

**Universidad Autónoma de Baja California**  
**Facultad de Ingeniería**  
**Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería**  
**Subcomité de Bioingeniería**



**DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ASOCIADOS A  
RAÍCES DE PLANTAS QUE CRECEN EN UN SUELO SALINO**

**TESIS**

**PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**

**JOSÉ ANATOLIO FÉLIX RUIZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. FERNANDO AMÍLCAR SOLÍS DOMÍNGUEZ**

**CO-DIRECTOR DE TESIS:**

**DRA. MA. DEL CARMEN ÁNGELES GONZÁLEZ CHÁVEZ**

**Mexicali, B.C. Mayo de 2024**

## **Dedicatoria**

A mis padres, **Anatolio Félix Ayón** y **Rosa de Guadalupe Ruiz Chávez**, por haberme dado todo para poder alcanzar mis sueños y aspiraciones. No tengo palabras para describir lo mucho que su compañía, amor, entendimiento y consejos me han ayudado a lo largo de este viaje.

A mi hermana, **Natalia Anahis Félix Ruiz**, por haber estado conmigo en mis momentos más difíciles y darme su apoyo para resolverlos. Esto hubiera sido más difícil sin tu ayuda hermanita.

A mis tías, **Glafira**, **Irma** y **Popita**, por siempre estar dispuestas escucharme y brindarme su apoyo.

A mis amigas y compañeras en el laboratorio, **Lupita** y **Joyce**, por todos los gratos momentos que pasamos juntos que hicieron esta experiencia aún más increíble.

A mis camaradas, **Saúl Roa** y **Celeste Gutiérrez**, que a pesar de estar en diferentes unidades académicas siempre me brindaron tiempo para escuchar mis preocupaciones. Les agradezco su ayuda y consejos, gracias a ellos pude resolver complicaciones a lo largo de la maestría.

A **Antonio**, **Carolina**, **Iván**, **Joel**, **José**, **Kevin**, **Luisa**, **Priscila**, **Rafael** y **Silvana**, que a pesar de haber tenido que distanciarme un poco siempre estuvieron ahí para apoyarme, escucharme y hacerme reír con sus ocurrencias.

## **Agradecimientos**

Se agradece al **CONAHCYT** por la beca otorgada para realizar los estudios de maestría.

Se le agradece a la **Universidad Autónoma de Baja California**, a la **Facultad de Ingeniería** y al **Programa de Bioingeniería** por haberme permitido usar las instalaciones y recursos necesarias para poder concluir este proyecto.

Al **Dr. Fernando Amílcar Solís Domínguez** por aceptarme en este proyecto y brindarme su guía, tiempo, dedicación y sobre todo paciencia a lo largo de la maestría y la elaboración de esta tesis.

A la **Dra. Aseneth Herrera Martínez** por los consejos, comentarios, tiempo y dedicación brindados que permitieron realizar este trabajo correctamente.

A la **M.I. Luz Estela Salazar Escalante** por compartir conmigo su tiempo y experiencia al realizar los análisis fósforo.

Al **Dr. Salvador Embarcadero Jiménez** por su apoyo en los análisis de diversidad, por brindarme asesoría en mis dudas sobre los temas relacionados a dichos análisis.

A la **Dra. Ma. del Carmen Ángeles González Chávez** y al **Dr. Rogelio Carrillo González** por brindarme asesoría, consejos, apoyo, su paciencia y su valioso tiempo. Muchas gracias doctores.

Esta investigación se financió con recursos procedentes de la **22ª convocatoria interna de apoyo a proyectos de investigación** de la Universidad Autónoma de Baja California. Clave del proyecto **105/6/C/41/22**.

Índice de figuras	6
Índice de tablas	8
1. Resumen	9
2. Introducción	10
3. Marco teórico	11
3.1 Salinidad en suelos	11
3.2. Mecanismos de adaptación salina en plantas	12
3.3. Hongos micorrízicos arbusculares	15
3.3.1. Diversidad de HMA en suelos salinos	15
4. Antecedentes	16
4.1 Antecedentes locales de salinidad en suelo	16
4.2 Hongos micorrízicos arbusculares en ambientes salinos	18
5. Planteamiento del problema	20
6. Justificación	20
7. Objetivo general	21
8. Objetivos específicos	21
9. Hipótesis	21
10. Materiales y métodos	22
10.1. Localización del sitio de estudio	22
10.2. Muestreos	22
11. Análisis físicos y químicos de suelo	23
12. Análisis microbiológicos	31
13. Clorofila en las hojas de las especies vegetales del sitio de estudio	33
14. Análisis de diversidad y componentes principales	34
15. Análisis de la superficie de esporas, esporocarpos e hifas mediante microscopia electrónica de barrido de bajo vacío	34
16. Identificación de hongos micorrízicos arbusculares mediante MALDI-TOF	35
17. Efecto de los inoculantes micorrizicos en especies vegetales de interes agricola bajo condiciones altamente salinas	36
18. Análisis estadístico	37
19. Resultados y discusiones	37
19.1. Muestreos	37

19.2.	Porcentaje de humedad	38
19.3.	pH y conductividad eléctrica (CE)	39
19.4.	Materia orgánica (MO)	40
19.5.	Textura de suelos	41
19.6.	Fósforo disponible	42
19.7.	Nitrógeno total	42
19.8.	Cationes solubles en el suelo	43
19.9.	Concentración de clorofila en las hojas de las especies vegetales del sitio de estudio	44
19.10.	Colonización micorrízica	45
19.11.	Correlación entre la colonización micorrízica y los datos de variables ecológicas del sitio de estudio	46
19.12.	Conteo de esporas y esporocarpos (suelo rizosférico del sitio de estudio)	48
19.13.	Propagación de hongos micorrízicos arbusculares en cultivos trampa	50
19.13.1.	Colonización micorrízica observada en las raíces de los cultivos trampa	50
19.14.	Extracción de esporas de HMAs de cultivos trampa.	51
19.15.	Conteo de propágulos (Cultivos trampa)	52
19.16.	Análisis de diversidad de las especies de HMA encontrados en campo y cultivos trampa	54
19.16.1.	Índice de Simpson, Shannon, Chao1 y Alfa de Fisher	54
19.16.2.	Curvas de rarefaccion de las especies de HMA	55
19.16.3.	Análisis de componentes principales (diversidad beta)	57
19.16.4.	Dendrogramas	59
19.16.5.	Análisis multivariantes	60
19.17.	Análisis de la superficie de esporas, esporocarpos e hifas mediante microscopía electrónica de barrido de bajo vacío	66
19.18.	Hongos micorrízicos arbusculares como promotores del crecimiento en especies vegetales de interés agrícola bajo condiciones altamente salinas	68
19.18.1.	Efecto en la morfología de las plántulas	68
19.18.2.	Altura, longitud de las raíces, peso seco y clorofila total	72
19.18.3.	pH, conductividad eléctrica y colonización micorrízica	76
20.	Conclusiones	81
21.	Referencias	83

Anexos	92
Anexo 1. Diagrama de fases de muestreo	92
Anexo 2. Diagrama de muestreos a realizar en el sitio de estudio	93
Anexo 3. Soluciones	94
Solución nutritiva Long-Ashton	94
Soluciones del método de Olsen (fósforo aprovechable)	95
Soluciones para el método micro-Kjedahl (nitrógeno total)	96
Soluciones para obtener cationes solubles en suelos	96
Anexo 4. HMA identificados	99

## Índice de figuras

Figura 1	Colonización micorrizica en las especies vegetales estudiadas.	46
Figura 2	Numero de esporas y esporocarpos en el suelo rizosférico de Isitio de estudio.	49
Figura 3	Morfotipos de esporas y esporocarpos obtenidos del suelo rizosférico de las especies de del sitio de estudio.	50
Figura 4	Estructuras micorrízicas observadas en las raíces de las plantas trampa en los cultivos de propagación con el suelo rizosférico de las especies vegetales del sitio de estudio.	51
Figura 5	Primeras esporas encontradas en los cultivos trampa.	51
Figura 6	Esporas y esporocarpos encontrados en los cultivos trampa.	53
Figura 7	Comparación entre las esporas encontradas en el suelo rizosférico en el sitio de estudio (SR) y los cultivos de propagación (CP).	53
Figura 8	Curvas de rarefacción y extrapolación de las especies encontradas en los suelos rizosféricos de campo.	56
Figura 9	Curvas de rarefacción y extrapolación de las especies encontradas en los suelos rizosféricos de las plantas trampa.	57
Figura 10	Grafica de componentes principales de las especies fúngicas de campo y las plantas trampa.	58
Figura 11	Dendrograma que muestra la similitud en la composición de especies de HMA en las plantas trampa y el campo.	60
Figura 12	Análisis de correlaciones canónicas (CCA) de las plantas de campo.	61
Figura 13	Correlación canónica (CCA) de las plantas trampa.	62
Figura 14	Análisis de redundancia (ADR) de los muestreos en campo.	64
Figura 15	Análisis ADR de los cultivos trampa.	65
Figura 16	Análisis de bajo vacío de las esporas de los cultivos de propagación.	66
Figura 17	Grafica obtenida del análisis de elementos químicos de las esporas de los cultivos de propagación.	67
Figura 18	Hifas de los cultivos regados con NaCl que muestran incrustaciones de sales en la superficie.	67
Figura 19	Análisis de elementos químicos en la superficie de las hifas de los cultivos regados con NaCl.	68
Figura 20	Comparación de los testigos de lechuga sin inocular con diferentes concentraciones de sal.	69
Figura 21	Comparación de los testigos de zanahoria sin inocular con diferentes concentraciones de sal.	69

