{II.3}$$

donde Pi es la abundancia relativa. El índice de diversidad empleado fue el de Shannon-Wiener que se calculó de acuerdo a la fórmula II.4:

$$H' = -\sum P_i \cdot \ln P_i \tag{II.4}$$

Así mismo, se determinó el índice de equidad de Pielou a partir de la fórmula II.5:

$$J' = \frac{H'}{H'_{\text{max}}} \tag{II.5}$$

donde $H'_{\text{máx}} = \ln S$.

para la diversidad beta o recambio de especies de HMA entre las cinco especies vegetales y entre los tres sitios de muestreo se determinó el índice de similitud de Jaccard conforme a la fórmula II.6:

$$I_J = \frac{C}{a+b-c} \tag{II.6}$$

donde:

- a número de especies presentes en el sitio A
- b número de especies presentes en el sitio B
- c número de especies presentes en ambos sitios A y B

Para corroborar que los datos de colonización micorrízica y número de esporas se ajustaran a una distribución normal se llevó a cabo la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. En el caso del porcentaje de colonización, los datos se consideraron normales y se procedió a realizar un análisis de varianza, para conocer si existían diferencias significativas entre especies vegetales y entre sitios de muestreo; cuando hubo diferencia se hizo una prueba de comparación de medias a través de la prueba de Tukey. Para el número de esporas se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ya que los datos no presentaron una distribución normal. Los análisis se hicieron con el paquete estadístico de R studio versión 4.2.2

III Resultados

III.1 Porcentaje de Colonización

Se identificaron las estructuras que caracterizan a los HMA en las raíces secundarias de las cinco especies de plantas silvestres del bosque de sabino; algunas de las estructuras observadas fueron micelio, vesículas, enrollamiento hifal y esporas, como se muestran en la Figura 10.

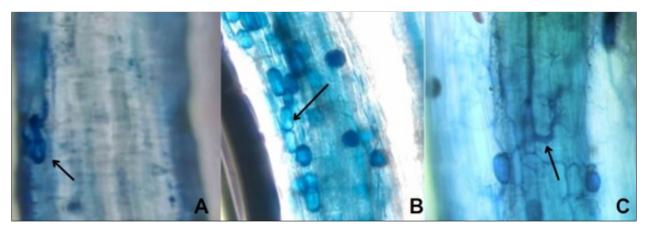


Figura 10. Estructuras de HMA observadas en las raíces de las plantas silvestres que crecen en el bosque de Sabino en Santa María Ixcotla, Tlaxcala. A) enrollamiento hifal, B) vesículas y C) micelio.

La presencia de las diversas estructuras de los HMA permitió calcular el porcentaje de colonización, el cuál varió entre un 39 a 60 % y con diferencias significativas entre las especies vegetales. Independientemente del sitio de muestreo, el mayor porcentaje de colonización se registró en *Loeselia mexicana*, seguida de *Stevia salicifolia*; en contraste, el menor porcentaje de colonización se presentó en *Muhlenbergia rigida* (Figura 11). En cuanto a los sitios de muestreo, no se encontraron diferencias significativas. No obstante, el mayor porcentaje de colonización se registró en el Sitio 2 y el menor en el Sitio 3 (Figura 12).

En general, *Loeselia mexicana* y *Stevia salicifolia* fueron las especies vegetales con mayor porcentaje de colonización en los tres sitios de muestreo. En los sitios 1 y 3 *Loeselia mexicana* presentó mayor colonización micorrízica;, mientras que, en el sitio 2 el mayor porcentaje de colonización se registró en *S. salicifolia* (Figura 13).

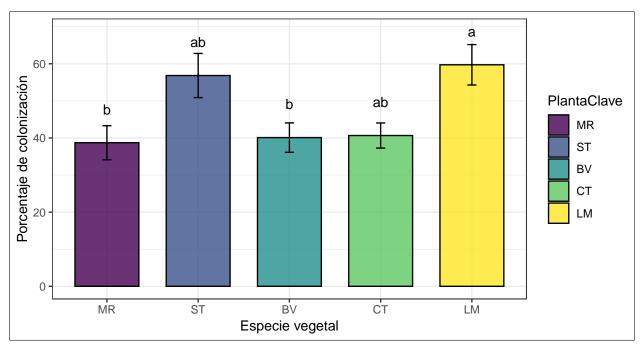


Figura 11. Porcentaje de colonización por especie vegetal. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, α =0.05). Media \pm el error estándar (n=9). Simbología: BV=*B. veronicifolia*, CT=*C. tenuiflora*, LM=*L. mexicana*, MR=*M. rigida*, y ST= *S. salicilofia*

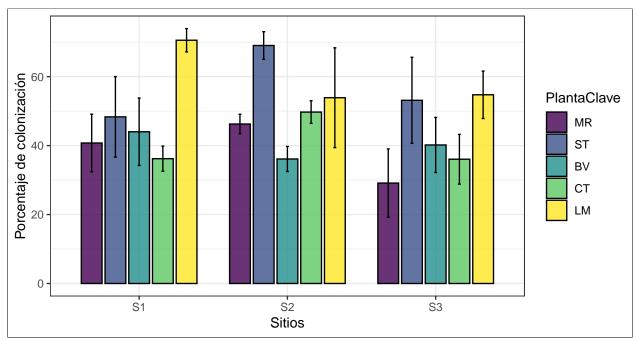


Figura 13. Porcentaje de colonización en especies vegetales agrupados por sitio de muestreo. Media ± el error estándar (n=3). Simbología: BV=*B. veronicifolia*, CT=*C. tenuiflora*, LM=*L. mexicana*, MR= *M. rigida*, y ST= *S. salicilofia*.

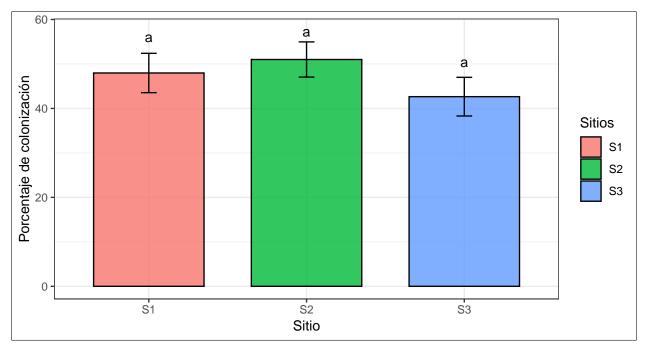


Figura 12. Porcentaje de colonización por sitio de muestreo. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, α =0.05). Media \pm el error estándar (n=15). Simbología: S1=Sitio 1, S2=sitio 2 y S3=sitio 3

III.2 Número de Esporas

El número de esporas varió de 43 a 129 en 50 g suelo⁻¹. No se encontraron diferencias significativas en los valores promedio de las cinco especies vegetales (Figura 14). En promedio, *Stevia salicifolia* presentó el mayor número de esporas (129) y *Brickelia veronicifolia* el menor (43).

