



**UNIVERSIDAD MICHUACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

Facultad de Biología

**Importancia del potencial micorrícico de hongos provenientes
de suelos de jales mineros y su efecto en el rendimiento
vegetal de *Ipomoea tricolor* Cav.**

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Presenta:

Carlos Barbachano García

Director de Tesis:

D.C. Yazmín Carreón Abud

Co-Director de Tesis:

D.C. María de los Angeles Beltrán Nambo

Morelia, Michoacán, Octubre del 2020

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL **LABORATORIO DE GENÉTICA Y MICROBIOLOGÍA** DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA DIRECCIÓN DE LA **DRA. YAZMÍN CARREÓN ABUD** y LA **DRA. MARÍA DE LOS ANGELES BELTRN NAMBO**, CON EL APOYO FINANCIERO DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACyT).



MCIA
Maestría en Ciencias
en Ingeniería Ambiental
UMSNH



“Pero, como nación, aún no hemos llegado a tener el debido respeto por el bosque y considerarlo como una parte indispensable de nuestros recursos: que se destruye con facilidad, pero es difícil de reemplazar, que confiere grandes beneficios mientras perdura, pero cuya desaparición se acompaña de un tren de malas consecuencias no previstas con facilidad...”

Eliot Blackwelder

Agradecimientos

Mediante este medio quiero expresar mi más sincera gratitud a las personas que con su soporte científico y humano colaboraron en la realización de este trabajo de investigación.

En primer lugar, a mi asesora de tesis, la Dra. Yazmín Carreón Abud, quien por cuestiones del destino tuve el privilegio de conocer y quien me dio la oportunidad de realizar este proyecto de investigación. Por el interés y motivación que me brindó para realizar mis estudios de posgrado. Por su soporte y orientación, pero sobre todo por su apoyo y confianza.

De manera muy especial, agradezco a mi coasesora de tesis la Dra. María de los Angeles Beltrán Nambo, de quien aprendí en cada día de convivencia, quien me ayudó ante las problemáticas y dudas surgieron durante el tiempo que estuve en el laboratorio. A la vez por los momentos dedicados a enseñarme todo lo que me interesara aprender. Por el esfuerzo dedicado ayudarme a encarrilarme para que pudiera ser un investigador; por su enseñanza y apoyo incondicional. Por cada actitud que llevo a generar una amistad sincera, muchas gracias.

A los investigadores que formaron parte de mi comité sinodal, Dr. Miguel Martínez Trujillo, Dr. Javier A. Villegas Moreno, Dra. Mariela Gómez Romero; por cada una de sus observaciones tan acertadas y por el tiempo dedicado a la mejora de este proyecto de investigación.

A mis compañeros de laboratorio, Sandra Estefanía García Ruedas, Aarón G. Munguía Rodríguez, Amanda Ortiz Calderón y Fernando Espinosa Beltrán quienes hicieron que el tiempo de trabajo fuera más ameno. Por los momentos de estrés y alegría compartidos, así como por sus consejos y palabras de ánimo.

A mis padres Jorge Raúl Barbachano López y Florina García Cruz por su apoyo incondicional, la seguridad y confianza brindada durante toda mi vida lo que me permitió culminar esta etapa de mi vida.

Tabla de contenido

ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO.	4
2.1. METALES PESADOS.	4
2.1.1. Clasificación de metales pesados.	4
2.1.2. Toxicidad de los metales pesados.	6
2.2. BIORREMEDIACIÓN.....	8
2.2.1. Estrategias de biorremediación.....	9
2.2.2. Plantas y su función en la biorremediación.	10
2.2.3. <i>Ipomoea tricolor</i> Cav.....	11
2.2.4. Hongos micorrícicos y su función en la biorremediación.....	12
2.3. POTENCIAL MICORRÍCICO	14
3. ANTECEDENTES.....	16
4. JUSTIFICACIÓN.....	21
5. HIPÓTESIS.....	22
6. OBJETIVOS.....	22
6.1. OBJETIVO GENERAL.	22
6.2. OBJETIVOS PARTICULARES.	22
7. METODOLOGÍA.....	23
7.1. SITIO DE ESTUDIO.....	23
7.2. COLECTA DE MUESTRAS.	25
7.3. IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES (HMA).....	26
7.4. FASE 1. POTENCIAL MICORRÍCICO DE CONSORCIOS DE HMA NATIVOS DE LOS SUELOS SELECCIONADOS.....	27
7.5. FASE 2. PRECISAR EL EFECTO DE LOS CONSORCIOS NATIVOS DE HMA, SOBRE EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE <i>IPOMOEA TRICOLOR</i>	29
8. RESULTADOS.	30
8.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LOS SUELOS EN LOS SITIOS.	30
8.2. IDENTIFICACIÓN DE ESPORAS.....	31
8.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.....	39
8.4. ANÁLISIS DE DIVERSIDAD.....	41
8.5. POTENCIAL MICORRÍCICO.	43
8.5.1. Prueba de germinación.	43
8.5.2. Potencial micorrícico.	46
8.6. EFECTO DE LOS CONSORCIOS DE HMA SOBRE EL RENDIMIENTO VEGETAL <i>IPOMOEA TRICOLOR</i>	55
8.6.1. Pruebas preliminares de germinación y supervivencia.....	55
8.6.2. Efectos de loa consorcios de HMA sobre <i>Ipomoea tricolor</i> en suelos de jales mineros.	58
9. DISCUSION.....	63
10. CONCLUSIONES.....	71

PERSPECTIVAS	72
11. BIBLIOGRAFÍA	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tabla periódica de los elementos mostrando la distribución de los metales e iones metálicos pertenecientes a la Clase A, Clase B y Transición.....	5
Figura 2. Modificación de la tabla periódica, donde se muestran los cuatro bloques en los que se agrupan los metales	6
Figura 3. Planta de <i>Ipomoea tricolor</i> Cav.	12
Figura 4. Localización de los sitios de estudio:.....	23
Figura 5. Fotos de un estrato encontrado en el Jal minero de Angangueo.	24
Figura 6. Fotos de los estratos encontrados en el Jal minero de Tlalpujahua.	24
Figura 7. Fotos del sitio silvestre.	25
Figura 8. Toma de muestras en sitios de colecta.	25
Figura 9. Diseño experimental para la estimación de número más probable (NMP) y potencial micorrícico.	28
Figura 10. Medición del área foliar de hojas de <i>Ipomoea tricolor</i>	29
Figura 11. Porcentaje de los géneros de HMA encontradas en los sitios de estudio.	32
Figura 12. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Acaulospora</i> encontradas en los sitios de estudio.	34
Figura 13. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Claroideoglomus</i> , <i>Diversispora</i> y <i>Gigaspora</i> encontradas en los sitios de estudio.....	35
Figura 14. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Funneliformis</i> encontradas en los sitios de estudio.	36
Figura 15. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Glomus</i> encontradas en los sitios de estudio.	37
Figura 16. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Pacispora</i> y <i>Paraglomus</i> encontradas en los sitios de estudio.	38
Figura 17. Esporas de HMA pertenecientes al género <i>Rhizophagus</i> encontradas en los sitios de estudio.	39
Figura 18. Análisis de componentes principales (ACP) entre las variables edafológicas de los sitios de estudio y la diversidad de géneros de HMA presentes en los mismos.....	40
Figura 19. Análisis de componentes principales entre las variable edafológicas de los sitios de estudio frente a su riqueza de especies.....	41
Figura 20. Índices de Diversidad α , uniformidad y riqueza de especies de los HMA presentes en los suelos de los sitios de estudio.	42
Figura 21. Prueba de rarefacción de los sitios de estudio.	42
Figura 22. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Ipomoea tricolor</i> (silvestre y comercial) bajo dos tratamientos de contaminación (50% y 100%) más un control crecidos en los suelos de los sitios de estudio.	44
Figura 23. Longitud de plántulas de <i>Ipomoea tricolor</i> provenientes de semillas silvestres y comerciales. Medidas a los 7 y 21 días bajo diferentes niveles de contaminación en los suelos de los sitios de estudio.....	45
Figura 24. Plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> provenientes de semillas comerciales y silvestres desarrolladas en los suelos de los sitios de estudio, bajo dos concentraciones de contaminación y un control.	46

Figura 25. Porcentaje de plantas infectadas por HMA de los sitios de estudio, bajo cinco concentraciones fúngicas.	47
Figura 26. Porcentaje de colonización de los HMA en las raíces de plantas desarrolladas en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones fúngicas y un control.	49
Figura 27. Longitud de las plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> a los 15, 30, 60 y 120 días en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones de inóculo nativo y un control.	52
Figura 28. Medición de área foliar en tres estratos de la planta (basal, media y apical), a los dos y cuatro meses de desarrolló en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones de inóculo nativo y un control.	54
Figura 29. Foto de las hojas de las plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> crecidas en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones de inóculo y un control.	55
Figura 30. Prueba de germinación de las plantas desarrolladas en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones fúngicas (25, 50, 75 y 100%) y un control.	56
Figura 31. Prueba de supervivencia de las plantas desarrolladas en los suelos de los sitios de estudio, bajo cuatro concentraciones fúngicas y un control.	57
Figura 32. Longitud de las plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> a 1, 2, 4 y 6 meses en los suelos de los sitios de estudio, con tres tipos de inóculo y un Control.	59
Figura 33. Medición de área foliar en tres estratos de la planta (basal, media y apical), a los dos y cuatro meses de desarrolló en las plantas crecidas en los suelos de los sitios de estudio, con tres tipos de inóculo y un control.	59
Figura 34. Foto de las hojas medias de las plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> crecidas en los suelos de los sitios de estudio, con tres inóculos fúngicos y un control.	60
Figura 35. Porcentaje de colonización de los HMA en las raíces de plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> desarrolladas en los suelos de los sitios de estudio, bajo tres condiciones de inóculo y un control.	61
Figura 36. Fotos de las estructuras fúngicas encontradas en las raíces de <i>Ipomoea tricolor</i> desarrolladas en los s suelos de los sitios de estudio, bajo diferentes tipos de inóculo y un control.	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis físico-químicos y de metales pesados de los suelos en los sitios contaminados y el sitio silvestre.	31
Tabla 2. Géneros de HMA encontradas en los sitios de estudio.....	33
Tabla 3. <i>Valores de NMP</i>	48
Tabla 4. Porcentaje de estructuras micorrícicas observadas en las raíces de las plantas de <i>Ipomoea tricolor</i> desarrolladas en el suelo del Jal de Angangueo. ..	50
Tabla 5. Potencial micorrícico	51

Resumen

La generación de residuos a partir de la explotación minera es una seria amenaza tanto a la salud pública, como al equilibrio de los ecosistemas situados en la inmediaciones de los jales mineros, esto debido a que los metales pesados presentes modifican las características ambientales y se mantiene en los tejidos de los organismos impidiendo el aprovechamiento de grandes extensiones de suelo. Por lo cual se plantea la biorremediación de estos suelos a través de plantas hiperacumuladoras en asociación con especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Los objetivos de esta investigación fueron: Identificar y analizar la diversidad de HMA aislados de jales mineros, determinar el potencial micorrícico de consorcios de estos hongos y su efecto sobre el rendimiento vegetal de *Ipomoea tricolor*. Se seleccionaron dos jales mineros ubicados en los municipios de Tlalpujahua y Angangueo, además de un sitio forestal ubicado en el municipio de Senguio, de los cuales se colectó suelo para la extracción y conteo de esporas de HMA mediante los métodos de Sieverding (1991) y Walker y Vestberg (1994). Se realizó la identificación de las especies mediante atributos morfológicos de las esporas y se efectuó un análisis de diversidad con el software Past V.3.0. En la primera fase del experimento se determinó el potencial micorrícico mediante el método de dilución, utilizando 5 diluciones con tres réplicas para el cálculo de NMP, cálculo de colonización e índice de potencial (Plenchette et al., 1989). En la segunda fase se probó la efectividad de los inóculos fúngicos sobre el rendimiento vegetal de *Ipomoea tricolor* en los suelos contaminados de los dos jales mineros y el control, con 10 réplicas por tratamiento. Se encontró que todos los sitios poseen comunidades nativas de HMA, entre los géneros más abundantes en los tres sitios se tienen *Acaulospora* y *Glomus*, siendo *Acaulospora spinosa* y *Glomus tortuosum* como las especies presentes en los tres sitios. El sitio con menor diversidad fue el jal de Angangueo con 11 morfoespecies y solo dos especies únicas seguido por el sitio de Tlalpujahua con 29 morfoespecies, 8 especies únicas pertenecientes al *Acaulospora* y *Glomus*. El mayor potencial micorrícico lo tuvo el inóculo silvestre ($MSI_{50}= 12.75$) seguido por el inóculo de Tlalpujahua ($MSI_{50}= 15$). Los tres inóculos fueron efectivos para incrementar el desarrollo de *Ipomoea tricolor* y ayudaron a su supervivencia en los suelos contaminados a pesar de la baja infectividad registrada. Se mostró la importancia de los HMA para incrementar la resistencia de plantas acumuladoras como *Ipomoea tricolor* en suelos contaminados por metales.

Palabras clave: Biorremediación, metales pesados, potencial micorrícico, Michoacán, rendimiento vegetal, *Acaulospora spinosa*, *Glomus tortuosum*.

Abstract

The waste generation from mining industry is a serious threat to both public health and the ecosystems balance located in the vicinity of the mining tailings, because the heavy metals presented modify the environment characteristics and the organism's tissues, preventing the use of large areas of soil. Therefore, the bioremediation of these soils through hyperaccumulating plants in association with species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is proposed. The objectives of this research were: Identify and analyze the diversity of AMF isolated from mining tailings, determine the mycorrhizal potential of the AMF consortia and their effect on *Ipomoea tricolor*. Two mining tailings were chosen in the municipalities of Tlalpujahua and Angangueo, besides a forest site located in the municipality of Senguio, from which soil was collected for the extraction and counting of AMF spores using the methods of Sieverding (1991) Walker and Vestberg (1994). The identification of the species was carried out by morphological attributes of the spores and a diversity analysis was carried out with the Past V.3.0 software. In the first phase of the experiment, the mycorrhizal potential was determined by the dilution method, using 5 dilutions with three replicas for the calculation of MPN, root colonization and potential index (Plenchette et al., 1989). In the second phase, the effectiveness of the fungal inoculum on the plant yield of *Ipomoea tricolor* and the contaminated soils of the two mining tailings and the control was tested, with 10 replicates per treatment. All the sites were found to have native AMF communities, among the most abundant genera in the three sites are *Acaulospora* and *Glomus*, with *Acaulospora spinosa* and *Glomus tortuosum* being the species present in all sites. The site with the lowest diversity was the Angangueo tailings with 11 morphospecies and only two unique species, followed by the Tlalpujahua site with 29 morphospecies and 8 unique species belonging to *Acaulospora* and *Glomus*. The Senguio inoculum have the highest mycorrhizal potential ($MSI_{50}= 12.75$) followed by the Tlalpujahua inoculum ($MSI_{50}= 15$). The three inoculums were effective in increasing the development of *Ipomoea tricolor* and helped its survival in contaminated soils despite the low infectivity recorded. The importance of AMF to increase the resistance of accumulating plants such as *Ipomoea tricolor* in soils contaminated by metals was shown.

Keywords: Bioremediation, heavy metals, mycorrhizal potential, Michoacán, plant yield, *Acaulospora spinosa*, *Glomus tortuosum*.

1. INTRODUCCIÓN

La minería es una de las actividades económicas de mayor tradición en México, la cual ha contribuido desde la época prehispánica hasta el presente en el desarrollo del país (Hernández-Acosta et al., 2009), dicha actividad se concentra principalmente en las siguientes entidades: D.F., estado de México, Nuevo León, Jalisco, Veracruz, Guanajuato, Campeche, Coahuila, Puebla, Tabasco y Michoacán (SEGOB, 2015). A pesar del progreso significativo que la minería ha traído al país, también ha generado por décadas una gran cantidad de desechos que se acumulan en los denominados jales mineros, los cuales pueden ser definidos como lodos residuales originados durante el proceso de extracción del mineral económicamente aprovechable (González Chávez, 2005). Estos lodos, sin embargo, contienen elementos que no son biodegradables, como es el caso de los metales pesados, por lo que se convierten en una amenaza para el ambiente al ser una fuente potencial de contaminación por derramamiento (Alvarado et al., 2011).

Algunos casos de restauración de sitios contaminados incluyen el recubrimiento de los residuos para reducir la dispersión de contaminantes, o la excavación y posterior procesamiento fisicoquímico de los mismos. Sin embargo, estas técnicas presentan algunas dificultades como son los costos elevados o el requerimiento de una gran cantidad de permisos gubernamentales para aplicarlas, además, si no son suficientemente específicas pueden resultar contraproducentes (Volke y Velasco, 2002). Otros protocolos más económicos y sustentables basados en la biorremediación, utilizan plantas acumuladoras de metales o bien, la asociación de estas plantas con microorganismos para llevar a cabo la restauración del equilibrio ecológico debido a los beneficios que dichas asociaciones presentan para el ecosistema (Rodríguez et al., 2017).

El tipo de plantas utilizadas en la biorremediación radica en el tipo de contaminante, y para el caso de la remediación de suelos y aguas contaminadas por metales pesados se emplea plantas que presentan un desarrollo rápido de

biomasa, como es el caso de plantas pertenecientes a los géneros *Salix*, *Populus*, además de plantas como el maíz (*Zea mays*) y ricino (*Ricinus communis*) que presentan una capacidad de resistencia a los metales pesados y contribuyen a la mejora de las condiciones del sitio (cobertura del suelo) presentes en (Abhilash et al., 2012). Por otra parte los mejores resultados se dan al emplear plantas metalófitas las cuales siguen dos estrategias (resistencia o tolerancia). La primera se basa en que las plantas se pueden desarrollar en suelos contaminados y acumular o inmovilizar a los metales pesados, en donde están presentes pero bajo concentraciones altas de estos metales presentan alguna disminución en sus capacidades de generación de biomasa o alteraciones en su ciclo de vida. Las plantas tolerantes reciben el nombre de plantas hiperacumuladoras y tienen la capacidad de almacenar altas cantidades de metales pesados sin que estos afecten su ciclo de vida o les generen daños en sus tejidos (e.g. *Ipomoea batata*, *Ipomoea aquatica*, *Euphorbia cheiradenia*, *Alyssum caricum*, *Helianthus annuus*, etc.) (Ali et al., 2013b; Leung et al., 2013).

También se puede hacer uso de especies fúngicas, como los hongos micorrícicos arbusculares, que son un componente natural de los suelos en la mayoría de los ecosistemas terrestres, de los que se reporta que pueden ayudar a las plantas cuando se encuentran en condiciones adversas para su crecimiento debido a contaminación por metales y otros elementos nocivos a través de diferentes mecanismos (Alvarado et al., 2011).

La asociación que establecen los Hongos micorrícicos arbusculares (HMA) con las plantas no es específica ya que cualquiera de estos puede colonizar diferentes plantas susceptibles de formar esta simbiosis (Bever et al., 2001). Sin embargo, se ha observado que algunos hongos benefician en mayor grado a un determinado hospedante en comparación con otros, aún bajo determinadas condiciones edafoclimáticas, lo que denota diferencias funcionales existentes entre especies de HMA (Bever et al., 2001), así como la importancia de identificar y analizar su eficiencia en interacción con diferentes plantas.

Además, las esporas de las especies de HMA presentan diferente nivel de sensibilidad a la presencia de metales pesados en ausencia de las plantas, por lo cual, especies de HMA que se desarrollen de manera natural en condiciones extremas de contaminación u alta concentración de algún mineral podrían beneficiar el desarrollo y sobrevivencia de diferentes especies de plantas y así convertirse en un servicio para el ecosistema (Pawlowska y Charvat, 2004). En fase simbiótica, estos hongos también han mostrado tolerancia a metales pesados e incremento en la acumulación de estos en las plantas con las que se encuentran asociados (Wong et al., 2007).

Lo anterior resalta la importancia de seleccionar y caracterizar cepas o consorcios de HMA provenientes de suelos contaminados, como los jales mineros, para analizar su eficiencia para establecer la simbiosis (potencial micorrícico) y su efecto para conocer su potencial como fuentes alternativas y sustentables para la remediación de suelos, con un beneficio ecológico para la biosfera.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. Metales pesados.

El término ha sido utilizado en grupos específicos de metales en estudios biológicos y ambientales, la limitación es clara ya que resulta arbitraria e imprecisa. Debido a que se ha relacionado el término con polución y toxicidad, se ha ocasionado gran confusión (Duffus, 2002).

Este término ha sido utilizado en grupos específicos de metales en estudios biológicos y ambientales, la limitación es clara ya que resulta arbitraria e imprecisa. Debido a que se ha relacionado el término con polución y toxicidad, se ha ocasionado gran confusión (Duffus, 2002).

2.1.1. Clasificación de metales pesados.

Los metales incluidos en el término de metales pesados difieren de un autor a otro. Anon (1964) los define como aquellos elementos metálicos cuya densidad es $> 4 \text{ gr/cm}^3$. Mientras que Lapedes (1974) incluye en este grupo aquellos elementos metálicos $\geq 5 \text{ gr/cm}^3$; otros autores los clasifican como los elementos comprendidos en el rectángulo de la tabla periódica cuyos vértices lo forman el Titanio, Hafnio, Arsénico y Bismuto (Burrell, 1974; Lesaca, 1977).

Nieboer y Richardson (1980) consideran que para trabajos en el campo de toxicología ambiental debería abandonarse el término “metal pesado” y usar la clasificación de los iones metálicos de acuerdo al tipo de complejo metal/ligando que forman según la bioquímica inorgánica y que los divide en tres grupos (fig. 1).

Legend:

- Class A (diagonal lines)
- Transición (horizontal lines)
- Clase B (vertical lines)

Lantánidos

* Ce Pr Nd Pm Sm Eu Gd Tb Dy Ho Er Tm Yb Lu

Actínidos

† Th Pa U Np Pu Am Cm Bk Cf Es Fm Md No Lr

Figura 1. Tabla periódica de los elementos mostrando la distribución de los metales e iones metálicos pertenecientes a la Clase A, Clase B y Transición. (Nieboer y Richardson, 1980)

Los metales Clase A tienen configuración electrónica externa con simetría esférica, poco deformable por el campo eléctrico del ligando y se pueden considerar como verdaderas esferas rígidas. Estos metales forman preferentemente complejos con F^- y ligandos con átomos de oxígeno: OH^- , $(CO_3)^{2-}$, $(PO_4)^{3-}$, $(SO_4)^{2-}$. Los complejos formados por cationes de este grupo forman principalmente enlaces de carácter iónico (Gray et al., 1980).

En los metales Clase B (Cu^+ , Hg^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+}), las capas electrónicas no suelen tener simetría esférica y son más fácilmente deformables por los campos eléctricos que los iones clase A, es decir, son "más blandos". Muchos de estos complejos son, además, altamente insolubles en agua (Gray et al., 1980).

El tercer grupo está constituido por los cationes de la primera serie de transición y corresponden principalmente a metales del grupo del hierro (Gray et al., 1980).

Duffus (2002) establece que los metales se deben clasificar en cuatro bloques (bloque s, bloque p, bloque d o bloque de transición y el bloque f). De acuerdo con la valencia de los elementos, las similitudes en sus reacciones químicas y al comportamiento en los sistemas biológicos (fig. 2).

802

J. H. DUFFUS

1	Class A																18						
H	Class B																He						
Li	Be	Borderline																B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Al	Si	P	S	Cl	Ar						
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe(III) Fe(II)	Co	Ni	Cu(II) Cu(I)	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr						
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe						
Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb(IV) Pb(II)	Bi	Po	At	Rn						
Fr	Ra	#	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	110														
* lanthanide			La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu						
# actinide			Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr						

Figura 2. Modificación de la tabla periódica, donde se muestran los cuatro bloques en los que se agrupan los metales (Duffus, 2002).

2.1.2. Toxicidad de los metales pesados.

La contaminación minera se produce por una mala disposición y/o manejo de los residuos o jales mineros. Estos jales contienen altas cantidades de metales pesados (As, Cr, Cd, Hg, etc.) que resultan altamente tóxicos para los organismos (Rodríguez et al., 2009).

La toxicidad de un ion metálico depende de muchos factores (organismo, disponibilidad, concentración, la forma de adquisición, interacciones dentro del organismo). Las biomoléculas como las proteínas y enzimas presentan centros de unión que reaccionan con los elementos esenciales (Na, K, N, P) debido a que cumplen los requisitos de tamaño y forma para cumplir con su función biológica; estos sitios no son selectivos, lo se traduce en que cualquier ion (clase A, clase B o de transición, etc.) puede unirse a ellos teniendo un efecto toxico; como bloquear las funciones esenciales de grupos de biomoléculas; desplazar a los elementos esenciales en las biomoléculas; inhibiendo las moléculas al cambiar sus estructuras (Nieboer y Richardson, 1980).

Dentro de los contaminantes que se consideran prioritarios en México debido a su alta toxicidad y a su persistencia en el ambiente, se encuentran los siguientes: dioxinas, furanos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados (BPC), plaguicidas organoclorados, algunos metales pesados como cromo y plomo, entre otros. Dentro de los residuos peligrosos encontrados con mayor frecuencia en tiraderos clandestinos se encuentran los desechos provenientes de la industria minera (jales, metales y escorias de fundición) (Volke y Velasco, 2002).

Algunos de los riesgos toxicológicos que se mencionan de metales como la plata son quemaduras provocadas por la exposición a compuestos como el nitrato de plata (AgNO_3), el óxido de plata (Ag_2O), la argiria que es la enfermedad que afecta la coloración en piel, órganos y tejidos provocada por la acumulación en el cuerpo de sales o polvos de plata (Nordberg, 2012).