Figura 22	Comparación de las plántulas de lechuga sin inocular (a), inoculas con HMA1 (b) e inoculadas con HMA2 (c).	70
Figura 23	Comparación de las plántulas de zanahoria sin inocular (a), inoculas con HMA1 (b) e inoculadas con HMA2 (c).	70
Figura 24	Comparación de las plántulas de lechuga con 75 mM de NaCl.	70
Figura 25	Comparación de las plántulas de zanahoria con 60 mM de NaCl.	71
Figura 26	Comparación de las plántulas de lechuga con 120 mM de NaCl.	71
Figura 27	Comparación de las plántulas de zanahoria con 120 mM de NaCl.	71
Figura 28	Efecto del NaCl e inoculación con dos consorcios micorrízicos en el crecimiento de zanahoria.	73
Figura 29	Efecto del NaCl e inoculación con dos consorcios micorrízicos en el crecimiento de lechuga.	74
Figura 30	Vesículas e hifas encontradas en las raíces de las plantas inoculadas con HMA2.	80
Figura 31	Vesículas, arbusculos, hifas y esporas encontrados en las raíces de las plantas inoculadas con HM1.	80
Figura 32	Espora ESP9	99
Figura 33	Espora ESP14	100
Figura 34	Esporocarpo NoCTM1	100
Figura 35	Esporocarpo NoCTM6	101

## Índice de tablas

Tabla 1	Localización georreferenciada del sitio de estudio.	37
Tabla 2	Temperatura del suelo rizosférico cercano a las plantas, así como la altura y el diámetro de su tronco/corona.	38
Tabla 3	Resultados obtenidos de porcentaje de humedad, pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO) y carbono orgánico (CO) del suelo rizosférico las especies de interés del sitio de estudio.	41
Tabla 4	Distribución de las partículas del suelo en porcentaje en los suelos rizosféricos de cada especie vegetal del sitio de estudio.	41
Tabla 5	Concentraciones de fósforo (P), nitrógeno (N) y la capacidad de intercambio de cationes (CIC) encontradas en los suelos rizosféricos de las especies de interés del sitio de estudio.	43
Tabla 6	Porcentaje de participación de los cationes intercambiables (CI) por especie.	44
Tabla 7	Concentración de pigmentos fotosintéticos encontrada en las hojas de las plantas de la Laguna salada.	45
Tabla 8	Coeficientes de diversidad de Simpson y Shannon realizados a las especies de HMA de campo y de los cultivos de propagación.	54
Tabla 9	Altura (cm) y longitud de las raíces (cm) obtenidas de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola <i>Daucus carota</i> (zanahoria) y <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>Longifolia</i> (lechuga romana).	74 a 75
Tabla 10	Pesos secos (g) obtenidos de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola <i>Daucus carota</i> (zanahoria) y <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>Longifolia</i> (lechuga romana).	75
Tabla 11	Clorofila total obtenidos ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola <i>Daucus carota</i> (zanahoria) y <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>Longifolia</i> (lechuga romana).	76
Tabla 12	Comparación de los datos de pH y conductividad eléctrica (CE) obtenidos de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola <i>Daucus carota</i> (zanahoria) y <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>Longifolia</i> (lechuga romana).	77 a 78
Tabla 13	Comparación de los porcentajes de colonización de las raíces de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola <i>Daucus carota</i> (zanahoria) y <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>Longifolia</i> (lechuga romana).	79

## 1. Resumen

Los problemas agrícolas en el Valle de Mexicali, Baja California producidos por la salinidad conllevan a la búsqueda de soluciones amigables con el medio ambiente y de costo accesible. Una alternativa a estos problemas son los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales viven en asociación simbiótica obligada con 80% de las plantas terrestres. Son una solución alternativa a los problemas de salinidad en suelos agrícolas, ya que aportan a las plantas beneficios que les permiten soportar las condiciones asociadas al estrés salino como sequía, pH altamente alcalino, escases de nutrientes, concentraciones elevadas de sales en el suelo, entre otras. El presente estudio tuvo como objetivo conocer la diversidad de HMA asociados a especies vegetales de un ambiente salino y su efecto como inoculante en lechuga y zanahoria para la región de Mexicali, Baja California. Se caracterizó al suelo, física y químicamente, del sitio de donde se recolectaron las especies *Pluchea sericea* (cachanilla), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Haplopappus* sp., *Prosopis* spp. (mezquite) y *Lycium andersonii* (frutilla). Se emplearon los indicadores de dominancia de Simpson, el índice de Shannon, el análisis de Chao-1 y el análisis alfa de Fisher para determinar la diversidad de HMA en las cuatro especies vegetales. Los inoculantes micorrízicos, obtenidos de *Prosopis* spp. (HMA1) y *Lycium andersonii* (HMA2), permitió a las hortalizas crecer durante tres meses en el suelo regado con soluciones de NaCl (60 y 120 mM). Se observó que el inoculante HMA2 fue mejor que HMA1. La diversidad de HMA en cada especie vegetal silvestre fue diferente, encontrándose un intervalo de 12 a 15 especies micorrízicas. Las plantas inoculadas con HMA2 toleraron mejor las sales que con HMA1; las zanahorias y lechugas crecieron más. Por lo que este inoculante podría usarse para mejorar el crecimiento de algunos cultivos como la zanahoria y la lechuga en los suelos salinos de Mexicali, Baja California.

## 2. Introducción

La salinidad del suelo es uno de los factores que más estrés genera en las plantas ya que esto reduce su crecimiento, modifica su morfología y fisiología. En plantas bajo estrés salino, se genera un aumento en la concentración de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , lo cual provoca una menor recepción de nutrientes esenciales (fósforo y nitrógeno) así como un decremento tanto en la eficiencia del uso del agua como en el tamaño del sistema radicular (daño morfológico), dando como resultado efectos adversos a la fisiología de las plantas. Ejemplos de esto son el mal funcionamiento de membranas celulares, las actividades enzimáticas, las membranas celulares y la reducción en la producción de fitohormonas.

Para contrarrestar los efectos negativos del estrés salino y sobrevivir, las plantas utilizan diferentes estrategias, una de ellas es la asociación con hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales participan en la regulación de consumo de agua mediante las acuaporinas. También, modifican la expresión de genes relacionados a aumentar la resistencia a la salinidad, así como aumentar la producción de la glicoproteína glomalina (esta glicoproteína que mejora la estructura y las propiedades del suelo), ofrecen alivio al estrés biótico y abiótico asociados a la presencia de altas concentraciones de sales (Hammer y Rillig, 2011; Miransari, 2017; Moreira et al., 2020; Scagel y Lee, 2020). Los HMA también pueden modificar la transpiración y conducción estomática de las plantas, mecanismo de vital importancia en el contexto ecológico pues regula la proporción de entrada de  $\text{CO}_2$  y la salida de vapor de agua, ejerciendo así una influencia reguladora en procesos como la fotosíntesis, hidratación y la acumulación de biomasa (Augé et al., 2014).

Los HMA son microorganismos que viven en una relación simbiótica mutualista con 80% de las plantas terrestres. Estos organismos están presentes en la mayoría de los ecosistemas y agrosistemas (Bianciotto et al., 1996). La inoculación de plantas con HMA es una alternativa sobresaliente en el sector agrícola debido a que la asociación HMA-planta aporta diversos beneficios de entre los que destacan: el incremento en la absorción de nutrientes del suelo, resistencia a enfermedades en raíces y follaje,

aumento en la producción de frutos, aumento en la tolerancia al estrés producido por condiciones adversas en el suelo como alta salinidad, sequías, presencia de metales pesados, etc. (Angulo-Castro et al., 2018; González Chávez et al., 2019; Goss et al., 2017). Diversas investigaciones han demostrado que, mediante la asociación simbiótica con HMA muchas plantas incrementan la absorción de minerales del suelo y agua, sin embargo, para que se obtengan estos beneficios se requiere seleccionar la combinación más efectiva entre planta y hongo micorrízico y así establecer una asociación eficiente y funcional (Adriano-Anaya et al., 2006; Gonzalez-Chavez et al., 2002; Solís-Domínguez et al., 2011). Esto ejemplifica como los HMA permiten a las plantas micorrizadas sobrevivir en condiciones adversas en las que no sobrevivirían sin dicha asociación (Barrer, 2009).

Esta investigación tiene como objetivo conocer la diversidad micorrízica presente en el suelo de La laguna Salada, así como encontrar y seleccionar especies de HMA locales adaptadas a las altas temperaturas y al estrés salino que mejoren el crecimiento de especies vegetales de interés agrícola (lechuga y zanahoria) expuestas a estas condiciones adversas.

