



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**Unidad Iztapalapa**

**Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares asociados a helechos de  
un bosque tropical caducifolio de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda,  
Querétaro, México**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de Maestra en Biología**

Presenta:

**Biól. Ana Alejandra Bautista Cruz**

Directora de Tesis: Dra. Armida Leticia Pacheco Mota

Cd. de México, 17 de Marzo de 2016

**La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al  
Padrón Nacional de Posgrados de Calidad del Consejo Nacional de Ciencia y  
Tecnología (CONACyT) de México como programa consolidado**

**Esta tesis se realizó en el laboratorio de Biosistemática de Helechos y Licofitas  
(AS-016), del Departamento de Biología, de la Universidad Autónoma  
Metropolitana, Unidad Iztapalapa.**

Forma sugerida para citar esta tesis:

Bautista-Cruz, A. A. 2016. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares asociados a helechos de un bosque tropical caducifolio de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Querétaro, México. Tesis de Maestría. Maestría en Biología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, Cd. de México (89pp)

El Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
de la Unidad Iztapalapa, aprobó la tesis que presentó

Biól. Ana Alejandra Bautista Cruz

El día 17 de marzo de 2016

**Comité Tutorial**

**Directora:** Dra. Armida Leticia Pacheco Mota

**Asesora:** Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde

**Asesor:** Dr. Noé Manuel Montaña Arias

**Jurado**

**Presidente:** Dra. Sara Lucía Camargo Ricalde

**Secretario:** Dr. Noé Manuel Montaña Arias

**Vocal:** M. en C. Laura Verónica Hernández Cuevas

**Vocal:** Dr. Alejandro Alarcón

Dr. Miguel Ángel Arnaldo Villalobos

Handwritten signatures of the jury members over horizontal lines. The signatures are: Sara Lucía Camargo Ricalde, Noé Manuel Montaña Arias, Laura Verónica Hernández Cuevas, and Alejandro Alarcón. There is also a signature for Dr. Miguel Ángel Arnaldo Villalobos written below the Alarcón signature.

## **Dedicatoria**

A mis padres, José David Bautista y María Isabel Cruz, por su amor, su cariño, su compañía, su comprensión y el ánimo brindado durante la realización de esta historia, la cual es un logro más en mi vida.

A mis hermanas Laura y Anahí y mi sobrina Sofía, por los momentos de alegría y ánimos dados para culminar este trabajo.

**“De lo que he vivido, lo real todavía existe. Lo que no es real, o no lo fue, se olvida.**

**Para mí, lo real es lo que nos hace crecer”**

**Daniela Rivera**

## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para la realización del proyecto de tesis de Maestría en Biología (No. de Beca: 30298).

Al municipio de Jalpan de Serra, Querétaro, por las facilidades otorgadas para la realización de esta investigación.

A la Dra. Leticia Pacheco por su amistad, aprecio, ánimos, compañía, comprensión, ayuda y orientación, la cual me encaminó durante la realización de la tesis.

A la Dra. Sara Lucía Camargo por ser parte de este proyecto y destinar parte de su tiempo en la revisión de la tesis.

Al Dr. Noé M. Montaña por su tiempo y sus importantes sugerencias para la obtención de esta tesis.

A la M. en C. Laura Verónica Hernández Cuevas por su asesoría en la identificación de los hongos micorrizógenos arbusculares y la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Alejandro Alarcón, por sus valiosos comentarios y sugerencias en la revisión de la tesis.

Al M. en B. Eduardo Chimal por su tiempo, sus útiles e importantes sugerencias en el manejo de los programas estadísticos.

A Oliver, Selene, Iván, la M. en B. Susana Montaña Arias y la M. en B. Laura Guzmán Cornejo, por su ayuda en el trabajo de campo.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	11
2. ANTECEDENTES.....	14
3. JUSTIFICACIÓN .....	27
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS.....	31
5. OBJETIVOS.....	32
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
6.1 Descripción del área de estudio	
6.2 Trabajo de campo	
6.3 Trabajo de laboratorio	
6.3.1 Extracción de esporas y determinación de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	
6.3.2 Determinación de la abundancia, riqueza y diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	
6.3.3 Determinación de la colonización micorrícica en raíces de los helechos	
6.3.4 Determinación de las propiedades físicas y químicas del suelo	
6.4 Análisis estadístico	
7. RESULTADOS.....	46
7.1 Abundancia, riqueza y diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)	
7.2 Colonización micorrícica en raíces de los helechos	
7.3 Propiedades físicas y químicas del suelo, y temporalidad	
8. DISCUSIÓN.....	68
9. CONCLUSIONES.....	77
10. LITERATURA CITADA.....	79
11. ANEXO.....	89

## RESUMEN

La micorriza arbuscular (MA) está formada por hongos del Phylum Glomeromycota, los cuales establecen relaciones simbióticas con el 90% de las especies de plantas terrestres, influyendo en la diversidad vegetal y la productividad en los ecosistemas naturales. La diversidad de morfotipos de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y, por lo tanto, la MA, son susceptibles a factores bióticos y abióticos. Poco se sabe de la MA y de los HMA en los bosques tropicales caducifolios (BTC), principalmente en los helechos, por lo que este estudio tuvo como objetivo determinar la abundancia y diversidad de los HMA en el suelo rizosférico y la colonización de las raíces, en dos helechos, *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, y su relación con las propiedades físicas y químicas del suelo, durante tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en un BTC, de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Mpio. Jalpan de Serra, Querétaro. En las tres temporadas (inicio de lluvias: mayo 2014; lluvias: agosto 2014 y secas: febrero 2015), en el BTC se ubicaron siete poblaciones de cada taxa de helecho (42 individuos/taxon), se recolectaron muestras de suelo rizosférico (1kg) de cada población. De las muestras de suelo se extrajeron las esporas de HMA mediante un tamizado húmedo, seguido por centrifugación con sacarosa, para determinar la abundancia, riqueza y diversidad de esporas de HMA, así mismo, se determinaron propiedades físicas (temperatura, humedad y pH) y químicas (materia orgánica (MOS), fósforo, nitrógeno total (Nt), amonio (NH<sub>4</sub>) y nitrato (NO<sub>3</sub>) para caracterizar a los suelos. Se recolectaron las raíces de cada taxon de helechos/ población, los fragmentos de raíces se aclararon, se tiñeron y se montaron en alcohol-polivinílico-lactoglicerol, para determinar el porcentaje de colonización total y por estructura fúngica. Por medio de diferentes pruebas estadísticas (análisis de varianza de dos factores, índices de diversidad y de similitud y análisis de componentes principales) se analizaron estas variables. Los resultados indicaron mayor abundancia de esporas de HMA en *M. aemula*, a diferencia de *C. lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas. Se encontró mayor riqueza de HMA en *M. aemula* en dos temporadas (lluvias y secas); mientras que para el inicio de lluvias, *C. lozanoi* var. *seemannii* presentó la mayor riqueza. Se registraron 23 morfoespecies de HMA, pertenecientes a nueve

géneros; cuatro morfoespecies del género *Acaulospora*, una a *Ambispora*, dos a *Diversispora*, una a *Entrophospora*, dos a *Funneliformis*, una a *Gigaspora*, ocho a *Glomus*, tres a *Scutellospora* y una a *Rhizophagus*. El ANOVA mostró que en el suelo rizosférico de *M. aemula* y de *C. lozanoi* var. *seemannii*, los índices de equidad, dominancia y la riqueza específica de HMA, no difirieron entre las temporadas, pero sí entre los taxa de helechos. La colonización total y por estructura fúngica de HMA fue diferente entre helechos y entre temporadas; las raíces de *M. aemula* presentaron mayores porcentajes de colonización micorrícica total, por vesículas y por hifas ( $p < 0.05$ ), en las tres temporadas; aunque, la temporada de secas tuvo mayor colonización total y por estructura (hifas y vesículas). La similitud entre la composición de morfoespecies de HMA entre los helechos estudiados es baja, presentándose una composición particular de especies en cada uno de ellos, principalmente *M. aemula*. El factor temporada, tuvo la mayor influencia sobre la presencia de morfoespecies de HMA y nutrimentos del suelo; así como la humedad, en conjunto con las formas disponibles del nitrógeno (amonio y nitrato), tuvieron mayor correlación con las morfoespecies de HMA y la micorriza arbuscular. Se concluye que *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula* son colonizados por los HMA, su identidad influye sobre las condiciones (pH, humedad y temperatura) y los recursos del suelo (MOS, Nt, NO<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub>) determinando la composición y la distribución de los HMA y la micorriza arbuscular. Se cita, por primera vez, a *Glomus multiforum* para México, y la riqueza de especies de HMA encontradas en este estudio, resalta la necesidad de proteger al grupo de los helechos, ya que pueden ser considerados, como plantas que promueven la riqueza de los HMA en el BTC de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda.

**Palabras clave:** Micorriza arbuscular, *Cheilantes lozanoi* var. *seemannii*, *Myriopteris aemula*, propiedades físicas y químicas del suelo, estacionalidad de los recursos del suelo, bosque tropical caducifolio.



## ABSTRACT

The arbuscular mycorrhiza (AM) is formed by fungi of the phylum Glomeromycota, which established symbiotic associations with near 90% of terrestrial plant species, affecting plant diversity and productivity in natural ecosystems. The arbuscular Mycorrhizal fungi (AMF) morpho-types are quite diverse, thus the AM, and are sensitive to biotic and abiotic factors. Little is known about the AM and the AMF in the tropical deciduous forests (TDF), mainly in association with ferns, hence the aim of this study is to determinate the abundance and the diversity of the AMF in the rizospheric soil and root colonization in two ferns, *Cheilantes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, and their relationship with the physical and chemical soil properties, during three seasons (early raining, rainy and dry), in a TDF, at the Sierra Gorda Biosphere Reserve, Municipality of Jalpan de Serra, Querétaro. Throughout the three seasons (early raining: May 2014; rainy: August 2014; and dry: February 2015), seven populations of each fern taxon (42 plants/taxon) were located at the TDF, rizospheric soil samples (1kg) were collected within each fern population. The AMF spores were extracted from the soil samples using the sieving-wet method, followed by centrifugation with saccharose, to determine the AMF spore abundance, richness and diversity, as well as to determine the physical (temperature, humidity and pH) and chemical (soil organic matter – MOS-, phosphorous, total nitrogen –Nt-, ammonium -NH<sub>4</sub>- and nitrate -NO<sub>3</sub>-) soil properties to characterize it. Roots of each fern taxon/population were collected; root fragments were cleared up, dyed and mounted with polyvinyl alcohol lactoglycerol (PVLG) on a slide, to determine the total percentage of colonization and the AMF structure. Different statistical tests (i.e. two vias ANOVA, diversity and similarity indexes, and a principal component analysis) were used for the statistical analysis. The overall results showed a greater abundance of AMF spores in the rizospheric soil of *M. aemula*, than in the soil of *C. lozanoi* var. *seemannii*, within the three seasons. AMF spore richness was higher in *M. aemula* within two seasons (rainy and dry); while at the early raining, *C. lozanoi* var. *seemannii* registered the highest. A total of 23 AMF morpho-species were recorded, belonging to nine genera; four morpho-species corresponded to genus *Acaulospora*, one to *Ambispora*, two to *Diversispora*, one to

*Entrophospora*, two to *Funneliformis*, one to *Gigaspora*, eight to *Glomus*, three to *Scutellospora*, and one to *Rhizophagus*. The ANOVA showed that in the rizospheric soil of *M. aemula* and *C. lozanoi* var. *seemannii*, the AMF indexes of equitability, dominance and specific richness, did not defer among seasons, but between both fern taxa. Total root colonization and by AMF structure were different between ferns and among seasons; *M. aemula*'s roots showed higher percentages of total mycorrhizal colonization, by vesicles and hyphae ( $p < 0.05$ ), within the three seasons; though, the dry season recorded the highest total mycorrhizal colonization (vesicles and hyphae). The similarity concerning the AMF morpho-species composition between the two ferns studied is low, showing that each fern taxon had a particular AMF morpho-species composition, mainly in *M. aemula*. The season factor and the soil nutrients were the main influence over the presence of the AMF morpho-species; besides, soil humidity, jointly with the available forms of nitrogen (ammonium and nitrate), presented a higher correlation with the AMF morpho-species and the AM association. It is concluded that *C. lozanoi* var. *seemannii* and *M. aemula* are colonized by AMF, their identity affect both soil conditions (pH, humidity and temperature) and soil resources (MOS, Nt, NH<sub>4</sub> and NO<sub>3</sub>), determining, as well, the AMF composition and distribution and the AM. For the first time, it is reported *Glomus multiforum* in Mexico, and the AMF morpho-species richness found in this study, highlight the necessity of protection of these two fern species since they can be considered plants capable to promote the AMF richness within the TDF of the Sierra Gorda Biosphere Reserve.

**Key words:** Arbuscular mycorrhiza, *Cheilantes lozanoi* var. *seemannii*, *Myriopteris aemula*, physical and chemical soil properties, rizospheric soil resources seasonality, tropical deciduous forest.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) constituyen el Phylum Glomeromycota dentro del Reino Fungi, y al colonizar las raíces del 90% de las plantas terrestres forman una asociación mutualista, llamada micorriza arbuscular (MA) (Smith y Smith, 2011). Entre las plantas que son colonizadas por los HMA son los musgos, las hepáticas, las licofitas, los helechos y las angiospermas (Fernández *et al.*, 2008; Smith y Read, 2008), con excepción de algunos miembros de las familias Amaranthaceae, Brassicaceae y Zygophyllaceae (Allen, 1996).

Los HMA son simbioses obligados y obtienen el carbono orgánico para su crecimiento a través de la planta hospedera. Aunque su distribución es amplia, ya que se encuentran en todos los suelos y climas (Molina *et al.*, 2005; Smith y Read, 2008), factores abióticos como los nutrientes, el pH, la luz, la temperatura, la humedad y la materia orgánica del suelo (Collins *et al.*, 1992; Hayman, 1982), así como factores bióticos como la fenología y la especie de la planta con la que se asocian, entre otros, pueden intervenir en su distribución e influir en la estructura de su comunidad (Sigüenza *et al.*, 1996; van der Heijden *et al.*, 1998). La estacionalidad de la lluvia (Bajwa *et al.*, 2001; Sigüenza *et al.*, 1996), la humedad absoluta en los ecosistemas (Wolfe *et al.*, 2006), el cambio de uso de suelo y las prácticas agronómicas (Aguilar-Fernández *et al.*, 2009; Kurle y Pflieger, 1994), son otros elementos que también influyen en la abundancia y diversidad de los HMA.

Existe evidencia que demuestra que la diversidad de HMA en el suelo es un componente importante, ya que su variedad de morfotipos cumple con varias funciones en la planta hospedera (Feddermann *et al.*, 2010), al mismo tiempo la planta, con su actividad

fotosintética, exudados de la raíz que influyen sobre la colonización (Collins *et al.* 1992) y en la selectividad de los hongos simbioses que se asociarán con ésta (Smith y Read, 2008). La diversidad de los HMA se ha estudiado a nivel mundial; hasta el momento se han descrito y citado 230 morfotipos (Oehl *et al.*, 2011); mientras que para México, se han citado 104 morfotipos (Chimal-Sánchez *et al.*, 2016), lo que sugiere que aún es necesario realizar más trabajos que documenten a la comunidad de HMA en el país y más específicamente con el grupo de los helechos, ya que en el país existe gran diversidad de éstos.

El efecto de la micorriza arbuscular sobre el crecimiento de las plantas y en la diversidad y sucesión de la comunidad vegetal son variadas; sin embargo, estas cuestiones se han estudiado principalmente para las angiospermas, por lo que los datos relacionados con briofitas, licofitas y helechos son escasos (Smith y Read 2008). Para éstos últimos, tales estudios se han realizado principalmente en los hábitats tropicales, donde los helechos son más diversos, abundantes y de mayor importancia ecológica más conspicua (Kessler *et al.*, 2010), ya que son un componente importante en el reciclaje de nutrientes (Amatangelo y Vitousek, 2008; Mehlrether, 2010).

Los estudios con respecto a los HMA y los helechos, se han realizado principalmente para las zonas húmedas y enfocados hacia la formación de la MA en los gametofitos y las raíces de los esporofitos, como lo muestran los trabajos de Turnau *et al.* (2005), Cooper (1977), Albornoz y Hernández (2006), y Kovács *et al.* (2007), quedando con poca atención el conocimiento de la composición de especies de los HMA en los suelos adyacentes a las raíces de helechos. Aunque los helechos también se distribuyen en ecosistemas secos (con endemismo en éstos)

en los que se incluyen a los bosques tropicales caducifolios, los estudios relacionados con los HMA son escasos.

En México, los bosques tropicales caducifolios (BTC) cubren el 60% del territorio y son dominantes en el polígono que representa a la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda Querétaro (CONCYTEQ, 2006). En estos bosques se presentan especies herbáceas (como los helechos que son perennes) (SEMARNAP, 1999), los cuales sirven de hábitat para los HMA (Kessler *et al.*, 2009) y especies arbóreas que pierden sus hojas en la época seca del año debido a la marcada estacionalidad de lluvia en el ecosistema (Rzedowski, 1988).

Aunque existen varios estudios que documentan la relación de los HMA con las plantas nativas del BTC (Montaño *et al.*, 2012) y de tenerse un registro de 127 especies de hongos macromicetos en la Reserva (Grupo Ecológico Sierra Gorda, 2015), no se tiene dato alguno de la relación de los HMA con los helechos. Además, con la continua disminución de las áreas de bosque en la Reserva, por las actividades humanas (CONCYTEQ, 2006) propicia la disminución de microorganismos del suelo (Ehrenfeld, 2013), por lo que este trabajo, es necesario para documentar los morfotipos que componen a la comunidad de los HMA en los helechos, y así averiguar si este grupo de plantas podrían determinar la presencia de ciertos morfotipos de HMA; y adicionalmente observar si las propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico de los helechos ejercen alguna influencia sobre la abundancia y diversidad de los hongos micorrizógenos arbusculares y la formación de la micorriza arbuscular (MA).

Con esto, será posible, además de conocer la relación HMA-helecho en la Reserva, contribuir con una lista de las especies de HMA para esta zona y evidenciar la formación de la MA en

helechos, ya que existe poca información de la presencia de hongos microscópicos para la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Querétaro.

## 2. ANTECEDENTES

En diferentes partes del mundo, varios autores han documentado la relación entre los HMA y los helechos, con distintos enfoques y en diversos ecosistemas; sin embargo, en ninguno de ellos se examinaron los dos taxa utilizados en este trabajo de tesis.

Dentro de los estudios que se enfocan en la diversidad de HMA en la rizósfera de los helechos está el trabajo de Zhang y Liang-Dong (2004), en Dujiangyan, que en una región subtropical de China, citan 40 morfotipos de HMA, donde *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. fueron los más frecuentes y *G. versiforme* la especie dominante encontrados en el suelo de 31 helechos pertenecientes a 15 familias; entre éstas está Pteridaceae con las especies: *Pteris aspericaulis* Wall y *P. vittata* L.; los autores hicieron una revisión de la MA en estas especies, obteniendo que la mayoría de los helechos presentaban un porcentaje de colonización cercano al 15% en sus raíces.

Muthukumar y Prabha (2013) realizaron su estudio en sitios ubicados al este y oeste de Ghats, India, en un bosque templado caducifolio con especies de *Acacia* (Fabaceae), *Chloroxylon* (Rutaceae), *Diospyros* (Ebenaceae) entre otras, los autores evaluaron la diversidad de HMA y los porcentajes de colonización radical en 50 especies de helechos, entre ellos 20 especies de Pteridaceae; por ejemplo, *Cheilanthes bullosa* Kze. y cinco especies del género *Adiantum*. Ellos citaron nueve morfotipos de HMA aislados del suelo rizosférico de los helechos, con el género *Glomus* presente, sin mencionar su frecuencia. Señalan que el intervalo de

colonización en las raíces fue de 22% a 82%, presentándose una variación significativa entre los taxa, pero fue mayor en *Adiantum lunulatum* Burm. (Pteridaceae); así mismo, mencionaron que el helecho acuático, *Salvinia molesta* D. S. Mitchell (Salviniaceae), presentó colonización por HMA; dato que resulta interesante porque la literatura previa cita que no forma la MA (Mehlreter, 2010).