El plomo tiene gran afinidad por los grupos sulfhidrilo en especial por las enzimas dependientes de zinc. El mecanismo de acción es complejo; en primer lugar parece ser que el plomo interfiere con el metabolismo del calcio, sobre todo cuando el metal está en concentraciones bajas, produce efectos neurológicos en niños al dañar el sistema nervioso central (afectaciones al desarrollo cognitivo, psicomotor) en adulto deteriora las capacidades cognitivas, causa cambios de

comportamiento, déficit de atención (Nordberg, 2012) Además de causar anemias, fatiga, deficiencias de vitamina D, reducción de la capacidad auditiva, nefropatías y carcinomas (Nordberg, 2012).

Si bien el zinc es un nutriente esencial al ser un componente de las metaloenzimas que participan en el metabolismo de los ácidos nucleicos y en la síntesis de las proteínas. En general, las sales de zinc son astringentes, higroscópicas, corrosivas y antisépticas. Puede causar la formación de úlceras cutáneas. La inhalación de unos de zinc, pueden causar ataques de escalofríos, fiebre irregular, sudoración profusa, náuseas, sed, cefalea, dolores en las extremidades y sensación de extremo cansancio (Nordberg, 2012).

2.2. Biorremediación.

Debido a los efectos nocivos que pueden tener los metales pesados sobre los seres vivos y la persistencia que tienen en el ambiente, ha surgido la necesidad de eliminar estos contaminantes para recuperar las condiciones originales de los ecosistemas. En el caso de la contaminación del suelo por metales, hay tecnologías como la remoción de las capas contaminadas de sustrato o la adición de agentes quelantes, pero estos métodos no resultan viables al aplicarlos en condiciones *in situ*, debido al alto costo o a que su aplicación bajo condiciones no controladas podría conllevar a una mayor contaminación. Por lo tanto surge la necesidad de desarrollar técnicas menos costosas y que sean más amigables con el ambiente (Chaney y Baklanov, 2017; Cunningham y Ow, 1996). La biorremediación es una tecnología que emplea organismos vivos (bacterias, hongos, plantas) para limpiar la contaminación de suelo y agua a gran escala (Wong et al., 2007) y que al momento de interactuar en estos ambientes almacenan, metabolizan o inmovilizan a los contaminantes (Cunningham y Ow, 1996).

2.2.1. Estrategias de biorremediación.

Existen diferentes mecanismos por medio de los cuales se puede lograr la extracción de contaminantes del suelo utilizando diferentes organismos, algunos de ellos son:

Bioabsorción: Es la habilidad para extraer los metales de un medio acuoso. Los organismos capaces de esto son conocidos como bioabsorbentes (algas, plantas, bacterias y hongos) (Danesh et al., 2013).

Las estrategias que poseen las bacterias se enfocan en lidiar con la contaminación de metales pesados mediante agentes quelantes, reductores de pH, o solubilización de fosfatos metálicos (Abou-Shanab et al., 2003; Ma et al., 2009).

Fitoestimulación: En este caso, los exudados de las raíces de las plantas estimulan el crecimiento de microorganismos capaces de degradar contaminantes orgánicos. Como parte de sus actividades metabólicas y fisiológicas, las plantas liberan azúcares simples, aminoácidos, compuestos alifáticos y aromáticos, nutrientes, enzimas y oxígeno, y los transportan desde sus partes superiores hasta sus raíces, favoreciendo el desarrollo de comunidades microbianas en el suelo circundante; particularmente hongos y bacterias, cuyas actividades metabólicas causan la mineralización de los contaminantes (Ahemad, 2015).

Fitovolatilización: Algunas plantas son capaces de volatilizar ciertos contaminantes, como mercurio y selenio, contenidos en suelos, sedimentos o agua. Tales contaminantes son absorbidos, metabolizados, transportados desde su raíz a sus partes superiores y liberados a la atmósfera en formas volátiles, menos tóxicas o relativamente menos peligrosas en comparación con sus formas oxidadas. La transformación de dichos elementos se efectúa básicamente en la raíz, y su liberación se lleva a cabo durante la transpiración (Ahemad, 2015; Cunningham y Ow, 1996; Khalid et al., 2017)

Fitoestabilización: Este tipo de estrategia utiliza plantas que desarrollan un denso sistema de raíz, para reducir la biodisponibilidad de metales y otros contaminantes en el ambiente por medio de mecanismos de secuestación, lignificación o humidificación. Puesto que este proceso mantiene también una humedad constante en la zona de la rizósfera, se presentan las condiciones adecuadas para la inmovilización de los metales. En esta zona, los metales se fijan fuertemente en las raíces de las plantas o en la materia orgánica de los suelos, limitando así su biodisponibilidad y su migración vertical hacia los mantos freáticos (Ahemad, 2015; Cunningham y Ow, 1996; Sylvain et al., 2016)

Extracción o acumulación: En esta estrategia se explota la capacidad de algunas plantas para acumular contaminantes en sus raíces, tallos o follaje, las cuales pueden ser fácilmente cosechadas. Los contaminantes extraídos son principalmente metales pesados, aunque también puede extraerse cierto tipo de contaminantes orgánicos y elementos e isótopos radiactivos. Generalmente los sistemas de fitoextracción se implementan para extraer metales de suelos contaminados, por medio de plantas conocidas como metalófitas, es decir acumuladoras de metales; sin embargo, también pueden implementarse para tratar aguas residuales (Ahemad, 2015).

Rizofiltración: Se basa exclusivamente en hacer crecer, en cultivos hidropónicos, raíces de plantas terrestres con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar metales pesados de aguas residuales contaminadas (Cunningham y Ow, 1996).

2.2.2. Plantas y su función en la biorremediación.

En el caso específico de la contaminación por metales pesados en el suelo se ha visto que las plantas pueden desarrollarse y subsistir en suelos con una alta concentración de metales (metalófitas) y que por lo tanto pueden utilizarse

preferentemente para la fitorremediación (Rascio y Navari-Izzo, 2011; Van der Ent et al., 2013).

Sin embargo, Meharg, (2005) establece que dentro de las plantas metalófitas deben buscarse las especies que posean la estrategia de acumulación de los metaloides en su sistema. Y para esto identifica dos tipos de plantas, las acumuladoras y las hiperacumuladoras. Definiendo a las plantas acumuladoras como aquellas que almacenan ciertos elementos metálicos (Fe, Cd, Cr, As, Cu, Ag) en concentraciones similares a las que se encuentran en el sitio. Y las plantas hiperacumuladoras como aquellas en las cuales las concentraciones de los metales exceden por mucho a las concentraciones que hay en los suelos.

Como puede apreciarse, las estrategias de fitorremediación hacen referencia a los mecanismos predominantes realizados por las propias plantas, pero también, en algunos casos, se ha observado que las comunidades microbianas juegan un papel importante durante el proceso de remediación. Así, se hace evidente que la fitorremediación es un proceso complejo que involucra la participación de la comunidad microbiana asociada a su sistema de raíz (Ahemad, 2015; Akbar, 2011; Hildebrandt et al., 2007).

2.2.3. *Ipomoea tricolor* Cav.

Esta especie de planta ha sido descrita como una especie acumuladora de cobre, níquel y arsénico debido a la alta capacidad fitoextractora y a su alta capacidad de translocación, así como su fácil adaptabilidad a diferentes tipos de suelo y clima (Zacarías et al., 2012).

Sus características generales son:

Planta herbácea, trepadora, voluble, anual; raíces fibrosas; tallo de 2 a 7 m o más de largo, estriado o a veces muriculado, glabro, ramificado; peciolo de (1.5) 3 a 15 (23) cm de largo, glabro, a veces muriculado, lámina foliar ovada, de 3 a 15 cm

de largo, de 2.5 a 13 cm de ancho, ápice acuminado, base cordada, glabra; inflorescencias en forma de monocasios y dicasios, flores 3 a 12, pedúnculo primario de (3) 7 a 14 (20) cm de largo, glabro, pedúnculos secundarios de (0.8) 1 a 3.5 (4.5) cm de largo, glabros, pedicelos de 1.5 a 3 cm de largo, glabros; sépalos iguales, largamente deltoideos, de 4 a 6 mm de largo, de 2 a 3 mm de ancho en la base, agudos, márgenes enteros, conspicuamente escariosos, coriáceos, glabros; corola infundibuliforme, azul a azul celeste, púrpura a rojo o blanca, de (3.5) 4 a 6 cm de largo, tubo recto, blanco en el exterior, de 3 a 5 cm de largo, glabra; estambres desiguales, blancos, inclusos, de (1) 1.5 a 3 cm de largo, pubescentes en la base de los filamentos; estilo apenas sobrepasando en tamaño al estambre más grande, glabro, estigma capitado, ligeramente bilobado; cápsula cónica, de 1 a 1.5 cm de largo, de 5 a 6 mm de diámetro, café-pajiza, bilocular, 4-valvada, glabra; semillas 4, elipsoideo-trígonas, de 4 a 7 mm de largo, de 3 a 4 mm de ancho, cafés oscuras a negras, glabrescentes o puberulentas.



Figura 3. Planta de *Ipomoea tricolor* Cav.

2.2.4. Hongos micorrícicos y su función en la biorremediación.

Los microorganismos juegan un papel importante en la biorremediación de suelos contaminados por metales, por lo que es importante saber sus mecanismos

de acción (Bano y Ashfaq, 2013). En primer término, la efectividad en la extracción y tolerancia a los metales contaminantes dependerá de dos factores principales: la planta, y la micro biota (hongos micorrícicos, bacterias nitrificantes) presente en los suelos. En segundo término, las estrategias de biorremediación utilizada por estos microorganismos (Khan et.al, 2000). Entre los microorganismos que se han analizado para potenciar los mecanismos de biorremediación de suelos contaminados, se encuentran los hongos micorrícicos que son organismos promotores del crecimiento de las plantas, pero además también poseen estrategias para tratar con los metales pesados (Akbar, 2011), por lo que resulta necesario entender como interaccionan las plantas con los hongos micorrícicos (Khan et al., 2000).

Existen diferentes tipos de micorrizas dependiendo de la interacción con el sistema radicular de la planta (endomycorrizas, ectomycorrizas) y ambas pueden contribuir en la asimilación de contaminantes metálicos (Bano y Ashfaq, 2013). Las endomycorrizas son asociaciones planta-hongo que forman simbiosis al llevarse a cabo la penetración de las hifas en los espacios inter e intracelulares de la raíz, desarrollando estructuras para el intercambio de nutrimentos entre la planta hospedera y el hongo. Dentro de este grupo se encuentra la denominada micorriza arbuscular que constituye el principal tipo de micorriza encontrado en la naturaleza. Los hongos también llamados micorrícicos arbusculares (HMA), actualmente formaban parte del filum Glomeromycota (antes Zygomycota) y son denominados así porque forman estructuras llamadas arbuscúlos y en algunos casos vesículas dentro de las células corticales de la raíz (Schüßler et al., 2001).

Algunas especies de HMA producen proteínas quelantes insolubles, que extraen los metales de los suelos contaminados (Bano y Ashfaq, 2013). También pueden bioacumular los metales almacenándolos en las vesículas, arbuscúlos e hifas e inmovilizarlos (Khan et al., 2000; Leung, et al., 2013). O pueden potenciar la fitoextracción por la planta al incrementar el área de forrajeo mediante sistema micelial extra radicular (Upadhyaya et al., 2010). Otro mecanismo puede ser la

reducción de la toxicidad de estos metales a través de su metabolismo (Bano y Ashfaq, 2013).

Las plantas inoculadas con HMA en un área contaminada por metales son más saludables que aquellas no inoculadas pues el hongo favorece la absorción de nutrientes en este tipo de suelos. Sin embargo, algunos reportes señalan que la esporulación y la expansión del micelio del hongo se afectan por la presencia de metales pesados en el suelo (Pawlowska y Charvat, 2004).

Algunas cepas de hongos micorrícicos pueden tolerar el estrés por metales pesados, entre las que se encuentran algunas especies de *Glomus*, mientras que otras pueden ser menos resistentes y que por lo tanto la eficiencia de estos hongos en la biorremediación dependerá del tipo de planta, el tipo de metal y la especie fúngica (Adamec y Andrejiová, 2018). Debido a esta variación en la tolerancia a metales pesados por los HMA, es importante medir su capacidad para establecer la simbiosis con la planta (potencial micorrícico).

2.3. Potencial micorrícico

El potencial micorrícico es la habilidad de un suelo con propágulos de HMA de iniciar la asociación simbiótica con las plantas hospederas, para esto es necesario realizar múltiples diluciones del inóculo de HMA en el suelo, para observar la dilución donde la mitad de plantas hospederas estén infectadas (Plenchette et. al, 1989). Es importante conocer esto ya que permite establecer la cantidad mínima necesaria de inóculo para establecer la relación simbiótica y esto nos permite conocer la capacidad infectiva de un inóculo.

Hay dos métodos principales para realizar el cálculo del potencial micorrícico, el primero de acuerdo con Adelman y Morton, (1986) en el cual se realiza a partir del cálculo del número más probable (NMP), el cual consiste en determinar la cantidad de propágulos de HMA que contiene un suelo, lo cual consiste en realizar diluciones consecutivas del suelo bajo un número dado de repeticiones (tubos),

desarrollar una planta hospedera, y comprobar a los dos meses si hay colonización micorrícica (positivo), posteriormente en las tablas de Mcgrady se consultan la combinación de tubos positivos para la diluciones utilizadas y el valor obtenido se multiplica por el logaritmo de la dilución usada, para así obtener el valor corregido del NMP.

El segundo método es el empleado por Plenchette et al., (1989), el cual consiste en realizar múltiples diluciones del inóculo fúngico presente en los suelos, poner en cultivos trampa cada una de las diluciones y crecer un número X de plantas para después de dos o cuatro meses sacar el porcentaje de plantas infectadas en cada dilución. Posteriormente estos datos se multiplican contra el logaritmo de la dilución para obtener el $MSI_{50}/100g$ (cantidad mínima de suelo seco requerido para infectar al 50% de las plantas).

3. ANTECEDENTES.

La presencia de iones metálicos (e.g. Ag, Cd, Pb, Cr, As) en suelo puede deberse al tipo de material litológico de que proceden (Flores et al., 2010; Göhre y Paszkowski, 2006), o a actividades antropogénicas como la industria, el uso de plaguicidas, o la minería (Göhre y Paszkowski, 2006). García *et. al.*, (2002) encontró que la calidad de los suelos ha disminuido debido a la presencia de metales pesados originados por las industrias la agricultura y la actividad minera, lo que conlleva a la pérdida de especies y ecosistemas.

Puga et al., (2006) estudiaron la distribución de los contaminantes (As, Cd, Zn y Pb) en los suelos a los alrededores de una presa de jales en el Municipio de San Francisco del oro en Chihuahua, encontraron que las mayores concentraciones de los elementos se dan en los sitios más cercanos a los jales y varía de acuerdo a la profundidad en los suelos, observaron que las concentraciones de arsénico aumentan debido a la textura y el contenido de materia orgánica en los suelos, mientras que las concentraciones de plomo aumentan con la profundidad de los suelos; por el contrario las mayores concentraciones de cadmio se encontraron en los estratos superficiales de los suelos. La persistencia e incremento de las concentraciones de iones metálicos peligrosos (e.g. As, Ag, Pb, Cr, etc.) en los suelos se debe a la alta resistencia a ser degradados química y/o biológicamente (Ali et al., 2013; Khalid et al., 2017). Esta característica les permite entrar en las cadenas alimenticias y desencadenar daños a los organismos vivos, siendo importante dar un tratamiento a estos sitios para la remoción de los contaminantes.

Khalid *et al.*, (2017) comparan las distintas tecnologías de remediación, encontrando que las tecnologías en remoción de tipo físico (vitrificación, remoción, aislamiento) son poco viables debido a alta demanda de mano de obra, recursos materiales y el alto costo de la extracción. Los tratamientos químicos (encapsulación, inmovilización, lavado) tienen una buena relación costo beneficio

en comparación con los tratamientos físicos debido a que no es necesaria una alta cantidad de químicos para llevarlos a cabo, sin embargo, los costos de estos tratamientos dependerán del tipo de ion metálico y de los atributos edafológicos de los sitios. Mientras que en los tratamiento biológicos (fitovolatilización, fitoestabilización, fitoextracción) requieren de más tiempo para obtener resultados, pero no tienen afectaciones al ambiente ya que se aprovechan especies de plantas adecuadas para los sitios (Ali et al., 2013a).

Meharg (2005) plantea que debido a los bajos costos la mejor opción para remediar la contaminación de los suelos por metales pesados es el empleo de plantas. Gardea-Torresdey et al., (2004) proponen el uso de la planta hiperacumuladora *Ipomoea tricolor* para la fitoextracción de cromo, cadmio y cobre.

Fozia et al., (2008) observaron los efectos de distintas concentraciones de Cr en el crecimiento de tres variedades de girasol (*Helianthus annuus L*) encontrando que el incremento en las concentraciones de Cr afecta negativamente al crecimiento y germinación del girasol, sin embargo a una concentración de 60 mg/Kg de suelo las semillas poseen una capacidad germinativa del 40% y las plantas poseen la capacidad de fitoestabilizar el cromo.

Sundaramoorthy et al. (2010) estudiaron los efectos del cromo sobre el arroz (*Oryza sativa*) bajo múltiples concentraciones y vieron que las concentraciones de cromo tenían un efecto negativo en el crecimiento del arroz y en la adquisición de nutrientes, pero que las plantas fitoestabilizaban el cromo a mayor concentración de este tenían. También analizaron el efecto del cromo en *Cyperus rotundus*, *Cyperus kylinga*, *Marselia quadrifolia* y *Ludwigia parviflora* usadas en la remediación de un suelo contaminado con cromo siendo, *Cyperus rotundus* la que tuvo una mayor acumulación de cromo en sus tejidos.

Covarrubias y Cabriales (2017) plantean que por sus bajos costos debería usarse la fitoextracción de los metales pesados por medio de las plantas *Scirpus*

americanus, *Typha latifolia*, *Jatropha dioica*, *Eichhornia crassipes* y *Amaranthus hybridus* adicionadas con bacterias del genero *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Microbacterium* entre otras, además de especies de hongos micorrícicos especialmente del género *Glomus*.

Se ha visto que especies de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) tienen un efecto positivo en el crecimiento de las plantas debido a que promueven el crecimiento de estas al ampliar el área de forrajeo de los nutrientes esenciales; además se ha visto que estas ayudan a las plantas a lidiar con el estrés ambiental (sequia, pH, salinidad) (Göhre y Paszkowski, 2006; Ahanger, et al., 2014). Por lo tanto se ha analizado la posibilidad de añadir ciertas especies de HMA que tienen resistencia a las concentraciones de iones metálicos y que pueden mejorar la supervivencia de las plantas hiperacumuladoras al formar una barrera con el medio (Atimanav y Alok, 2004; Atimanav et al., 2004; González Chávez, 2005; Hildebrandt et al., 2007 ; Audet, 2014; Ahemad, 2015). Esto se debe a que los HMA también poseen estrategias como la quelación (Khan et al., 2000), la estabilización y/o la acumulación de los metales pesados (Cabral et al., 2015; Coninx et al., 2017).

Latef et al., (2016) revisaron la literatura sobre el efecto de diferentes tipos de estrés abiótico y la relación simbiótica entre plantas/HMA. Destacando seis estrategias diferentes al lidiar con los efectos de metales tóxicos a través de medios fisicoquímicos o la expresión genética: la primera restringe la disponibilidad de los metales a través de la glomalina. La segunda precipita a los metales en los gránulos polifosfatados del suelo, otra consiste en la inmovilización de las sustancias toxicas en la quitina de la pared celular del micobionte, o la quelación de los metales al interior del hongo mediante el uso de metaloteinas.

MacLean et al., (2017) realizaron una revisión de la literatura sobre la señalización que se da entre la planta y el HMA para el establecimiento de la simbiosis. Dándose al momento en que la planta presenta una deficiencia de fósforo a través de los estrigolactanos que permiten que la planta sea detectada como

hospedero receptivo por parte de la espora de HMA, la espora presenta un proceso oxidativo para la elongación del micelio hacia la raíz y al llegar a la raíz de la planta libera proteínas señalizadoras para ser reconocido y que las células corticales permitan el establecimiento de micelio, después la espora.

Duponnois et al. (2001) realizaron un trabajo en Senegal para observar el efecto del barbecho sobre el potencial micorrícico de los HMA seleccionando parcelas con 4, 11 y 19 años de establecimiento, cercadas y sin cercar, además de un suelo forestal, todos con similitud en la diversidad de HMA. Encontraron que las prácticas de barbecho y pastoreo influyen en el potencial micorrícico. Las parcelas con mayor potencial micorrícico eran aquellas que se encontraban cercadas ($MSI_{50} = <49.9$) y la parcela cercada con cuatro años de barbecho tenía el menor potencial micorrícico ($MSI_{50} = 29.6$). En las parcelas en donde se permitía el pastoreo el potencial micorrícico era alto ($MSI_{50} = >88.9$).

Cuenca y Lovera (2010) realizaron un trabajo en un matorral esclerófilo en la región de Guayana para observar si el potencial micorrícico se ve afectado por la estacionalidad de la región, realizaron cuatro muestreos a lo largo de un año, al principio, mediados y finales de la temporada de lluvias (Abril, Julio y Octubre) y durante la temporada de secas (Enero), encontrando que la estacionalidad afecta al potencial micorrícico ya que los mayores potenciales se encontraron al final del periodo de lluvias ($MSI_{50} = 5.10$) y durante la época de secas ($MSI_{50} = 5.10$).

Gunathilakae et al. (2018) estudiaron el efecto de un inóculo de HMA como potenciador de la capacidad fitorremediadora de Cd de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, en el experimento utilizó plantas de Jacinto acuático inoculadas con HMA crecidas bajo varias concentraciones de cadmio (0, 5, 10, 20, 50 ppm) durante 52 días. Encontraron la mayor concentración de Cd en tallo y raíz (0.22 y 0.25 pp), la tasa de crecimiento relativo (0.52 g/día), biomasa seca de raíz (0.56 g), biomasa seca de tallo (0.62 g) en las plantas inoculadas con HMA. Además los tratamientos de las plantas con HMA mostraron una menor concentración de cadmio tanto en

suelo como agua en cada uno de las diluciones de cadmio. Encontraron también una correlación positiva entre la colonización de los HMA y las tasas de crecimiento relativo. Demostrando que los HMA son capaces de aumentar el potencial fitorremediador de *Eichhornia crassipes* en ambientes terrestres y acuáticos contaminados por cadmio.

Bhaduri y Fulekar, (2012) estudiaron el efecto de un consorcio de HMA en la planta acumuladora de cadmio *Ipomoea aquatica*, al desarrollarla bajo múltiples concentraciones de Cd (0, 5, 10, 25, 50, and 100 ppm) en suelos con y sin inoculo micorrízico, encontraron que las plantas inoculadas con HMA tuvieron un mayor desarrollo de biomasa fresca, una mayor longitud de tallo y raíz frente a las plantas que no fueron inoculadas, además de que no presentaron oxidación de la raíz, a la vez que aumenta el potencial fitorremediador de *Ipomoea aquatica*.

Chang et al. (2018) estudiaron el efecto de *Claroideoglomus etunicatum* en la biomasa, la adquisición de nutrientes, la adquisición y translocación de metales por plantas de *Zea mays* L. en suelos contaminados por Lantano (La) y Cadmio (Cd). Encontraron que concentraciones combinadas de La ($100\text{mg}/25\text{ kg}^{-1}$) y Cd ($5\text{mg}/\text{Kg}^{-1}$) disminuyen significativamente la colonización de la raíz en un 22% a 35%. Mientras que en los tratamientos con contaminación combinada las plántulas de maíz inoculadas incrementaron su biomasa en un 26.2% comparado con los tratamientos de un solo contaminante. Además de que la inoculación mejoró la adquisición de N, P y K entre un 20 y 76.8% en los tratamientos con La y Cd. Además, los HMS tienen efectos en la interacción entre La y Cd así como en la absorción de metales y la translocación en las concentraciones de los contaminantes.

4. JUSTIFICACIÓN.

Actualmente se reconoce la importancia que juegan los hongos micorrícicos en la interacción planta-suelo en el medio ambiente en general y en suelos contaminados por metales pesados. Sin embargo, estudios previos se han enfocado principalmente en la utilización de familias de plantas acumuladoras para la fitorremediación y los hongos micorrícico arbusculares no han sido considerados como un componente importante en esta estrategia. El uso de plantas micorrizadas para la fitorremediación de ambientes contaminados es relativamente reciente y son muy pocos los estudios enfocados en analizar el papel funcional de estos hongos. De esta manera, el presente estudio contribuirá a conocer la identidad de algunas especies de HMA presentes en jales mineros y se analizará si es posible incrementar la supervivencia y/o mejorar el estado fisiológico de plantas acumuladoras como *Ipomoea tricolor* en suelos contaminados mediante su inoculación con hongos provenientes de jales mineros.

5. HIPÓTESIS.

Los HMA provenientes de jales mineros potencian el crecimiento y la supervivencia de *Ipomoea tricolor* en este tipo de suelos.

6. OBJETIVOS.

6.1. Objetivo general.

- ❖ Analizar el efecto de consorcios de HMA aislados de jales mineros y suelos silvestres sobre el estado fisiológico y supervivencia de *Ipomoea tricolor*.