Con respecto a los sitios de muestreo, al igual que en las especies vegetales, no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, se pudo observar que el sitio dos presentó el mayor número de esporas, seguido del sitio tres y finalmente el sitio uno (Figura 15). El número de esporas varió según el sitio y la especie vegetal; por ejemplo, en los sitios 1 y 2 *Stevia salicifolia* presentó el mayor número de esporas, mientras que en el sitio 3, *Muhlenbergia rigida* tuvo la mayor abundancia de esporas. Por otro lado, la especie vegetal con el menor número de esporas varió dependiendo del sitio de muestreo (Figura 16).

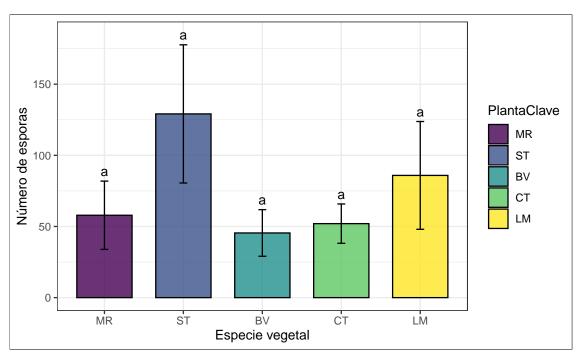


Figura 14. Número de esporas en las especies vegetales en 50 g suelo. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Kruskal-Wallis, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=9). Simbología: BV=*B. veronicifolia*, CT=*C. tenuiflora*, LM=*L. mexicana*, MR= *M. rigida*, y ST= *S. salicilofia*.

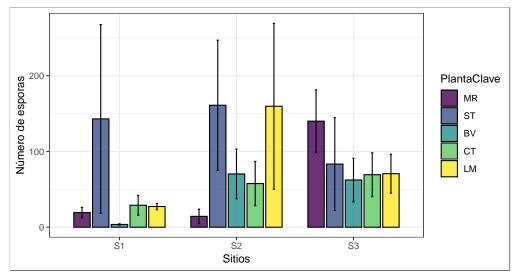


Figura 16. Variación del número de esporas en especies vegetales agrupados por sitio de muestreo. Media \pm el error estándar (n=3). Simbología: BV=B. veronicifolia, CT=C. tenuiflora, LM=L. mexicana, MR=M. rigida, y ST= S. salicilofia

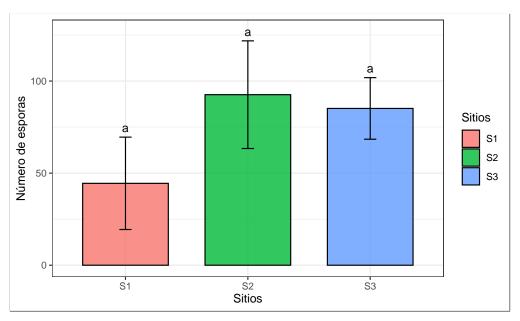


Figura 15. Número de esporas presentes en los diferentes sitios de muestreo en 50 g suelo. Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Kruskal-Wallis, $\alpha=0.05$). Media \pm el error estándar (n=15). Simbología: S1=Sitio 1, S2=sitio 2 y S3=sitio 3.

III.3 Diversidad de HMA

A través de la morfología de las esporas, se identificaron 28 especies de hongos micorrízicos arbusculares que se pueden apreciar en la figura 17 las cuales pertenen a 10 géneros y siete familias, asociados a la rizósfera de cinco especies vegetales que crecen en sitios con diferente cobertura vegetal en un bosque de sabino (Tabla 1). Las familias mejor representadas fueron Acaulosporaceae y Glomeraceae con un 35.71 % cada una y las de menor representación fueron Claroideoglomeraceae y Scutellosporaceae con un 3.57 %.

La composición de la comunidad de HMA varía entre las especies vegetales (Tabla 2). De las 28 especies de HMA registradas, siete se encontraron en las cinco especies vegetales (Acaulospora mellea, Acaulospora spinosa, Claroideoglomus claroideum, Funneliformis geosporum, Glomus aff. microcarpum, Rhizophagus fasciculatus y Rhizophagus intraradices). Por otro lado, hubo especies de HMA que se encontraban asociados a la rizósfera de una sola especie vegetal; por ejemplo, Gigaspora gigantea, Acaulospora punctata y Glomus macrocarpum sólo se aislaron

Tabla 1. Ubicación taxonómica de las especies de hongos micorrízicos arbusculares encontrados en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

Orden	Familia	Especie
Diversisporales	Acaulosporaceae	Acaulospora alpina Oehl, Sýkorová & Sieverd
		A. aspera Corazon-Guivin, Oehl & G.A. Silva
		A. lacunosa J.B Morton
		A. laevis Ger & Trappe
		A. mellea Spain & Shenck
		A. morrowiae Spain & Schenck
		A. paulinae Blaszk
		A. punctata Oehl, Palenz., I.C. Sánchez, G.A. Silca, C. Castillo & Sieverd.
		A. scrobiculata Trappe
		A. spinosa C. Walker &Trappe
	Ambisporaceae	Ambispora appendiculata C. Walker
		A. gendermannii C. Walker, Vestberg & Schuessler
		Ambispora sp.
	Gigasporaceae	Gigaspora albida N.C. Schenck & G.S. Sm.
		G. gigantea Gerd. &Trappe
	Scutellosporaceae	Scutellospora calospora C. Walker& F.E. Sanders
Entrophosporales	Entrophosporaceae	Entrophospora infrecuens R.N. Ames & R.w. Schneid
Glomerales	Claroideoglomaceae	Claroideoglomus claroideum (Shenck& Smith) Walker & Shuessles
	Glomeraceae	Funneliformis geosporus (Nicolson& Gerd.) Walker & Shuessler
		F. mosseae (Nicol. & Gerd.) & Walker & Shuessler
		Glomus macrocarpum Tulasne & Tulasne
		G. microcarpum Tulasne & Tulasne
		G. minutum Blaszk., Tadych & Madej
		Septoglomus constrictum Sieverd., G.A. Silva & Oehl
		Rizophagus fasciculatus (Thaxt.) & Walker & Schuessler
		R. intraradices C. Walker & Schuessler
		R. irregularis C. Walker & Shuessler
		R. sinuosum Gerdemann & Bakshi

en *Stevia salicifolia*, *Loeselia mexicana* y *Muhlenbergia rigida*, respectivamente. Así mismo, *Acaulospora aspera* y *Scutellospora callospora* se registraron únicamente en *Castilleja tenuiflora*, y *Funneliformis mosseae* y *Sclerocystis sinuosum* solo en *Brickelia verenicifolia* (Tabla 2). Al comparar la composición de la comunidad de HMA, mediante el coeficiente de Jaccard, se observó mayor similitud (60 %) entre *Stevia salicifolia*, *Loeselia mexicana* y *Muhlenbergia rigida*. En contraste, las especies *Castilleja tenuiflora* y *Muhlenbergia rigida* forman otro grupo (Figura 18A).