En la India, para la región occidental de Goa, en un bosque tropical, citan 17 morfotipos de HMA, la mayoría de ellos de los géneros son *Glomus* (ocho especies) y *Sclerocystis* (tres especies), colectados en el suelo rizosférico de nueve especies de helechos de las familias Lygodiaceae (1 especie), Lindsaeaceae (1 especie), Athyriaceae (1 especie), Blechnaceae (1 especie), Gleicheniaceae (1 especie), Thelypteridaceae (1 especie) y Pteridaceae (3 especies); de esta última familia, *Adiantum lunulatum* Burm. f., *Pteris vittata* L. y *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link, también evaluaron el porcentaje de la MA de éstos, encontrando que estaban colonizados con un intervalo que va del 10% al 75% de las raíces, siendo *P. calomelanos* la que presentó una mayor colonización (Sharda y Rodrigues, 2002).

Gemma *et al.* (1992), en islas de Hawaii, Estados Unidos de América, evaluaron la presencia de la MA en 89 especies de helechos pertenecientes a diferentes familias (p. ej. eusporangiados: Psilotaceae, Ophioglossaceae, Maratiaceae; leptosporangiados: Pteridaceae, Dicksoniaceae, Dryopteridaceae, Polypodiaceae), donde las especies de hábito terrestre (25% - 75%) mostraron mayor colonización que las de tipo epífita (0.9%). Así mismo, mencionaron que la alta micorrización es más común en las familias de helechos leptosporangiados (100% de colonización: Dicksoniaceae; p. ej., *Cibotium st.-johnii* Krajina; Dryopteridaceae, *Dryopteris wallichiana* (Spreng.) Hyl.; Pteridaceae -93%-; p.ej., *Pteris cretica* L.) que en las

familias de eusporangiados (Ophioglossaceae -64%-; p. ej., *Ophioglossum pendulum* L.; Marattiaceae -66%-; p. ej., *Marattia douglasii* (Presl) Baker.) concluyendo que el sustrato y el hábito en el que se desarrollan los helechos son los factores que influyen sobre la presencia de la MA y la densidad de colonización.

Muthukumar y Prabha (2012), en condiciones controladas de laboratorio, evaluaron en rizoides de gametofitos y en las raíces de esporofitos de *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott. (Lomariopsidaceae), la colonización por HMA. Sus resultados mostraron que los hongos endófitos oscuros septados (EOS) (62% - 90%), abundaban más que la MA (0%) en los gametofitos; mientras que lo contrario sucedía en los esporofitos (MA: 47% - 94%; EOS: 34%-55%), esto lo atribuyeron al lugar en donde, a menudo, se desarrolla *N. exaltata*, porque el sustrato (rocas, grietas) en el cual se establece el inóculo MA es raro o ausente, por lo que los EOS podrían estar cumpliendo con la función de la MA (transferencia de agua y nutrimentos).

Fernández *et al.* (2008), en un bosque templado en Argentina, documentaron el porcentaje de colonización por HMA en *Lycopodium paniculatum* (Lycopodiaceae) y *Equisetum bogotense* Kunth (Equisetaceae). Para *E. bogotense*, mencionaron que la colonización por HMA está en un intervalo de 0% - 22.5%, y que factores como el hábito (terrestre) y las propiedades del suelo en el cual crece (elevada humedad y pH ácidos) son características que podrían definir que la micorriza arbuscular sea facultativa en esta planta.

Fernández *et al.* (2010), analizaron la presencia de la MA en diez especies de helechos de las familias Aspleniaceae, Polypodiaceae e Hymenophyllaceae las cuales son epífitas obligadas y facultativas, en un bosque templado de Patagonia, Argentina. Encontraron que la mayoría de



las especies examinadas carecían de estructuras de la MA (p. ej. *Asplenium dareoides* Desv., Aspleniaceae y *Grammitis magellanica* Desv.; Polypodiaceae), con excepción de siete esporofitos de *Hymenophyllum* sp. (Hymenophyllaceae) que se encontraban creciendo en el suelo y poseían escasas estructuras fúngicas (menos del 5%); así mismo, observaron que los hongos EOS eran abundantes dentro de la corteza de la raíz de todas las muestras; de acuerdo con esto, los autores mencionan que el hábito del helecho y la morfología de la raíz (graminoide) pueden ser factores importantes que influyen en el comportamiento de la MA en helechos.

Berch y Kendrick (1982) evaluaron la presencia de la MA en licofitas y helechos pertenecientes a cuatro órdenes (Lycopodiales, Equisetales, Ophioglossales y Filicales), en un bosque boreal, ubicado al sur de Ontario, Canadá. En sus resultados observaron que los helechos del orden Filicales y Ophioglossales fueron los más colonizados por HMA (p. ej., *Pteridium aquilinum* Kuhn y *Athyrium angustum* Presl.; *Botrychium oneidense* House), en comparación con *Equisetum scirpoides* Michaux y *Lycopodium flabeliforme* Blanchard, en donde hubo nula colonización. Los autores concluyeron que la morfología de la raíz de los helechos y el tipo de hábito son factores que pueden o no permitir la colonización de los HMA, mencionando también que las raíces jóvenes son más susceptibles a ser micorrizadas.

Albornoz y Hernández (2006), en una zona semiárida de Tucumán, Argentina, evaluaron la colonización endomicorrícica en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subespecie *ternifolia*, (Pteridaceae). Estos autores mencionan que las raíces de *P. ternifolia* están micorrizadas en un 15%. Así mismo, documentan en su suelo rizosférico, seis morfotipos de HMA: *Acaulospora*

*scrobiculata* Trappe, *A. gerdemannii* Schenk & Nicolson, *A. bireticulata* Rothwell & Trappe, dos *Glomus* sp. y una *Gigaspora* sp.

Moteete et al. (1996), en zonas de pastizal y bosque subtropical de Lesotho, África, en 49 helechos de diferentes familias, entre ellas Pteridaceae con los géneros *Adiantum*, *Cheilanthes*, *Pteris* y *Pellaea*, evaluaron la MA. Sus resultados mostraron que los helechos presentaban una baja colonización por HMA (cifra no proporcionada), a pesar de que se desarrollaban en suelos pobres en nutrientes, sugiriendo que los helechos son un grupo poco micotrófico. Los autores consideraron que los helechos estudiados podrían requerir poco de la MA, debido a las características morfológicas, por ejemplo, la presencia de abundantes pelos radicales.

Zubek et al. (2010), estimaron y registraron la colonización micorrícica arbuscular en las raíces de 32 especies de helechos de las familias: Anemiaceae, Aspleniaceae, Dryopteridaceae, Gleicheniaceae, Polypodiaceae, Ophioglossaceae y Pteridaceae, recolectadas en un bosque húmedo, en Honduras. Se documentó que las raíces de los helechos *Adiantum andicola* Liebm. (73%) y *Cheilanthes complanata* A. R. Sm. (37%), ambas de la familia Pteridaceae, así como *Thelypteris patens* (Sw) Small (78%; Thelypteridaceae) y *Anemia phyllitidis* (L.) Sw. (77%; Anemiaceae), estaban más colonizadas por HMA, al contrario de las especies de las familias Aspleniaceae y Polypodiaceae que no presentaron colonización por HMA, pero fueron las que mostraron mayor colonización por hongos EOS, junto con las especies de la familia Gleicheniaceae (17% - 100%); así mismo, observaron que la MA varió entre los individuos de la misma especie de helecho.

Kessler et al. (2010), examinaron el grado de colonización de HMA para 75 especies de helechos (datos de las familias y especies no incluidos), establecidas en suelos con diferentes

condiciones y en sitios sobre flujos de lava de diferente edad, en la isla de la Réunion, que es parte del archipiélago de las Mascareñas, Francia. Los autores mencionaron que las especies de helecho están colonizadas por MA en un intervalo que va de 58% a 68%, esta variación se observó también entre los individuos de la misma especie de helecho; así mismo, el porcentaje de colonización fue mayor en las especies establecidas en suelos poco profundos, con altos valores de pH y alta saturación por bases, en comparación con las especies localizadas en suelos con condiciones favorables.

Cooper (1976) observó que la MA promueve un crecimiento más rápido, comparando los helechos micorrizados y no micorrizados de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Dennstaedtiaceae) e *Histiopteris incisa* (Thunb.) J. Sm. (Dennstaedtiaceae), de un bosque templado, en Nueva Zelanda. Roe-Andersen y Southworth (2013) citaron, para California, Estados Unidos de América, que los factores de micrositio (por ej., nutrientes del suelo, densidad del suelo y dispersión del vecino más cercano) y la limitación de dispersión, influyen en que *Botrychium pumicola* Coville ex Underw (Ophioglossaceae), se considere como un helecho obligadamente micorrícico.

Martínez *et al.* (2012), en Argentina, compararon el patrón de colonización de los cultivos, *in vitro*, de *Glomus intrarradices* N. C. & G. S. Sm., a lo largo del ciclo de vida de *Pteris vittata* L. (Pteridaceae), demostrando que el tipo de colonización es determinado por la estructura radicular del hospedero y no por el hongo; por ejemplo, la colonización de los rizoides (filamento de células con o sin septo) en el gametofito es del tipo *Paris* porque desarrollan enrollamientos hifales dentro de la célula; mientras que en el esporofito, es del tipo *Arum*

debido a la morfología de las raíces (células con división a lo ancho y largo), ya que coloniza inter e intracelularmente las células de la raíz.

En el sur de la India, Muthuraja *et al.* (2014) examinaron el porcentaje y el patrón de colonización de MA de acuerdo con la propuesta de Brundrett y Kendrick (*Paris, Arum* e intermedio), la diversidad de HMA, y la presencia de hongos EOS, asociados a licofitas (*Lycopodiaceae* y *Selaginellaceae*) y 44 especies de helechos de las familias: *Aspleniaceae*, *Blechnaceae*, *Cyatheaceae* y *Pteridaceae*, entre otras; concluyendo que 47 de las especies (3 licofitas y 44 helechos) examinadas presentaban MA, con porcentajes que van de 19% a 83%; del total de especies examinadas, el 72% presentaba el patrón de colonización intermedio; además, se identificaron nueve morfotipos de HMA: *Acaulospora foveata* Trappe & Janos, *A. rehmii* Sieverd & Toro, *A. scrobiculata*, *Funneliformis constrictum* (Trappe) C. Walker & Schüßler, *F. geosporum* (T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler, *Glomus microcarpum* Tul., *G. invermaium* Hall, *Gigaspora decipiens* Hall & Abbott y *Sclerocystis rubiformis* Gerd. & Trappe, y se observaron hongos EOS en 33 especies; mientras que los EOS estuvieron ausentes en 11 especies de helechos y tres de licofitas.

Con respecto a lo que se conoce sobre la MA y los HMA en el bosque templado caducifolio, se tiene el trabajo de Helgason *et al.* (2002); en dicho estudio, los autores aislaron del bosque, mediante cultivo trampa, morfotipos específicos de HMA para posteriormente evaluar su contribución al aumento de biomasa y toma de fósforo en angiospermas, en North Yorkshire, Reino Unido. Su estudio resultó en que, de los cuatro morfotipos aislados, *Glomus hoi* S.M. Berch & Trappe resultó ser favorable para aumentar la biomasa y la obtención de fósforo.

En ecosistemas secos de México, en los que está incluido el BTC, se encuentra el estudio de Zulueta *et al.* (2010), quienes evaluaron el estatus micorrícico de *Jacaratia mexicana* A. DC. (Caricaceae, Magnoliophyta) y la presencia de morfoespecies de HMA, en tres manchones de BTC, ubicados en los estados de Veracruz, Campeche y Yucatán, determinando que *J. mexicana* es una especie facultativamente micorrícica; además, se identificaron seis morfotipos de HMA: *Glomus intrarradices* N.C. Schenck & G.S. Sm., *G. sinuosum* (Gerd. & B.K. Bakshi) R.T. Almeida & N.C. Schenck, *G. constrictum* Trappe, dos *Glomus* sp., y una *Entrophospora infrequens* (I.R.Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid.

Allen *et al.* (1998), evaluaron la abundancia y colonización por HMA en *Opuntia excelsa* Sánchez-Mej. (Cactaceae, Magnoliophyta) y *Jacquinia pungens* A. Gray (Primulaceae, Magnoliophyta), en la Estación de Biología en Chamela, Jalisco, y observaron que la colonización y la producción de las esporas de HMA estaban estrechamente relacionadas con la fenología de las plantas. Allen *et al.* (2003), probaron diferentes inóculos provenientes de zonas con distinto grado de sucesión para utilizarlos en prácticas de restauración, concluyendo que se debe elegir un inóculo adecuado para plantas que sirven para la restauración.

Allen *et al.* (2005), estudiaron los efectos de diferentes inóculos de HMA en árboles forestales en la Reserva Ecológica El Edén, en Quintana Roo; obteniendo, un inóculo de un sitio recientemente quemado que contenía especies de *Glomus sensu lato* y otro inóculo proveniente de un bosque tropical seco primario que presentaba morfotipos de *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Acaulospora*; estos inóculos fueron aplicados a *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Fabaceae), *Guazuma ulmifolia* Lam. (Byttneriaceae), *Caesalpinia violácea* (Mill.) Standl. (Fabaceae), *Piscidia piscipula* (L.) Sarg. (Fabaceae),

*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth (Fabaceae) y *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Spreng. (Bixaceae), plantas presentes en la Reserva. Concluyendo que los HMA, y más específico el inóculo del bosque, podría ser utilizado en prácticas de restauración ambiental en áreas perturbadas de la Reserva.

Gavito *et al.* (2008), exploraron las limitaciones para el establecimiento de la micorriza en áreas perturbadas del ecosistema tropical seco, en la región de Chamela, de Jalisco, como resultado, los autores evidenciaron que hay cambios en la composición de especies de HMA debido al uso de suelo y documentan mayor riqueza en el bosque primario con 39 morfotipos repartidos en cinco géneros: *Ambispora* (1 morfotipo), *Acaulospora* (9 morfotipos), *Diversispora* (1 morfotipo), *Gigaspora* (4 morfotipos) y *Glomus* (24 morfotipos), siendo más frecuentes las especies *Acaulospora* aff. *tuberculata* Janos & Trappe, *Gigaspora ramisporophora* Spain, Sieverd. & N.C. Schenck y *G. geosporum* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler, igualmente mencionan que la elevada temperatura y las condiciones de estrés hídrico limitan el desarrollo de los HMA.

Guadarrama *et al.* (2008), evaluaron los propágulos de HMA en nueve parcelas con distinto año de abandono en Nizanda, Oaxaca; ellos concluyeron que las comunidades secundarias generadas por la eliminación de la vegetación con fines agrícolas, en un BTC, no mostraban una reducción significativa de los propágulos, probablemente como consecuencia de las prácticas de agricultura de bajos insumos en esta área, lo que puede estimular la regeneración natural. Los mismos autores (Guadarrama *et al.* 2007), en la región de Nizanda, Oaxaca, evaluaron la diversidad de HMA en muestras de suelo provenientes de parcelas de cultivo de maíz, áreas de vegetación secundaria y BTC, encontrando 25 morfotipos (la familia

Glomeraceae aportó 44% de las especies, seguida por Acaulosporaceae y Gigasporaceae, con 24% y 20%, respectivamente), de los cuales, 24 especies estuvieron presentes en las áreas de vegetación secundaria; mientras que no se hallaron morfoespecies restringidas al BTC.

Vieyra *et al.* (2010), caracterizaron las comunidades de HMA en tres ecosistemas de Chamela, Jalisco, usando biología molecular, determinaron que 16 morfoespecies de *Glomus* y una de *Scutellospora* establecen simbiosis con plantas nativas del bosque tropical seco en el sitio de estudio. Aguilar (2000) observó que la actividad de roza-tumba y quema disminuye los propágulos de los HMA en una selva baja caducifolia ubicada en el Mpio. de La Huerta, Jalisco. Aguilar-Fernández *et al.* (2009), mostraron que la conversión del BTC, en la costa de Jalisco, por actividad de roza-tumba-quema, seguido de cultivo, resultó en pocos cambios en la comunidad de HMA; probablemente por la lenta combustión de los residuos vegetales. También documentan que la abundancia de las esporas de HMA oscila entre 5 y 68 por 100 g de suelo seco, y que la cantidad de esporas fue mayor en la estación seca. Los autores registraron un total de 18 morfotipos de HMA pertenecientes a los géneros: *Acaulospora* (4 morfotipos), *Gigaspora* (4 morfotipos), *Scutellospora* (3 morfotipos) y *Glomus* (7 morfotipos), siendo más frecuentes las especies: *A. dilatata* J.B. Morton, *A. scrobiculata* Trappe, *Glomus* aff. *fasiculatum* (Thaxt.) Gerd. & Trappe, y *G. sinuosum* (Gerd. & B. K. Bakshi) R. T. Almeida N. C. Schenck.

Por su parte, Huante *et al.* (1993) observaron la influencia de los HMA sobre el crecimiento de especies vegetales pioneras (familias Convolvulaceae y Boraginaceae) y especies vegetales tardías (por ej., Leguminosae), durante los procesos de regeneración del BTC de Chamela, Jalisco, concluyendo que, con excepción de la especie pionera *Ipomea wolcottiana* Rose

(Convolvulaceae), la colonización micorrícica incrementó la producción de biomasa, la tasa de crecimiento y el área foliar en la planta.

Cuando se refiere a la relación entre HMA y los helechos en México, sólo se tienen los trabajos de Reyes-Jaramillo *et al.* (2008), quienes observaron la colonización por HMA en gametofitos y esporofitos jóvenes de *Dryopteris muenchii* A. R. Sm. (Dryopteridaceae), en condiciones de laboratorio; observaron que los gametofitos y esporofitos estaban colonizados, pero que la colonización de la raíz del esporofito no era desde el gametofito, y que las estructuras fúngicas desarrolladas en las células radicales no eran iguales entre los gametofitos y los esporofitos, debido a los espacios intra e intercelulares. Lara-Pérez *et al.* (2014 a), en un bosque húmedo de Veracruz, evaluaron la abundancia, diversidad y colonización en *Alsophila firma* (Baker) D.S. Conant (Cyatheaceae); citaron una abundancia de esporas de 1,459 en la estación de lluvias y 1,061 en secas, con 18 morfotipos repartidos en los géneros *Acaulospora* (5 morfotipos), *Funneliformis* (2 morfotipos), *Gigaspora* (4 morfotipos), *Glomus* (4 morfotipos), *Scutellospora* (1 morfotipo) y *Sclerocystis* (2 morfotipos), donde los taxa más frecuentes fueron *F. geosporum* y *Acaulospora* sp.1 en ambas estaciones; además de *A. foveata* Trappe & Janos y *Gigaspora* sp.1 en lluvias; para secas, *Glomus* sp.1 y *F. constrictum*, y la colonización se presentó en un rango de 3% a 55%, variando entre estaciones, mostrando la época de lluvias el mayor porcentaje de hifas y arbuscúlos. Los mismos autores (2014 b), en un bosque húmedo de Veracruz, también en *A. firma*, evaluaron el nivel de colonización, riqueza y abundancia de esporas de HMA en tres fragmentos de bosque: conservado, vegetación secundaria y perturbado. La colonización de las raíces de *A. firma* fue de 23%-55%, los porcentajes mayores de colonización se presentaron en el bosque conservado; se



determinaron 19 morfotipos, los géneros más abundantes fueron *Gigaspora* (7 especies) y *Acaulospora* (4 especies), el bosque conservado presentó el mayor número de morfotipos; así mismo, la abundancia de esporas de HMA varió entre los fragmentos, presentando más abundancia el bosque conservado.

Lara-Pérez *et al.* (2015), en un bosque húmedo y en un bosque caducifolio, ambos ubicados en Veracruz, evaluaron la MA en dos licofitas (Selaginellaceae) y 23 especies de helechos de las familias Anemiaceae, Aspleniaceae, Blechnaceae, Cyatheaceae, Dryopteridaceae, Gleicheniaceae, Marattiaceae, Polypodiaceae y Pteridaceae (*Adiantum* sp.). Encontraron que el grado de colonización varió de acuerdo con la especie de helecho; el porcentaje de colonización osciló entre 68% y 88%, en la mayoría de los helechos del bosque húmedo; no se observó colonización en algunos helechos (*Asplenium praemorsum* Sw., *A. miradoreense* Liebm. y *Pecluma dispersa* M. G. Price, del bosque húmedo), pero sí en dos helechos del bosque caducifolio, *Anemia phyllitidis* (L) Sw (66%) y *Adiantum trapeziforme* L. (42%). Bautista-Cruz *et al.* (2014), en un bosque húmedo (BH) y un matorral xerófilo (MX), ubicados en Oaxaca, relacionaron los nutrientes del suelo con la abundancia, diversidad y colonización por HMA evaluados en *Blechnum appendiculatum* Willd. (Blechnaceae), *Adiantum capillus-veneris* L., *Cheilanthes myriophylla* Desv. (= *Myriopteris myriophylla* (Desv.) J. Sm), *C. bonariensis* (Willd) Proctor. (= *Myriopteris aurea* (Poir.) Grusz & Windham (las tres especies de la familia Pteridaceae) y de suelo de áreas sin helecho (Sh). Los autores observaron mayor abundancia de esporas en el suelo de los helechos en comparación a las áreas Sh, mayor abundancia en el MX y que *C. bonariensis* (231 esporas en 100 g de suelo; MX) y *B. appendiculatum* (274 esporas; BH) mostraron más esporas en comparación con las

otras especies y el área Sh. La colonización micorrícica en las raíces de los helechos varió de 17% a 24%, la colonización fue mayor en MX que en BH; *C. bonariensis* tuvo mayor colonización que las otras especies de helecho. Además, este estudio documentó 32 morfotipos de HMA distribuidos en ambos ecosistemas, el BH presentó más especies de HMA que el MX; los morfotipos más frecuentes fueron *A. scrobiculata*, *A. spinosa* C. Walker & Trappe, *Claroideoglossum claroideum* (N. C. Schenck & G. S. Sm.) C. Walker & Schuessler, *E. infrequens*, *Funneliformis constrictum* y *F. geosporum*. Por último, indicaron que la humedad, y los nutrientes del suelo (nitrógeno y fósforo -PO<sub>4</sub>-) estaban relacionadas con la colonización y la riqueza de HMA.