6.2. Objetivos particulares.

- ❖ Identificar morfológicamente y analizar la diversidad de HMA presentes en los sitios de estudio.
- ❖ Determinar el potencial micorrícico de consorcios de HMA nativos de los suelos seleccionados.
- ❖ Elucidar el efecto de los consorcios nativos de HMA, sobre el crecimiento y supervivencia de *Ipomoea tricolor*

7. METODOLOGÍA.

7.1. Sitio de estudio.

El experimento se realizó en dos sitios contaminados por la actividad minera (jales mineros) y en un suelo forestal (sitio control) en las localidades de Mineral de Angangueo y Tlalpujahua de Rayón a 170 Km y 138 Km de la ciudad de Morelia respectivamente (fig. 4).

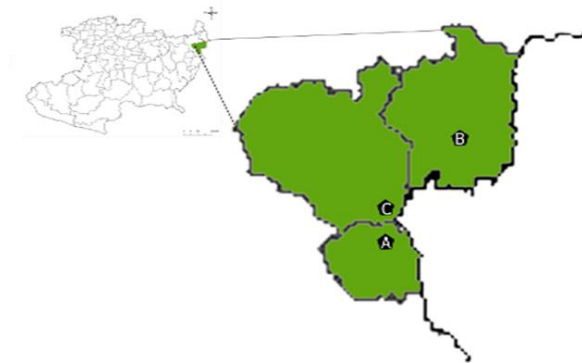


Figura 4. Localización de los sitios de estudio: A). Jal minero en el municipio de Angangueo, B) Sitio contaminado al norte de la localidad de Tlalpujahua, C) Sito silvestre al sureste de la reserva de la Biosfera de la Mariposa monarca.

El sitio estudiado en Angangueo se encuentra a cuatro kilómetros al este de la localidad de Mineral de Angangueo, la contaminación por metales se debe a que son jales mineros obtenidos de la explotación minera de la región de las que se extraía principalmente plata, zinc y plomo. La región todavía es de interés minero (INEGI, 2009a) se detectaron tres estrato dentro del jal minero de Angangueo (fig. 5) .



Figura 5. Foto de un estrato encontrado en el Jal minero de Angangueo.

El sitio contaminado de Tlalpujahua se encuentra a 750 metros al norte de Tlalpujahua de Rayón, es un sitio contaminado a partir de la tragedia de Tlalpujahua en 1937 por la ruptura de las presas de jales de la mina Dos Estrellas con metales como la plata, plomo zinc y oro (INEGI, 2009c) (fig. 6).



Figura 6. Fotos de los estratos encontrados en el Jal minero de Tlalpujahua.

El sitio silvestre se encuentra a 1.5 km al sureste de la reserva de la biosfera de la mariposa monarca en el municipio Senguio que es un suelo forestal de pino, este sitio será empleado como control en nuestros experimentos (INEGI, 2009b) (fig. 7).



Figura 7. Fotos del sitio silvestre. A) Estrato 1, B) estrato 2

7.2. Colecta de muestras.

El muestreo se realizó en cada sitio mediante el método estratificado, se seleccionaron tres estratos y se tomaron cinco muestras por estrato, para un total de 15 puntos de muestreo por sitio (fig. 8). Se retiraron los primeros 15 centímetros de suelo para posteriormente colectarse 120 kg de suelo por sitio. Las muestras individuales se combinaron y homogenizaron, para así obtener una muestra representativa de cada estrato y poder realizar los análisis físico-químicos de acuerdo con la Norma oficial mexicana-nom-021-recnat-2000 (Semarnat, 2002).



Figura 8. Toma de muestras en sitios de colecta.

Se usaron semillas comerciales de plantas de *Ipomoea tricolor*, a estas semillas se les realizó la prueba de flotación e imbibición. Este método permite determinar en forma rápida la viabilidad de las semillas y da una referencia de su poder germinativo.

7.3. Identificación y análisis de diversidad de hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

Se realizó un conteo de esporas por triplicado; usando 100 gr de suelo obtenido de las muestras de cada sitio, para establecer los requerimientos necesarios de inóculo para los diseños experimentales. Para el aislamiento de las esporas de HMA se hizo la extracción, mediante la técnica de tamizado húmedo propuesta por Sieverding, (1991), aunada a la flotación en Sacarosa (Walker y Vestberg, 1994).

Las esporas extraídas del suelo sin aparente daño mecánico, fueron examinadas al microscopio estereoscópico, seleccionadas por sus similitudes morfológicas y colocadas en portaobjetos con PLVG en grupos de 5 a 10 esporas, en otro portaobjetos con PLVG más reactivo Melzer se colocará el mismo grupo y número de esporas, las cuales se rompieron con cuidado (Brundrett et al., 1996). Cada preparación fue observada con microscopio óptico para la caracterización morfológica, medición e identificación de HMA a partir de las esporas. Las características morfológicas a considerar fueron: el tipo de hifa de sostén, así como el tamaño, la forma, la ornamentación, y el número y el grosor de las capas que conforman la pared de la espora, reacción de la pared de la espora al reactivo Melzer (Varela-Fregoso y González-Chávez, 2007). Se utilizó literatura especializada provista por el INVAM (International Culture Collection of Arbuscular and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungi) (INVAM, 2000) y AMF-phylogeny (Arbuscular Mycorrhizal Fungi), ambas consultadas electrónicamente. A partir de las preparaciones, se tomaron fotografías con cámara marca Sony DSC-S75, montada en microscopio óptico marca Zeiss Axiostar Plus.

Los análisis de diversidad de los HMA presentes en los sitios, se llevó a cabo usando los índices de Shannon-Weaver para obtener la diversidad α ; la diversidad β se obtuvo mediante los índices de Whittaker, y la riqueza de especies se obtuvo mediante el índice de Margalef, utilizándose los programas de análisis de diversidad PAST 3.0 (Hammer et al., 2001) y EstimateS 9.1 (Colwell, 2016).

7.4. Fase 1. Potencial micorrícico de consorcios de HMA nativos de los suelos seleccionados.

Previo al experimento de potencial micorrícico se realizó una prueba de germinación entre semillas silvestres y comerciales de *Ipomoea tricolor* para ver la capacidad germinativa frente a las condiciones edáficas presentes en los suelos de los sitios de estudio, para lo cual se emplearon los suelos a dos diluciones (mezcla de los suelos de los sitios con un estéril) de contaminación (50% y 100%) además de un control que estuvo formado por una combinación de vermiculita, perlita y peatmoss en relación 1:1:3, se tuvieron cuatro replicas por tratamiento y se germinaron 5 plántulas de cada tipo de semilla.

Se germinaron 150 semillas de *Ipomoea tricolor*, sembrándose 3 plantas por maceta. Para el experimento se utilizó suelo de cada sitio con cinco tratamientos: cuatro tratamientos con distintas concentraciones de inóculo de HMA (25, 50, 75 y 100%) y un control, teniendo diez macetas de 1 kg por tratamiento.

Después de cuatro meses en invernadero se colectaron y acondicionaron las raíces de las plantas de *Ipomoea tricolor* para el cálculo de porcentaje de colonización usando el método de clareo y tinción con azul tripano (Phillips y Hayman 1970), el porcentaje de colonización total (PCT) fue estimada por el método de McGonigle et al., (1990) por duplicado. Éste dato era necesario para el cálculo de potencial micorrícico. Se realizaron los análisis estadísticos usando el programa Minitab (*Minitab 17*, 2010).

Para determinar el potencial micorrícico de los suelos, se siguió la metodología descrita por Plenchette et al., (1989) para lo cual se estableció el cultivo

trampa de las cinco concentraciones de inoculo de HMA (0, 25, 50, 75 y 100%) en cada uno de los suelos de estudio, para el cálculo se consideró el porcentaje de colonización y número de plantas colonizadas por replica y tratamiento. Se contabilizó el número de plantas que presentaban más del 50% de colonización (MSI50) y número más probable (NMP) (fig. 9).

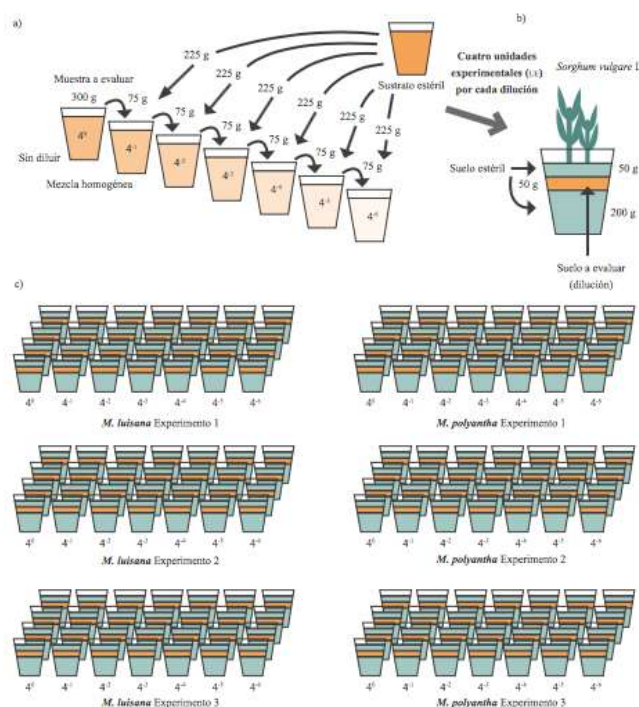


Figura 9. Diseño experimental para la estimación de número más probable (NMP) y potencial micorrícico de consorcios de HMA provenientes de 2 jales mineros y un suelo silvestre asociados a *Ipomoea tricolor*.

Para determinar si el potencial micorrícico se relacionó con su efectividad para el desarrollo de la planta se determinó el área foliar al final del experimento, de la siguiente manera: se tomaron tres plantas por tratamiento, se midieron 9 hojas en total (3 hojas de la zona basal, 3 de la zona media y 3 de la zona apical) mediante la medición directa de área foliar por método no destructivo de acuerdo a Galindo y Clavijo, (2007), el cual consistió en dibujar una cuadrícula de 1 cm² sobre una hoja de acetato y posteriormente colocar la cuadrícula sobre las hojas seleccionadas de *Ipomoea tricolor* y contar la cantidad de cuadros ocupados por cada hoja (fig. 10).



Figura 10. Medición del área foliar de hojas de *Ipomoea tricolor* mediante el método no destructivo de Galindo (2007).

7.5. Fase 2. Precisar el efecto de los consorcios nativos de HMA, sobre el crecimiento y supervivencia de *Ipomoea tricolor*

Para analizar el efecto de los consorcios nativos de HMA, sobre el crecimiento y supervivencia de *Ipomoea tricolor*, se realizaron pruebas cruzadas en macetas trampa; entre los suelos de los sitios (Anganguero, Tlalpujahua y silvestre) contra los consorcios de HMA nativos de estos sitios, más un control, realizándose de la siguiente manera: las semillas *Ipomoea tricolor* se plantaron bajo condiciones de invernadero en macetas con 1 kg de sustrato de cada sitio, previamente esterilizado tres veces. Las semillas fueron inoculadas al momento de la siembra usando la proporción de inóculo requerida por cada tratamiento de acuerdo al análisis de potencial micorrícico y conteo de esporas, para lo cual se mezcló la proporción de suelo requerido de cada inóculo con el suelo estéril de cada tratamiento, previo a la siembra de las semillas (Alarcón et al., 2004).

Se realizó una prueba proporcional de Cox, para conocer el comportamiento de las curvas de supervivencia, aplicado a las plantas germinadas en el suelo de los tres sitios, entre tratamientos de concentración fúngica en el programa estadístico JMP ver. 8

Las plántulas se regaron con agua corriente. Después de seis meses, las plantas fueron cosechadas para evaluar el número de hojas, el área foliar, la biomasa seca, y el porcentaje de colonización en una fracción de las raíces.

La biomasa seca se obtuvo al pesar por separado la parte aérea y el sistema radicular de las plantas, en una balanza analítica, después las diferentes secciones de la planta fueron secadas en un horno a 70 C° por 72 h. El porcentaje de colonización de una fracción radicular fue evaluado por el método previamente mencionado (McGonigle et al., 1990).

8. RESULTADOS.

8.1. Análisis físico-químicos de los suelos en los sitios.

El análisis físico-químico y de metales pesados generó los resultados que se muestran en la tabla 1, observamos que las condiciones varían entre los sitios contaminados y el sitio control; se observa que en cuanto al pH el jal de Angangueo el suelo es ácido, mientras que en Tlalpujahua y Senguio los suelos son alcalinos y neutros respectivamente. También se observó que el contenido de materia orgánica y los elementos esenciales (N, K, P) son bajos en los jales mineros con respecto al suelo silvestre.

El análisis de metales pesados presentes en los suelos de jales mineros de Angangueo y Tlalpujahua además del suelo silvestre reporta que los valores encontrados para arsénico, plomo y plata sobrepasan los valores permitidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (Semarnat, 2007), que son de 260 mg/kg para arsénico, 800mg/kg para plomo y 5100 mg/kg para plata.

Tabla 1. Análisis físico-químicos y de metales pesados de los suelos en los sitios contaminados y el sitio silvestre.

	Anganguero	Tlalpujahua	Silvestre
Granulometría (%)			
Arcilla	12	12	42
Limo	6	6	31
Arena	82	82	27
Constantes de humedad (%)			
Humedad a saturación	12	12	63
Capacidad de campo	7	7	36
pH en agua	3	8	5.8
pH en solución CaCl	2.9	7.3	5.3
Materia orgánica (%)	0.6 (muy bajo)	0.5 (muy bajo)	3.1 (alto)
Nitrógeno orgánico (Kg/ha)	15.2 (muy bajo)	13.6 (muy bajo)	78.4 (medio)
Nitrógeno amoniacal (ppm)	3.8 (muy bajo)	3.8 (muy bajo)	3.8 (muy bajo)
Fósforo (ppm)	24 (bajo)	30 (adecuado)	24 (bajo)
Potasio (ppm)	72 (bajo)	72 (bajo)	319 (excesivo)
Nitrógeno mineral (ppm)	61 (adecuado)	61 (adecuado)	38(bajo)
Cationes intercambiables (meq/100 g)			
Potasio	0.2 (insuficiente)	0.2 (insuficiente)	0.8 (insuficiente)
Calcio	2.5 (insuficiente)	11.3 (insuficiente)	10 (insuficiente)
Magnesio	1.3 (insuficiente)	1.3 (insuficiente)	3.8 (insuficiente)
C.I.C.	3.6 (baja)	3.5 (baja)	14.6 (media)
Metales pesados (ppm)			
Plata	7057 mg/kg	90.25 mg/kg	43.20 mg/kg
Zinc	750 mg/kg	4.30 mg/kg	28.82 mg/kg
Plomo	1312 mg/kg	12.46 g/ kg	

8.2. Identificación de esporas.

En los sitios de estudios se encontraron 47 morfoespecies de HMA de las cuales se lograron identificar 33 a nivel de especies y 13 solo a nivel de género. Se registraron 9 géneros: *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Diversispora*, *Funnelformis*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Pacispora*, *Paraglossum* y *Rhizophagus* (fig. 11), de los cuales el más abundante con 32% de las especies es *Acaulospora*, que además está

presente en los tres sitios de estudio (Tabla 2). El suelo silvestre es el de mayor riqueza de especies ya que reporta 36 morfoespecies, de las cuales 12 son especies únicas (Tabla 2). De las especies encontradas *Acaulospora* aff. *spinosa* y *Glomus* aff. *tortuosum* están presentes en los tres sitios y son las más abundantes con el 25% y 17% del total de esporas analizadas. Otras especies en los tres sitios pero con poca abundancia son *Gigaspora* aff. *margarita* y *Diversispora* aff. *spurca*.

El Jal de Angangueo presenta el menor número de especies y es el suelo de mayor contaminación.

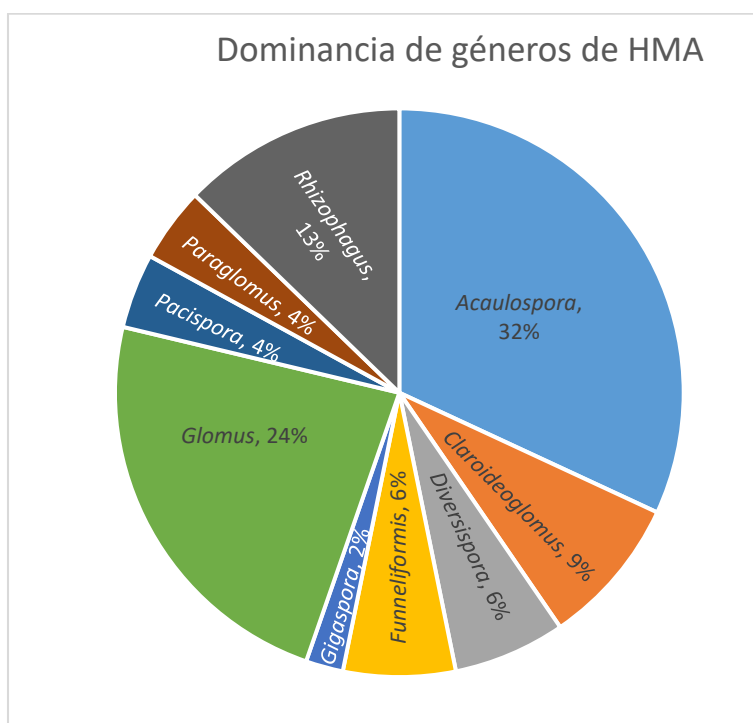


Figura 11. Porcentaje de los géneros de HMA encontradas en los sitios de estudio.

El sitio que presentó mayor número de especies únicas fue el sitio silvestre (12), Angangueo solo presentó dos especies únicas y el sitio de Tlalpujahua presentó 8 especies únicas predominando las especies del género *Acaulospora*, que es un género reportado como resistente a sitios con pH ácidos. (Tabla 2).

Tabla 2. Géneros de HMA encontradas en los sitios de estudio.

Especies	Anganguao	Tlalpujahua	Silvestre
<i>Acaulospora</i> aff. <i>bireticulata</i> Rothwell y Trappe, (1979)		X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>capsicula</i> Blaszk, (1990)		X	
<i>Acaulospora</i> aff. <i>delicata</i> Walker et al., (1986)			X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>denticulata</i> Sieverd. y Toro, (1987)	X		X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>dilatata</i> Morton, (1986)		X	
<i>Acaulospora</i> aff. <i>foveata</i> Trappe y Janos, (1982)		X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>lacunosa</i> Morton, (1986)		X	
<i>Acaulospora</i> aff. <i>laevis</i> Gerd. y Trappe, (1974)		X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>mellea</i> Spain y Schenck, (1984)		X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>rugosa</i> J.B. Morton (1986)		X	
<i>Acaulospora</i> aff. <i>scrobiculata</i> Trappe (1977)		X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>spinosa</i> Walker y Trappe, (1981)	X	X	X
<i>Acaulospora</i> aff. <i>tuberculata</i> Janos y Trappe, (1982)		X	X
<i>Acaulospora</i> sp.1			X
<i>Acaulospora</i> sp.2			X
<i>Claroideoglossum</i> aff. <i>claroideum</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Claroideoglossum</i> aff. <i>lamellosum</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Claroideoglossum</i> sp.1			X
<i>Claroideoglossum</i> sp.2			X
<i>Diversispora</i> aff. <i>epigea</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Diversispora</i> aff. <i>spurca</i> Walker y Schüßler, (2004)	X	X	X
<i>Diversispora</i> aff. <i>trimurales</i> Walker y Schüßler, (2010)		X	X
<i>Funneliformis</i> aff. <i>geosporus</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Funneliformis</i> aff. <i>mosseae</i> Walker y Schüßler (2010)	X		X
<i>Funneliformis</i> aff. <i>verruculosus</i> Walker y Schüßler (2010)	X		X
<i>Gigaspora</i> aff. <i>margarita</i> Becker y Hall, (1976)	X	X	X
<i>Glomus</i> aff. <i>globiferum</i> Koske y Walker (1986)		X	X
<i>Glomus</i> aff. <i>multicaule</i> Gerd y Bakshi, (1976)	X		X
<i>Glomus</i> aff. <i>tortuosum</i> Schenck y Sm. (1982)	X	X	X
<i>Glomus</i> sp.1	X	X	X
<i>Glomus</i> sp.2	X		
<i>Glomus</i> sp.3			X
<i>Glomus</i> sp.4			X
<i>Glomus</i> sp.5		X	
<i>Glomus</i> sp.6		X	
<i>Glomus</i> sp.7		X	
<i>Glomus</i> sp.8		X	
<i>Pacispora</i> aff. <i>franciscana</i> Sieverd y Oehl, (2004)			X
<i>Pacispora</i> aff. <i>scintillians</i> Walker et al., (2007)		X	X
<i>Paraglomus</i> aff. <i>occultum</i> Morton y Redecker, (2001)			X
<i>Paraglomus</i> sp.			X
<i>Rhizophagus</i> aff. <i>aggregatus</i> Walker, (2016)		X	X
<i>Rhizophagus</i> aff. <i>clarus</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Rhizophagus</i> aff. <i>fasciculatus</i> Walker y Schüßler (2010)		X	X
<i>Rhizophagus</i> sp.	X		
<i>Rhizopagus</i> aff. <i>intraradices</i> Walker y Schüßler (2010)			X
<i>Rhizopagus</i> aff. <i>irregularis</i> Walker y Schüßler (2010)			X
Total de especies	11	29	37
Especies compartidas	9	21	25
Especies únicas	2	8	12
Densidad de esporas/100gr	150	162	370

A continuación, se presenta la descripción de las principales características que permitieron la identificación de géneros:

Acaulospora

Este género se caracteriza por presentar una cicatriz en la espora debido a que se forma a partir del cuello de un sáculo esporífero. La micorriza se tiñe débilmente. La pared germinal más interna tiene una superficie con excrecencias. Germinación a través de una estructura de germinación esférica, plana, flexible. Las esporas de este género pueden o no teñirse al ponerlas en contacto con el reactivo Melzer, lo cual permite diferenciar algunas especies. Fue el género dominante en el Jal minero de Tlalpujahua y en el suelo silvestre (fig. 12).

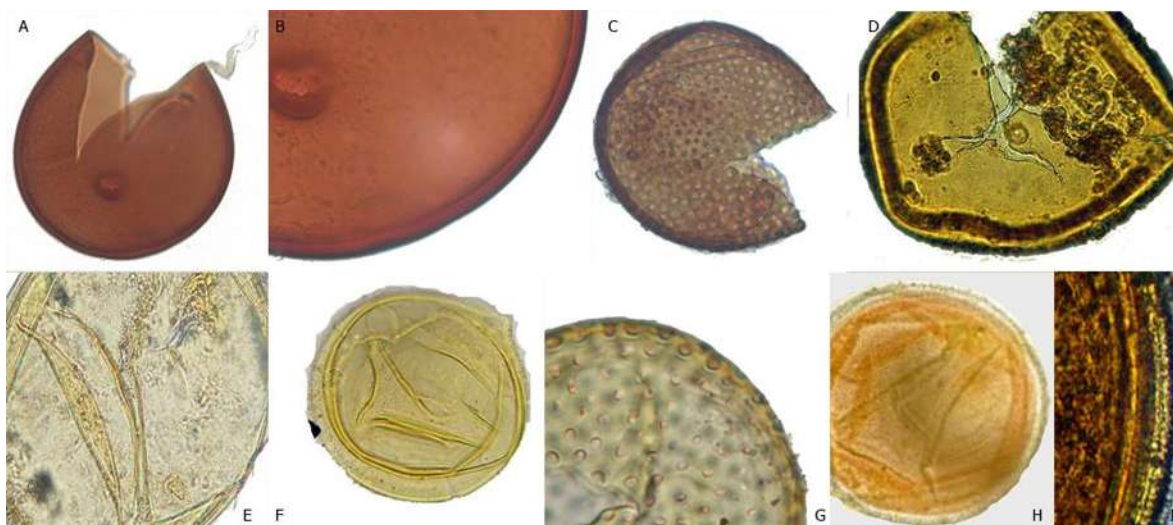


Figura 12. Esporas de HMA pertenecientes al género *Acaulospora* encontradas en los sitios de estudio. A) *Acaulospora* aff. *capsicula* en pvlg a 40x (presente en el sitio de Tlalpujahua), B) Detalle de la pared de la espora y cicatriz de *Acaulospora* aff. *capsicula* en pvlg a 100x, C) *Acaulospora* aff. *denticulata* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Anganguero y Silvestre), D) *Acaulospora* aff. *mellea* en pvlg+melzer a 100x (colectada en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), E) *Acaulospora* sp.2 pvlg 100x (presente en el sitio Silvestre), F) *Acaulospora* aff. *rugosa* en pvlg 40x (presente en Tlalpujahua), G) *Acaulospora* aff. *scrobiculata* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), H) *Acaulospora* aff. *spinosa* en pvlg+melzer a 40 x (presente en los 3 sitios), I) Detalle de la pared de la espora con sus ornamentaciones en *Acaulospora* aff. *spinosa*.

Claroideoglomus

El desarrollo de las esporas ocurre igual que en el género *Glomus* y formadas blásticamente sobre una hifa de sostén, la capa externa de la pared de la espora es el primer componente que se forma en las esporas juveniles, y frecuentemente se degrada conforme la espora envejece (en el suelo o en cultivo en maceta trampa). Usualmente la superficie acumula materia orgánica y no reacciona reactivo melzer (fig. 13A, B y C).