Tabla 2. Especies de HMA asociados a plantas silvestres que crecen en el bosque de Sabino en Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

#	Especie de HMA	Castilleja	Stevia	Loeselia	Brickellia	Muhlenbergia
	·	tenuiflora	salicifolia	mexicana	veronicifolia	rigida
1	Acaulospora alpina		Χ	Χ	X	X
2	Acaulospora aspera	Χ		.,		.,
3	Acaulospora lacunosa			X	.,	X
4	Acaulospora laevis	X	X	X	X	
5	Acaulospora mellea	Χ	Χ	Χ	X	X
6	Acaulospora morrowiae		Χ	Χ		X
7	Acaulospora paulinae			X	X	
8	Acaulospora punctata			X		
9	Acaulospora scrobiculata		X	X		X
10	Acaulospora spinosa	X	X	X	X	X
11	Ambispora appendiculata		X	X		
12	Ambispora gendermannii	X	X	X		X
13	Ambispora sp		X	X		X
14	Entrophospora infrequens			X	X	
15	Gigaspora albida		X		X	
16	Gigaspora gigantea		X			
17	Scutellospora calospora	X				
18	Claroideoglomus claroideum	X	X	X	Χ	Χ
19	Funneliformis geosporum	X	X	X	X	Χ
20	Funneliformis mosseae				Χ	
21	Glomus macrocarpum					Χ
22	Glomus aff. microcarpum	X	X	X	X	Χ
23	Glomus minutum		X	X	Χ	Χ
24	Septoglomus constrictum			X		X
25	Rhizophagus fasciculatus	Χ	Χ	X	X	X
26	Rhizophagus intraradices	X	X	X	X	X
27	Rhizophagus irregularis	X	X	X	X	,
28	Sclerocystis sinuosum	,,	, ,	,,	X	

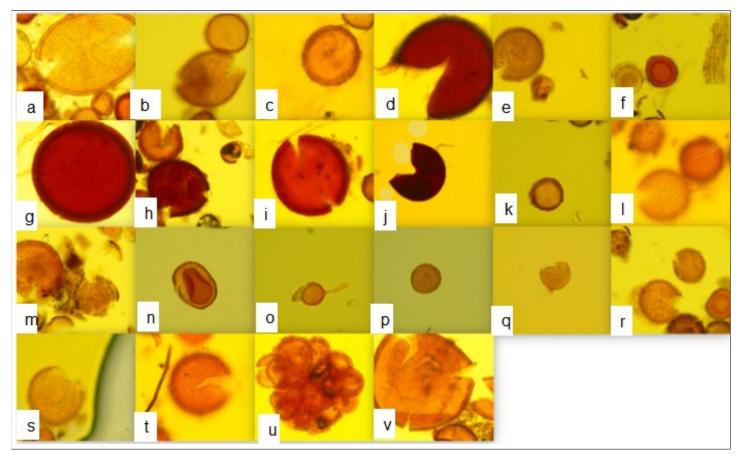


Figura 17. Morfoespecies de esporas de HMA asociadas a plantas silvestres en un bosque de sabino. a= *A. gendermani*, b= *A. alpina*, c= *C. Claroideum*, d= *S. Constrictum*, e= *E. infrecuens*, f= *R. fasciculatus*, g= *G. albida*, h= *G. Minutum*, i= *R. geosporus*, j= *G. gigantea*,k= *R. Intraradices*, l= *A. lacunosa*, m= *G. macrocarpum*, n= *A. mellea*, o= *G. microcarpum*, p= *A. morrowie*, q= *F. Mosseae*, r= *A. Pauline*, s= *A. punctata*, t= *A. scrobiculata*, u= *S. sinosum*, v= *A. spinosa*

Con respecto a los sitios de muestreo, 11 de las 28 especies de HMA fueron comunes en los tres sitios. Cinco especies se encontraron en los sitios 2 y 3 (*Acaulospora alpina*, *Acaulospora scrobiculata*, *Acaulospora spinosa*, *Glomus minutum* y *Septoglomus constrictum*) mientras que, *Ambispora appendiculta* y *Ambispora sp.* se registraron en los sitios 1 y 2. Así mismo, *Acaulospora aspera* sólo se encontró en el sitio 1; mientras que, en el sitio 2 se aislaron exclusivamente tres especies (*Gigaspora albida*, *Gigaspora gigantea* y *Sclerocystis sinuosum*) y seis especies en el sitio 3 (*Acaulospora lacunosa*, *Acaulospora paulinae*, *Acaulospora punctata*, *Scutellospora calospora*, *Funneliformis mosseae* y Glomus macrocarpum) (Tabla 3). Con respecto a la similitud de especies, los sitios 2 y 3 compartieron más del 50 % de las especies de HMA y se unieron en un grupo, siendo diferentes al sitio 1 (Figura 18B).