De acuerdo a lo anterior, se observa que los estudios de la relación HMA-planta han documentado la condición micorrícica, la riqueza de HMA, los beneficios sobre el crecimiento y/o nutrición de las plantas nativas de interés forestal, agronómico y económico (Montaño *et al.*, 2012), llevándose a cabo las investigaciones, generalmente, en ecosistemas húmedos, áridos, semiáridos y agrícolas (Guadarrama *et al.*, 2004; Montaño *et al.*, 2012); mientras que los estudios sobre la relación entre los HMA y helechos en los BTC son pocos, aun cuando se menciona que estas plantas, por su morfología de órganos subterráneos, sirven de redes para retener esporas de HMA (Bautista-Cruz *et al.* 2014). De aquí el interés de seguir conociendo y documentando qué morfotipos están presentes en la rizósfera de *Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel, especie endémica de México, y *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham, para comprender su asociación con los HMA y observar si, de alguna manera, estos helechos favorecen la colonización y riqueza de HMA en la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Querétaro.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La micorriza arbuscular (MA) es una de las relaciones más importantes entre las plantas y los hongos Glomeromycota, ya que proporciona diversos beneficios a ambos simbios; por ejemplo, a nivel del taxon, la simbiosis facilita la adquisición de nutrimentos y la resistencia a estrés fisiológico en la planta (Cooper, 1976; Smith y Smith, 2011), y a nivel del ecosistema, la simbiosis está presente en todas las etapas de sucesión y promueve la coexistencia de diversas especies vegetales (Finlay, 2008; van der Heijden *et al.*, 1998), para el hombre puede aportar utilidades económicas debido a su producción como biofertilizante con poblaciones de esporas altamente efectivas de bajo costo (Molina *et al.*, 2005), entre muchos otros beneficios, por lo que el estudio de la MA es de gran relevancia.

En México, también se ha estudiado a la MA y a la comunidad de HMA. La mayoría de los trabajos de MA han sido enfocados a evidenciar la presencia/ausencia en las raíces de diversas plantas angiospermas cultivadas y silvestres en diferentes ecosistemas; mientras que los estudios de HMA se han dirigido a la producción de inóculos, taxonomía, prácticas biotecnológicas, y al análisis de sus efectos sobre las especies de plantas angiospermas agrícolas y naturales, preferentemente en condiciones controladas; esto y en conjunto con los antecedentes expuestos, evidencian que el estudio de la composición de especies de HMA en el suelo de los helechos es escaso, a pesar de que en México se distribuyen 1,008 especies de helechos (Mickel y Smith, 2004) en una gran variedad de suelos y ecosistemas húmedos y secos (CONABIO, 2012).

Los ecosistemas secos, en los cuales se ubica a los BTC mexicanos, cubren el 60% de las áreas de bosque, y albergan el 20% de las especies vegetales del país, incluyendo a las

endémicas (p.ej., *Bursera* spp.) (Rzedowski, 1988). Así mismo, han sido escenario para investigar a la comunidad de los HMA, debido a la particular distribución de las lluvias que presentan durante el año y por su gran variabilidad en las propiedades del suelo; sin embargo, aunque hay estudios sobre la relación de los HMA con las especies propias del BTC, en el caso de los helechos, falta información que documente su relación con los HMA, ya que este grupo de plantas ha pasado desapercibido.

Por otro lado, a nivel mundial se han registrado 230 especies de HMA y para México se conocen 104 especies y, si se reconoce que en el país se encuentran casi todos los tipos de suelo, que posee una extensa riqueza vegetal, variedad de climas e historia geológica, esto hace suponer que aún hace falta trabajo de campo para aumentar esta cifra. Montañó *et al.* (2012), señalan que de los estudios realizados en México, más del 50% de las especies de HMA mencionadas, no coinciden con descripciones morfológicas conocidas, lo que sugiere que los suelos de México podrían ser un reservorio de una diversidad de HMA.

Como se mencionó, los estudios sobre HMA en BTC, son todavía pocos (*ca.* 12), en comparación con los ecosistemas húmedos (más de 35); entre estos destacan los trabajos de Huante *et al.* (1993), Rincón *et al.* (1993), Gavito *et al.* (2008), Guadarrama *et al.* (2008), Vieyra *et al.* (2010) y Allen *et al.* (1998), quienes registran la asociación micorrícica en *ca.* 60 especies de angiospermas (p. ej., especies de las familias Poaceae, Cactaceae, Caricaceae, Malvaceae y Fabaceae, entre otras), en Jalisco, Quintana Roo y Oaxaca. Montañó *et al.* (2012), mencionan que menos del 10% de las especies de plantas presentes en el BTC, han sido examinadas; además de que, en estos estudios los helechos han sido omitidos.

En México, se encuentra una gran diversidad de helechos (1008 especies y 16 variedades) de los cuales algunas especies de las familias Pteridaceae, Anemiaceae, Selaginellaceae y Woodsiaceae son endémicas y otras de la familia Cyatheaceae y Dicksoniaceae se encuentran en categoría de riesgo bajo la NOM-059-SEMARNAT (p. ej. *Cyathea costaricensis* y *Dicksonia regalis*). Los helechos tienen una amplia distribución, desde las zonas templadas a cálidas, y en zonas áridas y semiáridas (Mickel y Smith, 2004). Se trata de plantas con evidencia de diferentes usos; por ejemplo, medicinales (Hung-Chi *et al.*, 2011), alimento (Pacheco y Bautista Rodríguez, 2001; Salcedo, 2006; Wile, 1979), ornato (Salcedo, 2006), bioacumuladores de metales pesados (Guzmán-Cornejo *et al.*, 2014, Guzmán-Cornejo, 2015; Ho y Tai, 1985) y bioindicadores de regiones perturbadas (Mehltreter, 2010; Rodríguez *et al.*, 2008), entre otros, lo cual las hace un recurso importante para el hombre y el ecosistema.

En los BTC, los helechos son un componente del sotobosque y, por tratarse de un organismo vegetal, tienen la capacidad de modificar características del suelo y de influir en la comunidad de microorganismos del suelo, como podría ocurrir con los HMA, p.ej. *Equisetum* que es usado como un extracto fungicida.

De igual manera, los estudios relacionados con la MA y la riqueza de HMA en helechos son pocos, ya que sólo se documenta en cinco trabajos (Bautista-Cruz *et al.*, 2014; Lara-Pérez *et al.*, 2014a, 2014b y 2015; Reyes-Jaramillo *et al.*, 2008) y debido a esto, surge la necesidad de conocer y documentar a la comunidad de HMA presente en la rizósfera de este grupo de plantas; además de que su estudio proporcionará información de los morfotipos presentes en el BTC y, más específico, para la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Mpio. Jalpan de Serra, Querétaro. Así, esta tesis será el primer estudio de este tipo para este lugar. Al mismo tiempo,

se contribuirá a documentar, por primera vez, a los HMA en *Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel y *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham.

Por último, la posición biogeográfica de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, entre las bioregiones Neotropical y Neártica, y la provincia florística Mesoamericana de Montaña, la hacen un lugar de transición y, por lo mismo, una de las zonas más biodiversas de México (Rzedowski, 1988), lo que podría representar un área de nuevos registros de morfoespecies de HMA.

#### 4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿La identidad de los dos taxa de helechos en estudio (*Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel y *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham.) influye diferencialmente en las comunidades de HMA presentes en el suelo rizosférico?
2. ¿Cuál es el efecto de la estacionalidad de la lluvia (temporada de inicio de lluvias, lluvias y secas) sobre la riqueza y diversidad de HMA presentes en el suelo rizosférico, y en el porcentaje de colonización radicular de ambos helechos?
3. ¿Cómo influyen las condiciones (temperatura, pH, humedad) y los nutrientes (Nt, NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) del suelo rizosférico de los dos helechos en estudio, en las comunidades de los HMA y en el porcentaje de colonización radicular de ambos helechos?

#### HIPÓTESIS

1. Si la identidad del taxon de helecho determina la presencia de algunos morfotipos de HMA, entonces al comparar la comunidad de HMA de los suelos rizosféricos muestreados de ambos helechos, se esperaría encontrar variación (abundancia, riqueza y diversidad) entre la composición de especies de HMA presentes en ambos suelos.
2. Si la estacionalidad de la lluvia favorece la abundancia y la diversidad de HMA, entonces se esperaría encontrar mayor riqueza y diversidad de esporas de HMA al inicio de lluvias y en lluvias, que en secas. Y, si favorece los porcentajes de colonización radicular de ambos helechos, se esperaría encontrar variación entre los taxa en las tres temporadas.
3. Si las condiciones (temperatura, pH, humedad) y los nutrientes (Nt, NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) del suelo rizosférico de los dos helechos en estudio, influyen en las comunidades de HMA y en el porcentaje de colonización radicular, se esperaría que hubieran diferencias entre estos suelos y, por lo mismo, entre taxa de helechos.

## 5. OBJETIVOS

### Objetivo general

Determinar la abundancia y diversidad de HMA en el suelo rizosférico y la colonización radical por HMA en *Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel y *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham; así como la relación entre las propiedades físicas y químicas del suelo, y de la estacionalidad de la lluvia, sobre los parámetros de micorrización, en un bosque tropical caducifolio (BTC), de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Jalpan de Serra, Querétaro.

### Objetivos particulares

1. Establecer si la identidad del taxón de helecho (*Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*), determina la abundancia, riqueza y diversidad de HMA.
2. Definir si la estacionalidad de la lluvia (temporada de inicio de lluvias, lluvias y secas) influye en la comunidad de HMA del suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*; así como en el porcentaje de colonización radicular.
3. Precisar si la variación en la humedad (estacionalidad de la lluvia), las condiciones (temperatura, pH, humedad) y los nutrientes (Nt, NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>) del suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, influyen en las comunidades de los HMA y en el porcentaje de colonización radicular de estos helechos.



## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Área de estudio

El bosque tropical caducifolio (BTC) es el tipo de vegetación dominante en la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda (RBSG), localizada entre los paralelos 20°50' y 21°45' de latitud Norte y entre los meridianos 98°50' y 100°10' de longitud Oeste (MaB, UNESCO, 2012). La reserva tiene una superficie de 383,567 ha, abarcando en su totalidad a los municipios de Jalpan de Serra, Landa de Matamoros y Arroyo Seco, y una porción territorial de los municipios de Pinal de Amoles (88%) y Peñamiller (69%) (Fig.1) (MaB, UNESCO, 2012; CONCYTEQ, 2006). Además, ésta forma parte de la Provincia Fisiográfica Sierra Madre Oriental, Subprovincia del Carso Huasteco. La Reserva se ubica en la región orográfica perteneciente a la vertiente del Golfo de México, con un relieve de origen sedimentario caracterizado por sierras altas con altitudes superiores a los 3,000 msnm, así como valles intermontanos que comprenden amplios y profundos cañones labrados por los ríos Santa María, Extóraz y Moctezuma (MaB, UNESCO, 2012).

El municipio de Jalpan de Serra, se ubica entre las coordenadas geográficas: 21°06' y 21°41' de latitud Norte y 99°05' y 99°33' de longitud Oeste, y tiene altitudes que van desde los 400 hasta los 1,800 msnm. El clima es ACw; semicálido subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media del mes más frío superior a los 18 °C, bajo porcentaje de lluvia invernal menor del 5%, con verano cálido isotermal (INEGI, 2010). La temperatura media anual es de 24 °C y la precipitación pluvial promedio anual de 965 mm. Los suelos, de acuerdo con la clasificación del sistema FAO (Food and Agriculture Organization, 1986), son Cambisoles calcáreos, con un pH promedio de 6.8 (SEMARNAP, 1999).

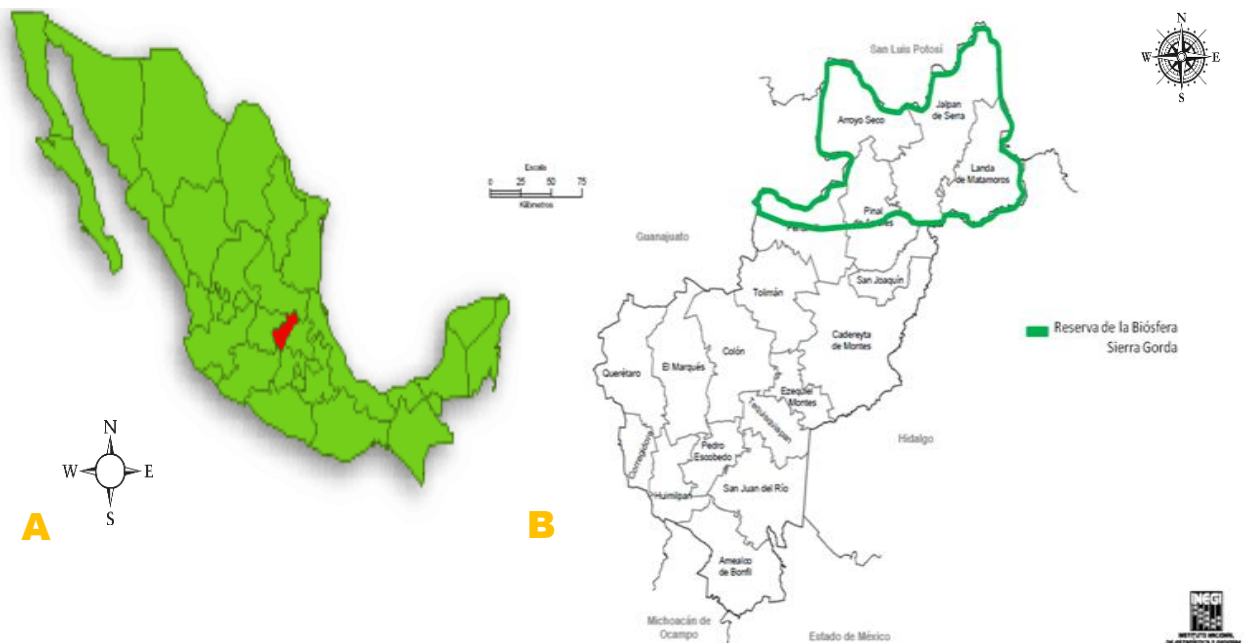


Fig. 1. A. Mapa de México, en rojo se ubica el estado de Querétaro; B. Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Querétaro, línea en verde. La Reserva abarca los municipios de Jalpan de Serra, Landa de Matamoros y Arroyo Seco (INEGI, 2010).

Para este estudio, se seleccionó un BTC, en el municipio de Jalpan de Serra (Fig. 2), localizado en el km 188 de la carretera Jalpan de Serra rumbo a Xilitla, a 6 km del poblado de Jalpan, debido a que ahí se localizaron zonas de bosque sin alterar. La localidad se encuentra ubicada en las coordenadas  $21^{\circ}10'37''$  N y  $-99^{\circ}25'41''$  O, a una altitud entre los 700-900 msnm.



Fig. 2. Localidad de trabajo, punto rojo; carretera Jalpan de Serra-Xilitla, Municipio de Jalpan de Serra, Querétaro, (Google maps 2014).

## 6.2 Trabajo de campo

### **Recolección de material biológico: helechos, raíces de helechos y suelo rizosférico**

Se realizaron tres muestreos, en diferentes fechas, que correspondieron a tres temporadas: inicio de lluvias, en mayo del 2014; lluvias, en agosto del 2014; y en secas, en enero del 2015.

Se seleccionaron dos especies de helechos *Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel y *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham (ambos Pteridaceae), por encontrarse varias poblaciones con suficientes individuos en el sitio seleccionado para este estudio (Fig. 3).



Fig. 3. A) *Cheilanthes lozanoi* (Maxon) R. Tryon & A. Tryon var. *seemannii* (Hook.) Mickel & Beitel (Pteridaceae y B) *Myriopteris aemula* (Maxon) Grusz & Windham (Pteridaceae), los helechos recolectados y en los que se muestreó el suelo rizosférico y las raíces. Fotos Alejandra Bautista.

En el BTC, se ubicaron siete poblaciones, de cada taxon, formando colonias que, al menos, contarán de cinco a siete individuos. Las diferentes poblaciones representaron réplicas para cada taxon de helecho. La ubicación de las poblaciones de helechos tuvo características parecidas en ladera, tipo de suelo y cobertura vegetal, para poder comparar y disminuir el error de muestreo (Fig. 4A). Las poblaciones muestreadas se localizaron a 30 m de separación unas de otras, para asegurar su independencia como réplicas.

En cada población, se recolectaron cuatro individuos de helechos, al azar, de cada taxon de helecho; así como el suelo rizosférico de cada uno de ellos, para formar muestras compuestas de suelo (14 muestras/temporada). Los cuatro individuos muestreados, por población/taxon, fueron recolectados por separado. Los ejemplares de helechos se extrajeron del suelo con una pala de jardinería, cuidando de extraer las raíces completas; se guardaron en bolsas de plástico y se etiquetaron (Fig. 4B). De cada individuo de helecho, por población/taxon, se tomaron las

raíces y se fijaron en alcohol al 70% para su preservación y posterior análisis de colonización por HMA en el laboratorio (Fig. 4C).

De los cuatro individuos de cada población/taxon de helecho, por separado, se recolectó el suelo rizosférico de cuatro puntos alrededor de cada planta, a una profundidad de 13 cm (aproximadamente 1 kg). El suelo recolectado se guardó en bolsas de plástico negras, las que se etiquetaron (Fig. 4D) y, posteriormente, se llevaron al laboratorio y se refrigeraron a 4 °C para evitar el crecimiento microbiano, hasta su análisis. En campo, se tomaron *in situ* 56 lecturas de temperatura del suelo en el transcurso del día (entre las 9 y 18 horas) con un termómetro de vidrio de inmersión parcial (76 mm) rango -20 a 110 ° C (MCA BRANNAN); estos datos representan la variación *in situ* de la temperatura del suelo asociado con cada población, de cada taxon de helecho. Las poblaciones fueron también georreferenciadas (Fig. 4E). Para las tres temporadas de muestreo, se realizó el mismo tipo de muestreo.

Posteriormente, los ejemplares recolectados fueron prensados y se llevaron al laboratorio para su determinación y herborización. El material de respaldo fue depositado en el Herbario Metropolitano (UAMIZ), de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.



Fig. 4. Muestreo de plantas, raíces y suelo rizosférico de helechos en la localidad de estudio: A) Población de helecho marcada en el bosque; B) Recolección de plantas; C) Recolección y fijación de las raíces; D) Recolección de suelo rizosférico; E) Toma de lectura de temperatura *in situ* y F) registro de georeferencia de cada población. Fotos Alejandra Bautista.

## 6.3 Trabajo de laboratorio

### 6.3.1 Extracción de esporas y determinación de los hongos micorrizógenos arbusculares

#### (HMA)

Las muestras del suelo recolectado se hicieron pasar por un tamiz de 2 mm de abertura de malla para retirar rocas pequeñas y raíces.

Se formaron muestras compuestas de suelo (800 g), con 200 g de suelo rizosférico, de los cuatro individuos de helechos recolectados, por cada población, por taxon, para la extracción de esporas de HMA y para la determinación de las propiedades físicas y químicas del suelo.

Las esporas de los HMA se aislaron de 100 g de suelo seco, siguiendo el método de flotación y tamizado húmedo propuesto por Gerdemann y Nicolson (1963), seguido de una centrifugación en sacarosa al 50% (Walker, 1997) (Anexo). Las esporas contenidas en el tamiz de 44 $\mu$  de abertura de malla, se recuperaron y se colocaron en una caja de Petri con una cuadrícula dibujada en el fondo (0.5 x 0.5 cm) para facilitar su conteo y recuperación, bajo un microscopio estereoscópico Carl Zeiss Stemi DV4 a un aumento de 32x.