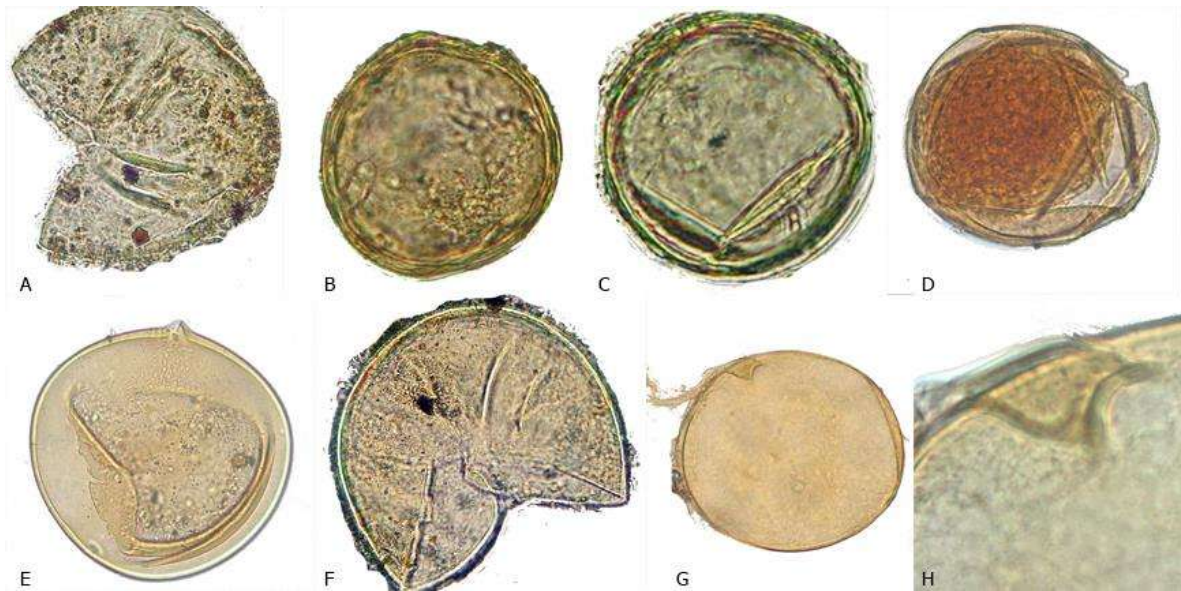


Figura 13. Esporas de HMA pertenecientes al género *Claroideoglomus*, *Diversispora* y *Gigaspora* encontradas en los sitios de estudio. A) *Claroideoglomus* aff. *claroideum* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), B) *Claroideoglomus* aff. *lamellosum* en pvlg+melzer a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), C) *Claroideoglomus* sp.2 en pvlg a 40x (presente en el sitio Silvestre), D) *Diversispora* aff. *epigea* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), E) *Diversispora* aff. *trimurales* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), F) *Diversispora* aff. *spurca* en pvlg a 40x (presente en los 3 sitios), G) *Gigaspora* aff. *margarita* en pvlg+melzer a 20x (presente en los 3 sitios) y H) Detalle de la hifa de *Gigaspora* aff. *margarita* en pvlg+melzer 100x.

Diversispora

Las esporas son glomoides, algunas de las cuales forman un peridium que se ramifica de la hifa y que puede formar pequeños racimos de dos o tres esporas (fig. 13D, E y F).

Funneliformis

Esporas pigmentadas formadas individualmente o en agregados de 2 a 20 esporas rodeadas total o parcialmente por un grueso manto micelial. Las esporas presentan en su base una forma de embudo, la pared de la espora consiste en dos o tres capas. La capa externa es hialina y frecuentemente se degrada con la maduración de la espora. La espora normalmente presenta su hifa obstruida por un septum en la parte distal a la base de la espora (fig. 14).

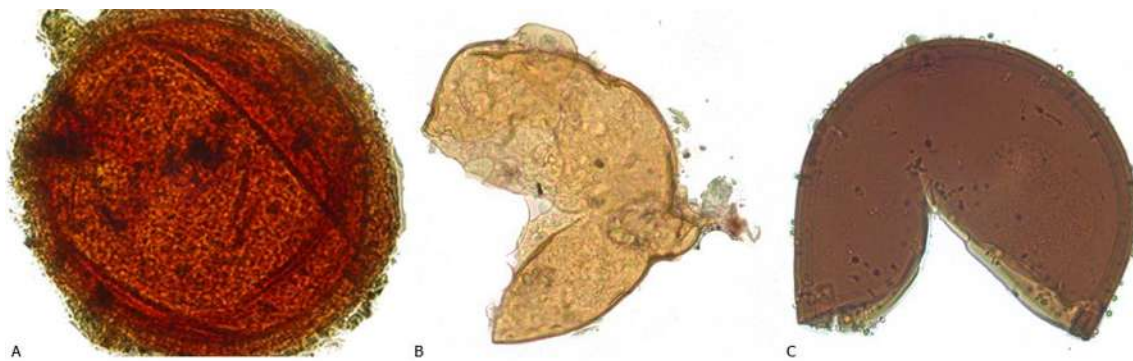


Figura 14. Esporas de HMA pertenecientes al género *Funneliformis* encontradas en los sitios de estudio. A) *Funneliformis* aff. *geosporus* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahu y Silvestre), B) *Funneliformis* aff. *mosseae* en pvlg+melzer a 40x (presente en los sitios de Anganguero y Silvestre), C) *Funneliformis* aff. *verruculosus* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Anganguero y Silvestre).

Gigaspora

Esporas formadas terminalmente sobre una célula esporógena bulbosa; células auxiliares finamente papiladas o equinuladas. No se forman vesículas, Hifas intrarradicales frecuentemente enrolladas, especialmente, cerca de los puntos de entrada; a menudo nodosas o con proyecciones. Arbúsculos con troncos hinchados angostándose abruptamente en las ramificaciones. Esporas con la pared esporal formada por dos capas permanentes, no se diferencian paredes germinales. Al

germinar, se diferencia una capa delgada con verrugas esparcidas y crece un tubo germinativo a través de la pared esporal. (fig. 13G y H).

Glomus

Poseen esporas formadas blásticamente sobre una hifa de sostén, solitarias, en agregados laxos o en esporocarpos. Vesículas de pared delgada y elipsoides. Hifas intrarradicales raramente enrolladas, conectada a una hifa ramificada. La micorriza se tiñe muy oscuro. Arbúsculos con troncos aplanados o cilíndricos adelgazándose sucesivamente en las ramificaciones. Las esporas con la pared esporal formada por un número variable de capas todas originadas a partir de la hifa de sostén. No se observan paredes germinales diferenciadas. Germinación a través del lumen de la hifa de sostén o a través de la pared de la espora (fig. 15).

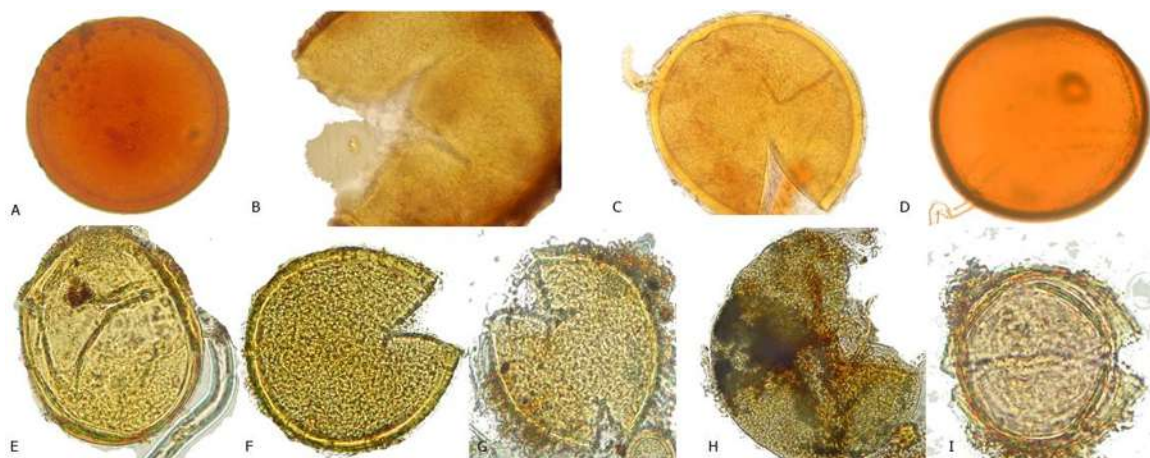


Figura 15. Esporas de HMA pertenecientes al género *Glomus* encontradas en los sitios de estudio. A) *Glomus* aff. *globiferum* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre), B) *Glomus* aff. *tortuosum* en pvlg a 40x (presente en los 3 sitios), C) *Glomus* sp. 1 en pvlg a 40x (presente en los 3 sitios), D) *Glomus* sp. 2 en pvlg a 40x (presente en Anganguero), E) *Glomus* sp. 4 en pvlg a 40x (presente en el sitio Silvestre), F) *Glomus* sp. 5 en pvlg a 40x (presente en Tlalpujahua), G) *Glomus* sp. 6 en pvlg a 40x (presente en Tlalpujahua), H) *Glomus* sp. 7 en pvlg a 40x (presente en Tlalpujahua), I) *Glomus* sp. 8 en pvlg a 40x (presente en Tlalpujahua).

Pacispora

Esporas formadas terminalmente de una hifa de sostén (como en *Glomus*). Pared de la espora generalmente formada por tres capas distintas y la pared germinal compuesta también por tres capas. La segunda capa de la pared germinal

generalmente reacciona con el reactivo de Melzer. Las paredes de la hifa de sostén son continuas con la primera y segunda capa de la pared esporal. Germinación de la espора directamente de la pared germinal a través de la pared de la espора (fig. 16A y B).

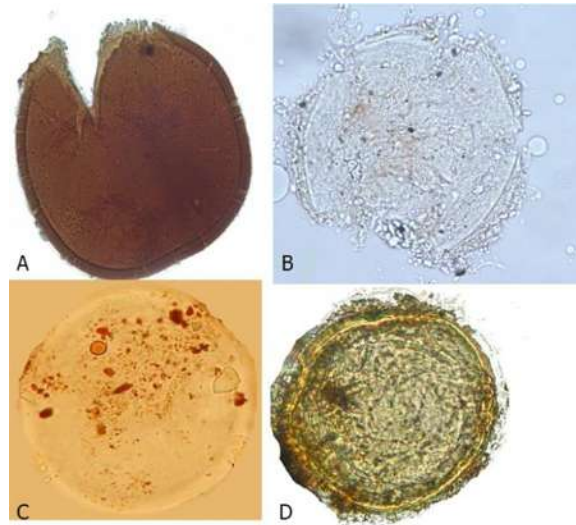


Figura 16. Esporas de HMA pertenecientes al género *Pacispora* y *Paraglomus* encontradas en los sitios de estudio. A) *Pacispora* aff. *franciscana* en pvlg a 40x (presente en el sitio Silvestre), B) *Pacispora* aff. *scintillians* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y Silvestre) C) *Paraglomus* aff. *occultum* en pvlg a 40x (presente en el sitio Silvestre), D) *Paraglomus* sp. en pvlg a 40x (presente en el sitio Silvestre).

Paraglomus

Esporas formadas terminalmente de una hifa de sostén como en *Glomus*. Los arbúsculos y las hifas intrarradicales se tiñen débilmente. Las vesículas y células auxiliares no están diferenciadas. Las estructuras subcelulares de la espора y la germinación como en *Glomus* (fig. 16C y D).

Rhizophagus

Esporas glomoides formadas individualmente o en pequeños a grandes racimos en un medio sólido y en raíces. Forman micorrizas arbúsculo-vesiculares típicas, aunque las vesículas tienden a formarse más temprano (en los puntos de entrada) que en otros clados la espора presenta varias capas y algunas de ellas reaccionan al reactivo Melzer (fig.17).

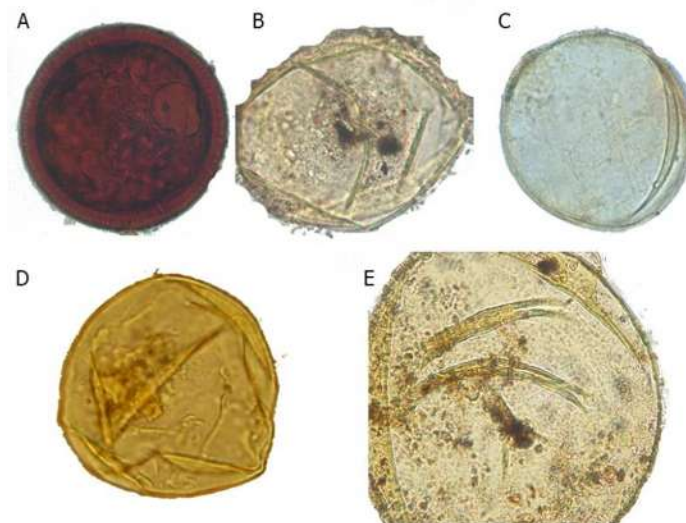


Figura 17. Esporas de HMA pertenecientes al género *Rhizophagus* encontradas en los sitios de estudio. A) *Rhizophagus* aff. *Fasciculatus* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y silvestre), B) *Rhizophagus* aff. *clarus* en pvlg a 40x (presente en los sitios de Tlalpujahua y silvestre), C) *Rhizophagus* aff. *irregularis* en pvlg a 40x (presente en el sitio silvestre), D) *Rhizophagus* sp. en pvlg a 40x (presente en Anganguero) y E) *Rhizopagus* aff. *intraradices* en pvlg a 100x (presente en el sitio silvestre).

8.3. Análisis de componentes principales

Se realizó un análisis de componentes principales en el que se analizó el efecto de las variables edafológicas sobre la diversidad fúngica por género en los sitios de estudio. El pH es el factor principal que influye en la diversidad de hongos (68.6%), la materia orgánica es otro factor relevante (31.4%) (fig. 18). Los géneros *Acaulospora*, *Glomus* y *Diversispora* se encuentran mejor representados en suelos con alto contenido de materia orgánica, mientras que los géneros *Claroideoglomus*, *Pacispora*, *Rhizophagus* y *Funneliformis* se desarrollan mejor a bajo contenido de materia orgánica.

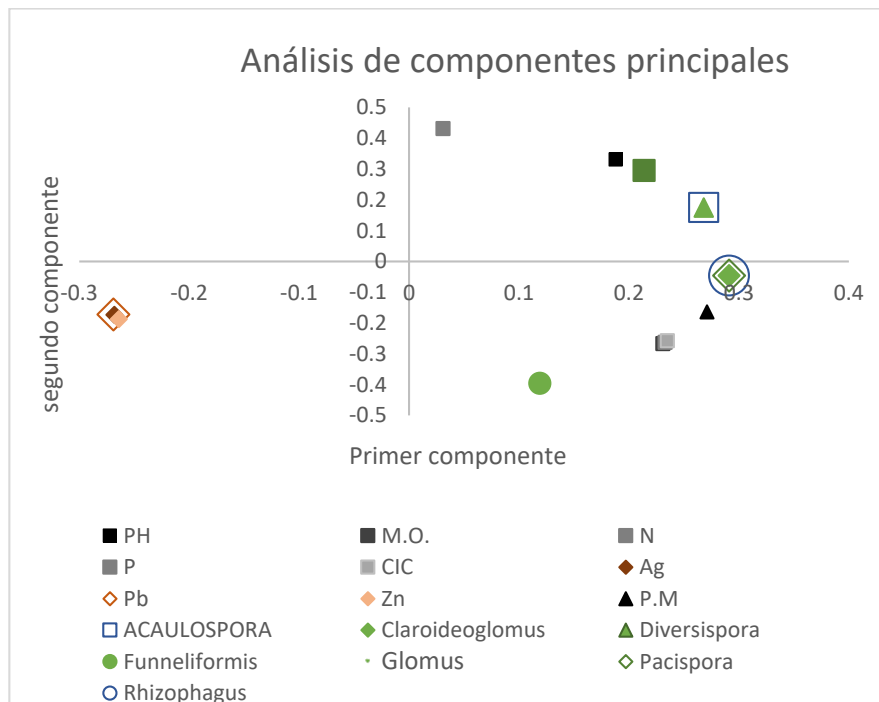


Figura 18. Análisis de componentes principales (ACP) entre las variables edafológicas de los sitios de estudio y la diversidad de géneros de HMA presentes en los mismos.

En cuanto al efecto de los parámetros fisicoquímicos de cada sitio sobre la riqueza de especies se encontró que el pH es el factor principal que influye en la riqueza de especies (65.1%), la materia orgánica es otro factor relevante (34.9%) como sucedió en el caso de la distribución de géneros (fig. 19). La riqueza de especies encontradas en los sitios se relaciona positivamente para el pH, mientras que un contenido bajo de materia orgánica favorece esta riqueza.

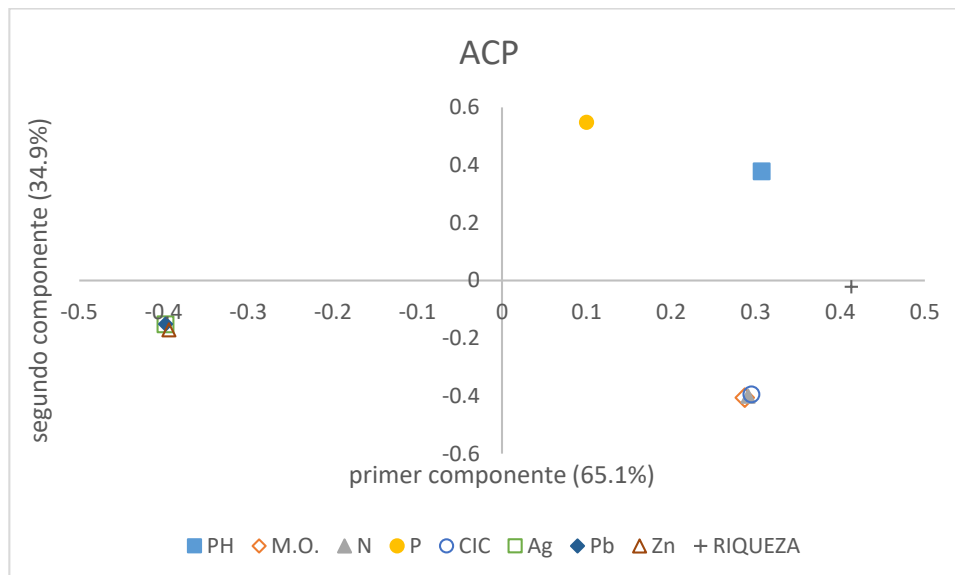


Figura 19. Análisis de componentes principales entre las variables edafológicas de los sitios de estudio frente a su riqueza de especies.

8.4. Análisis de diversidad.

Es de vital importancia conocer el estado de las comunidades de HMA en los sitios de estudio, ya que nos permite conocer la riqueza de especies en una población y la abundancia proporcional de especies. Se encontró que el sitio silvestre presentó mayor riqueza de especies y diversidad α (7.062 y 3.089 respectivamente) frente a los valores de los suelos de jales mineros de Tlalpujahua con 6.18 y 2.73, mientras que el jal de Anganguero tuvo los valores más bajos (4.29 y 2.46 respectivamente) (fig. 20). El índice de uniformidad sin embargo, nos indica que el suelo silvestre aunque posee mayor número de especies, estas no presentan una abundancia equitativa sino que existen especies dominantes ($U = 0.5$), mientras que la comunidad Anganguero posee el menor número de especies pero presenta mayor uniformidad en su abundancia relativa, la baja diversidad es un reflejo probablemente de la baja capacidad de adaptación de algunas especies fúngicas a la contaminación presente en los suelos de esta región. El análisis del grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre los sitios fue alto ($\beta = 0.831$).

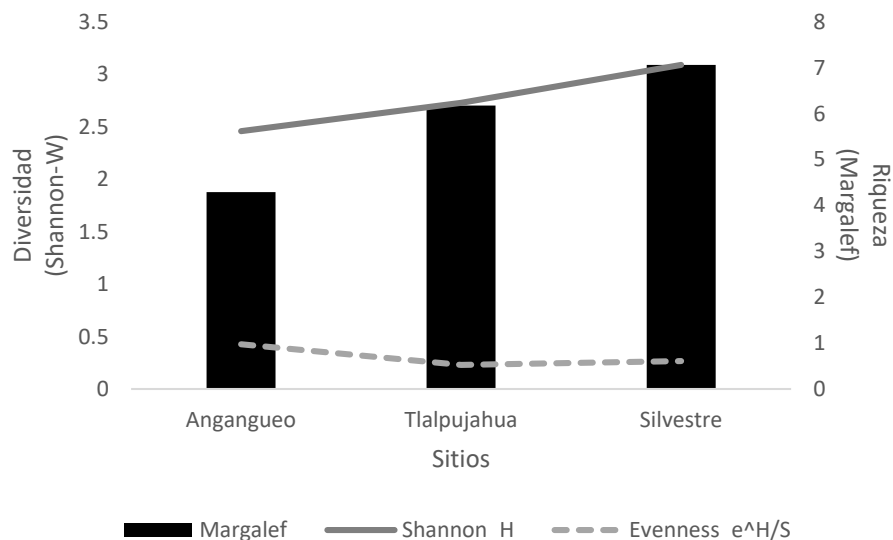


Figura 20. Índices de Diversidad α , uniformidad y riqueza de especies de los HMA presentes en los suelos de jales mineros de Angangueo, Tlalpujahua y un suelo silvestre.

Los análisis de rarefacción mostraron que los muestreos realizados fueron adecuados y representan eficientemente la riqueza de especies (fig. 21).

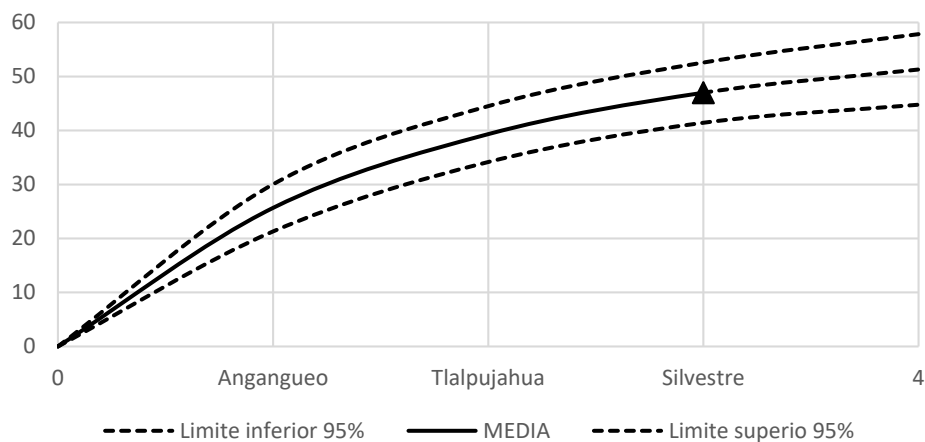


Figura 21. Prueba de rarefacción de los sitios de estudio.

8.5. Potencial micorrícico.

8.5.1. Prueba de germinación.

Previo al experimento de potencial micorrícico se realizó una prueba de germinación con semillas comerciales de *Ipomoea tricolor* y semillas silvestres. Para el experimento se establecieron dos tratamientos con cada uno de los suelos contaminados provenientes del Jal minero de Angangueo y el Jal minero de Tlalpujahuá, además del suelo silvestre, para así poder analizar la resistencia de la especie de la planta a utilizar. El primer tratamiento se montó con suelo estéril al 100% de contaminación y el segundo al 50% de contaminación, más un control con sustrato estéril libre de contaminación (Peat moss, agrolita, vermiculita en proporción 3:1:1).

Se pudo observar que los tratamientos con semillas comerciales presentaron mayor porcentaje de germinación y que aún en la concentración al 100% de contaminación, ambos tipos de semillas germinaron, pero esta germinación disminuyó con respecto a los tratamientos al 50% y control, en las semillas crecidas en el suelo del jal de Angangueo (fig. 22).