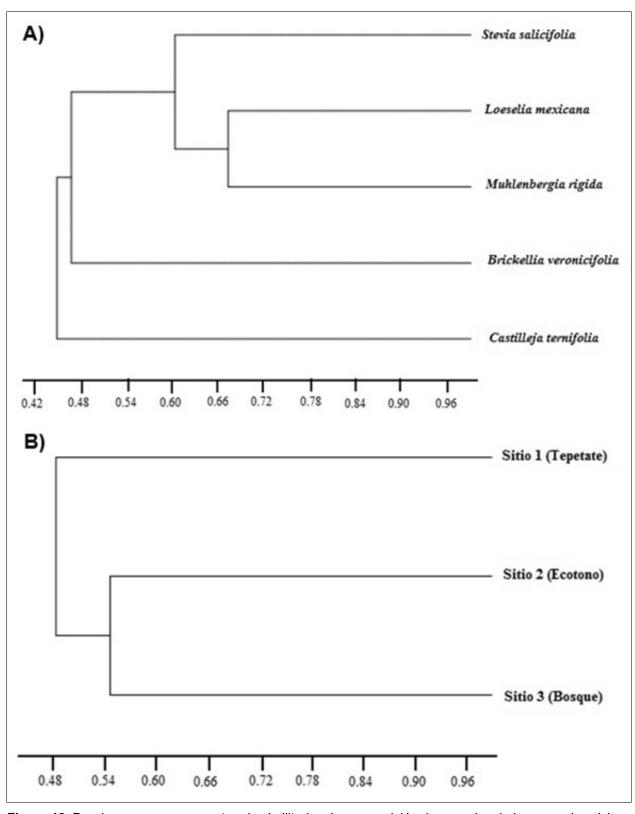


Figura 18. Dendrogramas que muestran la similitud en la composición de especies de hongos micorrízicos arbusculares entre: A) las especies vegetales y B) los sitios de muestreo en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

La riqueza de especies de HMA varia de 12 a 21, entre las plantas silvestres. En *Loeselia mexicana* se registró el mayor número de especies y en *Castilleja tenuiflora* el menor. Así mismo, la especie vegetal se relaciona con la estructura de la comunidad. Las comunidades más diversas y equitativas se registraron en *Stevia salicifolia* y *Muhlenbergia rigida*. En contraste, *Castilleja tenuiflora* mostró la menor diversidad y equidad, pero la mayor dominancia (Tabla 4). De igual manera, se pudo observar que la especie de HMA más abundante en las cinco plantas silvestres fue *Funneliformis geosporum* seguido de *Rhizophagus intraradices* (Figura 19).

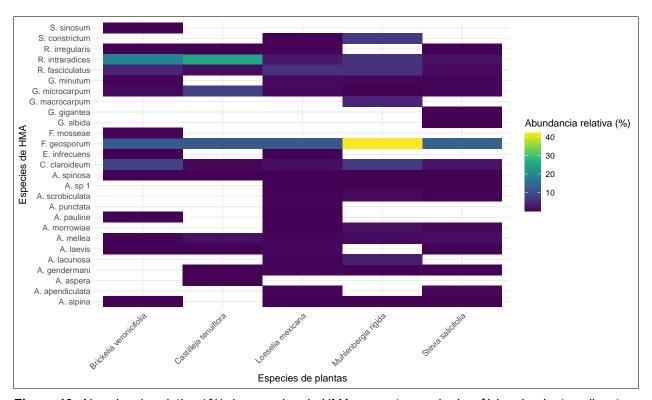


Figura 19. Abundancia relativa (%) de especies de HMA presentes suelo rizosférico de plantas silvestres que crecen en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

En cuanto a los valores de los índices por sitios, el Sitio 1 presentó el menor número de especies; mientras que el Sitio 3 presenta el mayor número de especies con los valores más altos de diversidad de Shannon-Wienner (Tabla 5).

Tabla 3. Especies de HMA asociados a tres sitios con diferente cobertura vegetal en Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

#	Especie de HMA	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
1	Acaulospora alpina		Χ	Х
2	Acaulospora aspera	Χ		
3	Acaulospora lacunosa			Χ
4	Acaulospora laevis	Χ	Χ	Χ
5	Acaulospora mellea	Χ	Χ	Χ
6	Acaulospora morrowiae	Χ	Χ	Χ
7	Acaulospora paulinae			Χ
8	Acaulospora punctata			Χ
9	Acaulospora scrobiculata		Χ	Χ
10	Acaulospora spinosa		Χ	Χ
11	Ambispora appendiculata	Χ	Χ	
12	Ambispora gendermannii	Χ	Χ	Χ
13	Ambispora sp	Χ	Χ	
14	Entrophospora infrequens	Χ	Χ	Χ
15	Gigaspora albida		Χ	
16	Gigaspora gigantea		Χ	
17	Scutellospora calospora			X
18	Claroideoglomus claroideum	Χ	Χ	Χ
19	Funneliformis geosporum	Χ	Χ	Χ
20	Funneliformis mosseae			Χ
21	Glomus macrocarpum			Χ
22	Glomus aff. microcarpum	Χ	Χ	Χ
23	Glomus minutum		Χ	Χ
24	Septoglomus constrictum		Χ	Χ
25	Rhizophagus fasciculatus	Χ	Χ	Χ
26	Rhizophagus intraradices	Χ	Χ	Χ
27	Rhizophagus irregularis	Χ	Χ	Χ
28	Sclerocystis sinuosum		Χ	

Tabla 4. Medidas de diversidad de HMA en especies vegetales que crecen en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

Parámetros ecológicos	Castilleja tenuiflora	Stevia salicifolia	Loeselia mexicana	Brickellia veronicifolia	Muhlenbergia rigida
Riqueza (S)	12	16	16	18	21
Diversidad máxima (H´max)	2.48	2.77	2.77	2.89	3.04
Diversidad de Shannon-Wienner	1.55	1.50	1.62	1.89	1.59
Dominancia de Simpson	0.35	0.28	0.31	0.19	0.33
Equitatividad de Pielou	0.56	0.54	0.61	0.65	0.52

Tabla 5. Medidas de diversidad de HMA en tres sitios del bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

Parámetros ecológicos	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Riqueza (S)	14	20	22
Diversidad máxima (Hmax)	2.64	3.00	3.09
Diversidad de Shannon-Wienner	1.74	1.66	1.76
Dominancia de Simpson	0.21	0.24	0.29
Equitatividad de Pielou	0.66	0.55	0.57

III.4 Caracterización del Suelo

Se midieron algunas características de los suelos rizosféricos de las cinco especies vegetales estudiadas (*Brickellia veronicifolia*, *Castilleja tenuiflora*, *Muhlenbergia rigida*, *Loeselia mexicana* y *Stevia salicinifolia*) las cuales presentaron los siguientes resultados: pH neutro, textura franco-arenosa, contenido de fósforo y materia orgánica, bajo y muy bajo, respectivamente, de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002) (Anexo VI.1),no obstante, los valores más altos de materia orgánica registraron en *Stevia salicifoia* y *Loeselia mexicana*. Los resultados obtenidos en el análisis de los parámetros edáficos entre las especies estudiadas indican un comportamiento sin diferencias significativas entre las variables. (Tabla 6).

Con respecto a las características físicas y químicas de suelo analizadas por sitio 1, sitio 2 y sitio 3, el pH fue neutro, la textura franco-arenosa y el contenido de materia orgánica muy bajo; no obstante, los valores más altos de pH y materia orgánica registraron también en el sitio 3 (Tabla 7).