### **3. Marco teórico**

#### **3.1 Salinidad en suelos**

La alta concentración de sales en suelos es toxica para la mayoría de las plantas, además de que disminuye el potencial osmótico del suelo. La acumulación de sales solubles en el suelo ocurre cuando la evaporación excede a la precipitación haciendo que las sales lixiviadas se acumulen en la capa superior del suelo (Vengosh, 2003). La salinidad del suelo más frecuente se da por presencia de NaCl, sin embargo, los suelos salinos suelen presentar distintas combinaciones de sales, siendo comunes los cloruros y los sulfatos. Los iones más frecuentes son: cationes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ , y aniones como  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ . Estos iones contribuyen diferencialmente a la conductividad eléctrica y a la toxicidad para los organismos. El estrés salino, producido por el exceso de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , es uno de los principales factores abióticos de reducción

vegetal para la mayoría de las especies de plantas, ya que afecta negativamente su crecimiento y características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. La salinización de suelos y su degradación afecta a más de 7% del total del suelo disponible en la superficie de nuestro planeta y 70% de la superficie agrícola a nivel mundial. La salinidad afecta alrededor de 800 millones de hectáreas de suelo árido y semiárido, donde hay problemas de temperaturas altas y falta de agua (Bencherif et al., 2015; Diao et al., 2021; Hadian-Deljou et al., 2020; Hussain et al., 2018) presentan problemas de salinidad. Como ya se mencionó, la salinidad afecta el potencial osmótico del suelo, adicionalmente, destruyen su estructura, genera dispersión de la arcilla, reduce la infiltración del agua, aireación y la disponibilidad de nutrientes. Otros factores que pueden afectar la acumulación de sales en los suelos es el uso de plaguicidas y fertilizantes agroquímicos (Cheng et al., 2021).

### ***3.2. Mecanismos de adaptación salina en plantas***

Las plantas utilizan diferentes mecanismos para aliviar el estrés causado por la salinidad; la regulación del potencial osmótico mediante la producción de solutos en las células de las plantas es uno de los más importantes. Este ajuste osmótico se logra mediante la exclusión de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  de las hojas, sin embargo, en ocasiones el aumento de la concentración de los iones antes mencionados en las células de las plantas regula la concentración de sales. Los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  son almacenados en las vacuolas para mantener su concentración en niveles no tóxicos; posteriormente hay un incremento en la concentración de iones  $\text{K}^+$  y de solutos orgánicos para regular la concentración iónica (Liu y Baird, 2003; Miransari, 2017; Munns y Gilliam, 2015).

Las plantas, especialmente las especies resistentes a la salinidad, pueden aliviar el estrés salino alterando su crecimiento y el ángulo de sus hojas, incrementando el crecimiento de la raíz para obtener un mayor acceso a las fuentes de agua subterráneas, produciendo osmolitos, activando antioxidantes y varios genes de estrés (Miransari, 2017).

Los mecanismos de adaptación salina por las plantas a nivel tejido son:

- Flor y fruta:
  - A. Alteración del tiempo de florecimiento. Pueden aumentar o disminuir (dependiendo la especie vegetal) el tiempo que les toma producir flores.
  - B. Retranslocación de fotosintatos. La translocación se realiza mediante el floema, el cual permite almacenar o transportar los fotosintatos (después de ser producidos por las células mesófilas) a otras partes de la planta en la que son necesarios.
- Hojas:
  - A. Distribución de la sal en diferentes partes de la planta (epidermis o en la vaina) para evitar que se almacene en el tejido mesófilo.
  - B. Retranslocación o excreción de sal. Las sales son transportadas de las raíces a la parte aérea donde se almacenan en los tallos o en las hojas, posteriormente se excretan mediante glándulas especiales y se depositan en la superficie (Castorena et al., 2006).
- Tallo:
  - A. Control del transporte a larga distancia.
  - B. Almacenamiento de sal.
- Raíces:
  - A. Exclusión de aproximadamente 95% de sal en la solución del suelo.
  - B. Remoción de sal del xilema (tejido vegetal que suministra líquidos de una parte a otra de las plantas vasculares). Mediante la translocación la planta mueve las sales y las deposita en otros sitios dentro de ella.
  - C. Asociaciones simbióticas con hongos micorrízicos y *Rhizobium* o con rizobacterias promotoras del crecimiento en planta (PGPR, por sus siglas en inglés). La asociación simbiótica con los microorganismos mencionados otorga beneficios a la planta que le permiten acceder a diferentes estrategias para sobrevivir a ambientes salinos.
  - D. Cambios en la arquitectura de las raíces (topología de las raíces, distribución espacial de las raíces primarias y laterales, así como el número

y longitud de los tipos de raíces). Estos cambios se logran mediante la modificación de diferentes genes, por ejemplo, CRL (crecimiento de las raíces laterales) y ORC (Desarrollo de las raíces) (Ambreetha et al., 2018).

Los mecanismos usados por las plantas a nivel celular son:

- Regulación osmótica. Las plantas pueden utilizar iones inorgánicos o solutos orgánicos para regular el déficit de agua y la toxicidad producida por los iones en las células. En el caso de usar iones inorgánicos, la planta transporta iones a la parte aérea con el fin de regular las proporciones de  $K^+/Na^+$  y  $Ca^{2+}/Na^+$ . También secuestra  $Na^+$  y  $Cl^-$  en las vacuolas de las células. Por otra parte, si se utilizan solutos orgánicos la planta los sintetiza y acumula en el citoplasma (Chen y Jiang, 2010).
- Modificación en la pared celular. Las plantas responden al estrés salino alterando la síntesis y deposición de componentes principales de las paredes celulares para prevenir la pérdida de agua y evitar el transporte de iones dentro de la planta (Dabravolski y Isayenkov, 2023).
- Desintoxicación de especies reactivas de oxígeno (EROs). Cuando el balance entre la producción y eliminación de las EROs se ve afectado por la presencia de sales las plantas utilizan componentes enzimáticos como la superóxido dismutasa (SOD) y antioxidantes no enzimáticos como el ácido ascórbico (AA) para eliminar las EROs (Das y Roychoudhury, 2014).
- Ajuste del potencial osmótico.
- Transporte y funcionamiento de proteínas. Al estar sometidas al estrés salino las plantas producen cantidades abundantes de proteínas relacionadas al estrés salino para ayudar con la regulación osmótica. Estas proteínas pueden ser enzimas complejas que regulan la biosíntesis del azúcar o proteínas que protegen las membranas celulares de problemas estructurales (Athar et al., 2022).
- Homeóstasis de iones de nutrientes como  $K^+$  y  $NO_3^-$ .
- Compartimentación de iones en las vacuolas.

### **3.3. Hongos micorrízicos arbusculares**

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos del suelo que establecen simbiosis del tipo mutualista con 80% de las plantas terrestres (Bianciotto et al., 1996). Estos microorganismos abundan en la rizósfera haciendo simbiosis con más de 200 mil especies de plantas. Sin embargo, su diversidad es baja y se han descrito solamente 240 especies, las cuales han sido descritas (Lee et al., 2013).

Al darse la simbiosis, dentro de las células corticales de la planta se establecen las hifas del hongo formando estructuras llamadas arbusculos, vesículas (en algunas especies), hifas y esporas. Mientras que al exterior de las células de las raíces de las plantas se establece el micelio del hongo que se expande en el suelo y realiza la búsqueda de nutrientes del suelo que requiere la planta.

Los arbusculos (la estructura típica de la simbiosis micorrízica arbuscular) son hifas que se dividen dicotómicamente, están incluidos en la membrana plasmática de las células corticales y presentan periodos de vida cortos. En ellos se realiza el intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo; la planta provee al hongo principalmente de carbohidratos derivados de la fotosíntesis a cambio de fosfatos y minerales que el hongo obtiene del suelo. Por otro lado, las vesículas son estructuras de almacenamiento que se forman en la parte terminal de las hifas del hongo (Barrer, 2009).

#### *3.3.1. Diversidad de HMA en suelos salinos*

Los HMA tienen resistencia al estrés producido por la salinidad, sin embargo, este estrés abiótico impacta a la diversidad de las comunidades micorrízicas, la colonización de las raíces y la cantidad de esporas disponibles. Diversos trabajos como los de Guan et al., (2020), Becerra et al., (2014) y Lumini et al., (2020) han mostrado que familias de HMA como *Gigasporaceae*, *Diversisporaceae*, *Acaulosporaceae* y *Glomeraceae* son predominantes en suelos salinos.

*Gigasporaceae* es una familia de HMA que posee una pared exterior permanente la cual cubre una capa laminada formada por subcapas sueltas. En su interior el contenido se separa de la célula esporogénea bulbosa mediante un tapón. Esta familia tiene seis

géneros: *Gigaspora*, *Cetraspora*, *Dentiscutata*, *Racocetra* y *Scutellospora* (Morton et al., 1990).