Las esporas en buen estado y que presentaban contenido (gotitas lipídicas) se recuperaron para realizar preparaciones permanentes, éstas contenían entre 7 y 13 esporas aisladas, montadas en alcohol-polivinílico-lactoglicerol (PVLG) y PVLG más reactivo Melzer 1:1 (v/v) (Koske y Tessier, 1983). Las preparaciones se observaron con un microscopio óptico con y sin contraste de interferencia de Nomarski (Nikon OPTIPHOT-2, Universal Con. A, Japan). La determinación de géneros y especies de HMA, se realizó con base en las características morfológicas de las esporas (color, forma, tamaño, presencia de ornamentación en las paredes de la espora, etc.) las que se compararon y contrastaron con descripciones especializadas, algunas de las cuales se encuentran en la página web de la International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, 2006) y la página web de Blaszkowski (2003) y en diversas revistas científicas. Por último, los morfotipos de HMA se ratificaron con una especialista en HMA, de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Paralelamente, se tomaron fotografías de las esporas con una cámara digital (Panasonic Firmware Ver. 1.0). Las preparaciones de referencia fueron depositadas en el Laboratorio de Biosistemática y Filogenia de helechos y licofitas, Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas

y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, con algunos duplicados en el Herbario TLXM, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

### **6.3.2 Determinación de la abundancia, riqueza y diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)**

En las muestras de suelo rizosférico muestreadas de cada población de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, se determinaron la abundancia total (conteo directo) de esporas de HMA extraídas (esporas/100 g de suelo seco) y la abundancia relativa a partir del número de esporas por morfoespecie de HMA.

Con los datos obtenidos en la caracterización de morfotipos de HMA, se estimó la riqueza de especies; así como los valores de diversidad.

El Índice de Margalef (DMg), se utilizó para estimar la riqueza de especies de la comunidad de HMA asociados al suelo recolectado en cada taxon de helecho; éste se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de las mismas, para su estimación se usó la fórmula (Moreno, 2001):

$$D_{Mg} = S - 1 / \ln N$$

Donde:

S = número de especies

N = número total de individuos

El Índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ) que expresa la uniformidad de los valores de importancia, mide el grado promedio de incertidumbre en predecir a qué especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección y asume que los individuos son seleccionados al azar, y que todas las especies están representadas en la muestra (Moreno, 2001). La fórmula es:



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

$$P_i = n_i / N$$

Donde:

P<sub>i</sub> = abundancia de cada especie

Donde:

n<sub>i</sub> = número de esporas de una especie

N = número total de esporas de todas las especies

El Índice de Equitatividad de Pielou (J'), indica si todas las especies en una muestra presentan la misma abundancia, el índice usado para medir la equitatividad debería ser máximo y, por lo tanto, debería decrecer tendiendo a cero a medida que las abundancias relativas se hagan menos equitativas (Badii *et al.*, 2008). Se obtuvo con la ecuación:

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

Donde:

H' = Índice de diversidad de Shannon-Wiener

H' max = logaritmo natural de S

S = número total de especies

El Índice de Simpson ( $\lambda$ ) toma en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia, sin evaluar la contribución del resto de las especies; este índice manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie, se estima con la siguiente fórmula (Moreno, 2001):

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

Donde:

P<sub>i</sub> = la abundancia proporcional de la especie i

Por último, para conocer la similitud/disimilitud de la composición de especies de las comunidades de HMA entre los dos taxa de helechos y temporadas, se utilizó el Coeficiente de

Bray-Curtis, el cual considerando las abundancias específicas por especie, expresa el grado de cambio o reemplazo de especies entre comunidades (Badii *et al.*, 2008).

$$I_{B\&C} = 2jN / (aN + bN)$$

Donde:

aN = número total de individuos en la comunidad A

bN = número total de individuos de la comunidad B

jN = suma total de las abundancias menores de las especies encontradas en ambas comunidades.

Los índices de diversidad fueron obtenidos con el programa estadístico PAST 3.1 (Hammer *et al.*, 2001).

### **6.3.3 Determinación de la colonización micorrícica en las raíces de los helechos**

Las raíces recolectadas de cada individuo, de cada población, por taxon, fueron usadas para determinar el porcentaje de colonización, por medio del método modificado de clareo y tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970) (Anexo). Las raíces teñidas se conservaron en lactoglicerol hasta su análisis.

Se realizaron preparaciones permanentes con las raíces (cuatro por población). Se seleccionaron, al azar, 16 segmentos de raíz (1 cm) para cada réplica, por taxon, para la observación microscópica y el porcentaje de colonización se estimó con la fórmula: % colonización = número de segmentos colonizados/número total de segmentos observados  $\times$  100, método descrito por McGonigle *et al.* (1990). Los fragmentos de raíces se montaron en portaobjetos con alcohol-polivinílico-lactoglicerol (PVLG) y se examinaron con aumentos de 40 y 100X; se cuantificaron la colonización total y las estructuras típicas de los HMA (hifas, arbusculos, y vesículas), dentro de la raíz.

Las preparaciones permanentes de esporas y raíces, debidamente etiquetadas, están depositadas en el laboratorio de Biosistemática y Filogenia de Helechos y Licofitas, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, un duplicado de las preparaciones de esporas se depositó en el herbario del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (TLXM), Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.

#### **6.3.4 Determinación de las propiedades físicas y químicas del suelo**

Se analizaron las propiedades físicas y químicas del suelo a partir de 100 g de muestra compuesta de suelo, por cada réplica, por taxon de helecho.

Las propiedades físicas que se determinaron fueron: *i*) humedad del suelo (%), mediante el método gravimétrico, que es la diferencia de peso de la muestra húmeda y seca (después de haberse secado en la estufa por tres días hasta obtener un peso constante), y con la fórmula de peso constante ( $\% \text{ humedad} = \frac{\text{peso húmedo} - \text{peso seco}}{\text{peso seco}} \times 100$ ) se obtuvo el porcentaje de humedad (Fernández *et al.* 2006); *ii*) pH, se midió con un potenciómetro en una relación 1:2.5 p/v, en agua destilada (Marca Orion Star A111) (Fernández *et al.* 2006) y *iii*) la temperatura se tomó *in situ*, en las poblaciones de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*; para esto un termómetro de vidrio (MCA BRANNAN) fue enterrado en el suelo a una profundidad de 5 cm, por 5 minutos, transcurrido este tiempo, se registró la lectura y la hora del día.

Las propiedades químicas determinadas fueron: *i*) fósforo inorgánico disponible ( $\text{PO}_4$ ), por el procedimiento de Olsen (Olsen y Dean, 1965), la extracción se realizó con una solución de bicarbonato de sodio 0.5 N, ajustado a pH 8.5, y se evaluó la concentración  $\text{PO}_4$  por

colorimetría utilizando molibdato/ácido ascórbico y un espectrofotómetro; *ii*) materia orgánica del suelo (MOS), se cuantificó por el procedimiento de Walkley y Black (1934) ; *iii*) nitrógeno total (Nt), se determinó a través de una digestión ácida semi-microkjeldahl y titulación (Bremner, 1965); y *iv*) nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), fueron extraídos con solución de cloruro de potasio (KCl) 2N y se determinaron mediante destilación por arrastre de vapor en presencia de óxido de magnesio (MgO) (Bremner, 1965).

#### **6.4 Análisis estadístico**

Se usaron diferentes pruebas estadísticas para analizar los datos de este estudio. Para determinar las diferencias en la comunidad de esporas de HMA entre las especies de helecho y las temporadas, se compararon con un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores (factores: taxon de helecho y temporalidad;  $p \leq 0.05$ ) los siguientes parámetros: riqueza de especies, número de esporas por especies, abundancia total y el Índice de Dominancia de Simpson. Además, para observar las diferencias en las comunidades de HMA entre los taxa de helechos y entre temporadas se usó el Coeficiente de similitud/disimilitud de Bray-Curtis (Brower y Zar, 1984).

Las variables de respuesta de los HMA a la temporalidad y taxon de helecho: colonización micorrícica por HMA (total -CT-) y por estructura fúngica (CE) y las propiedades físicas y químicas del suelo, se analizaron con un análisis de varianza de dos factores (ANOVA,  $p \leq 0.05$ ), teniendo como factores a la temporalidad y al taxon de helecho. Cuando el ANOVA indicaba diferencias significativas, las medias se compararon mediante una prueba de comparación múltiple de Tukey HDS ( $p \leq 0.05$ ) (Sokal y Rohlf, 1995). La concentración de las

formas inorgánicas del N que podrían estar siendo captadas por los helechos en estudio, se estimó con el cociente nitrato/amonio ( $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ ), el cual se comparó entre los taxa de helechos y entre temporadas con un ANOVA de dos factores. Previo al análisis, las variables de respuestas fueron sometidas a una prueba de homogeneidad de varianza, cuando los datos no presentaron una distribución normal, éstos se transformaron a  $\log_{10}$  para ajustarlos a la distribución normal. Cuando los datos no se ajustaban a los supuestos de normalidad aún transformados, se analizaron mediante una prueba de Kruskal-Wallis (H) (Potvin y Roff, 1993), este fue el caso de la concentración de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y el el Índice de Equidad de Shannon-Wiener. Los parámetros de colonización y los morfotipos de HMA fueron relacionados con las propiedades físicas y químicas del suelo mediante un análisis de componentes principales (ACP) (ter Braak, 1990), el cual expresa qué parámetros ambientales (factores) podrían estar explicando la riqueza de especies de HMA y el porcentaje de colonización por HMA; esto se representó sobre un espacio de dos dimensión, definido por parejas de los componentes principales más importantes.

Los análisis se realizaron con los programas Statistica vers 8.0 (Statsoft, 2007), XLSTAT (2008) y PAST 3.1 (Hammer *et al.*, 2001), y en todos los casos los promedios se consideraron significativamente diferentes con una  $p \leq 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Abundancia, riqueza y diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los resultados indican que la abundancia oscila entre 80 a 220 esporas por gramo, de suelo seco. De acuerdo con el ANOVA, la abundancia de las esporas de HMA no varió entre temporadas ( $F = 0.67$ ,  $p = 0.61$ ). En las tres temporadas, en el suelo rizosférico de *Myriopteris aemula* se presentó mayor abundancia de esporas de HMA que en el suelo de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y, de acuerdo con el ANOVA, existen diferencias significativas entre los taxa ( $F = 5.08$ ,  $p = 0.030$ ). A pesar de que se observó una tendencia al aumento de la abundancia de esporas de HMA que va del inicio de lluvias hacia la temporada de secas, en ambos taxa de helechos (Fig. 5), esta no fue significativa ( $F = 0.67$ ,  $p = 0.61$ ).

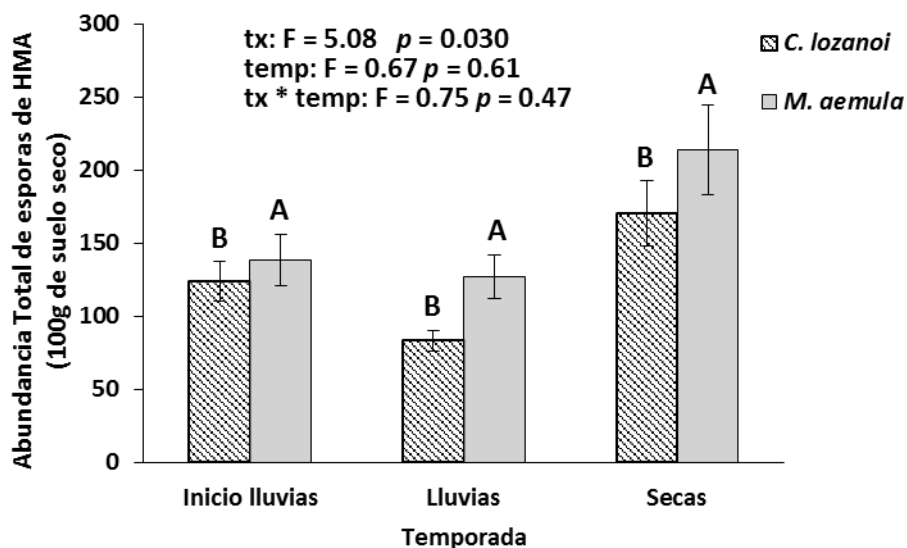


Fig. 5. Abundancia total de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) extraídas del suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula* en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en un bosque tropical caducifolio, en la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Jalpan de Serra, Querétaro. ANOVA de dos factores (F),  $p \leq 0.05$  representa diferencias significativas. Abreviaturas: tx = especie y temp = temporada. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre taxa.

Se obtuvieron un total de 23 morfotipos de HMA en los dos taxa de helechos, en las tres temporadas. Así mismo, se registró por primera vez a *Glomus multiformum* Tadych & Błaszk. y a *Claroideoglosum* aff. *drummondii* Błaszk. & Renker, pero se designó como afin debido a que no se observó reacción del reactivo Melzer en la pared interna de las esporas, lo que causa cierta incertidumbre sobre su determinación. De corroborarse este carácter esta sería la primera vez que se encontraría dicha especie para México (Cuadro 1; Fig. 6).

Cuadro 1. Morfotipos de hongos micorrízogenos arbusculares (HMA) asociados a la rizosfera de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, del bosque tropical caducifolio, de Jalpan de Serra, Querétaro.  
\*Nuevo registro para México.

Morfotipo HMA		Familia
<i>Acaulospora morrowiae</i>	Spain & N.C. Schenck	Acaulosporaceae
<i>Acaulospora spinosa</i>	C. Walker & Trappe	Acaulosporaceae
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	Trappe	Acaulosporaceae
<i>Acaulospora mellea</i>	Spain & N.C. Schenck	Acaulosporaceae
<i>Ambispora gerdemannii</i>	(S.L. Rose, B.A. Daniels & Trappe) C. Walker, Vestberg & A. Schüßler	Ambisporaceae
<i>Diversispora eburnea</i>	(L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & A. Schüßler	Diversisporaceae
<i>Claroideoglopus claroideum</i>	N.C. Schenck & G.S. Sm	Claroideoglomeraceae
* <i>Claroideoglopus</i> aff. <i>drummondii</i>	Błaszk. & Renker	Claroideoglomeraceae
<i>Claroideoglopus etunicatum</i>	W.N. Becker & Gerd.	Claroideoglomeraceae
<i>Diversispora spurca</i>	(C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüßler	Diversisporaceae
<i>Entrophospora infrequens</i>	(I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid	Acaulosporaceae
<i>Funneliformis geosporum</i>	(T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	Glomeraceae
<i>Funneliformis mosseae</i>	(T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & Schuessler	Glomeraceae
<i>Gigaspora decipiens</i>	I.R. Hall & L.K. Abbott	Gigasporaceae
<i>Glomus macrocarpum</i>	Tul. & C. Tul.	Glomeraceae
* <i>Glomus multiforum</i>	Tadych & Błaszk.	Glomeraceae
<i>Glomus spinuliferum</i>	Sieverd. & Oehl	Glomeraceae
<i>Glomus</i> sp. 1		Glomeraceae
<i>Glomus</i> sp. 2		Glomeraceae
<i>Scutellospora</i> aff. <i>gilmorei</i>	(Trappe & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders	Gigasporaceae
<i>Scutellospora verrucosa</i>	(Koske & C. Walker) C. Walker & F.E. Sanders	Gigasporaceae
<i>Scutellospora</i> sp.		Gigasporaceae
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>	(Thaxt.) Gerd. & Trappe	Glomeraceae



La mayor parte de los suelos rizosféricos de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, son diversos en cuanto a las especies de HMA (Cuadro 2), asociadas a los suelos rizosféricos de estas plantas. Los morfotipos de HMA identificados como *Acaulospora scrobiculata*, *A. mellea*, *Funneliformis geosporum* y *Glomus multiforum*, fueron los más abundantes; mientras que *F. mosseae*, *Claroideoglosum* aff. *drummondii*, *C. etunicatum*, *G. macrocarpum* y *Rhizophagus fasciculatus*, estuvieron presentes solamente en la temporada de secas y, más específicamente, en el suelo de *M. aemula*; con excepción de *A. morrowiae*, que sólo se presentó en el suelo rizosférico de *C. lozanoi* var. *seemannii* (Cuadro 2).

En el suelo rizosférico de *M. aemula* se determinaron 15 morfotipos en la temporada de lluvias y 19 en secas, presentando una mayor riqueza que *C. lozanoi* var. *seemannii*; sin embargo, se obtuvo lo contrario en la temporada de inicio de lluvias, en donde *C. lozanoi* var. *seemannii* registró 14 morfotipos y *M. aemula* sólo 12 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Listado de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el suelo rizosférico asociado con *Cheilanthes lozanoii* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, e índices de diversidad, en tres temporadas, en un bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. ± Error estándar. \* = Presencia

Morfortipo HMA/Helecho	Inicio Lluvias		Lluvias		Secas	
	<i>C. lozanoii</i>	<i>M. aemula</i>	<i>C. lozanoii</i>	<i>M. aemula</i>	<i>C. lozanoii</i>	<i>M. aemula</i>
<i>Acaulospora morrowiae</i>	*				*	
<i>Acaulospora spinosa</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Acaulospora mellea</i>		*	*	*	*	*
<i>Ambispora gerdemannii</i>	*	*			*	*
<i>Diversispora eburnea</i>		*		*		*
<i>Claroideoglosum claroideum</i>	*	*		*	*	*
* <i>Claroideoglosum</i> aff. <i>drummondii</i>						*
<i>Claroideoglosum etunicatum</i>						*
<i>Diversispora spurca</i>			*		*	
<i>Entrophospora infrequens</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Funneliformis geosporum</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Funneliformis mosseae</i>			*			
<i>Gigaspora decipiens</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Glomus macrocarpum</i>				*		*
* <i>Glomus multiforum</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Glomus spinuliferum</i>	*		*			*
<i>Glomus</i> sp. 1	*		*		*	
<i>Glomus</i> sp. 2		*		*		*
<i>Scutellospora</i> aff <i>gilmorei</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Scutellospora verrucosa</i>	*		*	*	*	*
<i>Scutellospora</i> sp.	*		*	*	*	*
<i>Rhizophagus fasciculatus</i>				*		*
<b>Riqueza</b>	14	12	14	15	15	19
<b>Abundancia/especie</b>	463	507	269	432	317	598
<b>Índice de Margalef</b>	2.024(±0.2)	1.737(±0.1)	1.394(±0.2)	1.951(±0.2)	1.749(±0.2)	2.412(±0.1)
<b>Índice de Simpson</b>	0.267(±0.03)	0.229(±0.01)	0.417(±0.09)	0.247(±0.03)	0.310(±0.06)	0.185(±0.01)
<b>Índice de Pielou</b>	0.266(±0.02)	0.286(±0.01)	0.156(±0.01)	0.540(±0.2)	0.296(±0.02)	0.225(±0.01)
<b>Índice Shannon-Wiener</b>	0.561(±0.01)	0.593(±0.01)	0.514(±0.06)	1.186(±.5)	0.547(±0.03)	0.534(±0.02)