Tabla 6. Características físicas y químicas en suelo rizosférico de especies vegetales que crecen en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala.

Parámetro	Brickellia ve	eronicifolia	cifolia Castilleja tenui		Muhlenbergia rigida	
raiailieuo	Promedio	Grupos	Promedio	Grupos	Promedio	Grupos
pH	6.85	а	6.78	а	6.77	а
Clase textural	Franco arenoso	NA	Franco arenoso	NA	Franco arenoso	NA
Materia Orgánica	0.65	а	0.86	а	0.75	а
Fósforo (mg/kg)	10.8	а	12.67	а	7.91	а
Densidad Aparente	1.12	а	1.05	а	1.12	а
Porosidad (%)	57.90	а	60.28	а	57.65	а
Parámetro	Loeselia mexicana		Stevia salicifolia			
r didiliono	Promedio	Grupos	Promedio	Grupos		
pН	6.77	а	6.73	а		
Clase textural	Franco arenoso	NA	Franco arenoso	NA		
Materia Orgánica	1.33	а	1.81	а		
Fósforo (mg/kg)	3.56	а	12.71	а		
Densidad Aparente	1.01	а	1.02	а		
Porosidad (%)	61.72	а	61.54	а		

Tabla 7. Características físicas y químicas de suelo rizosférico de los sitios de muestreo en el bosque de Sabino de Santa María Ixcotla, Tlaxcala: Comparación de medias y grupos significativos por ambiente

Parámetro	Sitio	o 1 Sitio 2		2	Sitio 3	
raramono	Promedio	Grupos	Promedio	Grupos	Promedio	Grupos
pН	6.75	а	6.76	а	6.83	а
Clase textural	Franco	NA	Franco	NA	Franco	NA
Clase textural	arenoso	INA	arenoso	INA	arenoso	INA
Materia Orgánica	0.931	а	0.976	а	1.33	а
Fósforo (mg/kg)	9.55	а	12.1	а	6.93	а
Densidad Aparente	1.10	а	1.08	а	1.01	а
Porosidad (%)	58.4	а	59.2	а	61.8	а

IV Discusión

En el estado de Tlaxcala, el bosque de *Juniperus deppeana* se encuentra típicamente en áreas reducidas afectadas por actividades humanas o fenómenos naturales, donde las condiciones del suelo no son propicias para el desarrollo, crecimiento y reproducción de las plantas silvestres. Sin embargo, es importante destacar que, a pesar de estas condiciones adversas, las plantas silvestres logran sobrevivir y adaptarse a estos entornos (Herrerías Mier y Nieto de Pascual Pola, 2020). La asociación con HMA que además, desempeña un papel crucial en su establecimiento y supervivencia, mejorando la respuesta a la sequía, protegiendo contra patógenos y favoreciendo las propiedades físicas y químicas del suelo (Cadot *et al.*, 2023).

En este estudio, se analizaron cinco especies de plantas silvestres provenientes de un bosque de sabino (*Loeselia mexicana*, *Stevia salicifolia*, *Brickelia veronicifolia*, *Castilleja tenuiflora* y *Muhlenbergia rigida*). Estas especies fueron seleccionadas por sus propiedades medicinales y los usos que les otorgan los habitantes de la zona, además de ser consideradas con potencial para la restauración de suelos tepetatosos. Se investigó la presencia de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rizosfera de cada una de ellas, con el fin de identificar las especies de HMA a las cuales se les podría atribuir que colonizan a las plantas silvestres.

Se han realizado varios estudios sobre el comportamiento de las plantas silvestres y su asociación con los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), como el llevado a cabo por Chávez-Hernández et al. (2021) en un bosque templado del estado de Guerrero. En este estudio se reportaron catorce especies de plantas silvestres con propiedades medicinales, entre las cuales se encontró que *Loeselia mexicana* presentaba un porcentaje de colonización del 40.74 %. Este resultado fue inferior al porcentaje encontrado en nuestro estudio, que fue del 60 %. Además, el estudio del bosque templado reportó una baja riqueza de especies de HMA con solo ocho de ellas, lo cual difiere de nuestro estudio, donde se registró la riqueza más alta con 21 especies. Es

importante destacar que en el bosque de sabino del estado de Tlaxcala se observaron los valores más altos tanto en porcentaje de colonización como en riqueza de especies de HMA en *Loeselia mexicana*.

de La Rosa-Mera *et al.* (2012) quien realizó estudios bajo condiciones de invernadero, reportó un porcentaje de colonización por HMA del 70 % en *Castilleja tenuiflora*, valor considerablemente superior al 40 % reportado en condiciones naturales en el bosque de sabino. Además, se menciona a nivel de familia que se encontraron especies de HMA pertenecientes exclusivamente a la familia Acaulosporaceae. Sin embargo, en lo reportado por este estudio encontramos especies de HMA presentes en la rizosfera de *Castilleja tenuiflora* pertenecientes a las familias Acaulosporaceae, Ambisporaceae, Scutellosporaceae Y Glomeraceae. Esto sugiere que, a nivel de campo, la diversidad de familias es mayor en comparación con las especies cultivadas en invernadero. Sin embargo, el porcentaje de colonización podría ser bajo debido a factores como la competencia por las raíces o la naturaleza del sustrato.

No solo los ecosistemas pueden ser afectados por la degradación, sino también por la presencia de metales pesados que alteran su composición. Sin embargo, ciertas especies vegetales han logrado colonizar estos sitios, atribuyéndose la asociación con HMA como facilitadora de su supervivencia en estos ambientes. García Velasco *et al.* (2016) realizaron un estudio en cuatro sitios diferentes donde crecen siete especies vegetales bajo la influencia de materiales pesados, en Oaxaca. Para *Brickelia veronicifolia*, se reportó un porcentaje de colonización que varió entre el 68 % y el 86 %. En contraste, Hernández (2009) llevó a cabo un muestreo en dos localidades del estado de Tlaxcala, caracterizadas por condiciones tepetatosas, registrando un 80 % de colonización por HMA en una localidad y un 20 % de colonización calculado en la otra localidad muestreada. Los resultados de ambos estudios difieren con respecto a lo reportado para *Brickelia veronicifolia* en nuestro estudio, donde se observó una colonización del

40 %. La diferencia en los porcentajes de colonización entre los estudios podría estar relacionada con las condiciones ambientales específicas, la composición de las comunidades de HMA y la capacidad de adaptación de la planta frente a la contaminación y la degradación del suelo.