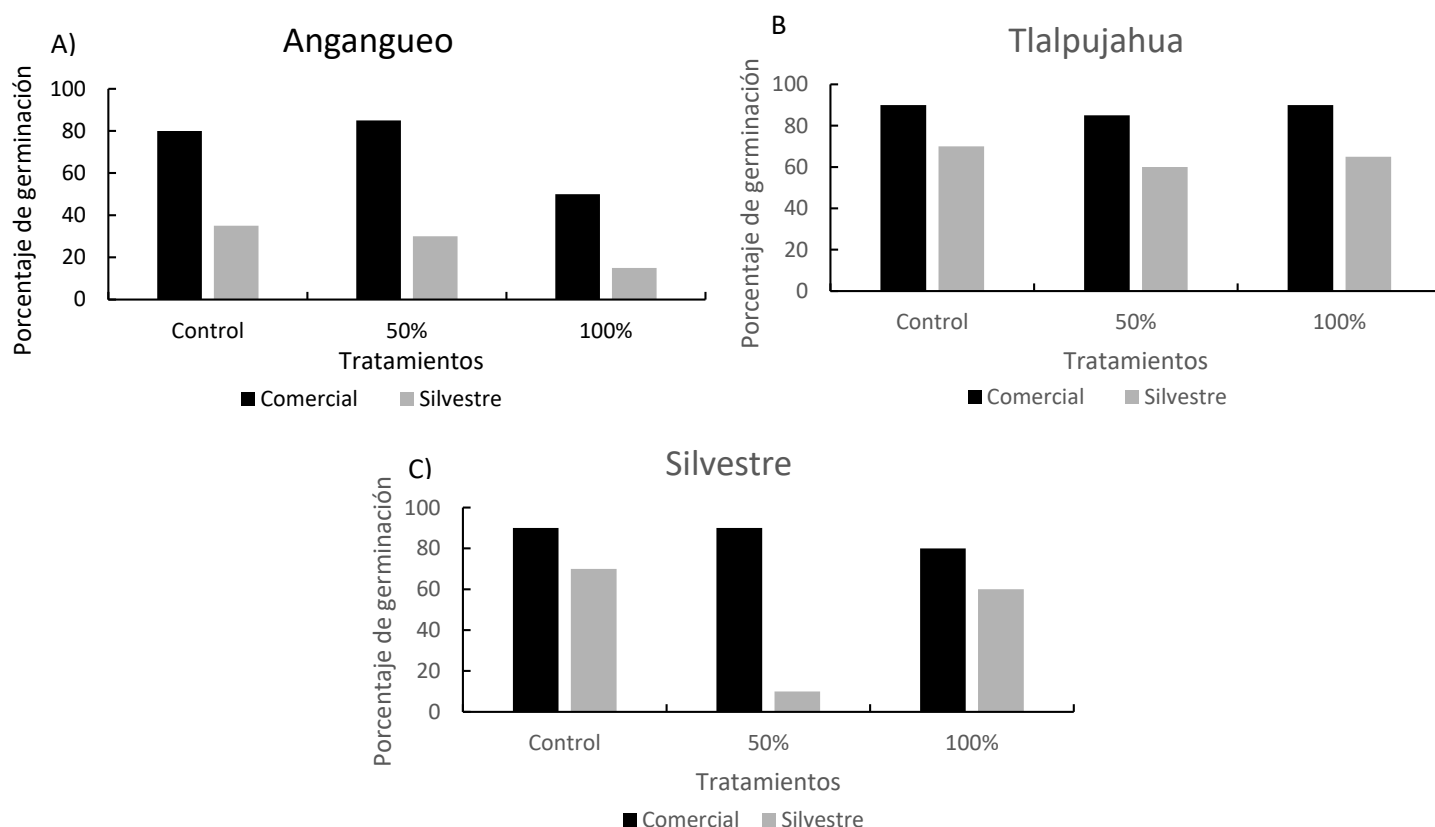


Figura 22. Porcentaje de germinación de semillas de *Ipomoea tricolor* (silvestre y comercial) bajo dos tratamientos de contaminación (50% y 100%) más un control crecidos en los suelos de A) Jal de Angangueo, B) Jal de Tlalpujahua y C) Silvestre.

Al comparar el crecimiento de las plántulas a los 7 y 21 días entre tratamientos, se encontró que las plántulas silvestres a pesar de la menor germinación presentaron la mayor altura, siendo notorio a los 21 días (fig. 23 y 24). También se observa que el tratamiento de mayor contaminación afectó de manera negativa y significativa el desarrollo de las plantas (fig.23).

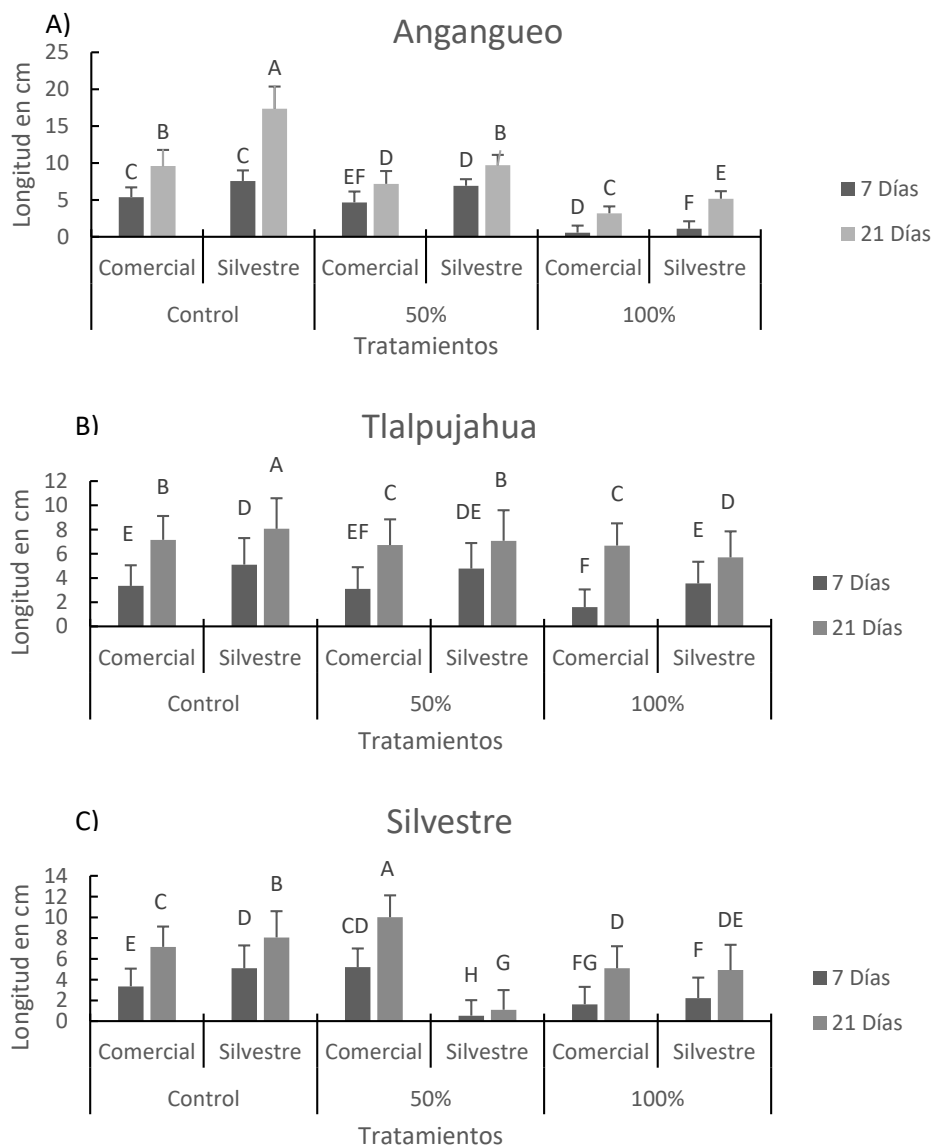


Figura 23. Longitud de plántulas de *Ipomoea tricolor* provenientes de semillas silvestres y comerciales. Medidas a los 7 y 21 días bajo diferentes niveles de contaminación en los suelos de A) Jal de Angangueo, B) Jal de Tlalpujahua y C) Silvestre. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.05$, Tukey).



Figura 24. Plantas de *Ipomoea tricolor* provenientes de semillas comerciales y silvestres desarrolladas en los suelos de jal de Angangueo, jal de Tlalpujahua y silvestre, bajo dos concentraciones de contaminación (50% y 100%) más un control. A) Plantas de Angangueo, B) plantas crecidas en el suelo de Tlalpujahua y C) plantas crecidas en el suelo silvestre.

Con los resultados de este experimento se determinó el uso de las semillas comerciales para los posteriores experimentos ya que estas presentaban mayor capacidad germinativa y un comportamiento similar bajo las diferentes condiciones de sustrato.

8.5.2. Potencial micorrícico.

Para obtener el potencial micorrícico primero fue necesario obtener el porcentaje de número de plantas infectadas por tipo de suelo, para lo cual se realizó una prueba de colonización de las plantas en cada concentración fúngica (fig.25), encontrándose una correlación positiva entre la concentración del inóculos micorrícicos y el porcentaje de plantas infectadas desarrolladas en el suelo del jal minero de Angangueo, observando que en todas las concentraciones fúngicas superiores al 25% más de la mitad de las plantas en los tratamientos presentaron colonización micorrícica ($MSI > 50\%$) (fig. 25A). En el caso de Tlalpujahua todos

los tratamientos con inóculo fúngico presentaran más del 50% de plantas infectadas (fig. 25B). Lo contrario se reportó para las plantas crecidas en el suelo silvestre, debido a que conforme aumentó la concentración de inóculo disminuyó el porcentaje de plantas infectadas (fig. 25C).

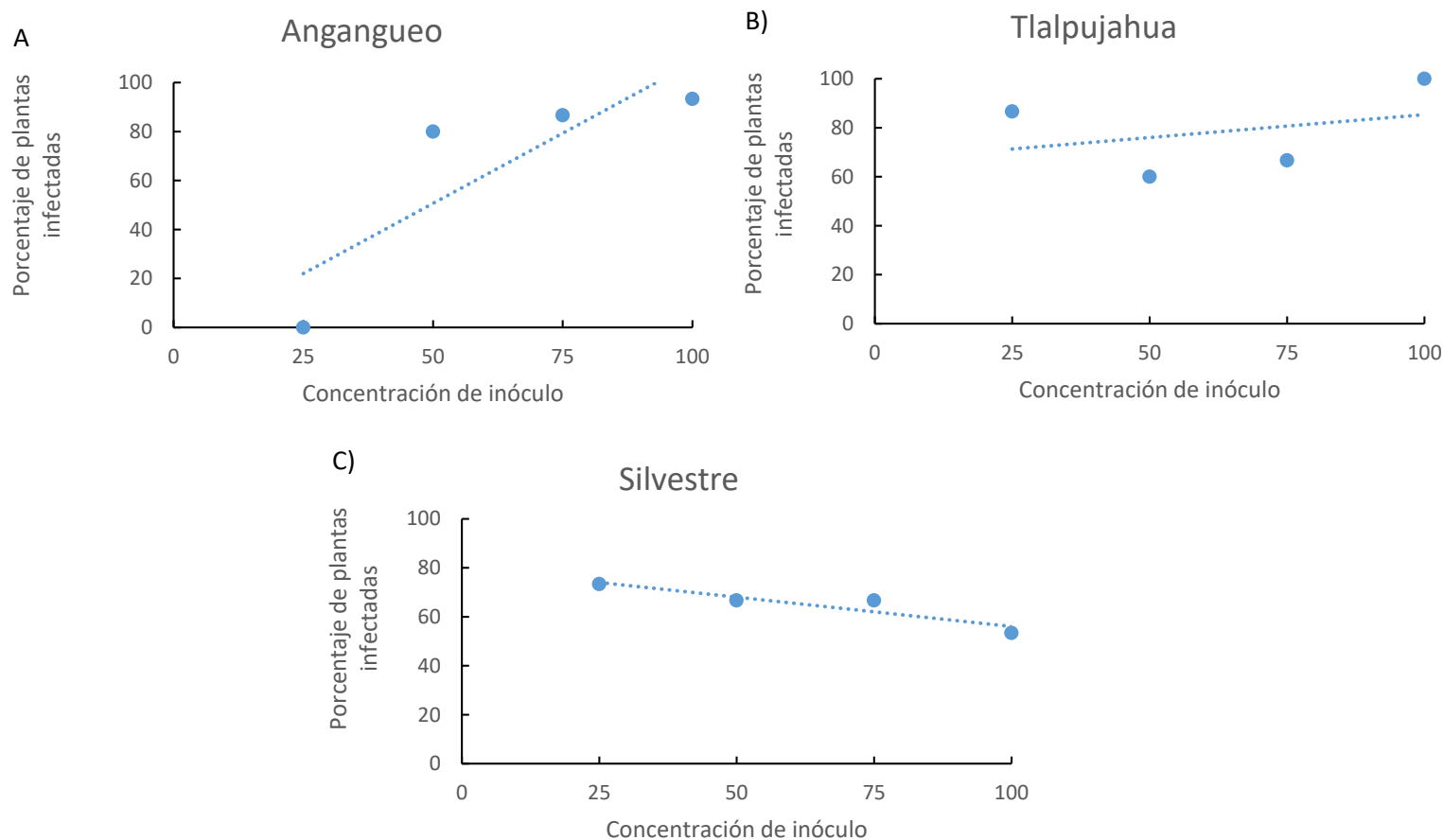


Figura 25. Porcentaje de plantas infectadas por HMA de los sitios de estudio A) Jal de Angangueo, B) Jal de Tlalpujahua y C) Silvestre, bajo cinco concentraciones fúngicas.

Después se realizó la prueba de números más probables en el cual se contabilizó el número de réplicas colonizadas por tratamiento y por concentración y con este dato se obtuvo el número más probable (NMP) de propágulos en cada tratamiento de acuerdo con la tabla de Alexander (1982) (tabla 3).

Tabla 3. Valores de NMP.

Angangueo	p	p	p	NMP		NMP (corregido)
100	4	5	5	81	810	8.1
75	5	4	4	350	3500	35
50	3	4	5	40	400	4
25				0	0	0
0				0		0
Tlalpujahua						
100	5	5	5	1600	16000	160
75	4	2	4	44	440	4.4
50	2	3	3	20	200	2
25	4	4	5	69	690	6.9
0				0	0	0
Silvestre						
100	2	1	5	19	190	1.9
75	1	4	5	22	220	2.2
50	4	5	1	48	480	4.8
25	4	4	3	54	540	5.4
0				0	0	0

Del análisis de colonización micorrícica de las raíces de *Ipomoea tricolor* se observó mayor desarrollo de las plantas en los tratamientos inoculados con HMA en los suelos contaminados. Para las plantas de *I. tricolor* crecidas en el suelo de Angangueo se observó una mortandad del 100 % de las plantas en los tratamientos con bajo contenido de inóculo fúngico (concentración al 25%) y el mayor porcentaje de colonización en el sistema radicular (con 51%) lo tuvo el tratamiento al 75% de concentración de inóculo (fig. 26). Para las plantas de Tlalpujahua se encontró que aún a la concentración más baja de inóculo (25%) se presentó colonización y una mayor longitud de las plantas con respecto al control. En el caso de las plantas crecidas en el suelo silvestre se encontró el mayor porcentaje de colonización en la concentración más baja de inóculo (25%) mientras que conforme aumentaba la

concentración fúngica disminuía la colonización en las raíces de las plantas de *Ipomoea tricolor*.

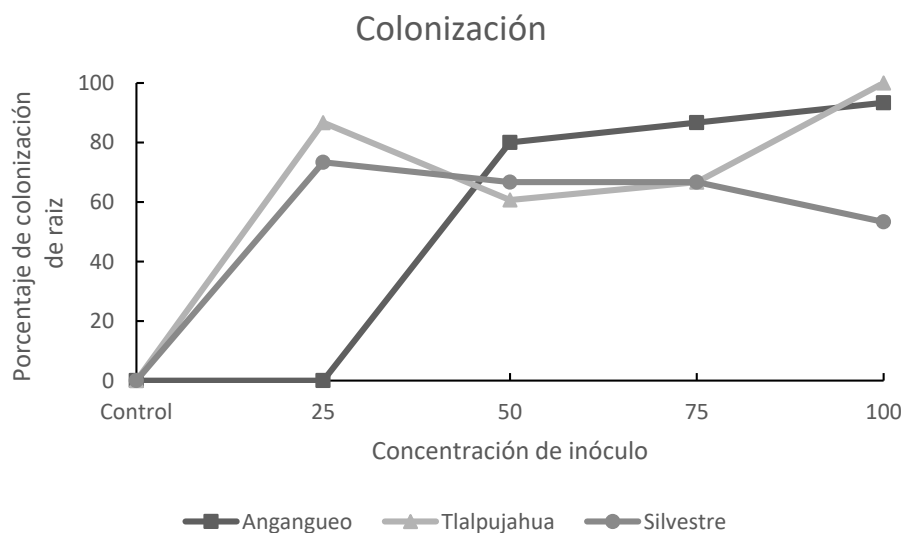


Figura 26. Porcentaje de colonización de los HMA en las raíces de plantas desarrolladas en el suelo del Jal de Angangueo, Jal de Tlalpujahua y Silvestre, bajo cuatro concentraciones fúngicas y un control. Realizada a los cuatro meses.

En cuanto al porcentaje de estructuras fúngicas se observó que en las raíces de *Ipomoea tricolor* en el suelo de Angangueo el tratamiento al 100% presentó el mayor porcentaje de arbuscúlos, siendo esto de importancia debido a que es la estructura encargada del intercambio de nutrientes con el hospedero (Tabla 4), mientras que en el tratamiento a menor concentración de inóculo no se encontraron arbuscúlos. En los suelos de Tlalpujahua Y que la cantidad de arbuscúlos y vesículas es inferior a lo encontrado en el suelo con inóculo del jal de Angangueo.

Tabla 4. Porcentaje de estructuras micorrícicas observadas en las raíces de las plantas de *Ipomoea tricolor* desarrolladas en el suelo del Jal de Angangueo. En cinco concentraciones de inóculo (100, 75, 50, 25 y 0).

Tratamiento	Arbúsculos	Vesículas	Hifas	Esporas	Enrollamientos
Angangueo					
100	30.36%	10.15%	53.09%	2.56%	3.85%
75	17.20%	9.45%	62.40%	5.35%	5.59%
50	26.34%	8.56%	57.37%	4.40%	3.33%
25	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
0	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Tlalpujahua					
100	21.90%	0.40%	76.42%	0.49%	0.78%
75	17.42%	3.17%	77.75%	0.56%	1.11%
50	16.37%	4.07%	72.53%	3.25%	3.78%
25	21.52%	6.30%	60.11%	6.04%	6.04%
0	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Silvestre					
100	19.71%	7.97%	63.03%	4.44%	4.85%
75	10.49%	1.35%	82.39%	0.00%	5.77%
50	15.70%	4.63%	72.26%	3.70%	3.70%
25	10.52%	1.67%	87.36%	0.00%	0.46%
0	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

Con el número más probable y los datos obtenidos del porcentaje de colonización, se pudo obtener el Potencial micorrícico (Tabla 5).

Los consorcios de los tres sitios analizados presentaron alto potencial micorrícico, encontrándose que el inóculo proveniente del sitio silvestre es el que posee la mayor infectividad debido a que posee un valor de 12.75 MSI₅₀/100g (Tabla 5), aunque por encontrarse en un suelo con condiciones normales y baja contaminación, la planta no requiere tanto del socio fúngico, por lo cual solo se encontró un efecto positivo en el crecimiento de las plantas de *Ipomoea tricolor* en los suelos contaminados por metales pesados.

Tabla 5. Potencial micorrícico

Sitios	a (intercepto de Y)	b (pendiente)	r (coef. de corr.)	r ² (coef. determ.)	MSI ₅₀ /100g (obtenido a partir de NMP)	Potencial micorrícico
Anganguao	1.147	-6.665	0.847	0.718	21	0.79
Tlalpujahuá	0.187	66.667	0.328	0.108	15	0.81
Silvestre	-0.24	80	- 0.923	0.852	12.75	0.87
Valores bajos muestran mayor potencial de infectividad.						

Se observa que la presencia de inóculos de HMA favorece el desarrollo de las plantas en los suelos contaminados aún a bajas concentraciones, en comparación con los tratamientos sin hongos. Las plantas desarrolladas en el suelo del Jal de Anganguao (que es el más alterado), fueron las más afectadas, observando una disminución en su desarrollo. Mismo que se reflejó en una menor longitud a los 30, 60 y 120 días, sobre todo a bajas concentraciones de inóculo fúngico; pero que permitió la sobrevivencia de las plantas, ya que las plantas sin presencia de HMA en este sitio, no sobrevivieron. (fig. 27 A).

Por su parte las plantas desarrolladas en suelo del Jal de Tlalpujahuá, a los 15 días no presentaron diferencias en cuanto a la longitud de las plantas con respecto al control. Sin embargo, a los 30 días las diferencias de todos los tratamientos con inóculos fueron significativas con respecto al control, A los 60 y 120 días se observa que las plantas con mayor longitud se encuentran en los tratamientos al 75 y 100 % de inóculo fúngico (fig. 27 B). La diferencia entre los tratamientos a los 120 días coincidió con los mayores porcentajes de colonización encontrados en los tratamientos con mayor contenido de inóculo (fig. 26).

Mientras que el desarrollo de las plantas en el suelo silvestre no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos aún a los 30 días. Si se considera que *Ipomoea tricolor* es una planta ubicuista, de fácil adaptación y reportada como acumuladora de metales, es muy probable que la presencia de los HMA en sus

raíces no resulte benéfica al considerar el costo/beneficio de la interacción, por lo que el establecimiento de la asociación requirió de un periodo de tiempo más largo, como lo corrobora el análisis de colonización (fig. 26), ya que a diferencia de lo observado con los inóculos de Anganguero y Tlalpujahua, en este tratamiento el porcentaje de estructuras fúngicas típicas de los HMA observadas, fue muy bajo (Tabla 4). Sin embargo, a los 60 días se aprecia un aumento considerable en la longitud de las plantas bajo tratamiento fúngico con respecto al control ($P = 0.05$) (fig. 27C).

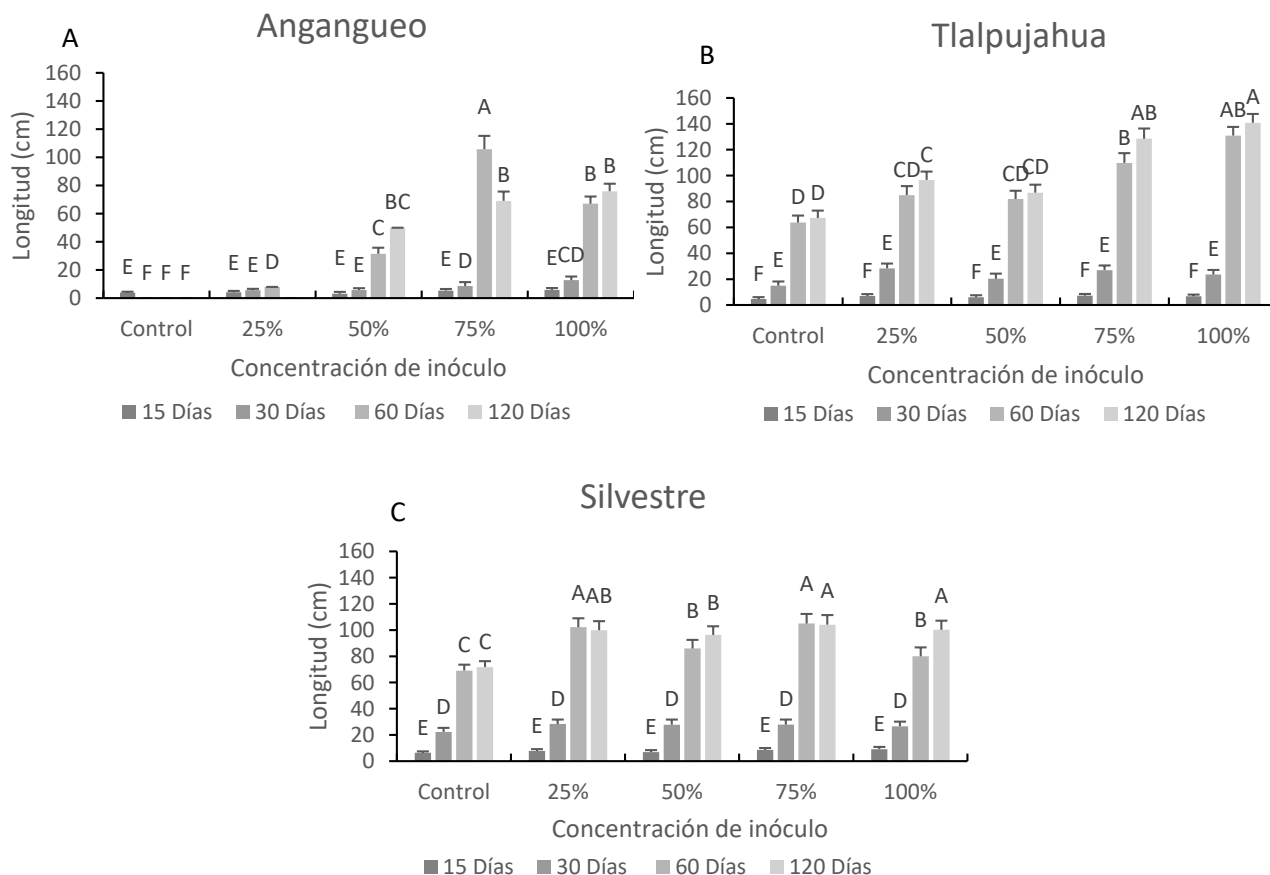


Figura 27. Longitud de las plantas de *Ipomoea tricolor* a los 15, 30, 60 y 120 días en los suelos de A) Jal de Anganguero, B) Jal de Tlalpujahua y C) Silvestre. Bajo cuatro concentraciones de inóculo nativo y un control. Letras diferentes indican una diferencia significativa entre los tratamientos ($p= 0.05$, Tukey).

En el caso del área foliar para las plantas desarrolladas en el suelo Jal de Anganguero las hojas presentan menor superficie foliar en el tratamiento de menor concentración fúngica y el control. En estos tratamiento además, el área foliar es mayor en la parte basal de la planta, mientras que en los tratamientos con mayor

concentración de inóculo el área foliar es mayor en la parte media de la planta, debido probablemente a su mayor longitud. (fig. 28 A) En cuanto al área foliar de las plantas de Tlalpujahua encontramos que los tratamientos con inóculo en mayor proporción presentaron hojas con mayor superficie que el control y los demás tratamientos ($P = 0.05$) (fig. 28 B), lo que dejaría en claro la interacción positiva del consorcio micorrícico arbuscular presente en estos suelos, observando sin embargo que aunque el potencial micorrícico es alto, la acción positiva de la interacción para la planta se pone de manifiesto sólo a alto contenido de inóculo. Con respecto al análisis de área foliar de las plantas de suelo Silvestre se observó que los tratamientos inoculados presentan hojas con mayor superficie que las del control ($P = 0.05$) (fig. 28 C), a pesar de que la simbiosis entre las plantas y HMA probablemente es más reciente en este suelo con respecto a los suelos contaminados. También se observa que el área foliar en los diferentes estratos de la planta es semejante a los tratamientos de los sitios de Angangueo y Tlalpujahua en donde las hojas de la parte media de la planta son más grandes (fig. 29).