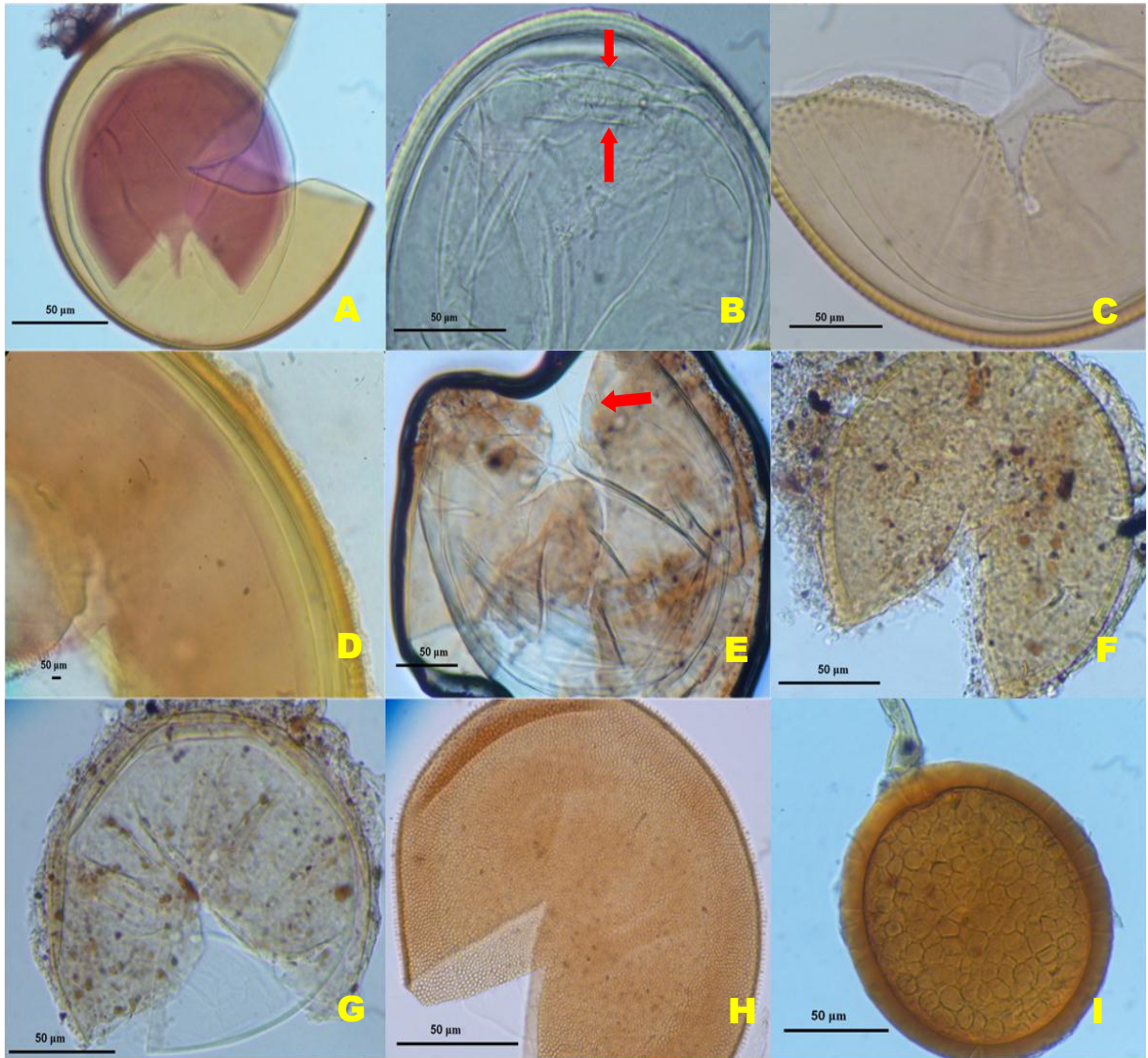


Fig. 6. Fotografías de los morfotipos de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), asociados con la rizósfera de *Cheilanthes lozanoi* var *seemannii* y *Myriopteris aemula*, del bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. A) Espora de *Acaulospora mellea*, se observa la pared de la espora lisa (sin ornamentación) y la reacción al Melzer en la capa interna; B) espora de *A. morrowiae*, se aprecia la cámara de germinación (flecha roja); C) *A. scrobiculata*, se observa la ornamentación (pequeñas depresiones) de la pared dos; D) *A. spinosa*, detalle de la ornamentación (espinas) de la pared dos; E) *Ambispora gerdemanni*, espora acaulosporoide, detalle de las numerosas líneas de fractura de la capa tres (flecha roja); F) *Diversispora eburnea*, G) *D. spurca*, se observa los pliegues de la pared dos; H) *Entrophospora infrequens*, pared dos con proyecciones cuyo ápice está ligeramente hendido e I) *Funneliformis geosporum*, pared dos rígida con colores de amarillo-pardo a anaranjado-pardo, y pequeño septo en la hifa de sostén.

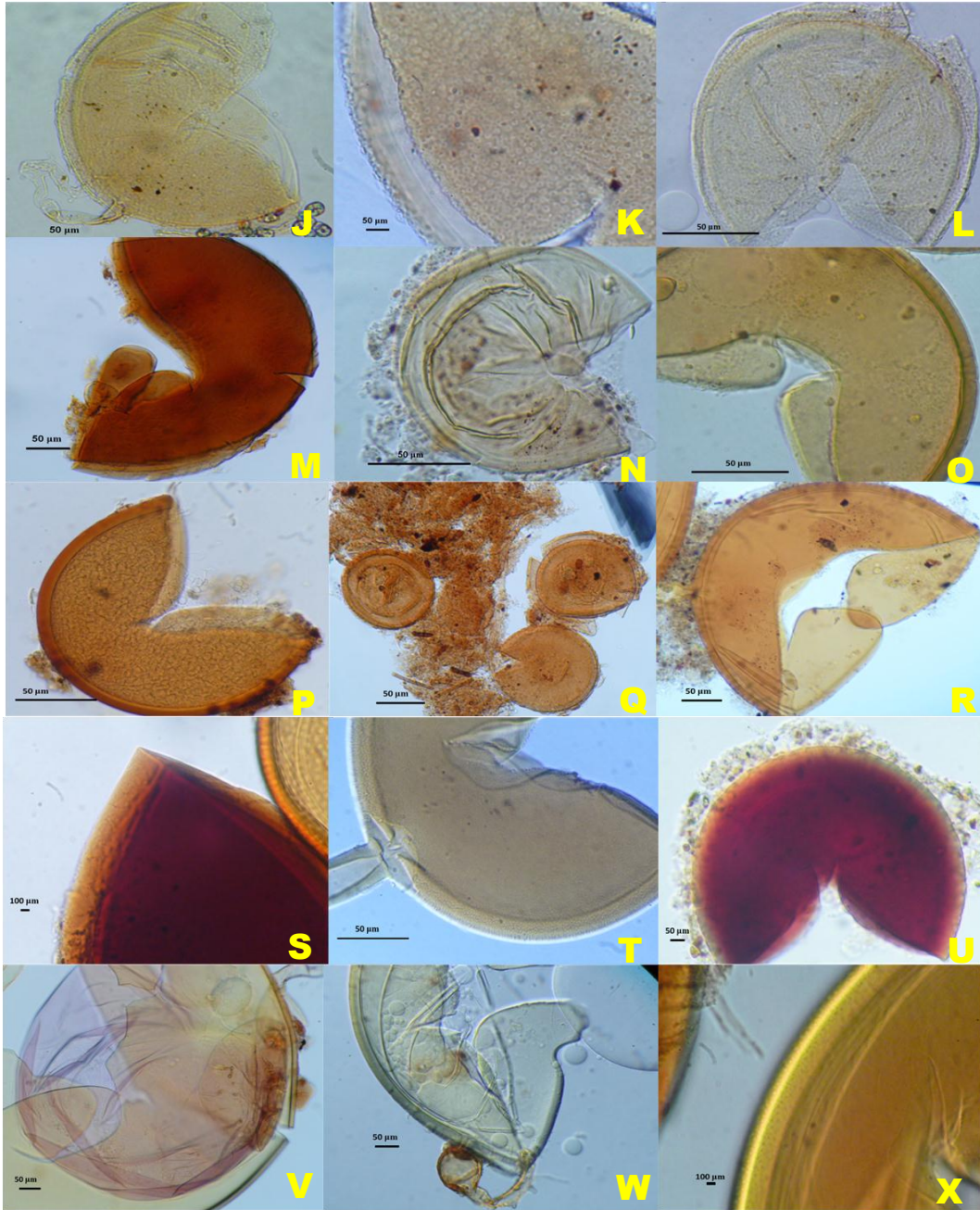


Fig. 6. Continuación. J) *Funneliformis mosseae*, se observa la capa uno con pequeños granulos, capas dos y tres separadas, hifa de sostén en forma de embudo; K-L) *Glomus multiforum*, se observa ornamentación hacia adentro en la capa dos que forma marcas complementarias sobre la capa tres; M) *Gigaspora dicipiens*, hifa bulbosa, papilas que indica que se trata del estrato germinal; N) *Claroideoglomus* aff. *drummondii*, espora pequeña, capa tres delgada, incolora y flexible; O) *C. claroideum*, su capa mas interna flexible; P) *C. etunicatum*, en reactivo Melzer se observan manchas rojizas en la capa dos, indicativas de la reacción; Q) *G. macrocarpum*, esporas con dos capas y en esporocarpio; R) *Glomus* sp.1, S) *Glomus* sp.2, T) *G. spinuliferum*, capa dos con ornamentación (espinas finas); U) *Rhizophagus fasciculatum*, capas 1-3 teñidas de color rosa-rojo con Melzer; V) *Scutellospora* aff. *gilmorei*, W) *Scutellospora* sp. y X) *S. verrucosa*, mostrando pequeñas papilas en la capa uno de la espora.

De acuerdo con el Índice de Margalef (DMg), los valores de riqueza específica de HMA en el suelo asociado a *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, fueron similares en las tres temporadas (Cuadro 2), y el ANOVA no mostró diferencias significativas en la riqueza de HMA entre los taxa de helechos ( $F = 3.35$   $p = 0.075$ ) ni entre las temporadas ( $F = 1.92$   $p > 0.05$ ); sin embargo, hubo una interacción significativa entre los taxa y la temporada (Cuadro 3). En la temporada de lluvias *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula* tuvieron menor riqueza de HMA que en la temporada de secas.

El Índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), indicó que *Myriopteris aemula* ( $H' = 1.18$ ) presentó mayor diversidad de esporas de HMA en su rizósfera que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* ( $H' = 0.51$ ), durante la temporada de lluvias; mientras que para las temporadas de inicio de lluvias (*C. lozanoi* var. *seemannii*:  $H' = 0.56$ ; *M. aemula*:  $H' = 0.59$ ) y secas (*C. lozanoi* var. *seemannii*:  $H' = 0.54$ ; *M. aemula*:  $H' = 0.53$ ), los valores de diversidad fueron similares (Cuadro 2). De acuerdo con el análisis de Kruskal-Wallis, no existen diferencias estadísticamente significativas en la diversidad de HMA entre los taxa de helechos ni entre las temporadas (Cuadro 3).

El Índice de diversidad de Simpson ( $\lambda$ ) muestra que *Myriopteris aemula* ( $\lambda = 0.24$ ) presentó menor diversidad que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* ( $\lambda = 0.41$ ), en la temporada de lluvias; mientras que en las temporadas de inicio de lluvias y en secas, *C. lozanoi* var. *seemannii* (inicio de lluvias:  $\lambda = 0.26$ ; secas:  $\lambda = 0.31$ ) mostró mayor dominancia de especies de HMA que *M. aemula* (inicio de lluvias:  $\lambda = 0.22$ ; secas:  $\lambda = 0.18$ ) (Cuadro 2). De acuerdo con el ANOVA, existen diferencias estadísticamente significativas en la dominancia de especies

de HMA entre *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula*, en donde este último taxa tuvo un valor mayor en las tres temporadas (Cuadro 3).

Por otra parte, el Índice de Equitabilidad ( $J'$ ) mostró que las abundancias relativas de las especies de HMA en el suelo rizosférico de *Myriopteris aemula*, en la temporada de lluvias, son estadísticamente no diferentes ( $J' = 0.54$ ); en comparación con las *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* que presentó menor equidad ( $J' = 0.15$ ). Los valores similares de equidad entre *M. aemula* y *C. lozanoi* var. *seemannii* ocurrieron al inicio de lluvias y en secas (Cuadro 2). El ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas en la equidad de las comunidades de HMA entre los taxa de helecho y, además, la equidad fue afectada significativamente por la interacción entre el taxon y la temporalidad ( $F = 8.9$ ,  $p = 0.001$ ; Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA) factorial para los índices de diversidad para *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. Índices de Riqueza de Margalef, de dominancia de Simpson y de Equitatividad de Pielou; prueba de Tukey después de un ANOVA de dos factores,  $p \leq 0.05$ , Índice de Diversidad de Shannon-Wiener, Kruskal-Wallis,  $p \leq 0.05$ .

Índice	Fuente de variación (F)					
	Taxa (tx)		Temporada (Tempo)		Interacción (tx*Tempo)	
	F	P	F	P	F	P
Margalef (DMg)	3.35	0.07	1.92	0.15	3.13	<u>0.05</u>
Simpson ( $\lambda$ )	7.6	<u>0.009</u>	1.86	0.16	0.81	0.44
Equidad Pielou ( $J'$ )	4.62	<u>0.03</u>	0.43	0.65	8.9	<u>0.001</u>
Shannon-Wiener ( $H'$ )	tx1: K - W = 0.096 $p = 0.95$					
	tx2: K - W = 2.25 $p = 0.32$					

Cuatro morfotipos de HMA dominaron en el suelo de ambos helechos: *Acaulospora mellea*, *A. scrobiculata*, *Funneliformis geosporum* y *Glomus multiforum*. De acuerdo con el Índice de Simpson, entre mayor sea el valor y se acerque a 1, la diversidad disminuye, con base en este concepto y considerando que el valor más alto que se registró fue de 0.417, los taxa de helechos estudiados podrían estar promoviendo una baja dominancia de HMA.

El Índice de Bray-Curtis, mostró que la composición de especies de HMA, entre los taxa de helechos, mostró un 95% de disimilitud. El Índice, representado mediante un dendograma, muestra que la comunidad de HMA de *Cheilanthes* var. *seemannii* en lluvias (Cl) y en secas (Cs), tiene una disimilitud de un 91%, con respecto a la composición de especies de HMA de *Myriopteris aemula*, en las tres temporadas (Ms, Mi, Ml), y de *C.* var. *seemannii* en el inicio de lluvias (Ci); así mismo, se observa que, en la temporada inicio de lluvias, *C. lozanoi* var. *seemannii* (Ci) y *M. aemula* (Mi) tuvieron una menor disimilitud en su composición de HMA (Fig. 7). Esta separación de grupos se distingue también con el análisis de componentes principales (ACP), donde se relacionó a los morfotipos de HMA, con las propiedades del suelo.

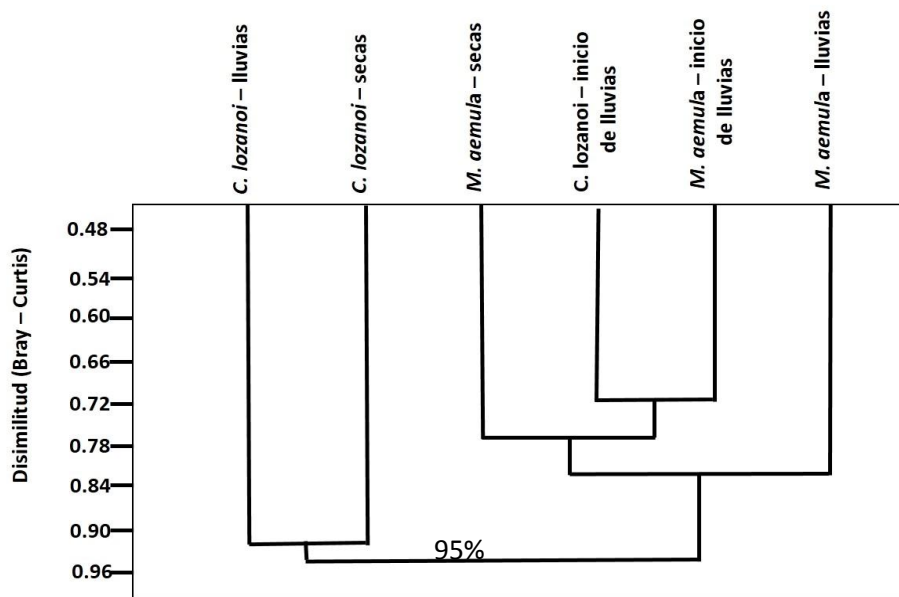


Fig. 7. Dendrograma de disimilitud (Bray-Curtis) de la composición de especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), en el suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoii* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro.

## 7.2 Colonización micorrícica en las raíces de los helechos

La presencia de colonización micorrícica arbuscular, se observó en las raíces de *Cheilanthes lozanoii* var. *seemannii* y de *Myriopteris aemula*, en las tres temporadas (Fig. 8).



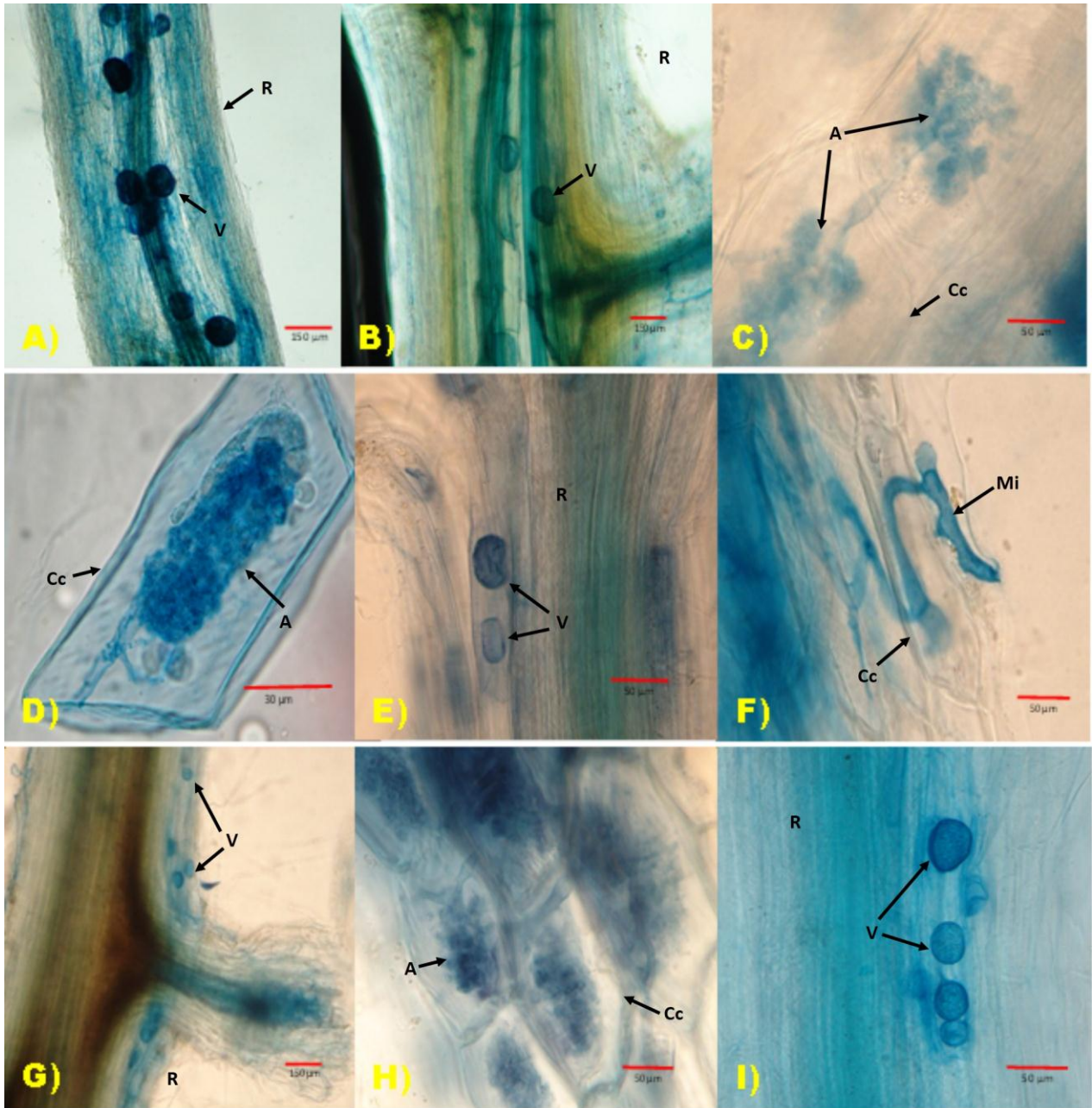


Fig. 8. Estructuras de hongos micorrizógenos arbusculares en las células de la raíz de los taxa en estudio, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio. *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*: A)- B) Se observa la colonización dentro de la raíz, C)- D) Arbúsculos en células corticales y E) Vesículas en célula cortical; y *Myriopteris aemula*: F) Micelio interno en célula cortical, G) Vesículas formadas cerca de la raíz secundaria, H) Arbúsculo dentro de la raíz e I) Vesículas en célula cortical. Raíz (R), Célula cortical (Cc), Micelio interno (Mi), Vesícula (V), Arbúsculo (A).

El ANOVA, muestra que la colonización micorrícica arbuscular total varió entre *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en las tres temporadas ( $F = 8.76$   $p = 0.005$ ). Las raíces de *M. aemula* presentaron mayor colonización micorrícica, en comparación con *C. lozanoi* var. *seemannii* en las tres temporadas. Aunque, fue durante la temporada de secas, que las raíces de ambas especies de helechos presentaron mayor colonización micorrícica, en comparación con las temporadas de inicio de lluvias y lluvias ( $F = 31.81$   $p < 0.001$ , Fig. 9A). En el caso de los porcentajes de colonización para cada estructura fúngica, el análisis estadístico mostró diferencias significativas para la colonización por hifas entre *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula* ( $F = 4.33$   $p = 0.044$ , Fig. 9B). En las tres temporadas, *M. aemula* presentó un mayor porcentaje de colonización que *C. lozanoi* var. *seemannii*. En la temporada de secas, se presentó mayor porcentaje de colonización por hifas, que durante las temporadas de inicio de lluvias y lluvias. Asimismo, la colonización por vesículas fue mayor en *M. aemula* que en *C. lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas ( $F = 27.55$   $p < 0.001$ , Fig. 9C). Por último, la colonización por arbuscúlos no varió entre las especies de helechos ni entre las temporadas (Fig. 9D).