*Diversisporaceae* es una familia que posee esporas glomoides, algunas de las cuales forman un peridio (capa protectora que encierra a las esporas) que se ramifica a partir de la hifa subyacente que puede dar como resultados pequeños grupos de 2 a 3 esporas. Esta familia tiene dos géneros registrados: *Diversispora* y *Redeckera* (Walker et al., 2007).

*Acaulosporaceae* todos los miembros de esta familia forman esporas en o dentro del cuello de un segmento alargado de una hifa, el cual se expande mientras la espora se forma y poco a poco toma la forma de un saco al que se le denomina sáculo esporífero. A medida que la espora crece el contenido del sáculo comienza a dispersarse y finalmente desaparece cuando termina el crecimiento de las esporas. Esta familia tiene dos géneros registrados: *Acaulospora* y *Entrophospora* (Gerdemann y Trappe, 1974; Stürmer y Morton, 1999).

*Glomeraceae* forma esporas con forma glomoide y son producidas cerca de la superficie del suelo en esporocarpos con o sin peridio, también pueden crecer como esporas solitarias o en grupos. Las esporas son producidas en matrices de hifas que pueden ser altamente organizadas o no tener nada de orden. Hay casos en los que las esporas pueden ser formadas dentro de la raíz. Esta familia tiene cuatro géneros: *Funneliformis*, *Glomus*, *Rhizophagus* y *Septoglomus* (Schüßler y Walker, 2010).

## **4. Antecedentes**

### **4.1 Antecedentes locales de salinidad en suelo**

Ward (2001) explicó la problemática de la salinidad en el valle de Mexicali en Baja California durante el periodo de 1961 a 1965 y cuyas secuelas siguen afectando hasta el día de hoy. Durante ese periodo se realizaron investigaciones debido a la presencia excesiva de sal en las tierras de cultivo de la región. En 1960 se documentó que había  $33 \text{ mg mL}^{-1}$  de sales en 550 mil hectáreas de agua lo que equivale a 60 mil toneladas de sales. Al año siguiente hubo aumento de 1636%; equivalente a 998,784 toneladas y

finalmente en 1964 (cumbre de la crisis) se produjeron 1,244,081.6 toneladas de sales en la zona. Se consideraron dos puntos de vista, el primero siendo el de los inversionistas y políticos, y el segundo el de los habitantes del valle quienes presenciaron cómo sus cultivos antes fructíferos ahora morían o producían mucho menos. La investigación reveló que la causa de la contaminación salina se debió a que Estados Unidos vertió agua salina hacia tierras mexicanas. Hasta 1974, Estados Unidos se comprometió a reducir las emisiones salinas a la región mexicana. Sin embargo, Payne et al. (1979) comprobaron que la contaminación salina de la crisis de años atrás siguió latente. Mediante el estudio de isótopos ambientales se buscó descubrir la causa del exceso salino del agua subterránea del valle de Mexicali. La principal hipótesis fue que de alguna forma el agua de mar se infiltró en el Río Colorado; sin embargo, la verdadera causa de esta problemática fue que el agua del río tenía carga salina elevada y mediante infiltración el agua contaminada se mezcló con la subterránea.

En tiempos más recientes la investigación realizada por Judkins y Myint (2012) buscó proveer a los granjeros del Valle de Mexicali una herramienta que les permitiera saber la concentración de sales en los campos a lo largo del valle. En este trabajo se mencionan tres datos muy interesantes como:

1. La clasificación de los suelos del Valle de Mexicali. Estos están en la categoría de aridosoles (suelos de color castaño o gris que se encuentran en zonas áridas y semiáridas). Los aridosoles se caracterizan principalmente por su falta de agua para plantas mesófitas (plantas que se encuentran en una situación intermedia, es decir, las plantas que un ambiente que no puede tener mucha agua, pero al mismo tiempo no pueden vivir en ambientes que tengan una concentración muy baja de agua).
2. La textura del suelo del valle, la cual se menciona que es generalmente arenosa, con áreas limitadas en el borde occidental del valle con mayor concentración de arcilla.
3. Las temporadas principales de cultivo:

- Verano (mayo a septiembre) – trigo, sorgo, algodón, cultivos para obtener aceite de sus semillas.
- Invierno (octubre a mayo) – cultivos de alto valor para exportación. Se menciona que esta temporada es la ideal en caso de que se quieran hacer muestreo de suelos.

Mediante entrevistas con los productores en el valle de Mexicali los investigadores concluyeron que la salinización del suelo es una preocupación importante para todos los habitantes de esta zona ya que influye sobre las decisiones para el uso de la tierra de los agricultores. Para evitar la salinización del suelo los agricultores se han desplazado a suelos menos salinos con la finalidad de minimizar la pérdida de cultivos.

#### **4.2 Hongos micorrízicos arbusculares en ambientes salinos**

Como se ha descrito anteriormente los HMA otorgan a las plantas diferentes beneficios que les permiten adaptarse a suelos contaminados por concentraciones elevadas de sales. Shi et al. (2006) demostraron que los HMAs permiten el desarrollo de las plantas nativas en la cuenca de Junggar, la cual es una de las zonas sedimentarias más grandes del noroeste de China, y comprobaron que los HMA son un componente común e importante en la adaptación de las plantas a ecosistemas con características desfavorables en este caso como la sequía extrema y salinidad.

Lo anterior se vio respaldado en la investigación de Tigka e Ipsilantis (2020) en la cual examinaron los efectos de los HMA en lechuga (*Lactuca sativa*, L.) utilizando hongos provenientes de una zona costera (*Innospora* spp y *Diversispora* spp), un desierto salino (*Septoglomus desertícola*) y un suelo agrícola no salino (*Rhizophagus intraradices*). Las pruebas se realizaron en un terreno salino y se observó que los HMA provenientes de dunas costeras no fueron más eficientes en la promoción de crecimiento que los otros tipos de HMA, sin embargo, permitieron a la planta objetivo desarrollar un sistema radical más grande, mayor consumo total de K (potasio) y una menor concentración de prolina en los brotes. Yan et al. (2021) analizaron desde otro punto de vista el efecto que tienen los HMA sobre las plantas, en este caso también utilizaron lechuga, y observaron que

estos microorganismos tienen un efecto positivo en la anatomía de las hojas, los pigmentos fotosintéticos y la fluorescencia clorofílica de plantas de lechuga establecidas en terrenos salinos y áridos con temperaturas entre los 25 y 35°C. En este experimento se observó que las altas temperaturas produjeron daño ultra estructural en las hojas, destruyendo los cloroplastos y modificando su morfología. Sin embargo, al utilizar HMA se notó un aumento en la producción de clorofila, recuperación de biomasa, reducción de estrés ante las altas temperaturas y protección contra el daño morfológico.

La expresión de genes enfocados a la resistencia salina es otro método que los HMA utilizan para ayudar a las plantas a sobrevivir en estos. Por ejemplo, los HMA pueden regular a las acuaporinas; Cheng et al., (2021) registraron que los HMA intervenían de en la regulación de las acuaporinas cuando las plantas estaban expuestas a tratamientos de riego diferentes (bien regado, estrés salino y estrés por anegamiento). Otro ejemplo relacionado a los efectos de los HMA en la expresión de genes es la investigación de Shahvali et al., (2020) quienes reportaron la aparición de 548 genes en la especie vegetal GF677 (un híbrido de *Prunus dulcis* y *Prunus pérsica* cultivado en un suelo salino), de entre los cuales dos de estos genes se presentaron únicamente en las plantas inoculadas con HMA (*R. intraradices* y *F. mosseae*). Adicionalmente, Diao et al., (2021) reportaron un trabajo con el HMA *Funneliformis mosseae* y la planta halófila *Suaeda salsa*. En dicho trabajo se utilizaron diferentes concentraciones de sal (0, 100, 200 y 400 mM NaCl) y se observaron la sobreexpresión de genes encargados de la regulación salina en retoños y raíces de la planta.

Las investigaciones antes mencionadas funcionan como un antecedente para investigaciones que buscan utilizar HMA en el rescate de suelos agrícolas contaminados con sales. Esto es importante ya que como se menciona en la investigación de Porcel (2012) los problemas de salinidad en campos de cultivo impactan hasta 20% la producción de las tierras agrícolas a nivel mundial, sin embargo, el impacto negativo se ve reducido por el uso de HMA y la resistencia salina que le otorga a las plantas. Por ejemplo, Elhindi et al., (2017) observaron que en plantas *Ocimum basilicum* inoculadas con el HMA *Glomus desertícola*, se mitigaba el daño fisiológico ocasionado por la salinidad del suelo lo cual contribuiría a la restauración de zonas de cultivo salinas.

También observaron una reducción en la absorción de K, P y Ca (ocasionada por la salinidad excesiva en el suelo), mejoras en el balance entre  $K^+/Na^+$  y  $Ca^{2+}/Na^+$ , aumento en la resistencia salina y mayor producción de albahaca dulce. La inoculación con HMA aumentó el contenido de clorofila y la eficiencia del gasto de agua bajo estrés salino.