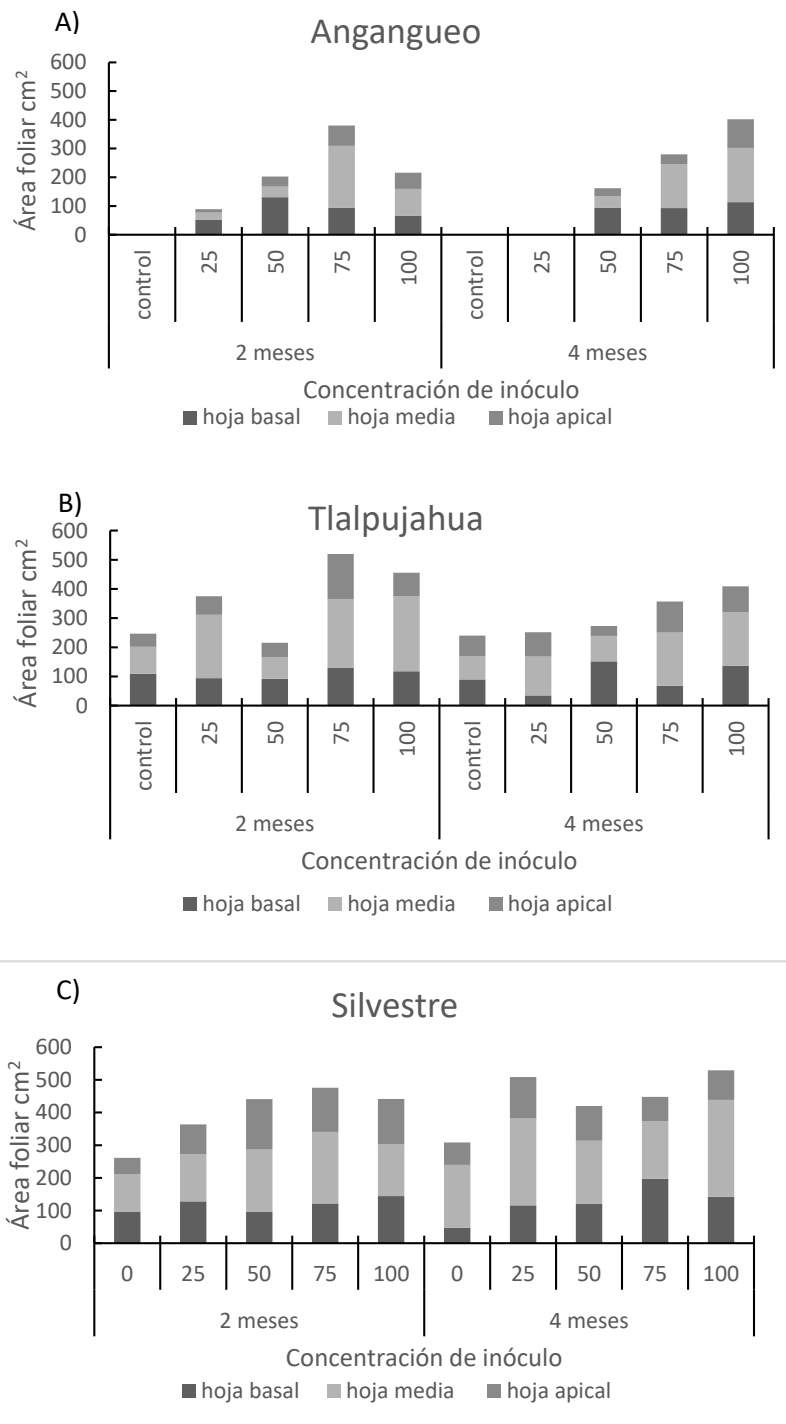


Figura 28. Medición de área foliar en tres estratos de la planta (basal, media y apical), a los dos y cuatro meses de desarrolló en los suelos de A) Jal de Angangueo, B) Jal de Tlalpujahua y C) Silvestre bajo cuatro concentraciones de inóculo nativo y un control.

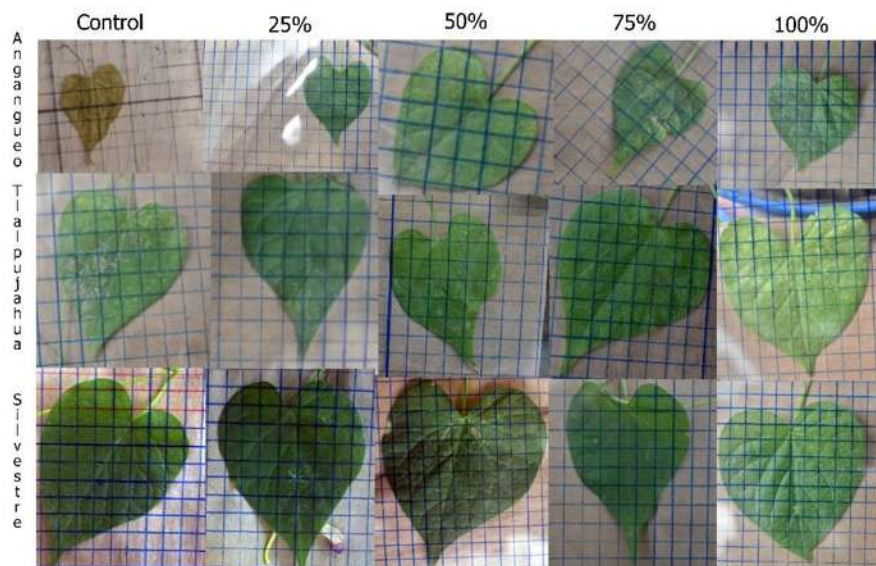


Figura 29. Foto de las hojas de las plantas de *Ipomoea tricolor* crecidas en los suelos del jal de Angangueo, jal de Tlalpujahua y suelo silvestre bajo cuatro concentraciones de inóculo y un control. A) Área foliar en los diferentes tratamientos de Angangueo, B) Área foliar en los diferentes tratamientos de Tlalpujahua y C) Área foliar en los diferentes tratamientos de suelo silvestre.

8.6. Efecto de los consorcios de HMA sobre el rendimiento vegetal *Ipomoea tricolor*.

8.6.1. Pruebas preliminares de germinación y supervivencia.

Se realizó una prueba de germinación preliminar al experimento del efecto micorrícico sobre el rendimiento vegetal de *Ipomoea*, encontrándose que para las plantas crecidas en el suelo silvestre no hubo diferencias significativas ($X^2= 8.37$ $P= 0.07$) ya que todos los tratamientos tuvieron una germinación cercana al 100% en todos sus tratamientos, mientras que en las plantas de Angangueo la mayor germinación se obtuvo en los tratamientos al 75% y 100% de concentración de inóculo ($X^2= 53.86$ $P= 0.0001$). Lo cual se puede deber a una mejor asociación con la microbiota nativa del suelo. En el caso de Tlalpujahua todos los tratamientos con inóculo fueron significativamente más eficientes para la germinación que el control sin hongos ($X^2= 37.22$ $P= 0.0001$) (fig. 30).

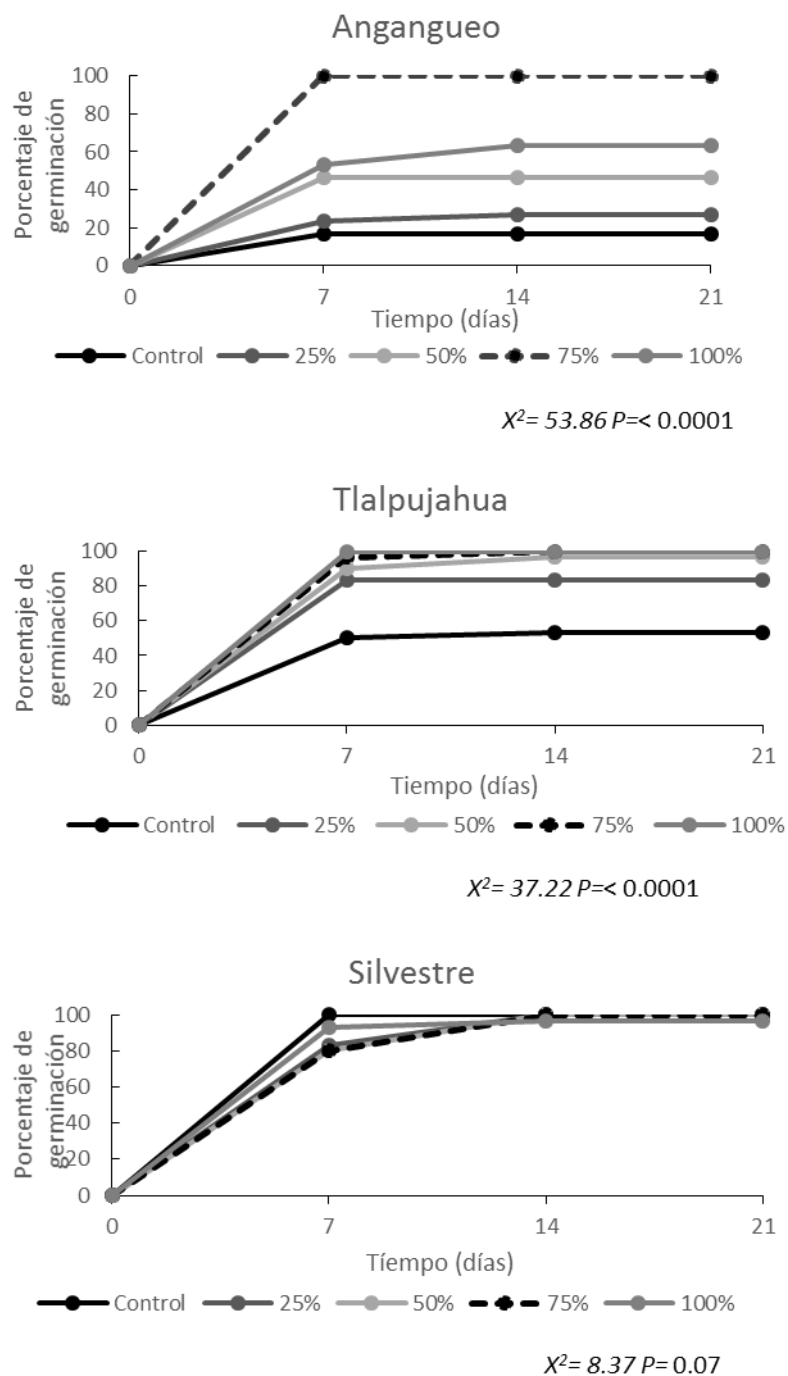


Figura 30. Prueba de germinación de las plantas desarrolladas en los suelos del jal de Angangueo, Tlalpujahua y un suelo silvestre, bajo cuatro concentraciones fúngicas (25, 50, 75 y 100%) y un control.

Al realizarse la prueba de supervivencia previas al experimento (fig. 31), se encontró que para las plantas crecidas en el suelo silvestre todos los tratamientos tuvieron una supervivencia cercana al 100% ($\chi^2 = 4.11$ $P = 0.391$), mientras que las

plantas de Anganguero tuvieron una supervivencia cercana al 20 y 30% en las diluciones más bajas. Lo cual se debe al alto contenido de contaminantes, presentando así un medio hostil que no permite la supervivencia de las plantas. De manera que se observa el efecto positivo de los inóculos con mayor concentración de esporas sobre la supervivencia en los suelos contaminados de Anganguero ($\chi^2=39.16$ $P=0.0001$).

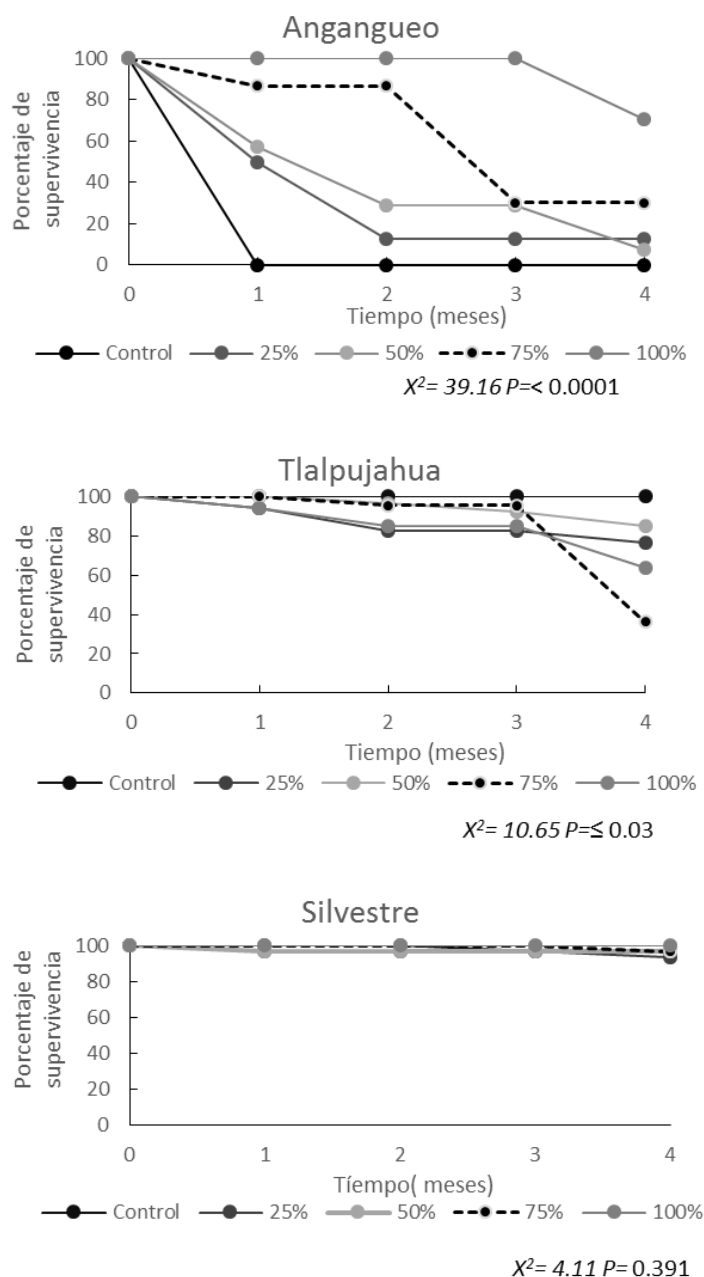


Figura 31. Prueba de supervivencia de las plantas desarrolladas en los suelos del jal de Anganguero, Tlalpujahua y un suelo silvestre, bajo cuatro concentraciones fúngicas (25, 50, 75 y 100%) y un control.

8.6.2. Efectos de los consorcios de HMA sobre *Ipomoea tricolor* en suelos de jales mineros.

En el experimento para determinar el efecto de los consorcios de HMA sobre *Ipomoea tricolor* se observa que el origen de inóculos de HMA influye en el desarrollo de las plantas en los suelos, en comparación con los tratamientos sin hongos.

En general, las plantas germinadas y crecidas en suelo silvestre se encontraron mejor desarrolladas y más sanas que las de suelos contaminados, independientemente del inóculo utilizado. En cuanto a las pruebas cruzadas con los inóculos, las plantas desarrolladas en el suelo del Jal de Angangueo (que es el más alterado) tuvieron el mayor desarrollo con el inóculo proveniente de Tlalpujahua (81.81 cm) mientras que el tratamiento con el inóculo nativo (Aa) no logró subsistir, probablemente debido al menor potencial micorrízico (MSI = 21) obtenido en la fase 1 ya que se requería de mayor cantidad de esporas para una infectividad más eficiente. Por su parte las plantas con un mayor desarrollo en el suelo de Tlalpujahua fue el tratamiento con inóculo silvestre (73.5). En el caso de los tratamientos con suelo silvestre, las plantas desarrolladas con el inóculo de Tlalpujahua tuvieron la mayor longitud (88.08). El hecho de que las plantas tuvieran menor longitud bajo los tratamientos con inóculo nativo puede deberse a que estos ya se encuentran adaptados a las condiciones de cada uno de sus sustratos, lo que puede limitar su velocidad de respuesta (fig. 32).

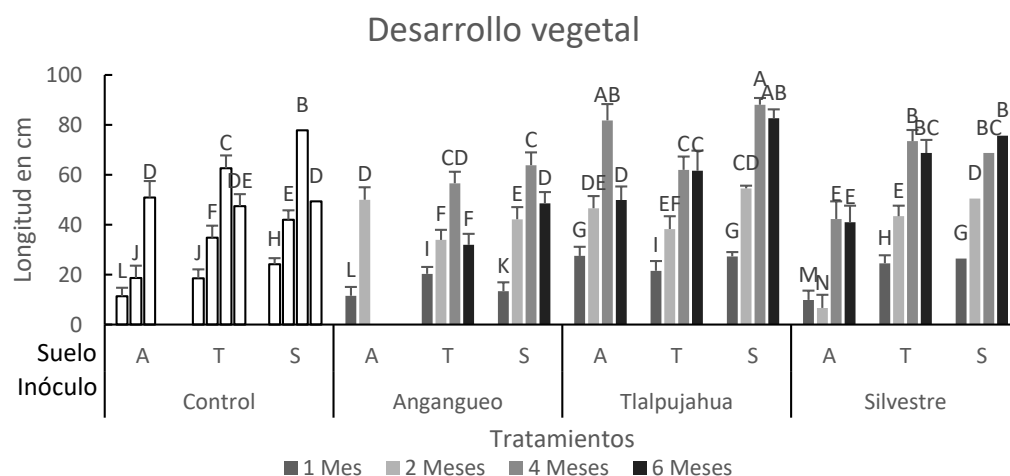


Figura 32. Longitud de las plantas de *Ipomoea tricolor* a 1, 2, 4 y 6 meses en los suelos de Angangueo (A), Tlalpujahua (T) y Silvestre (S), con tres tipos de inóculo Angangueo, Tlalpujahua y Silvestre y un Control. Letras diferentes indican una diferencia significativa entre los tratamientos ($p= 0.05$, Tukey).

En el caso del área foliar todas las plantas desarrolladas con el inóculo del Jal de Tlalpujahua presentan mayor superficie foliar frente a los demás inóculos. En éstos tratamiento además, el área foliar es mayor en la parte apical y media de la planta (fig. 33) y (fig. 34).

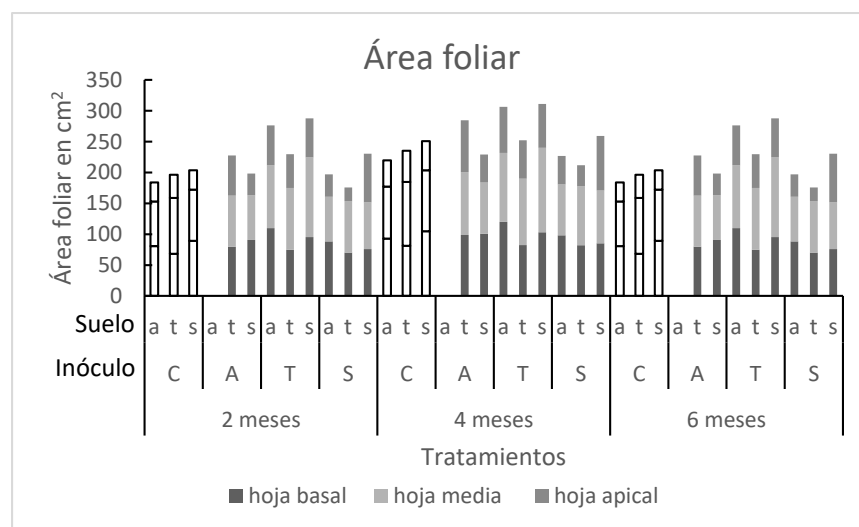


Figura 33. Medición de área foliar en tres estratos de la planta (basal, media y apical), a los dos y cuatro meses de desarrolló en las plantas crecidas en los suelos de Angangueo (A), Tlalpujahua (T) y Silvestre (S), con tres tipos de inóculo (Angangueo (a), Tlalpujahua (t) y Silvestre (s)) y un control.

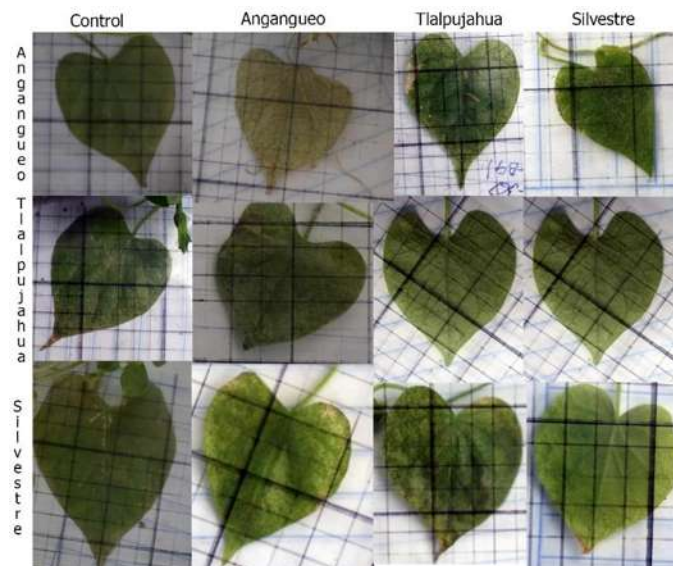


Figura 34. Foto de las hojas medias de las plantas de *Ipomoea tricolor* crecidas en los suelos del jal de Angangueo, jal de Tlalpujahua y suelo silvestre, con tres inóculos fúngicos (Angangueo, Tlalpujahua y silvestre) y un control. A) Área foliar en los diferentes tratamientos de Angangueo, B) Área foliar en los diferentes tratamientos de Tlalpujahua y C) Área foliar en los diferentes tratamientos de suelo silvestre.

Para corroborar si las diferencias encontradas entre tratamientos se debían a la presencia de HMA en las raíces de las plantas, se realizó un muestreo para analizar colonización fúngica. El mayor porcentaje de colonización en el sistema radicular (con 56%) lo tuvo el tratamiento silvestre con inóculo de Tlalpujahua (fig. 35), además el tratamiento con mayor porcentaje de arbúsculos (35.29%) fue el de Angangueo con inóculo silvestre, siendo esto de importancia debido a que es la estructura encargada del intercambio de nutrientes con el hospedero (Tabla 8) y (fig. 36).

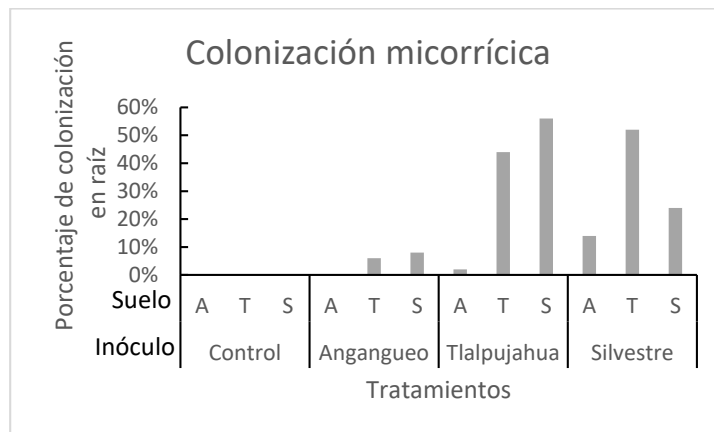


Figura 35. Porcentaje de colonización de los HMA en las raíces de plantas de *Ipomoea tricolor* desarrolladas en los suelos de jales mineros (Angangueo y Talpupajhua) y un suelo silvestre, bajo tres condiciones de inóculo y un control.

Tabla 8. Porcentaje de estructuras micorrícicas observadas en la raíces de las plantas de *Ipomoea tricolor* desarrolladas en los suelos del Jal de Angangueo, Talpupajhua y un suelo silvestre (A, T, S). En tres condiciones de inóculo (a, t, s) y un control.