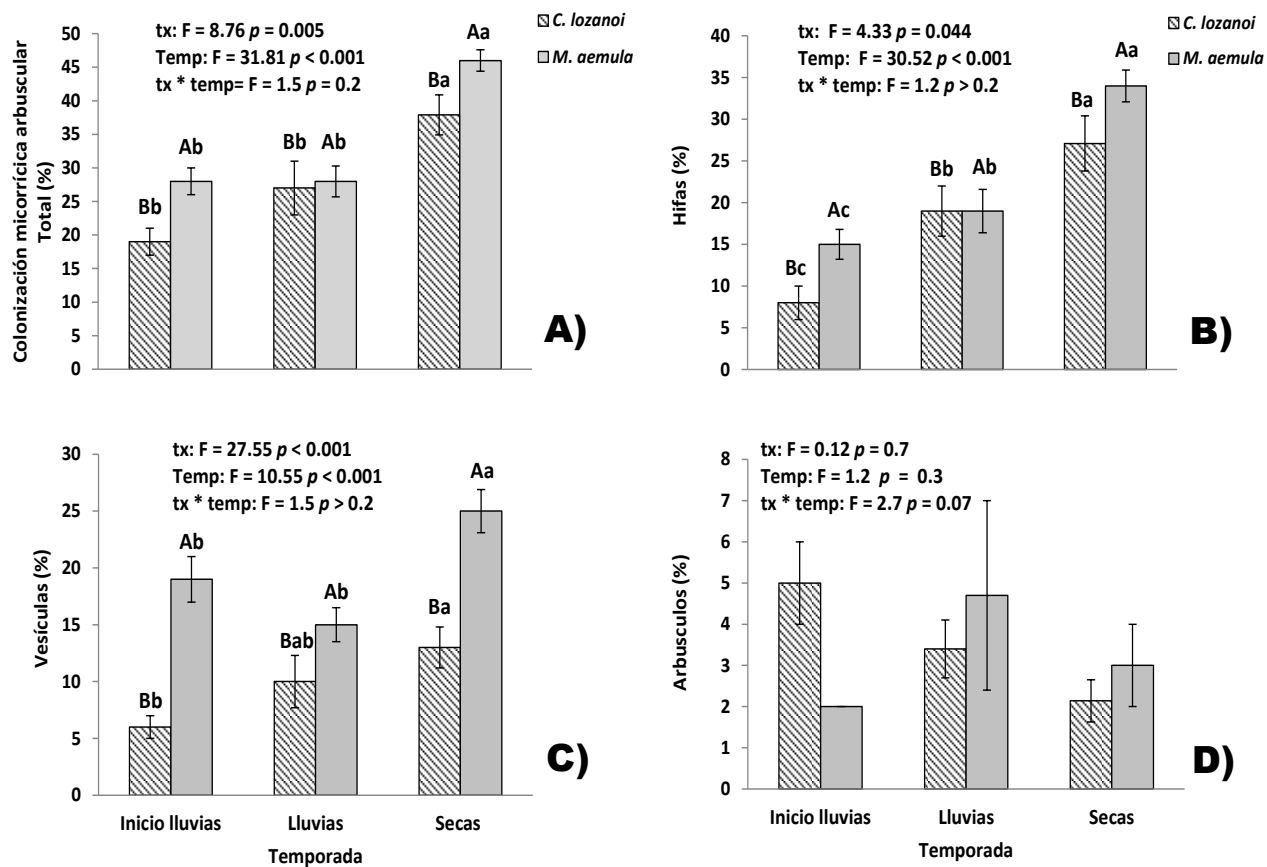


Fig. 9. Colonización micorrízica de las raíces de los helechos *Cheilanthes lozanoii* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. ANOVA de dos factores (F) la  $p \leq 0.05$  representa diferencias significativas. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre taxa; mientras que las letras minúsculas indican diferencias significativas entre temporadas.

### 7.3 Propiedades físicas y químicas del suelo

La humedad del suelo varió entre las temporadas y disminuyó del inicio de lluvias > lluvias > a secas. La humedad del suelo fue mayor en la temporada de inicio de lluvias que en la temporada de lluvias y secas ( $F = 82.81$   $p < 0.001$ ). La humedad del suelo asociado con *Myriopteris aemula* fue mayor ( $F = 15.16$   $p < 0.001$ ), que en el suelo asociado a *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas (Cuadro 5 y 6).

El pH del suelo rizosférico no fue significativamente diferente entre *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en las tres temporadas (Cuadro 5 y 6). El ANOVA muestra que sí existe una variación entre la temporada de inicio de lluvias y lluvias, contra la temporada de secas, observándose, en esta última, un suelo más básico. El pH del suelo asociado con *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula*, se encontró entre ligeramente ácido y ligeramente básico.

Los taxa de helechos y la temporalidad, afectaron la temperatura *in situ* del suelo (Cuadro 5 y 6). El suelo de la temporada de lluvias se registró mayor temperatura que el suelo de las temporadas de inicio de lluvias y secas ( $F = 12.75$   $p < 0.001$ ). La mayor temperatura fue registrada en el suelo de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* ( $F = 6.54$   $p = 0.01$ ) en comparación con la registrada en el suelo de *Myriopteris aemula*.

Las concentraciones de materia orgánica (MOS), fósforo inorgánico ( $PO_4$ ) y nitrógeno total (Nt), no fueron afectadas por la temporalidad (Cuadro 5 y 6). El porcentaje de MOS en el suelo rizosférico de *Myriopteris aemula* fue mayor, en comparación con el de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* ( $F = 9.9$ ,  $p = 0.003$ ) en las tres temporadas.

En el suelo, la concentración de  $\text{PO}_4$  fue significativamente similar ( $p > 0.05$ ) entre *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*; además, ni la temporalidad ni la interacción de ésta con los taxa, influyeron sobre la disponibilidad del fósforo (Cuadro 5 y 6).

La concentración de Nt, fue afectada significativamente por la interacción entre el taxon y la temporalidad ( $F = 9.94$   $p < 0.001$ ). Se registró una mayor concentración de Nt en el suelo rizosférico de *M. aemula* al inicio de lluvias y en lluvias; mientras que, para la temporada de secas, el suelo rizosférico de *C. lozanoi* var. *seemannii*, registró una mayor concentración de Nt.

Las concentraciones de las formas disponibles de N,  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$ , no fueron influidas por la interacción entre el taxon y la temporalidad, pero sí por la temporalidad. Los valores del  $\text{NH}_4$  fueron analizados por medio de un análisis de Kruskal-Wallis, lo que mostró que la temporalidad influye en la concentración de  $\text{NH}_4$  en el suelo de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* (K-W= 13.92  $p < 0.001$ ) y *Myriopteris aemula* (K-W = 14.75  $p < 0.001$ ). La mayor concentración de  $\text{NH}_4$  se registró al inicio de lluvias, en comparación con lluvias y secas. La concentración de  $\text{NO}_3$  en el suelo rizosférico, fue afectada por el taxon y por la temporalidad. La concentración de  $\text{NO}_3$  fue menor en el suelo asociado con *C. lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas; mientras que la mayor concentración, se registró al inicio de lluvias (Cuadro 5 y 6).

El cociente nitrato/amonio ( $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ ), fue afectado por el taxon y por la temporalidad (Cuadro 5 y 6). El cociente  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$  fue menor en el suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas, en comparación con el suelo de *Myriopteris aemula*; en este último caso, se registró la mayor concentración de  $\text{NO}_3$  en la temporada de lluvias ( $F =$

16.92  $p < 0.001$ ). El mayor valor del cociente  $\text{NO}_3/\text{NH}_4$ , se observó en la temporada de lluvias, indicando que la mineralización fue mayor, volviendo el nitrato abundante en el suelo y tal vez con la facilidad de ser captado por las raíces de los taxa; mientras que el  $\text{NO}_3$  durante el inicio de lluvias y secas tuvo menor concentración.

Cuadro 5. Propiedades físicas y químicas del suelo registradas en el suelo rizosferico con *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro.  $\pm$  Error estándar.

Propiedades del suelo	Inicio de lluvias		Lluvias		Secas	
	<i>C. lozanoi</i>	<i>M. aemula</i>	<i>C. lozanoi</i>	<i>M. aemula</i>	<i>C. lozanoi</i>	<i>M. aemula</i>
Humedad (%)	25.65 ( $\pm 0.9$ )	29.95 ( $\pm 0.6$ )	12.96 ( $\pm 2.4$ )	17.02 ( $\pm 1.9$ )	6.69 ( $\pm 1.2$ )	12.27 ( $\pm 0.5$ )
pH (1:2.5 H <sub>2</sub> O)	7.19 ( $\pm 0.07$ )	7.31 ( $\pm 0.08$ )	7.04 ( $\pm 0.08$ )	7.21 ( $\pm 0.1$ )	7.41 ( $\pm 0.08$ )	7.53 ( $\pm 0.09$ )
Temperatura (°C)	21.55 ( $\pm 0.27$ )	21.46 ( $\pm 0.29$ )	23.96 ( $\pm 0.24$ )	22.84 ( $\pm 0.16$ )	21.64 ( $\pm 0.6$ )	19 ( $\pm 0.31$ )
Materia orgánica (%)	12.94 ( $\pm 0.34$ )	15.38 ( $\pm 0.7$ )	13.4 ( $\pm 0.63$ )	15.51 ( $\pm 1.15$ )	13.75 ( $\pm 1.9$ )	21.28 ( $\pm 4.23$ )
Fósforo inorgánico ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	6.67 ( $\pm 0.84$ )	6.71 ( $\pm 1.04$ )	5.2 ( $\pm 0.76$ )	6.53 ( $\pm 1.14$ )	6 ( $\pm 0.48$ )	5.28 ( $\pm 0.42$ )
Nitrógeno total (%)	0.64 ( $\pm 0.02$ )	0.81 ( $\pm 0.04$ )	0.72 ( $\pm 0.04$ )	0.93 ( $\pm 0.08$ )	0.97 ( $\pm 0.08$ )	0.69 ( $\pm 0.04$ )
Nitrato (ppm)	60 ( $\pm 4.09$ )	76.71 ( $\pm 5.52$ )	34.52 ( $\pm 2.45$ )	44.93 ( $\pm 3.45$ )	16.28 ( $\pm 1.75$ )	17 ( $\pm 0.69$ )
Amonio (ppm)	109.57 ( $\pm 7.21$ )	87.28 ( $\pm 10.2$ )	22.94 ( $\pm 1.14$ )	25.1 ( $\pm 1.76$ )	21.57 ( $\pm 1.04$ )	20.28 ( $\pm 1.4$ )
Cociente $\text{NO}_3/\text{NH}_4$	0.55 ( $\pm 0.02$ )	0.93 ( $\pm 0.08$ )	1 ( $\pm 0.4$ )	2 ( $\pm 0.12$ )	0.75 ( $\pm 0.06$ )	0.86 ( $\pm 0.09$ )

Cuadro 6. ANOVA factorial para las variables del suelo rizosférico asociado a *Cheilanthes lozanoi* var. *seemmannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001, ns: no significativo.

Variables	Fuente de variación (F)		
	Taxa (tx)	Temporada (Tempo)	Interacción (tx*Tempo)
Humedad	15.16***	82.81***	0.15 <sup>ns</sup>
pH	3.54 <sup>ns</sup>	8.23***	0.06 <sup>ns</sup>
Temperatura	6.54**	12.75***	2.18 <sup>ns</sup>
Materia orgánica	9.90***	1.16 <sup>ns</sup>	1.19 <sup>ns</sup>
Nitrógeno total	0.53 <sup>ns</sup>	1.94 <sup>ns</sup>	9.94***
Nitrato	11.12***	117.21***	2.90 <sup>ns</sup>
Fósforo inorgánico	0.003 <sup>ns</sup>	1.17 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>
Cociente Nitrato/Amonio	16.92***	81.48***	1.55 <sup>ns</sup>
<b>Amonio</b>		tx1: K - W = 13.92***	
		tx2: K - W = 14.75 ***	

El análisis de componentes principales (ACP), mostró una relación significativa ( $p < 0.0001$ ) entre los morfotipos de HMA y las propiedades físicas y químicas del suelo, lo que refleja que existe una correlación entre las variables que fue explicada por una varianza acumulada de 25.4% por los componentes 1 y 2. Se formaron dos grupos, separados, principalmente, por la temporalidad, mas no por el taxon de helecho; igualmente, se observó una relación positiva de los morfotipos a ciertas propiedades físicas y químicas del suelo analizadas (Fig. 10).

Así mismo, se observó que las variables que correlacionaron con el primer componente fueron: PO<sub>4</sub> (0.331), NO<sub>3</sub> (0.867), NH<sub>4</sub> (0.780) y la humedad (0.78); mientras que la riqueza de especies de HMA (0.73) y la temperatura (0.602), correlacionaron con el componente 2; mientras que la MOS (0.602) y el Nt (0.457) no correlacionaron con estos (Fig. 10).

De los dos grupos formados, el Primer Grupo incluye a: las temporadas de lluvias y secas, ambos taxa de helecho, MOS, el Nt, y la temperatura, así como con la mayoría de morfotipos de HMA (Fig. 10). Para este grupo, la mayoría de los morfotipos de HMA se correlacionaron positivamente con la MOS cuya concentración fue mayor en secas y la concentración de Nt. En ambas temporadas, lluvias y secas, se presentan condiciones favorables para ciertos morfotipos de HMA como *Acaulospora mellea*, *Diversispora eburnea*, *Funneliformis geosporum*, *Claroideoglopus aff. drummondii* y *Scutellospora verrucosa*. Además, muestra que los bajos porcentajes de humedad y la baja disponibilidad de PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub> y NO<sub>3</sub>, son favorables para la presencia de la mayoría de los morfotipos de HMA (Fig. 10). En este estudio, estas condiciones se presentaron en las temporadas de lluvias y de secas.

El Segundo Grupo, estuvo conformado por la temporada de inicio de lluvias, ambos taxa de helecho, cuatro variables ambientales (NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub> y la humedad) y algunos morfotipos de HMA ( $\pm$  9 morfotipos). Para este grupo, la magnitud de los vectores de las variables NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, Pi y la humedad, se correlacionaron con un menor número de morfotipos en comparación con el Primer Grupo como: *Acaulospora scrobiculata*, *A. spinosa*, *A. morrowiae*, *Ambispora gerdemannii*, *Glomus multiformum*, *Glomus sp.1*, *Glomus sp.2*, *Entrophospora infrequens* y *Gigaspora decipiens*; y mayor concentración de NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>, en comparación con el primer grupo (Fig. 10).



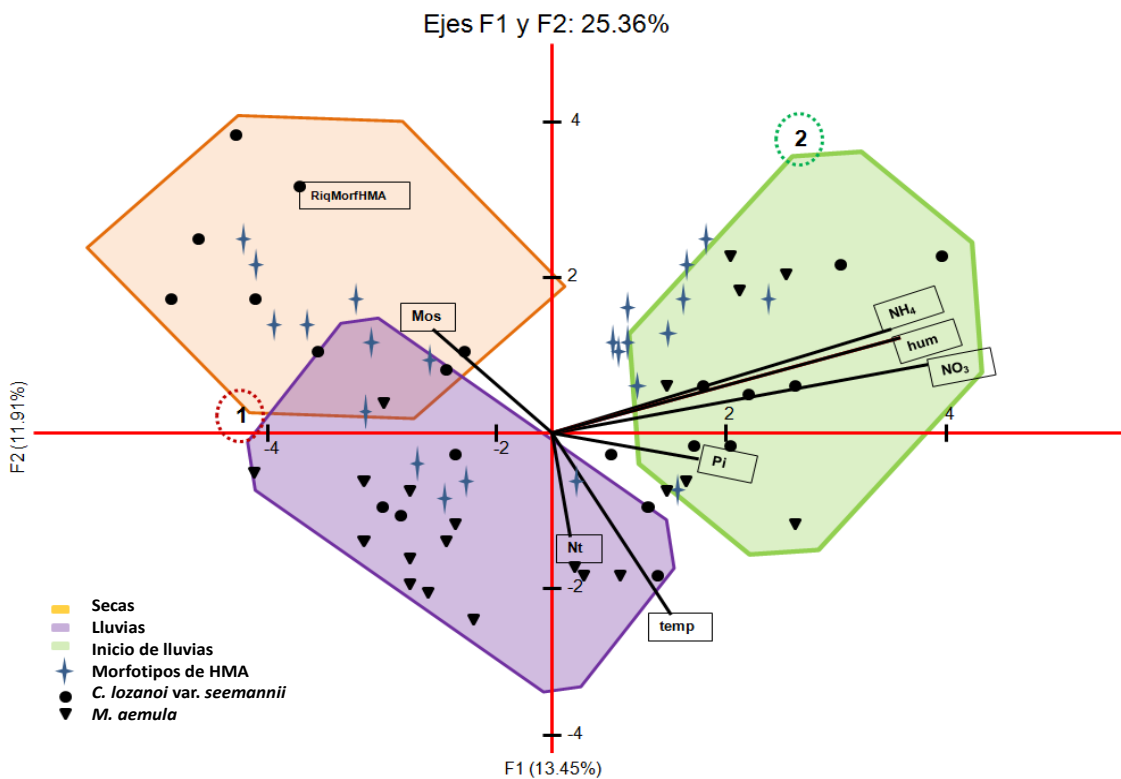


Fig. 10. Análisis de componentes principales (ACP) que relaciona las propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico (en vectores) con la composición de especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) de los helechos de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. 1-2, indican los grupos formados.

Un segundo ACP, mostró una relación significativa ( $p < 0.0001$ ) entre las estructuras fúngicas registradas en las raíces de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, y las variables ambientales; esta relación fue explicada por una varianza acumulada de 52.6 % por los componentes 1 y 2. En el plano, se visualiza la formación de tres grupos, separados por la temporalidad y los nutrientes del suelo (Fig. 11). Se observó que las variables que correlacionaron con el componente 1 fueron:  $\text{NO}_3$  (0.878),  $\text{NH}_4$  (0.852), humedad (0.832), hifas (-0.830) y vesículas (-0.549). Mientras que con el componente 2, fueron MOS (0.530),

PO<sub>4</sub> (0.707) y arbusculos (-0.369); mientras que la temperatura (0.745) y el Nt (0.530), no correlacionaron con estos (Fig. 11).

El Primer Grupo está conformado por la temporada de secas, ambos taxa y las estructuras fúngicas: hifas y vesículas. En este grupo, las hifas y vesículas se correlacionaron positivamente con la MOS que fue alta en secas y negativamente con las variables NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub> y humedad (Fig. 11). El Segundo Grupo está formado por la temporada de inicio de lluvias, ambos taxa y las variables NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub> y la humedad. La magnitud de los vectores de los nutrimentos en el ACP, mostró una relación negativa entre el NO<sub>3</sub> y el NH<sub>4</sub> con las hifas y las vesículas. Por último, en el Tercer Grupo formado por la temporada de lluvias, ambos taxa, la temperatura y los arbusculos, se observó una correlación positiva del NO<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub> con los arbusculos (Fig. 11).