## **5. Planteamiento del problema**

Los suelos del Valle de Mexicali han estado contaminados por sales ( $NaCl$ ,  $MgCl_2$  y  $CaCl_2$ ) desde 1960, dicha problemática se intensifica debido a los cambios ambientales que provocan aumentos de temperatura anuales drásticos lo que a su vez acelera la acumulación salina y la pérdida de cultivos.

## **6. Justificación**

Se desconoce la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados a las raíces de las plantas adaptadas al suelo salino de la Laguna Salada y la capacidad que estos tienen para promover el crecimiento de especies vegetales de interés agrícola. Es necesario desarrollar un inoculante micorrízico que se pueda utilizar como promotor del crecimiento en cultivos de la región y recuperar suelos actualmente no cultivables debido a problemas de la salinidad del suelo. Es relevante usar los hongos adaptados a las condiciones de estrés locales y evitar la introducción de especies foráneas. Es importante entender cómo sobreviven algunas plantas que crecen en ambientes salinos y altas temperaturas cuando éstas se asocian a HMA, ya que la concentración de sales en el Valle de Mexicali va incrementando semejándose a la Laguna Salada o el sitio de estudio. Además, es importante conocer el efecto de la inoculación de HMA aislados del sitio de estudio, en algunas especies vegetales de interés agrícola de la región.

## **7. Objetivo general**

Conocer la diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados a especies vegetales de un ambiente salino y su efecto como inoculante en dos especies de interés agrícola (lechuga y zanahoria) en la región de Mexicali, Baja California.

## **8. Objetivos específicos**

- Determinar las características ecológicas de las especies vegetales (altura, diámetro del tronco, temperatura del suelo rizosférico y no rizosférico) del sitio de estudio y correlacionarse con los HMAs participantes en la supervivencia de las plantas del sitio de estudio.
- Propagar los hongos micorrízicos aislados de las muestras de campo en condiciones de invernadero para utilizar esporas sanas en los experimentos a realizar.
- Seleccionar un inoculante micorrízico que promueva el crecimiento en dos especies de interés agrícola bajo condiciones altamente salinas (60 y 120 mM NaCl).

## **9. Hipótesis**

- La diversidad de especies de hongos micorrízicos arbusculares es igual en cada especie vegetal estudiada en campo.
- La asociación micorrízica, en condiciones de invernadero, promueve el crecimiento de las dos especies vegetales de interés agrícola (lechuga y zanahoria) bajo condiciones altamente salinas (60 y 120 mM).

## **10. Materiales y métodos**

### **10.1. Localización del sitio de estudio**

La Laguna Salada se localiza en la parte noroeste de estado de Baja California dentro del municipio de Mexicali, entre los paralelos 31°23'00" y 32°39'00" latitud norte y los meridianos 115°02'00" y 115°59'00" de longitud oeste, con superficie aproximada de 5,689 km<sup>2</sup>. Está delimitada al norte con el cerro El Centinela, al sureste con la Sierra de las Pintas, al este con las Sierras Cucapá y El Mayor, y al oeste con la Sierra Juárez (Compean-Jiménez et al., 1981; CONAGUA, 2020).

### **10.2. Muestreos**

#### *Plantas*

Las siguientes especies de plantas se seleccionaron: *Pluchea sericea* ("cachanilla"), *Larrea tridentata* (gobernadora), *Haplopappus* sp., *Prosopis* spp. (mezquite) y *Lycium andersonii* (frutilla), las cuales, en un estudio exploratorio previo presentaron colonización micorrízica. Del sitio de estudio se recolectaron raíces, ramas y hojas de las especies vegetales mencionadas y se realizaron mediciones del grosor del tallo y altura de éstas (Anderson e Ingram, 1993; Khalil et al., 2011; Parvin et al., 2019; Santander et al., 2021; Scagel y Lee, 2020; Zhang et al., 2019). Las hojas se utilizaron para cuantificar la concentración de clorofila a, b y total (Yan et al., 2021) y las raíces para determinar la colonización micorrízica (Phillips y Hayman, 1970).

#### *Suelo no rizosférico*

Se recolectaron 15 muestras de suelo no rizosférico en los primeros 30 cm de profundidad y se les realizaron los análisis físicos y químicos según la NOM-021-RECNAT-2000. Las muestras se secaron a temperatura ambiente en la sombra y

posteriormente se tamizaron mediante malla de tamaño de poro < 2 mm. Estas muestras se utilizaron para determinar fósforo disponible (Olsen et al., 1954), nitrógeno total (Kjeldahl, 1883), pH y conductividad eléctrica (Anderson e Ingram, 1993; NOM-021-RECNAT-2000, 2002), el porcentaje de humedad (NOM-021-RECNAT-2000, 2002), materia orgánica (Walkley y Black, 1934), cationes solubles y micronutrientes del suelo rizosférico (Anderson e Ingram, 1993; NOM-021-RECNAT-2000, 2002).

### *Suelo rizosférico*

Para la recolección de muestras de suelo rizosférico, primero se removieron los restos de plantas y de materia orgánica de la superficie cercana a la base del tallo de las plantas de estudio. Se excavaron los primeros 30 cm de profundidad y se tomaron aproximadamente dos kg de suelo rizosférico, que posteriormente se colocaron en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio. Las muestras obtenidas se secaron a temperatura ambiente y se tamizaron mediante malla de tamaño de poro < 2 mm. A estas muestras de suelo se les realizaron análisis físicos y químicos como se indicó en la sección 11, y se realizó la cuantificación de esporas de HMA presentes en dichas muestras (Anderson e Ingram, 1993; NOM-021-RECNAT-2000, 2002; Santander et al., 2021; Wang et al., 2016; Zhang et al., 2019). El registro de las coordenadas geográficas se realizó, mediante el cartógrafo eTrex 30 de GARMIN.

## **11. Análisis físicos y químicos de suelo**

### *pH y conductividad eléctrica*

Se pesaron 10 g de muestra de suelo rizosférico de cada planta, por triplicado (Anderson e Ingram, 1993): las muestras se colocaron en vasos de precipitados y se les agregaron dos volúmenes de agua destilada. Cuando las muestras de suelo quedaron completamente humedecidas se agitaron con una barra magnética en un agitador eléctrico, la mezcla se agitó durante 30 min, posteriormente se dejó reposar 15 min. La

determinación de pH se realizó a temperatura ambiente con un potenciómetro HI2210, HANNA INSTRUMENTS (calibrado con soluciones reguladoras de pH 4.00 y pH 7.00). La conductividad eléctrica se midió con un puente de conductividad HACH HQ430d flex.

#### *Determinación de materia orgánica en las muestras de suelo*

Se pesaron 0.5 g de suelo seco y previamente tamizados en malla de dos mm, después se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL. Posteriormente, mientras se agitaba manualmente el matraz, se adicionaron cuidadosamente 10 mL de dicromato de potasio 1 N. Luego se agregaron, con ayuda de una bureta, 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a la suspensión. Después se agitó cuidadosamente el matraz durante un minuto. Durante 30 min se dejó reposar y posteriormente se añadieron 200 mL de agua destilada y cinco mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado. Finalmente, de cinco a 10 gotas de indicador de difenilamina se agregaron y con una disolución de sulfato ferroso gota a gota se tituló hasta que se observó un punto final verde claro (NOM-021-RECNAT-2000, 2002; Walkley y Black, 1934).

#### *Determinación de porcentaje humedad*

Se pesaron dos g de muestra de suelo húmedo en platos de aluminio, los cuales se colocaron dentro de una estufa a 105°C durante 24 h. Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar en un desecador a temperatura ambiente (22 – 25°C) (NOM-021-RECNAT-2000, 2002). Posteriormente, las muestras se pesaron y se realizaron los cálculos de humedad mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{Peso seco}}{\text{Peso húmedo}} \times 100$$

### *Determinación de la textura de suelos*

Se pesaron 60 g de suelo de textura fina o 120 g de suelo de textura gruesa en un vaso de precipitados de 500 mL al cual se le agregaron 40 mL de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) y después se dejó evaporar hasta sequedad. Posteriormente se agregaron 40 mL de  $H_2O_2$  y se observó la reacción. El procedimiento se repitió hasta que no hubiera efervescencia del  $H_2O_2$  (dos veces).

Después de eliminar la materia orgánica y llevar a sequedad el suelo, 100 g de suelo se pesaron y se colocaron en un vaso de precipitado de 250 mL. Se adicionó agua destilada hasta formar una capa superficial de dos cm. Posteriormente, cinco mL de oxalato de sodio ( $Na_2C_2O_4$ ) y cinco mL de metasilicato de sodio ( $Na_2SiO_3$ ) se añadieron y se dejó reposar de 15 a 30 min.

Las muestras de suelo en tratamiento, contenidas en los vasos de precipitado, fueron agitadas con ayuda de un agitador magnético durante cinco min. El contenido de cada vaso de precipitados se pasó individualmente a probetas de 1000 mL, removiendo, con ayuda de agua destilada contenida en una piseta, cualquier remanente adherido a las paredes del vaso de precipitados. Posteriormente, un hidrómetro se colocó dentro de la suspensión, luego se sacó y la muestra de suelo se mezcló durante un minuto con un agitador. Las lecturas del hidrómetro se tomaron a los 40 s y otra después de dos h de terminada la dispersión con el agitador manual. La determinación se hizo por triplicado (Bouyoucos, 1936).