Tratamientos	Arbúsculos	Vesículas	Hifa	Esporas	Enrollamientos
Aa	0%	0%	0%	0%	0%
At	20%	20%	20%	20%	20%
As	35.29%	0%	64.71%	0%	0%
Ac	0%	0%	0%	0%	0%
Ta	0%	0%	100%	0%	0%
Tt	7.94%	14.29%	74.60%	3.17%	0%
Ts	17.14%	5.71%	75.71%	1.43%	0%
Tc	0%	0%	0%	0%	0%
Sa	20%	0%	80%	0%	0%
St	18.18%	3.90%	77.92%	0%	0%
Ss	21.88%	0%	75.00%	0%	3.13%
Sc	0%	0%	0%	0%	0%

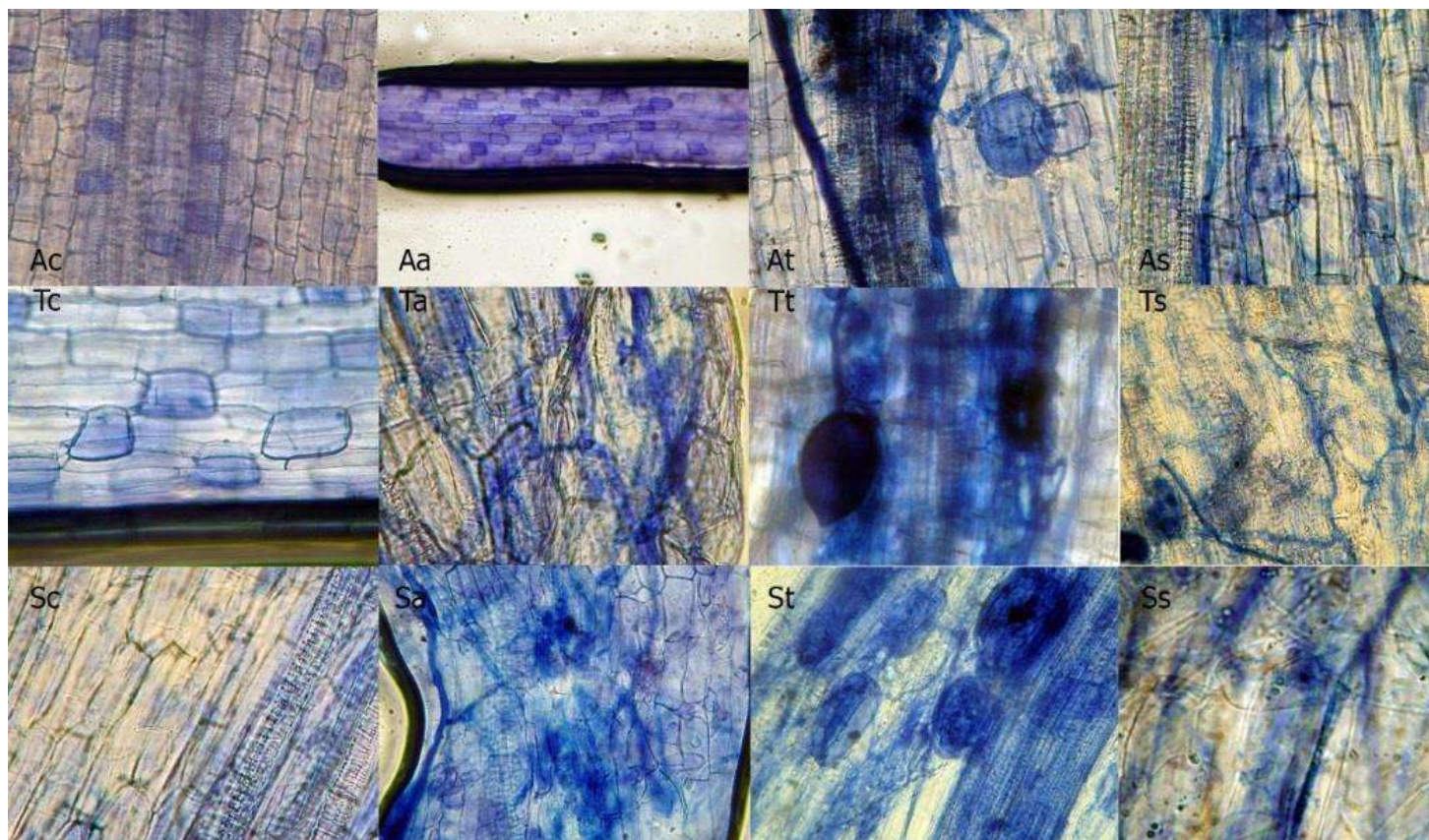


Figura 36. Fotos de las estructuras fúngicas encontradas en las raíces de *Ipomoea tricolor* desarrolladas en los suelos de jal de Angangueo, jal de Tlalpujahua y suelo silvestre, bajo diferentes tipos de inóculo (Angangueo, Tlalpujahua y silvestre) y un control. Ac = suelo Angangueo control, Aa = suelo Angangueo con inóculo Angangueo, At = suelo Angangueo con inóculo Tlalpujahua, As = suelo Angangueo con inóculo silvestre, Tc = suelo Tlalpujahua control, Ta = suelo Tlalpujahua con inóculo Angangueo, Tt = suelo Tlalpujahua con inóculo Tlalpujahua, Ts = suelo Tlalpujahua con inóculo silvestre, Sc = suelo Silvestre control, Sa = suelo Silvestre con inóculo Angangueo, St = suelo Silvestre con inóculo Tlalpujahua y Ss = suelo Silvestre con inóculo silvestre.

9. DISCUSION.

El análisis de las condiciones físico-químicas de los suelos presentes en los sitios de estudio es de vital importancia ya que influyen sobre las funciones e interacciones que pueden tener los organismos como bacterias, hongos micorrícicos arbusculares, plantas y seres humanos. En nuestro trabajo observamos que el sitio más contaminado (Angangueo) presenta el pH más ácido, lo que ocasionó una mayor toxicidad hacia las plantas de *Ipomoea tricolor* y la mortandad de la totalidad de éstas en el tratamiento control del experimento de potencial micorrícico. De acuerdo con los trabajos realizados en otros jales mineros se ha encontrado que los pH ácidos presentan mayor riesgo que aquellos cercanos a la neutralidad, esto debido a que los valores menores de 4 permiten las reacciones de hidrólisis de cationes provocando así un aumento en la solubilidad y movilidad de los metales pesados (e.g. Pb, As, Zn, etc.) (Martínez-Taylor y Noriega-Luna, 2015; Ponce et al., 2015; Luna, et al., 2016; Contreras López et al., 2019; Salas Urviola et al., 2020), también conocido como drenaje ácido de mina. Esto también influye sobre la diversidad de HMA, ya que cambios bruscos en estos valores como la alcalinidad o acidez alteran esta composición (Coral, 2015; Teixeira et al., 2017; Posada et al., 2018; Ramírez-Viga et al., 2020); en este trabajo se observó un mayor número de especies de HMA en el sitio silvestre (37 spp y pH de 5.8) con respecto al jal minero de Tlalpujahua (29 spp y pH de 8) y de Angangueo (11 spp y pH 3).

Aunado a lo anterior, los suelos de los jales mineros presentaron deficiencia en elementos esenciales como el potasio, calcio y magnesio, esto es importante de considerar, porque como lo reporta la literatura son macronutrientes esenciales requeridos para el crecimiento de las plantas y de otros organismos presentes en la rizósfera (Paul, 2007). También se reportó un bajo contenido de materia orgánica, y se conoce que esta influye junto con los elementos anteriores sobre la capacidad de intercambio catiónico (C.I.C). Se considera que alrededor del 98% de los nutrientes esenciales para los organismos están inmovilizados en los minerales y materia orgánica del suelo (Valagro, 2004) y una medida del nivel de su fertilidad de

gran importancia es la C.I.C., ya que nos indica la capacidad de un suelo de almacenar en sus coloides nutrientes de carga positiva o cationes. En los jales mineros se encontró muy baja C.I.C. (3.6 y 3.5) con respecto al suelo silvestre, por lo que muchos de estos nutrientes al quedar expuestos son lixiviados por la lluvia (Toledo, 2016). Este es un factor importante porque repercute sobre el crecimiento vegetal, lo que se observó en algunos de los estratos muestreados en los jales, donde la vegetación era nula o escasa; al igual que la diversidad fúngica que para el jal de Angangueo presentó los índices más bajos (índice de Shannon= 2.75). Se ha visto además que el contenido de materia orgánica influye positivamente en el desarrollo de los HMA presentes en el suelo ya que ésta es el medio por el cual se vuelve accesible el fósforo mineral y fomenta mayor esporulación por parte de los HMA (Joner y Jakobsen, 1995; Gryndler et al., 2001; Treseder y Cross, 2006; Gryndler et al., 2009).

También se ha observado como los factores abióticos (la granulometría del suelo, el contenido de fósforo y la precipitación), juegan un papel importante en la composición de la comunidad de HMA presentes en el suelo de los sitios, así como en la rizósfera (Stevens et al., 2020). Siendo importante ya que la densidad de esporas se ve afectada positivamente por el mayor porcentaje de arcillas en el suelo. El sitio silvestre que presentó mayor contenido de arcillas (42%) también fue el que contenía mayor número de esporas (370/100g de suelo). Stevens et al., (2020) encontraron que la diversidad de especies en la rizósfera está correlacionada positivamente con el contenido de P en los suelos y que esto influye sobre la presencia de especies. El jal minero de Tlalpujahuá en donde los valores de fósforo fueron adecuados (30 ppm) presentó mayor riqueza de especies únicas y con una abundancia homogénea.

El Jal minero de Angangueo, el cual es el sitio más contaminado posee una diversidad de especies muy baja, lo que confirma lo propuesto por algunos investigadores que afirman que la diversidad y el número de especies se reduce conforme las concentraciones de Pb y Zn aumentan en el suelo (Ortega-Larrocea

et al., 2001; Renker et al., 2005; Zarei et al., 2008). Además esta diversidad se ve influenciada por la interacción entre diferentes metales pesados. Debido a que las especies fúngicas presentes en los sitios contaminados se encontraron también en el sitio forestal podemos inferir que hay una alta resiliencia por parte de dichas especies a la contaminación por plomo, zinc y plata (Alguacil et al., 2011; Maček et al., 2016; Sánchez-Castro et al., 2017).

En México se han descrito 104 especies de HMA, que representan el 44% de las especies totales que hay en el mundo (Chimal-Sánchez et al., 2016). Para el estado de Michoacán no se ha realizado un listado de especies de HMA general, aunque se tienen varios trabajos realizados en los que se enlistan especies de HMA asociadas a cultivo de aguacate y bosque de pino-encino en las regiones de Uruapan, Los Reyes (Bárceñas-Ortega et al., 2011; González-Cortés et al., 2012a) y *Agave cupreata* en las regiones de Etúcuaro, Morelia y Tzitzio (Trinidad Cruz et al., 2017). En nuestro estudio encontramos 47 morfotipos para la región de Senguio, Anganguero y Tlalpujahua, en donde la vegetación nativa corresponde a bosque de pino y pino-encino. Se lograron identificar 33 especies y se presentaron de 11 a 13 especies compartidas, algunas de ellas fueron *Acaulospora denticulata*, *A. delicata*, *A. spinosa*, *Diversispora spurca*, *Glomus tortuosum*, *Pacispora scintillians*. La diversidad encontrada en el sitio silvestre es semejante a la reportada por Trinidad Cruz et al., (2017) para *Agave cupreata* (39 morfotipos) y la reportada por González-Cortés et al., (2012) para la zona de conversión de bosque a huertas de aguacate con 39 morfotipos, pero menor a la encontrada por Cuenca y Lovera (2010) que reportaron 50 morfotipos para un matorral esclerófilo, mientras que para los jales mineros se observa una disminución en esta diversidad.

Van der Heyde et al., (2017) encontraron que los distintos géneros de HMA se comportan de manera diferente dependiendo del tipo de disturbio al que se enfrentan, observando diferente tolerancia en las familias de HMA: *Glomeraceae* (*Glomus*, *Funneliformis* y *Rhizophagus*) presentan tolerancia a la mayoría de tipos de disturbios como cambio de cobertura vegetal, adición de fertilizantes y otras

prácticas agrícolas, así como a disturbios químicos. Esto debido a que no poseen una especificidad con la planta hospedera, su capacidad esporulativa, así como su alta capacidad de inocular a las plantas. Caso contrario es el de la familia *Gigasporaceae* (*Gigaspora*) que presenta una menor tolerancia al cambio de vegetación y disturbios mecánicos, debido a su tamaño y a la lentitud con la que se desarrolla, sin embargo genera una amplia cantidad de estructuras fúngicas (Declerck, et al., 2004; Hart y Reader, 2002) lo que le confiere mayor resistencia a los disturbios químicos al igual que el género *Acaulospora*. En el sustrato de Anganguero los inóculos de Tlalpujahua y Silvestre que presentaron dominancia de especies y especies únicas del género *Acaulospora*, tuvieron mejor desempeño en el desarrollo y supervivencia de *Ipomoea tricolor* que el inóculo nativo, en el cual predominó el género *Glomus*.

Trabajos en suelos contaminados por metales pesados reportan las siguientes especies de HMA: *Acaulospora mellea*, *Acaulospora morrowiae*, *Ambispora gerdemannii*, *Claroideoglossum claroideum*, *Claroideoglossum etunicatum*, *Cetranspora gilmorei*, *Entrophospora infrequens*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora margarita*, *Glomus macrocarpum*, *Glomus spinuliferum*, *Funneliformis caledonius*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus fasciculatus*, *Rhizophagus intraradices*, *Septoglossum deserticola*, *Septoglossum constrictum* (Gonzalez-Chavez et al., 2002; Wang et al., 2005; Wang et al., 2007; González-Chávez et al., 2009; Bissonnette et al., 2010; Wu et al., 2011; Rangel et al., 2014; Cabral et al., 2015; García Velasco, 2016; Pérez et al., 2019), de las cuales en el presente estudio se identificaron *Acaulospora mellea*, *Claroideoglossum claroideum*, *Gigaspora margarita*, *Funneliformis geosporum*, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus fasciculatus* y *Rhizophagus intraradices*. Las especies antes mencionadas tienen estrategias que les permiten lidiar con múltiples metales pesados (Pb, Zn, As, Cu, etc.), en *Gigaspora margarita* se documenta la acumulación de estos metales en vesículas e hifa intrarradicales, mientras que en *Rhizophagus Intraradices* se produce una mayor generación de hifas extrarradicales, o las estrategias reportadas para los géneros *Glomus* y *Acaulospora*

los cuales poseen una alta capacidad de esporulación, una mayor capacidad infectiva a partir no solo de esporas, sino también a partir de partes muy pequeñas de micelio (Gonzalez-Chavez et al., 2002; Wang et al., 2005; Janoušková y Vosátka, 2005; Zhu et al., 2007; Wang et al., 2007; González-Chávez et al., 2009; Bissonnette et al., 2010; Wu et al., 2011; Van der Heyde et al., 2017; Muhsen, 2018; Stevens et al., 2020). Se esperaría que las especies obtenidas en este trabajo presenten estrategias similares para su supervivencia en los jales mineros, o para lograr una mejor adaptación a estas condiciones, por lo cual sería de vital importancia realizar nuevos trabajos para dilucidar estrategias particulares de las especies nativas de jales mineros.

Preliminar a las pruebas de potencial micorrícico la prueba de germinación nos permitió corroborar los trabajos realizados por otros investigadores en los que se relacionó el aumento en la concentración de metales pesados con la afectación del desarrollo de las plántulas (Lam y Lai, 2018; Sánchez-Castro et al., 2017; Wang, 2017). En nuestro experimento las plántulas de *Ipomoea tricolor* (silvestre y comercial) al aumentar la concentración de plomo, zinc y plata; sufrieron afectaciones en su longitud, a su vez se presentó una disminución en el porcentaje de germinación siendo menor en las semillas silvestres desarrolladas en el suelo más contaminado (Anganguao). Sin embargo, no se reportan casos comparativos entre variedades silvestres y comerciales de una misma especie de planta. En este trabajo, las plantas silvestres, a pesar de su menor germinación mostraron una mejor adaptación a las condiciones adversas de contaminación ya que se desarrollaron mejor que las plantas germinadas de semillas comerciales en los suelos contaminados. A este respecto mucho se ha hablado sobre los procesos de selección natural que operan en condiciones naturales y que favorecen que los individuos mejor adaptados a las condiciones cambiantes del medio son capaces de sobrevivir mejor que aquellos con poca variedad genética como lo son las semillas comerciales (Eguiarte et al., 2013).

La prueba de potencial micorrícico (PM) muestra la capacidad de un consorcio micorrícico para establecer la asociación simbiótica con las plantas. El sitio silvestre presentó un potencial micorrícico de 12.75 MSI mientras que el jal de Tlalpujahua presenta 15 MSI₅₀ y el jal de Angangueo 21 MSI₅₀, al compararlo con el trabajo de Duponnois et al., (2001) nuestros sitios presentaron un mayor potencial micorrícico ya que ellos obtuvieron un valor de 109.3 MSI₅₀ para su sitio forestal (es decir que se requiere mayor cantidad de esporas por gramo de suelo para que se colonice el 50% de las plantas); ellos atribuyeron el bajo potencial a que el tipo de vegetación analizado no favorecía la presencia del inoculo fúngico (*Scutellospora verrucosa*, *Scutellospora gregaria* y *Glomus* spp.), además observaron que las parcela de barbecho cercadas tuvieron un PM promedio de 41.4 MSI₅₀ y las parcelas de barbecho sin cercar tuvieron PM promedio de 98.5 MSI₅₀ lo que puede deberse al daño encontrado en la mayoría de esporas ocasionado por el ganado que Dupponois menciona. El potencial obtenido en estas parcelas fue mayor al de nuestro sitio más contaminado (Angangueo) en donde el daño a las esporas es ocasionado por las condiciones en los parámetros del suelo.

El potencial micorrícico de los inóculos probados fue alto para establecer la asociación con *Ipomea tricolor* y favorecer su desarrollo y supervivencia (longitud, área foliar, porcentaje de germinación, tasa de supervivencia y colonización fúngica de la raíz) en el caso de los suelos contaminados, ya que mientras más alta contaminación presentaban los suelos, la eficiencia en el establecimiento de la asociación fue buena aún a las más bajas concentraciones del inóculo, mostrando además una alta infectividad y efectividad ya que se encontraron altos porcentajes de colonización y la formación de vesículas y arbusculos, lo que influyó en el desarrollo y supervivencia de las plantas, mientras que en los controles no contaminados el establecimiento de la asociación fue tardío; existen trabajos que reportan el beneficio que estos hongos le aportan a la plantas para lidiar con diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos (Giasson et al., 2005; Audet y Charest, 2006; Liu et al., 2015; Abu-Elsaoud, et al., 2017; Gu et al., 2017; Garcia et al., 2018). EL alto potencial encontrado en los inóculos probados puede ser un reflejo del

proceso de adaptación de los hongos presentes en los jales. Existen trabajos como el de Cuenca y Lovera, (2010) que señalan que inóculos formados por especies como *Glomus tortuosum*, *Acaulospora foveata*, *Acaulospora laevis* y *Acaulospora tuberculata* entre otros, presentaron mayor PM en un matorral esclerófilo (5.10 MSI₅₀ y 6.90 MSI₅₀) en temporada de lluvias y secas respectivamente. Además de que el tipo de vegetación presente en estos matorrales benefició la diversidad de HMA en los suelos.

Sobre el desarrollo de las plantas, en la fase 2, se esperaba que los inóculos nativos funcionaran mejor en el suelo del cual se extrajeron, sin embargo, los resultados fueron diferentes. se observó que el inóculo de Tlalpujahua tuvo el mayor efecto en el desarrollo vegetal de *Ipomea tricolor* en los tres sustratos, lo cual puede deberse al hecho que el inóculo de Tlalpujahua contenía mayor cantidad de esporas por gramo de suelo (2), alta diversidad de especies de HMA (29), probablemente adaptadas a las condiciones de contaminación por metales pesados (Helgason et al., 2002; Klironomos, 2003; Zhang et al., 2004; Herrera-Peraza et al., 2011; Mori et al., 2013), además de una cantidad considerable de especies únicas del género *Acaulospora*.

El inóculo silvestre aunque presentaba mayor cantidad de esporas por gramo de suelo (3) y mayor diversidad (36 especies) presentó menor efectividad en el desarrollo de las plantas de *Ipomea tricolor* en los suelos contaminados, probablemente debido a que las especies de HMA tienen que lidiar con el estrés de los metales pesados, mientras que las especies presentes en los jales mineros se encuentran adaptadas a este tipo de estrés, como reportan algunos trabajos en los que especies nativas funcionaron mejor en los suelos de los que provenían, que consorcios comerciales (Klironomos, 2003). El inóculo de Anganguero con 1 espora por gramo y solo 11 especies, presentó menor efectividad que el consorcio de Tlalpujahua que exhibió mayor diversidad y presencia de especies únicas reportadas con alta capacidad de resistencia (Mickan et al., 2019).

El inóculo de Tlalpujahua tuvo una alta infectividad en el suelo del jal del cual provenía (porcentaje de colonización = 44%) y en el suelo silvestre (porcentaje de colonización = 56%); y a pesar de la baja infectividad que presento en el suelo de Angangueo (porcentaje de colonización = 2%) fue el más efectivo en todos los tratamientos para el desarrollo y la supervivencia de las plantas, por lo cual podría ser considerado un buen candidato para la creación de inóculante micorrícico.

10. CONCLUSIONES

Los suelos de los jales mineros presentaron alteraciones en parámetros físico-químicos importantes para el desarrollo de las plantas y para un buen equilibrio en las interacciones y diversidad de los organismos presentes como los HMA

La diversidad de HMA fue mayor en los suelos menos alterados (sitio silvestre y Tlalpujahua), encontrando presencia de especies únicas reportadas con alta resistencia a diferentes tipos de estrés, como *Acaulospora spp.*

Los inóculos de HMA probados en este estudio y provenientes de jales mineros mostraron tener un alto potencial micorrízico para establecer la asociación con *Ipomea tricolor* en suelos contaminados por metales pesados.

El alto potencial micorrízico favoreció una alta infectividad y efectividad de los consorcios fúngicos en el desarrollo y la supervivencia de *Ipomea tricolor* en suelos contaminados por metales pesados.

La presencia de HMA favorece el desarrollo y sanidad vegetal en plantas crecidas tanto en suelos no alterados como en suelos contaminados

El inóculo del jal de Tlalpujahua fue el más eficiente para promover el desarrollo y la supervivencia de *Ipomoea tricolor* en los tres suelos analizados, por lo que se considera una buena alternativa para la generación de bioinoculante.

Se corrobora que los HMA provenientes de suelos contaminados presentan mayor resistencia y son más eficientes para establecer la asociación y promover el desarrollo de plantas acumuladoras como *Ipomoea tricolor*.

La importancia de un alto potencial micorrícico de HMA radica en que aún con pocas esporas presentes en el suelo se logró establecer una asociación exitosa que contribuya a la salud de las plantas bajo condiciones de estrés, como lo demostró este trabajo.

Perspectivas

Es importante realizar estudios sobre el comportamiento de diferentes consorcios de HMA provenientes de jales mineros, para conocer mejor la función de los hongos en estos sitios, así como la capacidad de inmovilización o acumulación de metales pesados, analizar la eficiencia entre el uso de inóculos monoespecíficos o de consorcios de múltiples especies. Además se debe analizar el comportamiento de estos consorcios con diferentes plantas acumuladoras de metales como *Ficus benjamina*, *Ipomoea aquatica*, *Ipomoea batata* entre otras.

11. Bibliografía

- Abhilash, P. C., Powell, J. R., Singh, H. B., & Singh, B. K. (2012, August). Plant-microbe interactions: Novel applications for exploitation in multipurpose remediation technologies. *Trends in Biotechnology*, Vol. 30, pp. 416–420. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.04.004>
- Abou-Shanab, R. A., Angle, J. S., Delorme, T. A., Chaney, R. L., Van Berkum, P., Moawad, H., ... Ghozlan, H. A. (2003). Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New Phytologist*, 158(1), 219–224. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00721.x>
- Abu-Elsaoud, A. M., Nafady, N. A., & Abdel-Azeem, A. M. (2017). Arbuscular mycorrhizal strategy for zinc mycoremediation and diminished translocation to shoots and grains in wheat. *PLoS ONE*, 12(11), 21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188220>
- Adamec, S., & Andrejiová, A. (2018). Mycorrhiza and Stress Tolerance of Vegetables: A Review. *Acta Horticulturae et Regiotecturae*, 21(2), 30–35. <https://doi.org/10.2478/ahr-2018-0008>
- Adelman, M. J., & Morton, J. B. (1986). Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: Influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(1), 77–83. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(86\)90106-9](https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90106-9)
- Ahanger, M. A., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., & Ahmad, P. (2014). Arbuscular mycorrhiza in crop improvement under environmental stress. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance* (Second Edi, Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800875-1.00003-X>
- Ahemad, M. (2015). Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2015.02.001>
- Akbar, K. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metal contaminated soils. *African Journal of Microbiology Research*, 5(13). <https://doi.org/10.5897/AJMR11.465>
- Alarcón, A., Almaraz, J. J., Ferrera-Cerrato, R., González-Chávez, M. C. A., Lara, M. E., Manjarrez, M. J., ... Santamaría, S. (2004). *Manual: Tecnología de hongos micorrízicos en la producción de especies forestales en vivero*. Colegio de Postgraduados Montecillo, SEMARNAT-PRONARE, Distrito Federal, México.