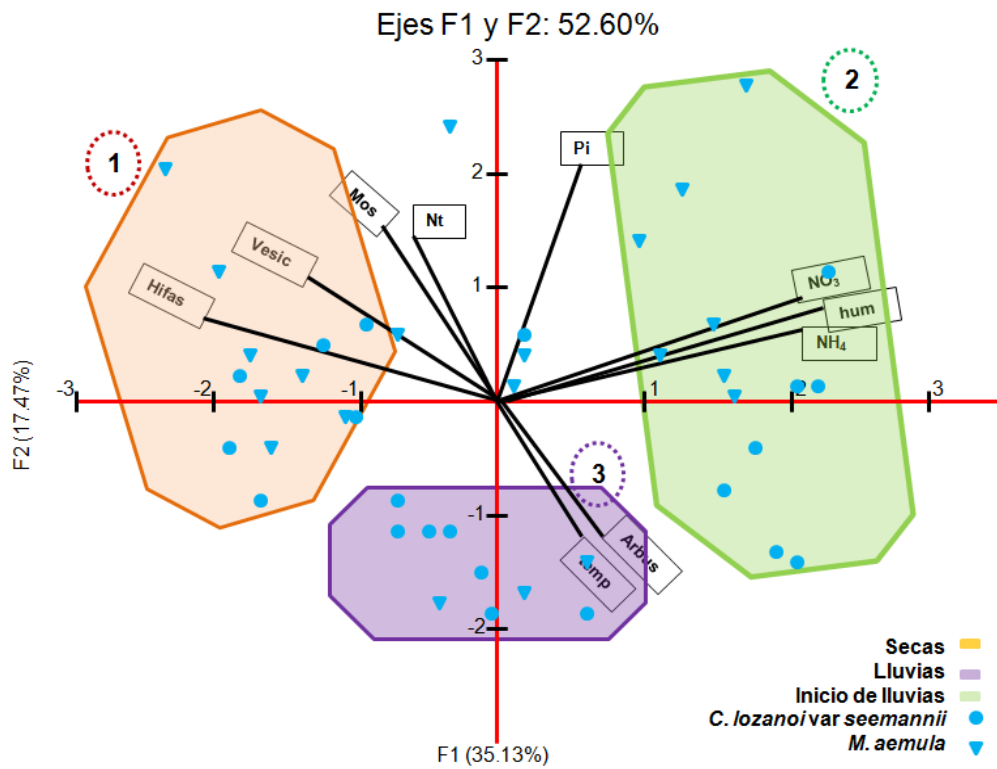


Fig. 11. Análisis de componentes principales (ACP) que relaciona las propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico (en vectores) con la colonización micorrícica arbuscular (MA) de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, en tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas), en el bosque tropical caducifolio, Jalpan de Serra, Querétaro. 1-3 indican los grupos formados.

## 8. DISCUSIÓN

Por primera vez, se menciona la micorriza arbuscular (MA) en *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula* (Pteridaceae) y, se cita para México, a la especie de HMA *Glomus multiforum*. Este estudio da información sobre la variación de la abundancia de esporas y la riqueza de HMA en el suelo rizósferico entre éstos taxa, con un registro nuevo de HMA para México y la diferencia en el grado de colonización radical por HMA en ambos taxa de helechos. Así mismo, muestra la influencia de las propiedades físicas y químicas del suelo y de la estacionalidad de la lluvia, sobre los parámetros de micorrización en dos taxa de helechos, en un BTC, de la Reserva de la Biósfera Sierra Gorda, Jalpan de Serra, Querétaro.

La abundancia de esporas de HMA presentes en el suelo rizosférico de *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula*, osciló entre un mínimo de 80 y un máximo de 220 calculado para 100 g de suelo seco en el BTC de Jalpan de Serra, estos valores están dentro del intervalo citado por Guadarrama *et al.*, (2008) en un BTC (60-456 esporas de HMA en varias especies de leguminosas), es menor comparado con las 1,200 esporas registradas en cactáceas y suculentas de la Estación de Biología en Chamela (Allen, 1998), pero mayores a las 5-68 esporas que documenta Aguilar-Fernández *et al.* (2009) para este mismo ecosistema, esto podría estar asociado a que los HMA en estos estudios fueron evaluados en diferente grupos de plantas (Van del Heijden, 1998), además de que cada grupo crea diversas condiciones en su suelo rizósferico (Ehrenfeld, 2013). En otro estudio, en una zona semiárida de Oaxaca, en *Cheilanthes myriophylla* (= *Myriopteris myriophylla*) y *C. bonariensis* (= *Myriopteris aurea*) (Bautista-Cruz *et al.*, 2014), el número de esporas estuvo en un intervalo de 85-231, dato

similar al determinado para este estudio, lo que pudiera estar relacionado a que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula* tienen alguna similitud en la abundancia y ramificación de su sistema radical, que pudieran estar funcionando como red para atrapar esporas.

En otro tipo de ecosistema, en un bosque mesófilo de montaña de Veracruz, Lara-Pérez *et al.*, (2014a) aislaron 1,459 esporas de HMA del suelo rizósferico de *Alsophila firma*, para este caso la diferencia en la cantidad de esporas con respecto a la abundancia obtenida en esta tesis, se debe posiblemente a la diferencia en el porcentaje de humedad en el suelo rizósferico de cada especie de helecho y el ecosistema en el que muestrearon los taxa.

La estacionalidad de la lluvia influye sobre la abundancia de esporas de HMA (Aguilar-Fernández *et al.*, 2009; Baijwa *et al.* 2001; Lara-Pérez *et al.* 2014a), p. ej. en la estación seca, los HMA suelen esporular más como una respuesta a condiciones ecológicas estresantes que sufren sus hospederos (p. ej. falta de agua), para este estudio no fue así, ya que no se presentaron diferencias entre temporadas de muestreo (inicio de lluvias, lluvias y secas), tal vez debido a que los diferentes géneros de HMA podrían estar esporulando en diferentes tiempos, y como documenta Allen *et al.* (1998) se da una mayor esporulación como una respuesta rápida para germinar en la llegada de las lluvias; *Myriopteris aemula* presentó más esporas de HMA en la temporada de secas, debido a que podría estar en un estado de estrés hídrico en comparación a *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*.

Se ha visto que las comunidades vegetales afectan la estructura de la comunidad y la diversidad de HMA (Allen *et al.* 1998; Vieyra *et al.*, 2010). Para este estudio se identificaron 23 morfotipos de HMA, de los cuales *Glomus multiforum* se registra por primera vez para

México, aislados del suelo rizosférico de *C. lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula*. En este estudio se aislaron esporas de los géneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y *Scutellospora*, los cuales ya han sido citados para el bosque tropical caducifolio (BTC) (Allen *et al.*, 2005; Guadarrama *et al.*, 2007; Vieyra *et al.*, 2010; Zulueta *et al.*, 2010). Los taxa de helechos mostraron morfoespecies compartidas de HMA como: *Acaulospora spinosa*, *A. scrobiculata*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis geosporum*; las cuales también ya han sido citadas en suelo de diferentes helechos como *Pellaea ternifolia* subsp. *ternifolia* y de familias como Aspleniaceae, Thelypteridaceae y Cyatheaceae (Albornoz y Hernández, 2006; Muthuraja *et al.*, 2014), lo que sugiere que estos géneros de HMA tienen una amplia distribución, son generalistas y colonizan rápido e intensamente (Carballar-Hernández *et al.*, 2012).

En este estudio la temporalidad, la temperatura, la MOS, el nitrógeno total y sus formas inorgánicas determinaron la composición de HMA de los taxa de helechos. Los resultados muestran una relación positiva entre la humedad, la temperatura y la MOS con la mayoría de los morfotipos de HMA (generalmente con morfotipos que no son generalistas como aquellos pertenecientes a los géneros *Scutellospora* y *Diversispora*), los cuales han demostrado su eficiencia para la toma de nutrimentos cuando estos géneros de HMA están presentes en el suelo (p. ej. *Scutellospora*, Guadarrama *et al.*, 2008) que podría ser el caso en este estudio; por otro lado, los morfotipos de *Acaulospora* (p. ej. *A. scrobiculata*) y *Funneliformis* (p. ej. *F. geosporum*) se relacionaron positivamente con las formas disponibles de nitrógeno, en la temporada de lluvias, esto sugiere que con su capacidad de tomar nutrimentos (Helgason *et al.*, 2002) podrían estar proporcionándolos a las plantas; el que estuvieran presentes en todas

las temporadas, indica lo generalistas que son, además de ser géneros que esporulan más que otros (Guadarrama *et al.*, 2007) y tienen una alta tolerancia a diversas condiciones (Lara-Pérez *et al.*, 2014b).

Los valores de riqueza de morfotipos de HMA, registrados en este estudio, variaron entre taxa y entre las temporadas, siendo la temporada de secas la de mayor riqueza y más específicamente en el suelo de *Myriopteris aemula*. Estos resultados comparados con los obtenidos de zonas de BTC de Jalisco en plantas de angiospermas (p. ej. Aguilar-Fernández *et al.* (2009), citaron 18 morfotipos, Gavito *et al.* (2008), 39 morfotipos, y Guadarrama *et al.* (2007) en Oaxaca con 25 morfotipos), hace ver que a pesar de tratarse de diferentes grupos de plantas, de donde se aislaron las esporas, la cifra de morfotipos que presentan los helechos en este estudio (23 morfotipos) es alto, mostrando que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula* presentan alta riqueza de HMA en su suelo y, como lo indicó van der Heijden *et al.* (1998) esta variación se debe a que la diversidad de plantas en el BTC influyen sobre la comunidad de HMA o como menciona Zhang y Liang-Dong (2004) se debe a la diferencia en el número de muestras de suelo recolectadas en los estudios.

El haber registrado una mayor riqueza de morfotipos en la temporada de secas, hace pensar que las condiciones de poca humedad en el suelo son favorables para tener una mezcla de diversos morfotipos, para que las plantas obtengan los nutrimentos, se ha citado que el contar con una variedad de morfotipos (consorcios) que tienen diferentes funciones es benéfico para la obtención de agua y nutrimentos (Smith y Read, 2008), además de que favorecen el crecimiento de la planta, cuando las condiciones ambientales no son adecuadas (Collins *et al.*, 1992).

Comparando con otros ecosistemas, donde evaluaron la riqueza en helechos, la riqueza aquí obtenida (23 morfotipos) es mayor que los 18 y 19 registrados en *Alsophila firma*, en un bosque mesófilo de montaña, respectivamente (Lara-Pérez *et al.*, 2014a, b), que los 17 registrados en helechos de la India (Sharda y Rodrigues, 2002) y los nueve del sur de la India (Muthukumar y Prabha, 2013) y los que registran para un bosque húmedo en el suelo de diferentes especies de helechos (nueve morfotipos) (Muthuraja *et al.* (2014), y es menor con respecto a los registrados por Bautista-Cruz *et al.* (2014), 26 morfotipos en bosque mesófilo; y los 40 morfotipos aislados de helechos y licofitas de un bosque húmedo en China (Zhang y Liang-Dong, 2004), esto hace ver que a pesar de tratarse de diferentes ecosistemas de los cuales se evaluó la riqueza, los taxa aquí estudiados podrían estar promoviendo una alta riqueza de HMA.

En el suelo de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*, los morfotipos de HMA más abundantes fueron: *Acaulospora mellea*, *A. scrobiculata*, *Funneliformis geosporum* y *Glomus multiforum*. *Acaulospora scrobiculata*, *F. geosporum* y *Entrophospora infrequens* ya han sido citados de suelo de helechos (Lara-Pérez *et al.*, 2014a, b; Bautista-Cruz *et al.*, 2014), también, han sido mencionados para el BTC (Guadarrama *et al.*, 2007; Aguilar-Fernández *et al.*, 2009) mientras que *Glomus multiforum* no se había registrado hasta este momento en México.

La distribución diferencial de la lluvia generó diferencias significativas en el porcentaje de colonización micorrícica total y de cada estructura fúngica entre las temporadas y entre los taxa de helecho, como se esperaba, ya que autores como Allen *et al.* (1998) mencionaron que la colonización de la raíz por HMA es muy dinámica estacionalmente debido a su estrecha



dependencia a la variabilidad de recursos en el suelo, en particular la disponibilidad de agua y fósforo. Otros autores encontraron que la colonización micorrícica en angiospermas era variable en el BTC durante las temporadas de lluvias y secas; p. ej. en Jalisco, Aguilar-Fernández *et al.* (2009) y Allen *et al.* (1998) y en Oaxaca Carballar-Hernández *et al.* (2012) citaron una mayor colonización de la plantas en lluvias, atribuyendo esto a la alta actividad de los HMA promovida por mejores condiciones de humedad y a la formación de nuevas raíces en las plantas hospederas. En este estudio en la temporada de secas se presentó una alta colonización por HMA y de formación de hifas y vesículas en las raíces de los taxa, lo que podría indicar que las plantas al disminuir el número de sus hojas en esta temporada y del crecimiento de raíces (García *et al.* 2006), da como resultado una reducción de suministro de agua y nutrimentos, por lo que la MA es más requerida por estos taxa de helechos cuando las condiciones de humedad disminuyen porque entran en un estado de estrés.

Los porcentajes de colonización de los taxa de helechos fueron diferentes, como se esperaba. El que *Myriopteris aemula* presentara mayor colonización que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*, puede deberse a la poca presencia de pelos radicales y, a que, presenta una mayor cantidad de raíces jóvenes factibles de ser colonizadas (Moteetee *et al.*, 1996). Así mismo, *C. lozanoi* var. *seemannii*, tiene un rizoma de mayor tamaño (lo que indica mayor cantidad de sustancias de reserva) y raíces con abundantes pelos, por lo que no podría haber una disminución en el suministro de recursos. Por otro lado, *M. aemula*, que es una especie con un rizoma de menor tamaño y sus raíces tienen menor cantidad de pelos, podría ser que sea más susceptible a la asociación micorrícica para proveerse de recursos.

Se ha citado que la estacionalidad influye sobre la colonización micorrícica (Singüenza *et al.*, 1996, Smith y Read, 2008); en este estudio, el mayor porcentaje de colonización se presentó en la temporada de secas, al contrario con otros estudios donde fue en lluvias (Allen, 1998; Baijwa *et al.* 2001; Carballar-Hernández *et al.* 2012; Guadarrama *et al.*, 2008), esto como resultado al grupo vegetal con el que se asocia el HMA, ya que los diferentes morfotipos colonizan en grados diferentes, porque hay más humedad y por que es la estación en la que hay crecimiento y un aumento en la producción de raíces finas y como consecuencia mayor superficie de raíces a ser colonizadas. Adicionalmente, el hecho de que en la temporada de secas se hayan presentado los mayores porcentajes de colonización micorrícica es también debido a la alta concentración MOS y la baja disponibilidad de  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$ ; al contrario de lo que muestra Carballar-Hernández *et al.* (2012), en un pastizal, un encinar y un bosque mixto de pino-encino, en Oaxaca, al estudiar la colonización micorrícica en *Agave* sp.; determinando que fue en la temporada de lluvias donde se observó un mayor porcentaje de colonización radicular; relacionándolo a que, en lluvias, aumenta la capacidad de germinación de las esporas de los HMA en suelo (Smith y Read, 2008).

En este estudio el pH fue ligeramente ácido y la humedad fue mayor en las temporadas de inicio de lluvias y lluvias, factores que favorecen a una mayor mineralización del nitrógeno, resultando a tener en el suelo formas disponibles y, por tanto, propiciando altos valores en las concentraciones de  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$ . Por el contrario, en la temporada de secas, la mineralización es lenta, lo que está promoviendo los altos niveles de colonización micorrícica por hifas. Smith y Read (2008) mencionaron que los HMA pueden sobrevivir en un amplio intervalo de pH y, en este caso, no fue una limitante para la presencia de estos hongos. El  $\text{PO}_4$  del suelo

rizosférico, no varió entre el suelo de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y el de *Myriopteris aemula*, ni entre la temporalidad; los valores obtenidos muestran que hay un alto contenido de este nutriente (SEMARNAT, 2000), lo que puede explicar su no correlación con la formación de la MA en los taxa de helechos estudiados, a pesar de que estudios previos sí lo mencionan como un factor limitante, p. ej. Helgason *et al.* (2002), demostraron que la absorción de P por una misma especie de planta varía en función del HMA que colonicen las raíces; a su vez, van der Heijden *et al.* (1998) observaron también que tanto la productividad vegetal como la distribución de N y P en plantas coexistentes están determinadas por los HMA con que interactúan, por lo que llegan a establecerse relaciones positivas o negativas con la colonización por HMA. La MOS fue mayor en secas debido a la incorporación de las hojas de los helechos y de plantas contiguas a éstos al suelo y, más específico, para *M. aemula* que llega a presentar un continuo reemplazo de partes aéreas. Esta acumulación de MOS podría estar promoviendo paso a la mineralización del N y en consecuencia favoreciendo el aumento de la concentración del  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$  con la llegada de las lluvias, estas formas disponibles pueden ser aprovechadas por las plantas y otros organismos (Cabrera, 2007). A pesar de que el  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$  son abundantes en el suelo, las plantas no pueden obtenerlo, por lo que microorganismos como los HMA son los que, por medio de la formación de hifas dentro y fuera de la raíz, facilitan la captación y el transporte de estos nutrientes del suelo a la raíz de la planta hospedera, al permitir mayor exploración del suelo (Smith y Smith, 2011), esto es lo que podría estar ocurriendo en *C. lozanoi* var. *seemannii* y, principalmente, en *M. aemula*. La disminución de  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4$ , sugiere que la formación de la micorriza arbuscular en los helechos podría ser esencial para la captación de recursos durante la temporada de secas. Por

último, ya que de acuerdo a que los niveles de  $\text{PO}_4$  no influyeron sobre la MA y la composición de los HMA, al contrario de  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4$ , hace pensar que para los taxa de helechos abordados en este estudio, estos nutrimentos son factores importantes sobre la distribución de los HMA en el BTC de Jalpan de Serra, Querétaro.

## 9. CONCLUSIONES

- La identidad del helecho influyó sobre la abundancia, colonización micorrícica y riqueza de HMA. Los helechos *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula* son colonizados con HMA. Para este estudio, a pesar de tener mejores condiciones físicas y químicas y nutrimentos, *M. aemula* es más susceptible a ser colonizada y podría depender más de la MA que *C. lozanoi* var. *seemannii*.
- La abundancia de esporas de HMA presentes en el suelo rizosférico de ambos taxa de helechos fue variable. Para este estudio, en 100 g de suelo seco, *Myriopteris aemula* presentó mayor abundancia que *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii*, en las tres temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas).
- Se registraron 23 especies de HMA distribuidos en las tres temporadas en el suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*. La mayor riqueza se presentó en la temporada de secas y en el suelo de *M. aemula* en comparación de *C. lozanoi* var. *seemannii*; y la mayor diversidad se registró en lluvias. *Glomus multiforum*, se registra por primera vez para México.
- Los especies de HMA más abundantes fueron generalistas: *Acaulospora scrobiculata*, *A. mellea* y *Funneliformis geosporum* en los suelos de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*.
- La temporalidad influyó sobre la presencia de morfotipos de HMA en el suelo rizosférico de *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *Myriopteris aemula*., *Acaulospora morrowiae* sólo se encontró al inicio de lluvias; *Diversispora eburnea* y *Funneliformis mosseae* únicamente en lluvias, y, *Claroideoglomus* aff. *drummondii* y *C. etunicatum*

solamente en secas; *D. spurca*, *G. macrocarpum* y *Rhizophagus fasciculatum*; se presentaron en ambas temporadas.

- El índice de Margalef mostró que *Myriopteris aemula* en la temporada de secas es el taxon de helecho que más influye sobre la riqueza de los HMA. El índice de Shannon-Wiener mostró que no hay diferencias estadísticas entre la diversidad de los taxa de helecho ni entre las temporadas. Los índices de Simpson y Pielou mostraron que existen diferencias estadísticas entre *Cheilanthes lozanoi* var. *seemannii* y *M. aemula*, lo que indica que los morfotipos que componen a la comunidad de HMA están bien representados y su abundancia es equitativa, pero no entre las temporadas (inicio de lluvias, lluvias y secas). El índice de similitud de Bray-Curtis mostró una separación de *M. aemula* de *C. lozanoi* var. *seemannii*, lo que podría estar relacionado a que el suelo de *M. aemula* tiene características particulares (altos niveles de MO y Nt, de humedad) lo que lleva a modificar a la comunidad de HMA.
- Se documentó una relación entre las propiedades del suelo evaluadas con la presencia, la diversidad y la abundancia de los HMA: los niveles altos de los nutrimentos  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$ , se relacionan negativamente con la presencia de la mayoría de los morfotipos de HMA, mientras que bajos niveles de  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$  y las condiciones de humedad de las temporadas de lluvias y secas correlacionaron positivamente con la presencia de hifas y vesículas en las raíces, y con los morfotipos de HMA más abundantes. Esto sugiere que es la disponibilidad de nitrógeno el factor que más influye sobre la distribución de los HMA en los taxa de helecho estudiados y no la disponibilidad de fósforo.