### *Determinación del fósforo disponible*

La concentración de fósforo disponible en las muestras de suelo se obtuvo mediante el método de Olsen et al (1954). Para esto 2.5 g de suelo previamente tamizado por malla de 2 mm se pesaron y colocaron en matraces Erlenmeyer de 125 mL de capacidad. Después 50 mL de solución extractora se anexaron (Anexo 3), los matraces se taparon y la suspensión se mezcló en un agitador de acción recíprocante durante 30 min a 180

oscilaciones por minuto. Después de agitar la suspensión se filtró inmediatamente a través de papel filtro Whatman No. 42.

Los blancos se prepararon a partir de alícuotas de solución extractora y se adicionó la solución reductora mencionada en el Anexo 3. Una alícuota de cinco mL o 10 mL de filtrado se tomó con base en la concentración de fósforo y se colocó en un matraz aforado de 50 mL. Después cinco mL de la solución reductora se le agregaron, se agitó y aforó con agua destilada hasta 50 mL, después de 30 min se realizó la lectura a una longitud de onda de 882 nm en un espectrofotómetro SmartSpec™ Plus de la marca BIO-RAD.

Una curva de calibración se preparó con concentraciones de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg L<sup>-1</sup> de fósforo. Después, 0, 1, 2, 4, 6 y 10 mL de la solución de cinco mg L<sup>-1</sup> de fósforo se transfirieron a matraces aforados de 50 mL, luego se le adicionó un volumen de solución extractante de NaHCO<sub>3</sub> 0.5 M igual a la alícuota empleada para medir en las muestras desconocidas, una vez realizado esto se ajustó el volumen a 40 mL con agua destilada y adicionaron cinco mL de la solución reductora con ácido ascórbico.

Nuevamente se agitó y se realizó la lectura 30 min después a 882 nm (invariablemente se tomaron las muestras a los 30 min o un poco después sin llegar a la hora). La lectura de las muestras y los blancos se realizó al mismo tiempo de reacción, contando el tiempo desde que se agregó el reactivo que generó el complejo hasta el momento de la lectura (NOM-021-RECNAT-2000, 2002; Olsen et al., 1954; Olsen y Sommers, 1983). La concentración de fósforo disponible se calculó con la siguiente ecuación:

$$P \text{ (mg kg}^{-1}\text{ de suelo)} = CC \times \frac{V_i}{p} \times \frac{V_f}{a}$$

Donde:

P = Es fósforo.

CC = mg L<sup>-1</sup> es la concentración de P en la solución. Esto se obtiene graficando la curva de calibración (absorbancia contra mg L<sup>-1</sup>) e interpolando en la misma los valores de absorbancia de las muestras analizadas.

V<sub>i</sub> = volumen de la solución extractora adicionada.

p = peso de la muestra de suelo seca al aire.

Vf = volumen final de la solución colorimétrica a leer.

a = alícuota de la muestra empleada para la cuantificación.

### *Determinación del nitrógeno total*

Para la determinación del nitrógeno total en las muestras de suelo rizosférico se utilizó el procedimiento micro-Kjeldahl. 100 g de suelo previamente tamizado a través de malla 60 se pesaron y dependiendo de la concentración de materia orgánica encontrada en ellos, se utilizaron 1, 0.5 y 0.25 g de muestra (para suelos con 2, 4 y 8% de materia orgánica respectivamente). Posteriormente, la muestra se colocó en un frasco micro-Kjeldahl seco y adicionó 1.1 g de mezcla de catalizadores  $K_2SO_4$  (Anexo 3), tres mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado y se calentó en una unidad digestora a temperatura media alta hasta que el digestado se tornó claro. La mezcla hirvió durante 1 h a partir del momento en el que se tornó claro. En esta fase se reguló la temperatura para lograr que los vapores de ácido sulfúrico se condensaran en el tercio inferior del cuello del tubo de digestión. Al concluir la fase anterior el frasco se dejó enfriar y posteriormente se agregó suficiente agua destilada (15 a 20 mL) para colocar en suspensión el digestado, mediante agitación. Las partículas de sílice se decantaron evitando la precipitación de cristales de sulfato de amonio. El contenido líquido se transfirió a la cámara de destilación del aparato, lavando el matraz de digestión con pequeñas porciones de agua. Posteriormente, en el tubo de salida del aparato de digestión se colocó un matraz Erlenmeyer de 125 mL conteniendo 10 mL de  $H_3BO_3$  + indicadores (Anexo 3). 10 mL de NaOH 10 N se adicionó de manera cuidadosa de modo que la sosa se depositó en el fondo de la cámara de destilación. El flujo de vapor se conectó e inició la destilación hasta que el volumen alcanzó los 75 mL en el frasco Erlenmeyer. Finalmente, el nitrógeno amoniacal presente en el destilado se determinó por titulación con ácido sulfúrico 0.01 N. Blancos se prepararon siguiendo exactamente el mismo procedimiento que en las muestras (NOM-021-RECNAT-2000, 2002). En el punto final el color cambió de verde a rosa tenue. La concentración total nitrógeno se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%N \text{ total} = (Vm - Vb) \times N \times \left(\frac{14}{p}\right) \times 10$$

Donde:

$V_m$  = Volumen de ácido sulfúrico empleado al titular la muestra.

$V_b$  = Volumen de ácido sulfúrico empleado al titular el blanco.

$N$  = Normalidad exacta del ácido sulfúrico.

$$\text{Normalidad (ácido sulfúrico } H_2SO_4) = \left(\frac{0.025 \text{ g}}{53}\right) \times \left(\frac{1}{V_{H_2SO_4}}\right)$$

Donde:

$V_{H_2SO_4}$  = Volumen de ácido sulfúrico gastado en la titulación, expresado en litros.

14 = Peso equivalente del nitrógeno.

10 = Factor de conversión a porcentaje.

$P$  = Peso de la muestra de suelo en g.

#### *Determinación de capacidad de intercambio catiónico*

La CIC es la capacidad del suelo de retener e intercambiar cationes. Esta provee un efecto amortiguador a los cambios de pH, nutrientes disponibles, niveles de calcio y cambios estructurales. Por lo tanto, la CIC tiene un papel importante en la estabilidad de los suelos, así como en la disponibilidad de nutrientes y en el pH del suelo. Para realizar el cálculo de la CIC en suelos alcalinos se utilizan los cuatro cationes más abundantes en los suelos los cuales son calcio ( $Ca^{2+}$ ), magnesio ( $Mg^{2+}$ ), potasio ( $K^+$ ) y sodio ( $Na^+$ ). Los cationes individuales al ser sumados dan un valor que se conoce como CIC efectiva y estos pueden ser expresados como porcentaje de CIC efectiva (Hazelton y Murphy, 2007).

El método AS-12 se utilizó para conocer la concentración de cationes solubles (Ca, Mg Na y K) y así calcular la capacidad de intercambio catiónico (CIC) de acuerdo a la NOM-021-RECNAT-2000. cinco g de suelo secado al aire y tamizado por malla de apertura de 2 mm se pesaron y transfirieron a un tubo de propileno de 50 mL.

Posteriormente, 33 mL de solución de acetato de amonio se agregaron y se agitó en posición horizontal durante 10 min. Al terminar, se centrifugó a 2500 rpm hasta que el líquido sobrenadante se tornó claro y posteriormente se decantó en un matraz de 100 mL. La extracción se repitió dos veces más, se aforó con acetato de amonio y se guardó para la posterior determinación de bases intercambiables (solución A).

Al sedimento de cada muestra se agregaron 30 mL de la solución de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 1N; se agitó durante 10 min, luego se centrifugó hasta que el líquido sobrenadante quedó claro y se desechó por decantación. 30 mL de la solución de cloruro de amonio 0.25 N se agregaron, se agitó durante 10 min, se centrifugó y posteriormente el sobrenadante se desechó. La muestra se lavó con 30 mL de alcohol, se agitó durante 10 min, se centrifugó y se eliminó cada vez el sobre nadante.

Para la prueba de cloruros, una muestra de 10 mL del sobrenadante alcohólico se tomó en un tubo de ensaye y cuatro o cinco gotas de nitrato de plata se agregaron. En caso de observarse un ligero precipitado blanco (la reacción es positiva) el lavado se continuó hasta que la prueba de cloruros fue negativa.

El amonio absorbido se reemplazó con tres porciones de 33 mL de  $\text{NaCl}$  10%, se agitó durante 10 min y posteriormente se centrifugó. En un matraz volumétrico de 100 mL se decantó y aforó. Luego, a partir de la alícuota de 10 mL se determinó el amonio, esta se transfirió a un matraz Kjeldahl de 300 mL y se adicionaron ocho mL de  $\text{NaOH}$  al 40% se agregaron y se conectó al aparato de destilación micro-Kjeldahl. Finalmente, el producto de la destilación se recogió en un matraz Erlenmeyer el cual contenía 10 mL de indicador mixto y ácido bórico (Anexo 3, soluciones para obtener cationes solubles). Finalmente, con  $\text{HCl}$  0.01N por titulación se determinaron los cationes solubles.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se calculó mediante los siguientes cálculos:

$$CIC = 200(V)(N)$$

En donde:

V = volumen (mL) de  $\text{HCl}$  empleado al titular lo destilado en la solución borada.