Aunque no se dispone de información detallada sobre la asociación entre *Muhlenbergia rigida* y hongos micorrízicos arbusculares (HMA), Santillana y Toro (2018) ha explorado la asociación entre *Muhlenbergia lingularis* y HMA en una comunidad de Ccarhuaccpampa, Perú. En su estudio, reporta un porcentaje de colonización del 21 % y una asociación con especies pertenecientes a los géneros *Glomus* y *Acaulospora*. Por otro lado, en este trabajo se reporta un porcentaje de colonización del 39 % para *Muhlenbergia rigida*, que concuerda con lo reportado para *Muhlenbergia lingularos*. Sin embargo, para *Muhlenbergia rigida* se identificaron especies de los géneros *Acaulospora*, *Ambispora*, *Rizophagus*, *Funneliformis* y *Claroideoglomus*.

Trabajos anteriores con el género *Stevia*, se ha informado que la colonización varía entre el 15 % y el 72 % en *Stevia rebaudiana* inoculada con *Rhizophagus irregularis* (Sarmiento-López *et al.*, 2021). Además, se destacó que esta cepa de *Rhizophagus irregularis* mostró efectos superiores al ser inoculada en *Stevia rebaudiana*, alcanzando un 20 % de colonización, en comparación con las especies *Glomus cubense* y *Funneliformis mosseae* (Almaguer-Ricardo *et al.*, 2023). En el caso de *Stevia salicifolia* desarrollada en el bosque de sabino, se registró una colonización del 55 %, a pesar de las condiciones ambientales adversas, así mismo, coincide con la presencia de la especie de HMA *Rhizophagus irregularis* en su rizosfera.

Jiménez Martínez et al. (2019) identificaron diez especies de HMA donde Funneliformis mosseae fue el más abundante, seguido de Acaulospora morrowiae y Scutellospora pellucida en un bosque de pino en Tlaxcala donde la vegetación es abundante, estos resultados no concuerdan con lo descrito en este estudio dado que se registró un número mayor de especies de HMA (27 especies en total) aún en un bosque de sabino con posible fragmentación y sus diferencias

ecológicas con el bosque de pino.

En este estudio se identificaron 27 especies de HMA en un bosque de sabino, una zona caracterizada por condiciones tepetatosas. Estos resultados difieren significativamente de los reportados por Hernández (2009) para dos localidades con características similares en el estado de Tlaxcala. En Altzayanca, se registraron 14 especies y en Atlagatepec 13 especies de HMA, destacando en ambas la especie *Glomus claroideum* como la más abundante. Esto contrasta con nuestro estudio, donde las especies mejor representadas fueron *Funneliformis geosporum* seguida de *Rhizophagus intraradices*.

González-Chávez et al. (2004) señala que la asociación entre los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las raíces contribuye significativamente a la agregación del suelo. Recientemente se ha descubierto que todos los HMA producen una proteína conocida como glomalina, la cual se acumula en hifas, raíces y en el suelo. Se atribuye a esta proteína la mejora del suelo al fomentar la formación de agregados, lo que a su vez aumenta la porosidad del suelo. Este hallazgo parece respaldar lo encontrado en *Loeselia mexicana* que exhibió un mayor porcentaje de colonización y una mayor riqueza de especies de HMA. Además, presentó el valor más alto en cuanto a porosidad. Se observó un efecto similar en el sitio tres, donde también se encontró el mayor porcentaje de colonización y una mayor riqueza de especies de HMA.

El pH registrado en el estudio para las plantas silvestres varía entre 6.73 y 6.85, mientras que por sitio de muestreo oscila entre 6.74 y 6.83, lo que indica suelos neutros. Según Herrera Oyola (2024), estos valores se encuentran dentro del rango óptimo para el crecimiento de plantas asociadas con micorrizas arbusculares.

Los resultados obtenidos respecto al fósforo y los HMA coinciden con lo reportado por Villagómez-González et al. (2024), menciona que una de las especies de HMA asociada con niveles elevados de fósforo es *Gigaspora gigantea*, encontrada específicamente en el sitio 2 y

asociada exclusivamente a la especie *Stevia salicifolia*, donde los niveles de fósforo disponible fueron altos. Por otro lado, también coincide en que la mayoría de las especies de HMA se encuentran en áreas con niveles más bajos de fósforo, destacando el caso de *Loeselia mexicana*, que presenta las concentraciones más reducidas de fósforo al igual que el sitio 3.

A pesar de contar con niveles muy bajos de materia orgánica, se observó que en el sitio 2 y en la rizosfera de *Stevia salicifolia*, donde esta fue ligeramente más elevada, se registró un incremento en el número de esporas y en el porcentaje de colonización por hongos micorrízicos arbusculares (HMA), en comparación con otras áreas. Este hallazgo respalda lo mencionado por Carballar Hernández (2017), quienes sugieren que la presencia de materia orgánica tiende a favorecer una mayor colonización por HMA.

V Conclusiones

En el estudio de colonización por hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres, se encontró que todas las especies analizadas presentaron colonización por HMA. *Loeselia mexicana* y *Stevia salicifolia* destacaron como las especies con mayor colonización, mientras que *Muhlenbergia rigida* mostró la menor colonización. En términos de número de esporas de HMA, *Stevia salicifolia* fue la especie más número de esporas, en contraste con *Brickelia veronicifolia* que registró el menor número de esporas.

Los datos obtenidos indican que las especies de plantas estudiadas presentan una variación significativa en términos de riqueza y diversidad. En particular, *Stevia salicifolia* y *Loeselia mexicana* muestran diferencias notables en la cantidad de individuos dentro de las comunidades analizadas. Por otro lado, *Castilleja tenuiflora* muestra la menor riqueza de especies. La dominancia de Simpson es mayor en *Stevia salicifolia*. Los suelos rizosféricos de las cinco especies vegetales estudiadas presentan características consistentes, como pH neutro, textura franco-arenosa, y bajos contenidos de fósforo y materia orgánica. Estos factores pueden tener un impacto significativo en la comunidad de hongos micorrízicos arbusculares que colonizan las raíces de estas plantas. El sitio 3 podría estar favoreciendo la riqueza de especies de HMA debido a sus condiciones de suelo más favorables en comparación con los otros sitios estudiados.