## 10. LITERATURA CITADA

- Aguilar, M. 2000. Impacto de la roza-tumba y quema sobre la composición y actividad de los hongos micorrízicos arbusculares de una selva baja caducifolia. Tesis de Maestría en Ecología y Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F. Pp 92.
- Aguilar-Fernández, M., Jaramillo, V. J., Varela, L. y Gavito, M. 2009. Short-term consequences of slash-and-burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry forest. *Mycorrhiza* 19: 179-186.
- Allen, M. F. 1996. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press. New York. 184 pp.
- Allen, M. F., Rincón, E., Allen, M. F., Pérez, A. y Huante, P. 1998. Disturbance and seasonal dynamics of micorrizae in a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 30: 261-274.
- Allen, E. B., Allen, M. F., Egerton-Warburton, L., Corkidi, L. y Gómez-Pompa, A. 2003. Impacts of early- and late-seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecological Applications* 13:1701–1717.
- Allen, M. F., Allen, E. B. y Gómez-Pompa, A. 2005. Effects of mycorrhizal and non target organisms on restoration of a seasonal tropical forest in Quintana Roo, Mexico: factors limiting tree establishment. *Restoration Ecology* 13:325–333.
- Albornoz, P. y Hernández, M. 2006. Anatomía y endomicorriza en *Pellaea ternifolia* (Cav.) Link subsp. *ternifolia* (Pteridaceae) en Tucumán (Argentina). *Lilloa* 43 (1-2): 13- 21.
- Amatangelo, K. L. y Vitousek, P. M. 2008. Stoichiometry of ferns in Hawaii: implications for nutrient cycling. *Oecology* 157: 619-627.
- Badii, M. H., Landeros, J. y Cerna, E. 2008. Patrones de asociación de especies y sustentabilidad. *Daena: International Journal of Good Conscience* 3(1): 632-660.
- Bautista-Cruz, A. A., Montaña, N. M., Camargo-Ricalde, S. L. y Pacheco, L. 2014. Hongos micorrízicos arbusculares y nutrimentos del suelo asociados a cuatro especies de helechos en dos ecosistemas de Oaxaca, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20 (3): 199-211.

- Bajwa, R., Yaqoob, A. y Javaid, A. 2001. Seasonal variation in VAM in wetland plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(4): 464-470.
- Berch, S. M. y Kendrick, B. 1982. Vesicular –arbuscular mycorrhizae of southern Ontario ferns and fern-allies. *Mycologia* 74 (5): 769-776.
- Blaszkowski, J. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), *Endogone* and *Complexipes* species deposited in the Department of Plant Pathology, University of Agriculture in Szczecin, Poland. (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/index.html>). (03/07/15; 12:18)
- Bremner, J. M. 1965. Total nitrogen. Pp 1149-1178. En: Black, C. A. (Ed.). Methods of soil analysis. Part 2, Agronomy 9 American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA.
- Brower, J. E. y Zar, J. H. 1984. Field and laboratory methods for general ecology. Wm. C. Brown Co. Dubuque, Iowa. Pp 226.
- Cabrera, M. L. 2007. Mineralización y Nitrificación: Procesos claves en el ciclo del nitrógeno, Instituto Internacional de Nutrición de Plantas. *Informaciones Agronómicas* 34: 1-9.
- Carballar-Hernández, S., Palma-Cruz, F. J., Hernández-Cuevas, L. y Robles, C. 2012. Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological Research* 28: 217-226.
- Chimal-Sánchez, E., Montaña, N. M., Camargo-Ricalde, S. L., García-Sánchez, R. y Hernández-Cuevas, L. V. 2016. Nuevos registros de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (en prensa).
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2012. <http://www.conabio.gob.mx/> (07- 11- 2014, 15:25)
- Collins, N., Tilman, D. y Wedin, D. 1992. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities. *Ecology* 73(6): 2034-2042.
- Cooper, K. M. 1976. A field survey of VA mycorrhizae in New Zealand ferns. *New Zealand Journal Botany* 14: 169–181.
- Cooper, K. M. 1977. *Asplenium bulbiferum* is non-mycorrhizal. *New Zealand Journal Botany* 15: 645-647.



- Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro (CONCYTEQ). 2006. Caracterización de los ecosistemas, cambios en el uso de suelo y unidades paisajísticas en la Reserva de la Biosfera “Sierra Gorda” de Querétaro. Centro Queretano de Recursos Naturales. Reporte Técnico. Santiago de Querétaro, Querétaro, México. Pp 60.
- Ehrenfeld, J. G. 2013. Plant-soil interactions. pp 117-122. En: Alevin, S. (Ed.). *Encyclopedia of Biodiversity*. Second Edition, Vol. 6. Princeton University, Princeton, NJ, USA.
- Feddermann, N., Finlay, R., Boller, T. y Elfstrand, M. 2010. Functional diversity in arbuscular mycorrhiza - the role of gene expression, phosphorous nutrition and symbiotic efficiency. *Fungal Ecology* 3: 1-8.
- Fernández, L. C., Rojas, N. G., Roldán, T. G., Ramírez, M. E., Zegarra, H. G., Hernández, R. U., Reyes, R. J., Flores, D. y Arce, J. M. 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología. México, Distrito Federal. Pp 179.
- Fernández, N., Messuti, M. I. y Fontenla, S. 2008. Arbuscular mycorrhizal and dark septate fungi in *Lycopodium* (Lycopodiaceae) and *Equisetum bogotense* (Equisetaceae) in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *American Fern Journal* 98: 117-127.
- Fernández, N. Fontenla, S. y Messuti, M. I. 2010 Mycorrhizal status of obligate and facultative epiphytic ferns in a Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *American Fern Journal* 100(1): 16-26.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 1986. Definitions of the soil units for the soil map of the world. World Soil Resources Report 33. Rome. Pp 137.
- Finlay, R. D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59(5): 1115-1126.
- García, F. J., Rosello, J. y Santamarina, M. P. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial de la Universidad Politecnica de Valencia. España. Pp. 166-170.

- Gavito, M. E., Pérez, D., González, C. F., Vieyra, T. y Martínez, M. 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. *Mycorrhiza* 19: 47-60.
- Gemma, J. N., Koske, R. E. y Flynn, T. 1992. Mycorrhizae in Hawaiian pteridophytes: occurrence and evolutionary significance. *American Journal of Botany* 79: 843–852.
- Gerdemann J. W. y Nicolson T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- Grupo Ecológico Sierra Gorda. Reserva de la Biósfera Sierra Gorda. (<http://sierragorda.net/reserva-de-la-biosfera-sierra-gorda/>) (29/01/2015; 16:41).
- Guadarrama, P., Álvarez-Sánchez, J. y Briones, O. 2004. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on seedling growth and competition of two pioneer tropical species. *Euphytica* 138: 267-270.
- Guadarrama, P., Camargo-Ricalde, S. L., Hernández, L. y Castillo-Argüero, S. 2007. Los hongos micorrizógenos arbusculares de la región de Nizanda, Oaxaca, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 81: 131-137.
- Guadarrama, P., Castillo-Argüero, S., Ramos-Zapata, J. A., Camargo-Ricalde, S. L. y Álvarez-Sánchez, F. J. 2008. Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca, Mexico. *International Journal of Tropical Biology* 56: 269-277.
- Guzmán-Cornejo, L., Díaz-Pontones, D., Valverde, P. L. y Pacheco, L. 2014. Efecto tóxico del zinc en gametofitos de *Adiantum capillus-veneris* L. (Pteridaceae-Polypodiopsida). XVIII Congreso Mesoamericano para la Biología y Conservación. Copán Ruinas, Honduras.
- Guzmán-Cornejo, L. 2015. Análisis de tolerancia al plomo en gametofitos de *Adiantum capillus-veneris* L., en presencia de cobre y zinc. Tesis de Maestría en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F. Pp 83.
- Hammer, O., Harper, D.A.T. y Ryan, P. D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Disponible en [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm)

- Hayman, D. 1982. Influence of soil and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72 (8): 1119-1125.
- Helgason, J. W., Merryweather, J., Denison, P., Wilson, J. P., Young, W. y Fitter, A. H. 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland. *Journal of Ecology* 90: 371-384.
- Ho, Y. B. y Tai, K. M. 1985. Potential use of a roadside fern (*Pteris vittata*) to biomonitor Pb and other aerial metal deposition. *Environmental Contamination and Toxicology* 35: 430-438.
- Huante, P., Rincón, E. y Allen, E. B. 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on seedling growth of four tree species from the deciduous tropical forest in Mexico. *Mycorrhiza*, 2 (3): 141-145.
- Hung-Chi, C., Sushim, K.G. y Hsin-Sheng, T. 2011. Studies on folk medicinal fern: an example of “Gu-Sui-Bu”. Pp. 285-304. En: Kumar, A., Fernández, H. y Revilla, M. A. (Eds.). Working with ferns: issues and applications. Springer Science Business Media. Taiwan.
- International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM). 2006. (<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/speciesID.htm>) (30/06/15; 13:18)
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2010. Anuario estadístico de Querétaro/ Gobierno del Estado de Querétaro. México. Pp 87.
- Kessler, R. J., Cicuzza, D., Kluge, J., Piatek, K., Naks, P. y Lehnert, M. 2009. A survey of the mycorrhization of Southeast Asian ferns and lycophytes. *Plant Biology* 12: 788- 793.
- Kessler, M., Monas, R., Srasberg, D. y Lehnert, M. 2010. Mycorrhizal colonization of ferns and lycophytes on the island of La Réunion in relation to nutriment availability. *Basic and Applied Ecology* 11: 329-336.
- Koske, R. E. y Tessier, B. 1983. A convenient permanent slide mounting medium. *Mycological Society of America Newsletter* 34: 59-67.
- Kovács, G. M., Balázs, T. y Péntes, Z. 2007. Molecular study of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the sporophyte of the eusporangiate rattlesnake fern (*Botrychium virginianum*, Ophioglossaceae). *Mycorrhiza* 17 (7): 597-605.

- Kurle, J. E. y Pflieger, E. L. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. En: Pflieger, E. L. y Linderman, R. G. (Eds.). *Mycorrhizae and plant health*. APS Press. St. Paul, Minnesota. Pp 101-132.
- Lara-Pérez, L. A., Noa-Carranza, J., Hernández-González, S., Alarcón-Gutiérrez, E., Sánchez-Velásquez, L. R., Zulueta-Rodríguez, R., Lara-Capistrán, L. y Andrade-Torres, A. 2014a. Diversity and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi in the tree fern *Alsophila firma* in rainy and dry season. *Symbiosis* 62: 143-150.
- Lara-Pérez, L. A., Noa-Carranza, J., Landa, A. J., Hernández-González, S., Oros-Ortega, I. y Andrade, A. 2014b. Colonización y estructura de la comunidad de hongos micorrícicos arbusculares en *Alsophila firma* (Cyatheaceae) en bosque mesófilo de montaña en Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical* 62 (4): 1609-1623.
- Lara-Pérez, L. A., Valdés-Baizabal, M. D., Noa-Carranza, J. C., Zulueta-Rodríguez, R., Lara-Capistrán, L. y Andrade-Torres, A. 2015. Mycorrhizal associations of ferns and lycopods of central Veracruz, Mexico. *Symbiosis* 65: 85-92.
- Martínez, A. E., Chiochio, V., Em, L. T. y Rodríguez, M. A. 2012. Mycorrhizal association in gametophytes and sporophytes of the fern *Pteris vittata* (Pteridaceae) with *Glomus intraradices*. *Revista de Biología Tropical* 60 (2): 857-865.
- Mehltreter, K. 2010. Fern conservation. pp. 323-325. En: Mehltreter, K, Walker, L. R. y Sharpe, J. M. (eds.) *Fern ecology*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Mickel, J. T. y Smith, A. R. 2004. The Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 88: 1- 1054.
- McGonigle, T. P., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G. y Swan, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- Molina, M., Mahecha, L. y Medina, M. 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 18(2): 162-175.
- Montaño, N. M, Alarcón, A., Camargo, S. L., Hernández, L. V., Álvarez, J., González, M. C. A., Gavito, M. E., Sánchez, I., Ramos, J., Guadarrama, P., Maldonado, I. E., Castillo, S.,

- García, R., Trejo y D., Ferrera, R. 2012. Research on arbuscular mycorrhizae in Mexico: an historical synthesis and future prospects. *Symbiosis* 57: 111-126.
- Moreno, E. C. 2001. Manual de métodos para medir la biodiversidad. Textos universitarios: Universidad Veracruzana. México. Pp 49.
- Moteetee, A., Duckett, J. y Russell, A. 1996. Mycorrhizas in the ferns of Lesotho. pp. 621-631. En: Camus, J. M., Gibby, M. and Johns R. J., (Eds.). *Pteridology in Perspective*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Muthukumar, T. y Prabha, K. 2012. Fungal associations in gametophytes and young sporophytic roots of the fern *Nephrolepis exaltata*. *Acta Botanica Croatica* 71(1): 139-146.
- Muthukumar, T. y Prabha, K. 2013. Arbuscular mycorrhizal and septate endophyte fungal associations in lycophytes and ferns of south India. *Symbiosis* 59: 15-33.
- Muthuraja, R., Muthukumar, T. y Sathiyadash, K. 2014. Arbuscular mycorrhizal (AM) and dark septate endophyte (DSE) fungal association in Lycophytes and ferns of the Kolli Hills, Eastern Ghats, southern Indian. *American Fern Journal* 104 (2): 67-102.
- Oehl F., E. Sieverding, J. Palenzuela, K. Ineichen, A.de S. Gladstone. 2011. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *International Mycological Association Fungus* 2: 191-199.
- Olsen, S. R., y Dean, L. A. 1965. Phosphorus. Pp. 1035-1049. En: Black, C. A (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy* 9. American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA.
- Pacheco, L. y Bautista Rodríguez, L. 2001. Los helechos, ¿una alternativa en la alimentación? *ContactoS* 42: 5-10.
- Phillips, J. M. y Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Mycological Society* 55: 158-161.
- Potvin, C. y Roff, D. 1993. Distribution- free and robust statistical methods: viable alternatives to parametric statistics? *Ecology* 74 (6): 1617-1628.

- Programa sobre el hombre y la Biosfera, Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (MAB Y UNESCO). 2012. Revisión periódica de la Reserva de la Biósfera del MAB UNESCO Sierra Gorda, Querétaro, México. Pp. 66.
- Reyes-Jaramillo, I., Camargo-Ricalde, S. L. y Aquiahuatl, M. A. 2008. Mycorrhizal-like interaction between gametophytes and young sporophytes of the fern *Dryopteris muenchii* (Filicales) and its fungal endophyte. *Revista de Biología Tropical* 56 (3): 1101-1107.
- Rincón, E., Huante, P., y Ramírez, Y. 1993. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizas on biomass production in *Pachycereus pecten-aboriginum* (Cactaceae). *Mycorrhiza* 3: 79-81.
- Rodríguez Romero, M. L., L. Pacheco, A. Zavala 2008. Pteridofitas indicadoras de alteración ambiental en el bosque templado de San Jerónimo Amanalco, Texcoco, Estado de México, México. *Revista de Biología Tropical* 56(2): 641-656.
- Roe-Andersen, S. M. y Southworth, D. 2013. Microsite factors and spores dispersal limit obligate mycorrhizal fern distribution: habitat island of *Botrychium pumicola* (Ophioglossaceae). *American Fern Journal* 103 (1): 1-20.
- Rzedowski, J. 1988. *Vegetación de México*. Limusa, México D.F. Pp 189-203.
- Salcedo, S. M. 2006. Los helechos y sus usos. *Planta* 1 (2): 11.
- SEMARNAP. 1999. Programa de manejo, Reserva de la Biosfera Sierra Gorda, México. Primera edición. Desarrollo Gráfico Editorial, S.A. de C.V. México, D.F. Pp 172.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-021-REC-NAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Norlex Internacional S.A. de C.V. Edición electrónica de leyes. Pp 71.
- Sharda, K. y Rodríguez, B. F. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with some pteridophytes from Western Ghat region of Goa. *Tropical Ecology* 43 (2): 251-256.
- Sigüenza, C., Espejel, I. y Allen, E. B. 1996. Seasonality of micorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza* 6: 151-157.
- Smith, E. y Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Segunda edición. Academic Press. San Diego. Pp 785.

- Smith, S. E. y Smith, F. A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review Plant Biology* 62: 227–50.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. *Biometry*. Freeman and Company, San Francisco.
- StatSoft, Inc. 2007. Statistica (data analysis of software system). Version 8.0. www.Statsoft.com.
- ter Braak, C. J. F. 1990. Update notes for CANOCO program version 3.10. Wageningen, USA. Agricultural Mathematics Group. <http://edepot.wur.nl/250652>.
- Turnau, K., Anielska, T. y Jurkiewicz, A. 2005. Mycothallic/mycorrhizal symbiosis of chlorophyllous gametophytes and sporophytes of fern, *Pellaea viridis* (Forsk.) Prantl (Pellaeaceae, Pteridales). *Mycorrhiza* 15: 121- 128.
- Van der Heijden, M. G., Boller, T., Wiemken, A. y Sanders, I. R. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79 (6): 2082-2091.
- Vieyra, M. T., Gavito, M. E. y Martínez-Trujillo, M. 2010. Caracterización de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares de un bosque tropical seco caducifolio. *Ciencia Nicolaita* No. Esp: 1–7.
- Walker, H. G. 1965. Phosphorus. Pp 84-98. En: Black, C. A (Ed.). *Methods of soil analysis*. Part 1. Agronomy 9. American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, USA.
- Walker, C. 1997. Spore extraction by centrifugation-sugar flotation. Internal Document, 437 Biological Research and Imaging Laboratory. Hampshire UK, New Milton.
- Walkley, A. y Black, I. A. 1934. An examination of the Degtjareff Method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
- Wile, M. L. 1979. The economic uses and associated folklore of fern and fern allies. *The Botanical Review* 44: 491-528.
- Wolfe, B. E., Weishample, P. A. y Klironomos, J. N. 2006 Arbuscular mycorrhizal fungi and water table affect wetland plant community composition. *Journal of Ecology* 94: 905-914.

- XLSTAT, Programa estadístico. 2008. <https://www.xlstat.com/es/soluciones/ecology>
- Zhang, Y. y Liang-Dong, G. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with common pteridophytes in Dujiangyan, Southwest China. *Mycorrhiza* 14: 25-30.
- Zubek, S., Krzysztof, P., Przemyslaw, N., Waldemar, H., Maciej, W. y Piotr, M. 2010. Fungal root endophyte colonization of fern and licophyte species from the Celaque National Park in Honduras. *American Fern Journal* 100 (2): 126-136.
- Zulueta, R., Varela, L., Aguilar, S., Trejo, D. y Lara, L. 2010. Estatus micorrízico de *Jacaratia mexicana* y hongos formadores de micorriza arbuscular presentes en selvas bajas caducifolias del Golfo de México. *Revista Mexicana de Micología* 31: 37-44.



## ANEXO

### **Método de extracción de esporas de HMA (Gerdemann y Nicolson, 1963) y centrifugación con sacarosa (Walker, 1997)**

Pesar 100 g de suelo seco, y diluirlo en un litro de agua corriente, agitar vigorosamente por cinco minutos. Paralelamente, apilar los tamices en orden descendente de apertura de malla (400  $\mu$  a 44  $\mu$ ) y colocarlos dentro de la tarja. La solución preparada de suelo y agua hacerla pasar por la pila de tamices para la retención de esporas. Los contenidos de los tamices se recuperaran y se colocaran en tubos de centrifuga, agregar agua destilada y centrifugar a 2000 rpm durante cinco minutos. Pasado el tiempo, se decanta el sobrenadante y se desecha; se prosigue a añadir una solución de sacarosa al 50%; realizar otra centrifugación a 1500 rpm por tres minutos. Posteriormente, el sobrenadante de sacarosa se vierte sobre el tamiz de malla muy fina (044 $\mu$ ) y se lava cuidadosamente con abundante agua corriente. Con ayuda de una piseta con agua, recuperar las esporas atrapadas en el tamiz de malla fina y colocarlas en una caja de Petri.

### **\* Modificación por Bautista Cruz para helechos del método de clareo y tinción de raíces micorrizadas (Phillips y Hayman, 1970)**

Seleccionar secciones de raíces delgadas del rizoma, de 1.5 a 2.5 cm de longitud y comenzar el aclaramiento con KOH al 6% (p/v) durante tres semanas aproximadamente (este tiempo dependerá de cuan pigmentadas estén las raíces a tratar), a temperatura ambiente para que los fragmentos de raíces no se deshagan. Después utilizar una solución alcalina de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), durante 3 minutos (2 veces) y seguir con la acidificación y tinción.

Si las raíces siguen muy pigmentadas después de usar  $H_2O_2$ , enjuagar el peróxido y usar hipoclorito de sodio comercial ( $NaClO$ ), a temperatura ambiente para completar la eliminación de pigmentos de la raíz vigilando el progreso de clareo de las muestras para no dañarlas, además de que el uso del cloro para aclarar puede ser rápido o lento, y enjuagar muy bien con abundante agua del grifo. A continuación, las muestras se acidifican con HCl al 10% (v/v) durante 10 minutos. La tinción se lleva a cabo con azul de tripano en lactoglicerol al 0.05%, durante 20 minutos. Posteriormente, se montan los fragmentos de raíces teñidas sobre portaobjetos agregando lactoglicerol o PVLG como medio de montaje y, finalmente, se etiquetan.