- Alguacil, M. M., Torrecillas, E., Caravaca, F., Fernández, D. A., Azcón, R., & Roldán, A. (2011). The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in a heavy-metal-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1498–1508. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.026>
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013a). Phytoremediation of heavy metals- Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013b, May). Phytoremediation of heavy metals- Concepts and applications. *Chemosphere*, Vol. 91, pp. 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Alonso, N. J. M., Hidalgo, Á. B. L., & Mesa, J. L. A. (2019). Influencia de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), Abonos Orgánicos y Sacarosa en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L). *Alternativas*, 19(2), 89–96. <https://doi.org/10.23878/alternativas.v19i2.233>
- Alvarado, C. J., Dasgupta-Schubert, N., Ambriz, E., Sánchez-Yañez, J. M., & Villegas, J. (2011). Hongos micorrízicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 27, pp. 357–364. scielomx.
- Anon. (1964). *Encyclopaedia of chemical science*. Princeton, Van Nostrand, p. 533.
- Atimanav, G., & Alok, A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86(4), 528–534. <https://doi.org/10.2307/24107905>
- Atimanav, G., Alok, A., Gaur, A., & Adholeya, A. (2004). Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science*, 86(4), 528–534. <https://doi.org/10.2307/24107905>
- Audet, P. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi and metal phytoremediation: ecophysiological complementarity in relation to environmental stress. In *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance* (Second Edi, Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800875-1.00006-5>
- Audet, P., & Charest, C. (2006). Effects of AM colonization on “wild tobacco” plants grown in zinc-contaminated soil. *Mycorrhiza*, 16(4), 277–283. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0045-x>
- Bano, S. A., & Ashfaq, D. (2013). Role of mycorrhiza to reduce heavy metal stress. *Natural Science*, 05(12), 16–20. <https://doi.org/10.4236/ns.2013.512A003>

- Bárcenas-Ortega, A., Varela-Fregoso, L., Stürmer, S., & Chávez-Bárcenas, A. (2011). Proceedings VII World Avocado Congress 2011 (Actas VII Congreso Mundial del Aguacate 2011). Catalogue of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Avocado Orchards in Michoacan, Mexico, 2011(September), 7.
- Bever, J. D., Schultz, P. A., Pringle, A., & Morton, J. B. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *BioScience*, 51(11), 923. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0923:AMFMDT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0923:AMFMDT]2.0.CO;2)
- Bhaduri, A. M., & Fulekar, M. H. (2012). Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi on the phytoremediation potential of *Ipomoea aquatica* on cadmium uptake. *3 Biotech*, 2(3), 193–198. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0046-8>
- Bissonnette, L., St-Arnaud, M., & Labrecque, M. (2010). Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant and Soil*, 332(1), 55–67. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0273-x>
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research Canberra.
- Burrell, D. C. (1974). Atomic spectrometric analysis of heavy metal pollutants in water. *Ann Arbor, Mich., Ann Arbor Science Publishers*, pp. 19–,5.
- Cabral, L., Soares, C. R. F. S., Giachini, A. J., & Siqueira, J. O. (2015a). Arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of contaminated areas by trace elements: mechanisms and major benefits of their applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(11), 1655–1664. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1918-y>
- Cabral, L., Soares, C. R. F. S., Giachini, A. J., & Siqueira, J. O. (2015b). Arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of contaminated areas by trace elements: mechanisms and major benefits of their applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(11), 1655–1664. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1918-y>
- Carballar-Hernández, S., Palma-Cruz, F. J., Hernández-Cuevas, L., & Robles, C. (2013). Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological Research*, 28(2), 217–226. <https://doi.org/10.1007/s11284-012-1008-7>
- Chaney, R. L., & Baklanov, I. A. (2017). Phytoremediation and phytomining: Status and promise. *Advances in Botanical Research*, 83, 189–221. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.006>

- Chang, Q., Diao, F. wei, Wang, Q. fan, Pan, L., Dang, Z. hua, & Guo, W. (2018). Effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis on growth, nutrient and metal uptake by maize seedlings (*Zea mays* L.) grown in soils spiked with Lanthanum and Cadmium. *Environmental Pollution*, 241, 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.003>
- Chimal-Sánchez, E., Montaña, N. M., Camargo-Ricalde, S. L., García-Sánchez, R., & Hernández-Cuevas, L. V. (2016). Nuevos registros de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(1), 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.024>
- Colwell, R. K. (2016). Estimates: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. <http://purl.oclc.org/estimates>. Retrieved from <http://viceroy.colorado.edu/estimates/>
- Coninx, L., Martinova, V., & Rineau, F. (2017). Mycorrhiza-Assisted Phytoremediation. *Advances in Botanical Research*, 83, 127–188. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.005>
- Contreras López, C., Hernández-Ávila, J., Cerecedo-Sáenz, E., Mercader-Moyano, M. del P., & López de Juambelz, I. R. (2019). Caracterización del Suelo en un Desarrollo Habitacional Sobre Residuos Minero de Pachuca de Soto, Hidalgo. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 7(Especial-2), 67–75. <https://doi.org/10.29057/icbi.v7iespecial-2.4883>
- Coral, L. (2015). “Estudio de la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares nativos y su potencial micorrízico en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín.” Universidad Nacional De San Martín-Tarapoto.
- Covarrubias, S. A., & Peña Cabriales, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 33, 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- Cuenca, G., & Lovera, M. (2010). Seasonal variation and distribution at different soil depths of arbuscular mycorrhizal fungi spores in a tropical sclerophyllous shrubland. *Botany*, 88(1), 54–64. <https://doi.org/10.1139/B09-100>
- Cunningham, S. D., & Ow, D. W. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110(3), 715 LP – 719. <https://doi.org/10.1104/pp.110.3.715>
- Danesh, Y. R., Tajbakhsh, M., Goltapeh, E. M., & Varma, A. (2013). Mycoremediation of Heavy Metals. In E. M. Goltapeh, Y. R. Danesh, & A. Varma (Eds.), *Fungi as Bioremediators* (pp. 245–267). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-33811-3>

- De Gannes, V., Eudoxie, G., Bekele, I., & Hickey, W. J. (2015). Relations of microbiome characteristics to edaphic properties of tropical soils from Trinidad. *Frontiers in Microbiology*, 6(SEP), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01045>
- Declerck, S., D'or, D., Bivort, C., y De Souza, F. A. (2004). Development of extraradical mycelium of *Scutellospora reticulata* under root-organ culture: Spore production and function of auxiliary cells. *Mycological Research*, 108(1), 84–92. <https://doi.org/10.1017/S0953756203008761>
- Duffus, J. H. (2002). "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793–807. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>
- Duponnois, R., Plenchette, C., Thioulouse, J., & Cadet, P. (2001). The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Applied Soil Ecology*, 17(3), 239–251. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(01\)00132-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(01)00132-9)
- Eguiarte, L. E., Aguirre-Liguori, J. A., Jardón-Barbolla, L., Aguirre-Planter, E., & Souza, V. (2013). Genómica de poblaciones: nada en Evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 16(1), 42–56.
- Flores, J. C. M., Ortiz, M. D., Ruiz, J. A., Peinado, F. M., & Fernández, I. G. (2010). Estudio de metales pesados y arsénico en los suelos de olivar de Sierra Mágina, Jaén (España). *Acta Agronómica*, 58(4), 303–307.
- Fozia, A., Muhammad, A. Z., Muhammad, A., & Zafar, M. K. (2008). Effect of chromium on growth attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Environmental Sciences*, 20(12), 1475–1480. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62552-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62552-8)
- Galindo, J. R., & Clavijo, J. (2007). Modelos alométricos para estimar el área de los folíolos de arveja (*Pisum sativum* L.). *Corpoica Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 8(1), 37. https://doi.org/10.21930/rcta.vol8_num1_art:81
- García, C., Moreno, J. L., Hernández Fernández, M. T., & Polo, A. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad del suelo. *Ciencia Y Medio Ambiente.*, 125–138. Retrieved from <http://digital.csic.es/handle/10261/111812>
- Garcia, K. G. V., Gomes, V. F. F., Filho, P. F. M., Martins, C. M., Silva Júnior, J. M. T. da, Cunha, C. S. M., & Pinheiro, J. I. (2018). Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Phytostabilization of Soil Degraded by Manganese Mining. *Journal of Agricultural Science*, 10(12), 192. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n12p192>

- García Velasco, G. P. (2016). Diversidad y potencial fitorremediador de Hongos de micorriza arbuscular en especies vegetales que colonizan jales mineros (INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL). Retrieved from <https://es.scribd.com/user/270950956/lizbethduany>
- Gardea-Torresdey, J. L., Peralta-Videa, J. R., Montes, M., De La Rosa, G., & Corral-Díaz, B. (2004). Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: Impact on plant growth and uptake of nutritional elements. *Bioresource Technology*, 92(3), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.002>
- Giasson, P., Jaouich, A., Gagné, S., & Moutoglis, P. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi involvement in zinc and cadmium speciation change and phytoaccumulation. *Remediation*, 15(2), 75–81. <https://doi.org/10.1002/rem.20044>
- Göhre, V., & Paszkowski, U. (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223(6), 1115–1122. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0225-0>
- González Chávez, M. del C. Á. (2005). Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*, 23, 10. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2001000200022>
- Gonzalez-Chavez, C., D'Haen, J., Vangronsveld, J., & Dodd, J. C. (2002). Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil*, 240(2), 287–297. <https://doi.org/10.1023/A:1015794622592>
- González-Chávez, M. C., Carrillo-González, R., & Gutiérrez-Castorena, M. C. (2009). Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: The role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), 1288–1298. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.04.110>
- González-Cortés, J. C., Vega-Fraga, M., Varela-Fregoso, L., Martínez-Trujillo, M., Carreón-Abud, Y., & Gavito, M. E. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: The conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecology*, 5(1), 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2011.09.002>
- Gray, H. B., & Haight, G. P. (1981). *Principios básicos de química* (Reverte, Ed.). Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=SwFsXNChbmAC>
- Gryndler, M., Hršelová, H., Cajthaml, T., Havráňková, M., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., & Larsen, J. (2009). Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal

- growth and root colonization. *Mycorrhiza*, 19(4), 255–266.
<https://doi.org/10.1007/s00572-008-0217-y>
- Gryndler, M., Hřselová, H., Vosátka, M., Votruba, J., & Klír, J. (2001). Organic fertilization changes the response of mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi and their sporulation to mineral NPK supply. *Folia Microbiologica*, 46(6), 540–542. <https://doi.org/10.1007/BF02817999>
- Gu, H. H., Zhou, Z., Gao, Y. Q., Yuan, X. T., Ai, Y. J., Zhang, J. Y., ... Li, F. P. (2017). The influences of arbuscular mycorrhizal fungus on phytostabilization of lead/zinc tailings using four plant species. *International Journal of Phytoremediation*, 19(8), 739–745.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1284751>
- Gunathilakae, N., Yapa, N., & Hettiarachchi, R. (2018). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the cadmium phytoremediation potential of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Groundwater for Sustainable Development*, 7, 477–482. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2018.03.008>
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. (p. 9). p. 9. Retrieved from <https://folk.uio.no/ohammer/past/faq.html>
- Helgason, T., Merryweather, J. W., Denison, J., Wilson, P., Young, J. P. W., & 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(2), 371–384. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2001.00674.x>
- Hernández-Acosta E., Mondragón-Romero E., C.-A. D., J.E., R.-P., y E., R.-S. (2009). VEGETACIÓN, RESIDUOS DE MINA Y ELEMENTOS POTENCIALMENTE TÓXICOS DE UN JAL DE PACHUCA, HIDALGO, MÉXICO. *Revista Chapingo : Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente*, 15(2), 109–114. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttextpid=S2007-40182009000200004
- Herrera-Peraza, R. A., Hamel, C., Fernández, F., Ferrer, R. L., & Furrázola, E. (2011). Soil-strain compatibility: The key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza*, 21(3), 183–193.
<https://doi.org/10.1007/s00572-010-0322-6>
- Hildebrandt, U., Regvar, M., & Bothe, H. (2007). Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. 68, 139–146.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.023>

- INEGI. (2009a). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Angangueo, Michoacán de Ocampo. Retrieved from online website: <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=16#>
- INEGI. (2009b). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Senguio , Michoacán de Ocampo Clave geoestadística 16003. Retrieved from <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=16#>
- INEGI. (2009c). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Tlalpujahua , Michoacán de Ocampo Clave geoestadística 16003. Retrieved from <https://www.inegi.org.mx/app/areasgeograficas/?ag=16#>
- INVAM. (2000). International Culture Collection of Vesicular and Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Species Description. West Virginia Agriculture and Forestry Experimental Station Morgantown.
- Janoušková, M., & Vosátka, M. (2005). Response to cadmium of *Daucus carota* hairy roots dual cultures with *Glomus intraradices* or *Gigaspora margarita*. *Mycorrhiza*, 15(3), 217–224. <https://doi.org/10.1007/s00572-004-0325-2>
- JMP®, Version <8>. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2019.
- Joner, E. J., & Jakobsen, I. (1995). Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(9), 1153–1159. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00047-I](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00047-I)
- Juwarkar, A. A., & Jambhulkar, H. P. (2008). Phytoremediation of coal mine spoil dump through integrated biotechnological approach. *Bioresource Technology*, 99(11), 4732–4741. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.060>
- Khalid, S., Shahid, M., Niazi, N. K., Murtaza, B., Bibi, I., & Dumat, C. (2017). A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Geochemical Exploration*, 182, 247–268. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2016.11.021>
- Khan, A. G., Kuek, C., Chaudhry, T. M., Khoo, C. S., & Hayes, W. J. (2000). Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*, 41(1-2), 197–207. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00412-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00412-9)
- Klironomos, J. N. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84(9), 2292–2301.

- Lam, C. M., & Lai, H. Y. (2018). Effect of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and blanching on the bioaccessibility of heavy metals in water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162, 563–570. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.047>
- Lapedes, D. N. (1974). Dictionary of scientific and technical terms. New York, McGraw Hill, p. 674
- Latef, A. A. H. A., Hashem, A., Rasool, S., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Egamberdieva, D., ... Ahmad, P. (2016, October 1). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and abiotic stress in plants: A review. *Journal of Plant Biology*, Vol. 59, pp. 407–426. <https://doi.org/10.1007/s12374-016-0237-7>
- Lesaca, R. M. (1977). Monitoring of heavy metals in Philippine rivers, bay waters and lakes. *Syrup. Proc. Int. Conf. Heavy Metals Environ.*, Toronto, 27-31 October 1975, 2(1), 285-307.
- Leung, H. M., Wang, Z. W., Ye, Z. H., Yung, K. L., Peng, X. L., & Cheung, K. C. (2013). Interactions between arbuscular mycorrhizae and plants in phytoremediation of metal-contaminated soils: A review. *Pedosphere*, 23(5), 549–563. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(13\)60049-1](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60049-1)
- Liu, H., Yuan, M., Tan, S., Yang, X., Lan, Z., Jiang, Q., ... Jing, Y. (2015). Enhancement of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on the growth and Cd uptake by Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum*. *Applied Soil Ecology*, 89, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.01.006>
- Luna, B. N., Yopez, E. L., Muñoz, A. H. S., Gutiérrez, N. L., & Ortega, M. A. R. (2016). Caracterización fisicoquímica de residuos mineros y evaluación de su peligrosidad. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 3(2), 175–183.
- Ma, Y., Rajkumar, M., & Freitas, H. (2009). Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica* spp. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.056>
- Maček, I., Šibanc, N., Kavšček, M., & Lestan, D. (2016). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in metal polluted and EDTA washed garden soils before and after soil revitalization with commercial and indigenous fungal inoculum. *Ecological Engineering*, 95, 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.026>
- MacLean, A. M., Bravo, A., & Harrison, M. J. (2017). Plant Signaling and Metabolic Pathways Enabling Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *The Plant Cell*, 29(10), 2319–2335. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00555>

- Martinez-Taylor, S. I., & Noriega-Luna, B. (2015). Caracterización fisicoquímica de suelos afectados por presas de jales en el distrito minero de guanajuato. *Jovenes En La Ciencia*, (1), 1228–1232.
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115(3), 495–501. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Meharg, A. A. (2005). Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications. *Plant and Soil*, 274(1-2), 163–174. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0262-z>
- Mickan, B. S., Abbott, L. K., Solaiman, Z. M., Mathes, F., Siddique, K. H. M., & Jenkins, S. N. (2019). Soil disturbance and water stress interact to influence arbuscular mycorrhizal fungi, rhizosphere bacteria and potential for N and C cycling in an agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils*, 55(1), 53–66. <https://doi.org/10.1007/s00374-018-1328-z>
- Minitab 17 Statistical Software (2010). [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc. (www.minitab.com)
- Mori, A. S., Furukawa, T., & Sasaki, T. (2013). Response diversity determines the resilience of ecosystems to environmental change. *Biological Reviews*, 88(2), 349–364. <https://doi.org/10.1111/brv.12004>
- Muhsen, T. A. A. (2018). Evaluation of the effect of *Gigaspora margarita* and *Glomus deserticola* fungi in stimulating the resistance of the *capsicum annum* L. plant towards chromium and lead. *Journal of Global Pharma Technology*, 10(5), 181–192.
- Nieboer, E., & Richardson, D. H. S. (1980). The replacement of the nondescript term “heavy metals” by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution*, 1, 3–26.
- Nordberg, G. (2012). Metales: Propiedades químicas y toxicidad. In *Enciclopedia De Salud Y Seguridad En El Trabajo* (Vol. 4o, pp. 1–76). Retrieved from <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/63.pdf>
- Ortega-Larrocea, M. P., Siebe, C., Bécard, G., Méndez, I., & Webster, R. (2001). Impact of a century of wastewater irrigation on the abundance of arbuscular mycorrhizal spores in the soil of the Mezquital Valley of Mexico. *Applied Soil Ecology*, 16(2), 149–157. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00105-0](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00105-0)
- Pawlowska, T. E., & Charvat, I. (2004). Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental*

- Microbiology, 70(11), 6643–6649. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.11.6643-6649.2004>
- Pérez, U. A., Ramírez, M. M., Serralde, D. P., Peñaranda, A. M., Wilches, W. A., Ramírez, L., & Rengifo, G. A. (2019). Hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como estrategia para reducir la absorción de cadmio en plantas de cacao (*Theobroma cacao*). *Revista Terra Latinoamericana*, 37(2), 121. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i2.479>
- Phillips, J. M., & Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158–IN18. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)
- Plenchette, C., Perrin, R., & Duvert, P. (1989). The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to Endomycorrhizas. *Canadian Journal of Botany*, 67(1), 112–115. <https://doi.org/10.1139/b89-016>
- Ponce, G., Elba, A., & Cruz, G. (2015). Cuantificación de Elementos Potencialmente Tóxicos en especies vegetales de un sitio minero de Guanajuato: identificación de especies potencialmente fitorremediadoras. *Jóvenes En La Ciencia*, 1(2), 1984–1989. Retrieved from <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/200>
- Posada, R. H., Sánchez de Prager, M., Heredia-Abarca, G., & Sieverding, E. (2018). Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and Mexico. *Agroforestry Systems*, 92(2), 555–574. <https://doi.org/10.1007/s10457-016-0030-0>
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C., & Campos, A. (2006). Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera. *Ecología Aplicada*, 5(12).
- Ramírez-Viga, T., Guadarrama, P., Castillo-Argüero, S., Estrada-Medina, H., García-Sánchez, R., Hernández-Cuevas, L., ... Ramos-Zapata, J. (2020). Relationship between Arbuscular Mycorrhizal Association and Edaphic Variables in Mangroves of the Coast of Yucatán, Mexico. *Wetlands*, 40(3), 539–549. <https://doi.org/10.1007/s13157-019-01196-1>
- Rangel, W. de M., Schneider, J., Costa, E. T. de S., Soares, C. R. F. S., Guilherme, L. R. G., & Moreira, F. M. de S. (2014). Phytoprotective Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Species Against Arsenic Toxicity in Tropical Leguminous Species. *International Journal of Phytoremediation*, 16(7-8), 840–858. <https://doi.org/10.1080/15226514.2013.856852>

- Rascio, N., & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Renker, C., Blanke, V., & Buscot, F. (2005). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland spontaneously developed on area polluted by a fertilizer plant. *Environmental Pollution*, 135(2), 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.11.002>
- Rodríguez, L., Ruiz, E., Alonso-Azcárate, J., & Rincón, J. (2009). Heavy metal distribution and chemical speciation in tailings and soils around a Pb-Zn mine in Spain. *Journal of Environmental Management*, 90(2), 1106–1116. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.04.007>
- Rodríguez, M., Peña, M., Reyes, G., Trevizo, G., Fonseca, M., & Avalos, L. (2017). Biorremediación de arsénico mediada por microorganismos genéticamente modificados. *Terra Latinoamericana*, 35, 353–361. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v35n4/2395-8030-tl-35-04-00353.pdf>
- Salas Urviola, F. B., Guadarrama Guzmán, P., Gutiérrez Bazán, J. J., García Luna, N., Fernández Villagómez, G., & Alarcón Herrera, M. T. (2020). Determinación De Posible Drenaje Ácido De Mina Y Caracterización De Jales Mineros Provenientes De La Mina Cerro De Mercado, Durango, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 36(3), 729–744. <https://doi.org/10.20937/rica.53461>
- Sánchez-Castro, I., Gianinazzi-Pearson, V., Cleyet-Marel, J. C., Baudoin, E., & van Tuinen, D. (2017). Glomeromycota communities survive extreme levels of metal toxicity in an orphan mining site. *Science of the Total Environment*, 598, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.084>
- Schneider, J., Bundschuh, J., & do Nascimento, C. W. A. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoremediation of a lead-contaminated site. *Science of the Total Environment*, 572, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.185>
- Schüßler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105(12), 1413–1421. <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>
- Semarnat, N. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudios, muestreo y análisis. *Diario Oficial de La Federación*, 85.
- Semarnat, N. (2007). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata,

plomo, selenio, talio y/o vanadio. Diario Oficial de La Federación, 69. Retrieved from <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/147ssa16.html>

- Stevens, B. M., Propster, J. R., Öpik, M., Wilson, G. W. T., Alloway, S. L., Mayemba, E., & Johnson, N. C. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi in roots and soil respond differently to biotic and abiotic factors in the Serengeti. *Mycorrhiza*, 30(1), 79–95. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00931-5>
- Sundaramoorthy, P., Chidambaram, A., Ganesh, K. S., Unnikannan, P., & Baskaran, L. (2010). Chromium stress in paddy: (i) Nutrient status of paddy under chromium stress; (ii) Phytoremediation of chromium by aquatic and terrestrial weeds. *Comptes Rendus - Biologies*, 333(8), 597–607. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.03.002>
- Sylvain, B. B., Mikael, M. H., Florie, M., Emmanuel, J., Marilyne, S., Sylvain, B. B., & Domenico, M. (2016). Phytostabilization of As, Sb and Pb by two willow species (*S. viminalis* and *S. purpurea*) on former mine technosols. *Catena*, 136, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.07.008>
- Teixeira, A. F. dos S., Kemmelmeier, K., Marascalchi, M. N., Stürmer, S. L., Carneiro, M. A. C., & Moreira, F. M. de S. (2017). Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares em área de mineração e seu entorno: Potencial de inóculo, densidade e diversidade de esporos relacionados a atributos do solo. *Ciencia E Agrotecnologia*, 41(5), 511–525. <https://doi.org/10.1590/1413-70542017415014617>
- Toledo, M. (2016). Manejo de suelos ácidos de las zonas altas de Honduras.
- Treseder, K. K., & Cross, A. (2006). Global distributions of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosystems*, 9(2), 305–316. <https://doi.org/10.1007/s10021-005-0110-x>
- Trinidad Cruz, J. R., Quiñones Aguilar, E. E., Hernández Cuevas, L. V., López Pérez, L., & Rincón Enríquez, G. (2017). Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México. *Scientia Fungorum*, 45(45), 13–25. <https://doi.org/10.33885/sf.2017.0.1164>
- Upadhyaya, H., Panda, S. K., Bhattacharjee, M. K., & Dutta, S. (2010). Role of arbuscular mycorrhiza in heavy metal tolerance in plants: prospects for phytoremediation. *Journal of Phytology*, 2(7), 16–27.
- Valagro, S. (2004). Los microelementos en la nutrición vegetal. Roma, Italia, Instituto Experimental Para La Nutrición de Las Plantas.
- Van der Ent, A., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Pollard, A. J., & Schat, H. (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1-2), 319–334. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>

- Van der Heyde, M., Ohsowski, B., Abbott, L. K., & Hart, M. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungus responses to disturbance are context-dependent. *Mycorrhiza*, 27(5), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0759-3>
- VARELA-FREGOSO LY & MCA GONZÁLEZ-CHÁVEZ (2007) Taxonomía de los hongos formadores de micorriza arbuscular. En: Fuentes-Dávila G & R Ferrera-Cerrato (eds) *Ecología de la raíz*: 57-72. Segunda reimpresión. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Ciudad Obregón, Sonora.
- Volke, T., Velasco, J. A. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. In Mexico.
- Walker, C., & Vestberg, M. (1994). A simple and inexpensive method for producing and maintaining closed pot cultures of arbuscular mycorrhizal fungi. *Agricultural Science in Finland*, 3(January 1994), 233–240. <https://doi.org/10.23986/afsci.72701>
- Wang, F. (2017). Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in mining-impacted sites and their contribution to ecological restoration: Mechanisms and applications. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(20), 1901–1957. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1400853>
- Wang, F., Lin, X., & Yin, R. (2005). Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant and Soil*, 269(1-2), 225–232. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0517-8>
- Wang, F. Y., Lin, X. G., & Yin, R. (2007). Role of microbial inoculation and chitosan in phytoextraction of Cu, Zn, Pb and Cd by *Elsholtzia splendens* - a field case. *Environmental Pollution*, 147(1), 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.005>
- Wong, C. C., Wu, S. C., Kuek, C., Khan, A. G., & Wong, M. H. (2007). The role of mycorrhizae associated with vetiver grown in Pb-/ Zn-contaminated soils: Greenhouse study. *Restoration Ecology*, 15(1), 60–67. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2006.00190.x>
- Wu, S. C., Wong, C. C., Shu, W. S., Khan, A. G., & Wong, M. H. (2011). Mycorrhizoremediation of lead/zinc mine tailings using vetiver: A field study. *International Journal of Phytoremediation*, 13(1), 61–74. <https://doi.org/10.1080/15226511003671353>
- Zacarías, M., Beltrán, M., Gilberto Torres, L., & González, A. (2012). A feasibility study of perennial/annual plant species to restore soils contaminated with heavy metals. *Physics and Chemistry of the Earth*, 37-39, 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2010.12.008>

- Zarei, M., Saleh-Rastin, N., Jouzani, G. S., Savaghebi, G., & Buscot, F. (2008). Arbuscular mycorrhizal abundance in contaminated soils around a zinc and lead deposit. *European Journal of Soil Biology*, 44(4), 381–391. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.06.004>
- Zhang, Y., Guo, L. D., & Liu, R. J. (2004). Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. *Plant and Soil*, 261(1-2), 257–263. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000035572.15098.f6>
- Zhu, H. H., Yao, Q., Sun, X. T., & Hu, Y. L. (2007). Colonization, ALP activity and plant growth promotion of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi at low pH. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(4), 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.11.006>