N = normalidad del  $\text{HCl}$ .

Para determinar Ca y Mg intercambiables 0.5 mL de la solución A se transfirieron en un tubo de ensaye. Después 9.5 mL de la solución diluida de lantano se añadieron y se mezcló. Finalmente, la concentración de Ca y Mg se midió en las curvas de calibración, el blanco y la muestra por espectrofotometría de absorción atómica a longitud de onda de 422.7 y 285.2 nm, respectivamente, usando una flama de aire-acetileno. Los cálculos fueron los siguientes:

$$Ca (Cmol (+)Kg^{-1}) = 9.98 \times \frac{a - b}{w}$$

$$Mg (Cmol (+)Kg^{-1}) = 16.447 \times \frac{a - b}{w}$$

Donde:

a = concentración de Ca o Mg medido en la muestra (mg L<sup>-1</sup>)

b = concentración de Ca o Mg medido en el blanco (mg L<sup>-1</sup>)

w = peso del suelo seco (g)

Para obtener Na y K intercambiables un mL de la solución A se transfirieron en un tubo de ensaye. Posteriormente, un mL de la solución de cloruro de cesio acidificada se añadió. Luego ocho mL de agua destilada se añadieron y mezclaron. Finalmente, la concentración de Na y K en las muestras blanco y las series estándar se midió por espectrofotometría de emisión de flama a longitud de onda de 589 y 765.5 nm, respectivamente.

Los cálculos fueron los siguientes:

$$Na (Cmol (+)Kg^{-1}) = 4.347 \times \frac{a - b}{w}$$

$$K (Cmol (+)Kg^{-1}) = 2.557 \times \frac{a - b}{w}$$

Donde:

a = concentración de Na o K medido en la muestra ( $\text{mg L}^{-1}$ )

b = concentración de Na o K medido en el blanco ( $\text{mg L}^{-1}$ )

w = peso del suelo seco (g)

## 12. Análisis microbiológicos

### *Frecuencia de la colonización micorrízica*

Las raíces (aproximadamente 100 segmentos de un cm de longitud) se utilizaron para determinar el porcentaje de colonización micorrízica. El clareo y tinción de raíces se realizó con base en el método de Phillips y Hayman (1970), posteriormente se determinó el porcentaje de colonización micorrízico utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{No. de segmentos colonizados}}{\text{No. de segmentos totales}} \times 100$$

Para la tinción y el clareo las raíces se colocaron en cápsulas para tinción, se depositaron en un vaso de precipitado, se cubrieron con KOH a 10%. Posteriormente el vaso de precipitado conteniendo las muestras se calentó a  $10 \text{ lb in}^{-2}$  de presión por 10 min, luego se retiró el KOH y las cápsulas se enjuagaron con agua de la llave. Las cápsulas se cubrieron con HCl al 10% y se dejaron reposar durante tres min. El HCl se retiró y sin enjuagar las raíces se tiñeron con una solución de azul de tripano 0.05% en lactoglicerol y calentaron a  $10 \text{ lb in}^{-2}$  de presión durante 10 min. Finalmente, el colorante se retiró y las raíces se enjuagaron con agua de la llave antes de realizar preparaciones permanentes.

### *Propagación de hongos micorrízicos arbusculares en cultivos trampa*

El suelo rizosférico, de cada especie vegetal proveniente del sitio de estudio, se transportó en cubetas al laboratorio. Este suelo se utilizó, para la propagación de los HMA mediante cultivos trampa en condiciones invernadero.

Como planta trampa se utilizó lechuga orejona/romana (*Lactuca sativa* L. var. longifolia). Las semillas de lechuga se limpiaron y desinfectaron en tubos cónicos de 15 mL conteniendo cinco mL de solución detergente comercial 10%, luego agitaron mecánicamente por 10 min. El detergente se retiró y se agregó etanol durante 10 s. El etanol se retiró para agregar hipoclorito de sodio 10% y se agitó por 10 min. Las semillas se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril por cinco min.

Macetas con capacidad para cinco kg conteniendo 50% de suelo rizosférico, proveniente de las especies vegetales muestreadas en campo, y 50% de arena se usaron para los cultivos trampa. La arena se esterilizó en autoclave a 121°C por tres horas (tres ciclos de una h cada uno). El sustrato de las macetas se mantuvo húmedo durante la germinación de las semillas, después se realizaron riegos, con agua de la llave, dependiendo de las necesidades de las plantas. Las plantas se regaron semanalmente con solución nutritiva Long-Ashton (Hewitt, 1966) baja en concentración de fósforo (11 mg L<sup>-1</sup>).

#### *Extracción de esporas de hongos arbusculares*

Se suspendieron 100 g de suelo en un L de agua, se agitó y se dejó sedimentar durante unos segundos. El sobrenadante se decantó a través de una serie de tamices (2 mm, 106 µm, 75 µm y 44 µm) en donde las esporas y la materia orgánica se retuvieron (Gerdemann y Nicolson, 1963). Este material se transfirió a una caja de Petri. Las esporas se observaron con un estereoscopio Stemi DV4 de la marca ZEISS, extrajeron con pipetas Pasteur y almacenaron en tubos Eppendorf. Preparaciones permanentes de las esporas se hicieron en portaobjetos.

#### *Conteo de esporas y esporocarpos*

El conteo de esporas y esporocarpos se realizó dentro de cajas de Petri a la cual se le colocó en la parte inferior una cuadrícula (5 x 5). Las esporas se contaron con ayuda de un estereomicroscopio Stevi DV4 de la marca ZEISS, la cuadrícula se recorrió de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo. La cantidad de esporas y esporocarpos se registró en cada una de las muestras de suelo.

#### *Caracterización de esporas y esporocarpos*

Las esporas extraídas se clasificaron de acuerdo a su morfología, color, tamaño y tipo de agrupaciones en el caso de los esporocarpos. Los diferentes morfotipos se guardaron en microtubos de 1.5 mL para análisis posteriores (Sánchez Leyva, 2015). Posteriormente, algunos de ellos se conservaron en PVLG y documentó color (según la tabla de colores del INVAM), forma, el cultivo trampa en el que fue encontrado y sus dimensiones.

#### *Correlación entre la colonización micorrízica y los datos de variables ecológicas del sitio de estudio*

Un análisis de correlación, mediante el software Minitab 2018, se realizó entre las variables que se analizaron en el suelo rizosférico de las especies vegetales de interés y la colonización micorrízica.

### **13. Clorofila en las hojas de las especies vegetales del sitio de estudio**

#### *Determinación de clorofila*

Las muestras de hojas de las especies vegetales del sitio de estudio se recolectaron y transportaron al laboratorio en una hielera a cuatro °C. 0.1 g de hojas se pesaron, cortaron en láminas, y colocaron en tubos de vidrio con tapón de rosca, cubiertos con papel aluminio, con seis mL de acetona 80%. Los tubos se mantuvieron en el refrigerador

a cuatro °C hasta que los fragmentos de hoja fueron transparentes. Los sobrenadantes se analizaron por triplicado a 663 nm (clorofila a) y 646 nm (clorofila b) en un espectrofotómetro SmartTech™ Plus de BIORAD. Los cálculos correspondientes para obtener clorofila a, b y total se realizaron con las ecuaciones de Lichten y Welburn (Lichtenthaler, 1987; Porra, 2002; Yan et al., 2021).

$$\begin{aligned} [Chl a] &= 12.24E^{663} - 2.79E^{646} \\ [Chl b] &= 21.50E^{646} - 5.10E^{663} \\ [Chl a + b] &= 7.15E^{663} + 18.71E^{646} \end{aligned}$$

#### **14. Análisis de diversidad y componentes principales**

Los análisis de diversidad a las comunidades de HMA de los cultivos de propagación y las muestras del sitio de estudio que se realizaron fueron: indicador de dominancia de Simpson, el indicador de información estadística de Shannon, de Chao-1 y alfa de Fisher. Para tal fin se utilizaron los programas Excel, R y PAST. Las curvas de rarefacción fueron creadas con el paquete iNEXT ejecutable en R y el software PAST con el objetivo de comparar si las diferencias en los tamaños de las muestras influyeron en los resultados de riqueza. Para los dendrogramas, análisis multivariado y de componentes principales se utilizó el software PAST.

#### **15. Análisis de la superficie de esporas, esporocarpos e hifas mediante microscopía electrónica de barrido de bajo vacío**

El análisis de microscopía electrónica de bajo vacío se realizó en las esporas, esporocarpos e hifas de los cultivos de propagación para poder conocer los elementos adheridos en sus superficies, para ello se utilizó un microscopio electrónico SU3500 de Hitachi. Las muestras de esporas, esporocarpos e hifas se obtuvieron de los cultivos trampa y los cultivos de las unidades experimentales con 60 y 120 mM NaCl mediante el

método de tamizado y decantación (Ferrera Cerrato et al., 1993). Con ayuda de un estereomicroscopio las muestras se aislaron y se guardaron por morfotipo en diferentes microtubos de 1.5 mL de capacidad.