Estos resultados resaltan la importancia de los HMA en la adaptación de las plantas silvestres a sus ambientes, así como la influencia de las condiciones edáficas locales en la estructura y función de las comunidades simbióticas

VI Referencias

- Almaguer-Ricardo, Y., Mujica-Pérez, Y., Terry-Alfonso, E. (2023). Respuesta de la especie Stevia rebaudiana Bertoni a la inoculación con cepas de hongos micorrízicos arbusculares. *Cultivos Tropicales*, *44*(4), cu-id.
- Almaraz-Suárez, J. J., González-Mancilla, A., Ferrera-Cerrato, R., Rodríguez-Guzmán, M., Taboada-Gaytán, O. R., Hernández-Cuevas, L. V., Alarcón, A., Trinidad-Santos, A. (2021). Hongos micorrízicos arbusculares en la rizósfera de plantas nativas y su efecto en el crecimiento de chile poblano. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *44*(4), 571-571.
- Augé, R. M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, *11*(1), 3-42.
- Bastida Rodríguez, M., et al. (2022). La microbiota del suelo: micorrizas arbusculares y sus efectos en el viñedo.
- Brundrett, M., Ashwath, N., Jasper, D., Abbott, L., Bougher, N., Brennan, K., Malajczuk, N. (2008). Mycorrhizal associations. *The Web Resource. Available online: http://mycorrhizas.info/index. html (accessed on 29 May 2020)*.
- Cadot, S., Hohmann, P., Hsung, M.-H., Hartmann, M., Haug, B., Wille, L., Messmer, M. M., Bodenhausen, N. (2023). Fungal microbiome indicators are associated with genotypic variation in pea root rot susceptibility when intercropped with barley. *Phytobiomes Journal*, 8(1), 97-109.
- Camargo-Ricalde, S. L., Arias, N. M. M., Mera, C. J. d. I. R., Arias, S. A. M., et al. (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *13*(7), 1-19. https://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf
- Carballar Hernández, S. (2017). Diversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares de agroecosistemas de chile poblano (Capsicum annuum L).
- Carballar-Hernández, S., Hernández-Cuevas, L., Ferrera-Cerrato, R. (2020). Técnicas básicas para el estudio de los hongos micorrízicos arbusculares. En J. Delgadillo-Martínez, J. Ferrera-Cerrato, R. Alvarado-López, A. Alarcón, J. Pérez-MorenoJ. Almaraz-Suárez (Eds.), *Microbiología Aplicada a la Agricultura y Agroecosistemas: Principios y técnicas para su investigación* (1 edición, pp. 91-118). Biblioteca básica de agricultura.
- Castillejos-Cruz, C.,Ramírez-Ramírez, R. I. (1992). Florística y Vegetación del estado de Tlaxcala [Tesis doctoral, Tesis profesional de Biólogo. Escuela Nacional de Estudios Profesionales].
- Chávez-Hernández, C. G., Barrera Aguilar, C. C., Téllez Espinosa, G. J., Chimal-Sánchez, E., García-Sánchez, R. (2021). Colonización micorrízica y comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares en plantas medicinales del bosque templado "Agua Escondida", Taxco, Guerrero, México. *Scientia fungorum*, *51*.
- CONABIO. (2008). Capital natural de México, vol. I : Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. http://www2.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/CapNatMex/Vol%20I/I00_PrefacioGuia.pdf
- de La Rosa-Mera, C., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Sánchez-Colín, M. D. J., Franco-Ramírez, A. (2012). Aislamiento de consorcios de hongos micorrícicos arbusculares de plantas medicinales y su efecto en el crecimiento de vinca (Catharanthus roseus). *Revista Chilena de Historia Natural*, 85(2), 187-198.

- Fall, A. F., Nakabonge, G., Ssekandi, J., Founoune-Mboup, H., Apori, S. O., Ndiaye, A., Badji, A.,Ngom, K. (2022). Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on soil fertility: Contribution in the improvement of physical, chemical, and biological properties of the soil. *Frontiers in Fungal Biology*, 3.
- Feddermann, N., Finlay, R., Boller, T.,Elfstrand, M. (2010). Functional diversity in arbuscular mycorrhiza—the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency. *Fungal Ecology*, 3(1), 1-8.
- Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., Pérez-Tienda, J. (2019). Arbuscular mycorrhizas as key players in sustainable plant phosphorus acquisition: An overview on the mechanisms involved. *Plant Science*, 280, 441-447.
- García, M. H. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anuales del jardín botánico de Madrid*, *66*(1), 133-144.
- García Velasco, G. P., et al. (2016). Diversidad y potencial fitorremediador de hongos de micorriza arbuscular en especies vegetales que colonizan jales mineros [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación y Desarrollo Integral Regional.
- Genre, A., Lanfranco, L., Perotto, S., Bonfante, P. (2020). Unique and common traits in mycorrhizal symbioses. *Nature Reviews Microbiology*, *18*(11), 649-660.
- Gonzalez, M., Ruscitti, M., Arango, C., Pastorino, G. (2018). Micorrizas arbusculares y la restauración de ecosistemas degradados. *Libros de Cátedra*, 52-63.
- Gonzalez, M., Arango, C., Pastorino, G., Ruscitti, M. (2020). Capítulo 5: Micorrizas arbusculares y la restauración de ecosistemas degradados. En M. C. Nazareno Saparrat, M. F. RuscittiM. C. Arango (Eds.), *Micorrizas arbusculares* (pp. 89-105). De la UNLP.
- González-Chávez, M., Gutiérrez-Castorena, M., Wright, S. (2004). Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 507-514.
- Grilli, G., Longo, S., Huais, P. Y., Pereyra, M., Verga, E. G., Urcelay, C., Galetto, L. (2017). Fungal diversity at fragmented landscapes: synthesis and future perspectives. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 161-165.
- Halffter, G., Ezcurra, E. (1992). Qué es la biodiversidad. En G. Halffter (Ed.), *La Diversidad Biológica de Iberoamérica I* (pp. 3-24, Vol. Volumen Especial). Instituto de Ecología, A.C.
- Hernández, F. (2009). Hongos micorrizogenos arbusculares en dos localidades con tepetates sujetas a restauración en Tlaxcala [Tesis de licenciatura]. Universidad Autonoma de Tlaxcala, Centro de Investigación de Ciencias Biológicas.
- Hernández-Cuevas, L. V., Guadarrama-Chávez, P., Sánchez-Gallen, I.,Ramos-Zapata, J. (2008). Micorriza Arbuscular. Colonización intrarradical y extracción de esporas del suelo. En J. Alvarez-SanchezA. Monroy (Eds.), *Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración* (1 edición, pp. 1-15). Las prensas de las ciencias.
- Herrera Oyola, R. M. (2024). *Influencia del pH del suelo en la multiplicación de las micorrizas* [B.S. thesis]. BABAHOYO: UTB, 2024.
- Herrerías Mier, L. G., Nieto de Pascual Pola, M. C. d. C. (2020). Características estructurales y demográficas de Juniperus deppeana Steud. en dos localidades del estado de Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *11*(61), 124-151.

- Jaizme-Vega, M.,Rodríguez-Romero, A. (2006). Uso potencial de hongos micorrícicos en sanidad vegetal. *Vida Rural*, 229, 28-30.
- Jiménez Martínez, A., Gutiérrez Castorena, M., Gutiérrez Castorena, E. V., Alarcón, A., Gavito Pardo, M. E., Montaño Árias, N. M. (2019). The role of fungi in the conservation of Andosols: case study in Tlaxcala México. *Terra Latinoamericana*, *37*(2), 93-103.
- Lanfranco, L., Bonfante, P.,Genre, A. (2016). The mutualistic interaction between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiology Spectrum*, *4*(6), 10-1128.
- Ley General de Vida Silvestre [Diario Oficial de la Federación, 5 de junio de 2000]. (2000). https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5477892&fecha=05/06/2000
- Lumbreras, S., José, A., Garmendia, S. (2008). *Introducción práctica a la Ecología*. Pearson Educación.
- Martínez, A. J., Sainos, P., Lezama Delgado, E., Angeles-Álvarez, G. (2007). El tamaño sí importa: los frutos grandes de Juniperus deppeana Steud.(sabino) son más susceptibles a depredación por insectos. *Madera y Bosques*, *13*(2), 65-81.
- Martínez y Pérez, J., Santiago-Martínez, M., García Sastré, M., Nava Gutiérrez, Y., Águila Flores, V., Galindo Flores, G., Hernández-Cuevas, L., Guerra de la Cruz, V. (2011). *Catálogo botánico ilustrado de tepetates en Tlaxcala*. FOMIXUAT.
- Nava, J. A. (1998). *Condicion Micorrizica de Algunas Cactaceas del Estado de Tlaxcala* [Tesis de licenciatura]. Universidad Autonoma de Tlaxcala.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763-775.
- Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., Van Der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(11), 789-799.
- Polo-Marcial, M. H., Lara-Pérez, L. A., Goto, B. T., Margarito-Vista, X., Andrade-Torres, A. (2021). Glomeromycota in Mexico, a country with very high richness. *Sydowia*, *74*, 33-63.
- Pozo, M. J., Azcón-Aguilar, C. (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current opinion in plant biology*, *10*(4), 393-398.
- Rodriguez, F. (2009). Uso de simbiontes mutualistas en plantas nativas y cultivadas usadas para la restauracion de tepetates [Tesis de licenciatura]. Universidad Autonoma de Tlaxcala.
- Rui, W., Mao, Z.,Li, Z. (2022). The roles of phosphorus and nitrogen nutrient transporters in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11027.
- Rukavina, F. G. (2024). Uso de hongos saprótrofos y hongos formadores de micorrizas arbusculares seleccionados para la promoción del crecimiento vegetal y la protección contra nematodos fitopatógenos en cultivos hortícolas [Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata].
- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp. *Comentario [MGRE1]: No está en el texto*.
- Santillana, N., Toro, M. (2018). Asociación micorrízica arbuscular en pastizales de la Comunidad Alto Andina de Ccarhuaccpampa-Ayacucho. *Ecología Aplicada*, *17*(2), 165-169.

- Sarmiento-López, L. G., López-Meyer, M., Sepúlveda-Jiménez, G., Cárdenas, L.,Rodríguez-Monroy, M. (2021). Arbuscular mycorrhizal symbiosis in Stevia rebaudiana increases trichome development, flavonoid and phenolic compound accumulation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *31*, 101889.
- Sarukhán, J., Koleff, P., Carabias, J., Soberón, J., Dirzo, R., Llorente, J., Halffter, G., González, R., March Mifsut, I., Mohar, A., Anta, S., Maza, J., Pisanty, I., Urquiza-Haas, T., Gonzalez, S., Méndez, G. (2017, diciembre). Capital natural de México. Síntesis: evaluación del conocimiento y tendencias de cambio, perspectivas de sustentabilidad, capacidades humanas e institucionales.
- Silva, H. D. D., Montoya, L. V. G. (2022). Hongos micorrizas arbusculares: la simbiosis de los múltiples beneficios. *El Higo Revista Científica*, *12*(2), 2-14.
- Smith, S. E., Anderson, I. C., Smith, F. A. (2015). Mycorrhizal associations and phosphorus acquisition: from cells to ecosystems. *Annual plant reviews volume 48: Phosphorus metabolism in plants*, *48*, 409-439.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, *367*(6480), eaba1223.
- Ulian, T., Flores, C., Lira, R., Mamatsharaga, A., Mogotsi, K. K., Muthoka, P., Ngwako, S., Nyamongo, D., Omondi, W., Sanogo, A. K., Sanogo, E., S. and Mattana. (2019). *Wild Plants for a Sustainable Future: 110 Multipurpose Species*. Royal Botanic Gardens, Kew. https://press.uchicago.edu/ucp/books/book/distributed/W/bo38337206.html
- Vargas-Vázquez, V. A., Sanchez-Rangel, N. I., Hernández-Cuevas, L. V., Guevara-Guerrero, G. (2021). Riqueza de especies de hongos micorrízicos asociados a plantas de la familia Euphorbiaceae en el Área Natural Protegida Altas Cumbres, Tamaulipas, México. *CienciaUAT*, *16*(1), 6-19.
- Villagómez-González, B. B., Robles, C., Carballar-Hernandez, S. (2024). Richness and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi associated with quelites in the Sierra Sur region of Oaxaca, Mexico. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(4).
- Villaseñor, L. J., Ortiz, E. (2014). Biodiversity of flowering plants (Division Magnoliophyta) in Mexico. REVISTA MEXICANA DE BIODIVERSIDAD, 85, S134-S142.

VI ANEXOS

VI.1 NOM-021-RECNAT-2000: Interpretación de Resultados de Suelo

Tabla 8. Valores para la clasificación del suelo en cuanto a pH

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

Tabla 9. Valores para la interpretación de resultados de Fósforo de Bray y Kurtz

Clase	Mg Kg -1 de P
Bajo	<15
Medio	15 – 30
Alto	>30

Tabla 10. Valores para la interpretación de resultados de Materia Orgánica

Clase	Materia orgánica (%) Suelos volcánicos
Muy bajo	<4.0
Bajo	4.1 - 6.0
Medio	6.1 - 10.9
Alto	11.0 – 16.0
Muy Alto	>16.1