Las muestras se colocaron en un portamuestras de acero con suficiente espacio de separación entre muestras, posteriormente se colocó en la cámara de bajo vacío y se obtuvieron las imágenes con el microscopio usando el software del equipo para observar los elementos adheridos a la superficie de las muestras.

### ***16. Identificación de hongos micorrízicos arbusculares mediante MALDI-TOF***

Para extraer las esporas y esporocarpos necesarios para este proceso se utilizó tanto la técnica por gradiente de sacarosa (Ferrera Cerrato et al., 1993) como la técnica de Gerdemann y Nicolson (1963) descrita en el punto ocho de la sección de metodología encontrada en este documento. Posteriormente se realizó la desinfección de las esporas y esporocarpos utilizando una adaptación del proceso descrito por González Chávez (Ferrera Cerrato et al., 1993), en el cual se sustituyó la estreptomycin por ceftriaxona. Las esporas se transfirieron a un tubo Eppendorf de 0.6 mL y siguiendo la técnica de Crossay (2017) se centrifugaron a 13 000 rpm y se descartó el sobrenadante para después agregar 10  $\mu$ L de una solución de ácido fórmico y acetonitrilo (70:30 [vol/vol]), las esporas/esporocarpos se dejaron incubar cinco min antes de macerarlos, con pistilos estériles de polipropileno, por 30 seg y posteriormente fueron incubados durante cinco min a temperatura ambiente. Se revisó cada muestra bajo estereomicroscopio para asegurar que las muestras estuvieran maceradas completamente. Sucesivamente, alícuotas de 1.5  $\mu$ L se transfirieron a un objetivo de acero pulido MSP96 (Bruker) se esperó hasta que se consumieran y secaran a temperatura ambiente antes de cubrir con un  $\mu$ L.

## **17. Efecto de los inoculantes micorrízicos en especies vegetales de interés agrícola bajo condiciones altamente salinas**

Se realizó un experimento para ver el efecto de los inoculantes obtenidos de *Prosopis* spp. (HMA1) y *Lycium andersonii* (HMA2) en plantas de interés agrícola regadas con NaCl. Esto se determinó mediante un experimento previo y las plantas de interés agrícola elegidas fueron *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana) y *Daucus carota* (zanahoria) debido a su rápida germinación (tres y 15 días respectivamente) y crecimiento. Se contaron los propágulos (raíces micorrizadas, hifas, esporas y esporocarpos) del suelo rizosférico de los cultivos de propagación de dos de las especies estudiadas en campo para estandarizar la cantidad de propágulos a inocular (2000 propágulos).

El experimento se realizó en macetas que consistieron de vasos de poliestireno expandido (unicel o EPS por sus siglas en inglés) con capacidad aproximada de un kg. Los tratamientos consistieron en utilizar propágulos de los cultivos de propagación de las especies estudiadas en campo con arena estéril para observar el comportamiento de las especies vegetales de interés agrícola a diferentes concentraciones de sal (0, 60 mM y 120 mM). En cada maceta, se colocó un kg de arena estéril (arena estéril + los propágulos, exceptuando algunos tratamientos los cuales estuvieron compuestos únicamente de arena estéril), se colocaron 30 semillas en cada maceta, se regaron inicialmente con agua purificada y semanalmente con solución nutritiva de Long-Ashton. Las plantas se dejaron crecer durante un mes y después que se formó la simbiosis (aproximadamente cuatro semanas) (Li et al., 2020; Shahvali et al., 2020) se regaron cada dos días con diferentes concentraciones de NaCl (10, 20, 30, 40, 60 o 80 mM) hasta alcanzar las concentraciones de 0, 60 y 120 mM (Li et al., 2020; Shahvali et al., 2020). Se consideraron nueve tratamientos, se realizaron cuatro repeticiones de cada uno.

Al finalizar el experimento se registró el peso de la biomasa seca, longitud de raíces, diámetro del tallo de las plantas, porcentaje de colonización micorrízica, altura, así como el contenido de clorofila de las hojas.

## 18. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los diferentes análisis de muestras de suelo y plantas (nutrientes, dimensiones, colonización micorrízica, etc.) se utilizaron en el análisis de varianza ANOVA y la prueba de comparación de medias de Tukey mediante el programa de computadora Minitab 2018, este programa también se utilizó para analizar los datos que se obtuvieron de los efectos del inoculante de HMA's.

## 19. Resultados y discusión

### 19.1. Muestras

Las cinco especies vegetales muestreadas fueron, a) *Prosopis* spp. (Mezquite), b) *Lycium andersonii* (Frutilla), c) *Larrea tridentata* (Gobernadora), d) *Pluchea sericea* (Cachanilla) y e) *Haplopappus* sp., cuya localización georreferenciada mediante el GPS eTrex®30 de GARMIN se muestra en la Tabla 1. La temperatura del suelo superficial, estuvo entre los 44 y 45°C y el suelo rizosférico, entre los 33 a 38°C, (Tabla 2). Los datos ecológicos (altura de la planta, diámetro del tronco/corona y niveles de clorofila) se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Localización georreferenciada del sitio de estudio.

Punto de muestra	Localización		Altura sobre el nivel del mar (m)
	N	W	
Punto 1	32°32'05.1"	115°45'24"	-11
Punto 2	32°32'04.7"	115°45'22.2"	-14.02
Punto 3	32°32'03.7"	115°45'21.7"	-2.13

Tabla 2. Temperatura del suelo rizosférico cercano a las plantas, así como la altura y el diámetro de su tronco/corona.

Especie	Temperatura (°C)		Altura (cm)	Tronco/Corona	Diámetro del tronco/corona (cm)
	Suelo rizosférico	Suelo no rizosférico			
<i>Pluchea sericea</i>	45±0	35.4±1.82	1.306±0.08	Corona	16.6±3.51
<i>Prosopis</i> spp.	45±0	36.6±1.14	2.02±0.24	Tronco	16.3±3.90
<i>Lycium andersonii</i>	44±0	35.4±0.55	1.12±0.22	Corona	14.6±2.41
<i>Haplopappus</i> sp.	44±0	36.4±1.95	0.51±0.08	Corona	23.8±3.96
<i>Larrea tridentata</i>	44±0	35.2±0.84	1.916±0.29	Corona	21±10.98

### 19.2. Porcentaje de humedad

El intervalo de porcentaje de humedad en las muestras de suelo (Tabla 3) fue de 0.17% a 1.50%. El menor porcentaje le pertenece al suelo testigo o no rizosférico y el porcentaje más alto le corresponde a la rizósfera de la planta *Haplopappus* sp. mediante el análisis estadístico de Tukey se puede observar que existen dos grupos entre los cuales hay una diferencia significativa entre los promedios de los porcentajes de humedad, el primer grupo conformado por *L. andersonii*, *Haplopappus* spp. y *L. tridentata* y el segundo conformado por *P. sericea*, *Prosopis* spp. y el suelo testigo.

Haciendo una comparación entre el rango de valores obtenidos de humedad (0.17 a 1.50%) contra los valores de otras investigaciones en las cuales se analizó suelo fértil (6.61 a 17.8%), se concluye que la humedad del suelo en el sitio de estudio es hasta 104 veces menor que el intervalo de humedad de un suelo que permita el desarrollo pleno de las especies vegetales (Martínez-González et al., 2010).

### 19.3. pH y conductividad eléctrica (CE)

Las cinco especies vegetales presentaron pH alcalino, en la rizósfera, en un intervalo de 7.82 a 8.60. El suelo rizosférico de la especie *Haplopappus* sp. mostró el pH más alto (8.60), mientras que el suelo rizosférico la especie *P. sericea* tuvo el pH más bajo (7.82) (Tabla 3). Realizando una comparación entre el pH del suelo testigo (8.20) y el suelo rizosférico de las diversas especies se puede observar que tres de estas tienen a acidificar el suelo (*P. sericea*, *L. andersonii* y *L. tridentata*) mientras que otras lo alcalinizan (*Prosopis* spp. y *Haplopappus* sp.). Se infiere que los iones, aniones y exudados radicales en los suelos circundantes a ellas pueden afectar el pH debido a que estos pueden tener un efecto acidificante o alcalinizante (Jiang et al., 2023; Solís-Domínguez et al., 2012; Wang et al., 2016).

Para que las plantas se desarrollen saludables el suelo debe estar en un intervalo de pH de 6.0 a 7.0 (Horrocks y Vallentine, 1999), sin embargo, las plantas del sitio de estudio han logrado adaptarse a las condiciones desfavorables tanto ambientales como nutrimentales. Las plantas muestran deficiencia de micronutrientes como el cobre, molibdeno y boro cuando el pH es ácido (pH 4.0 o menos). En el caso de que el suelo sea alcalino (pH 7.5 o más) hay disminución de la disponibilidad de nutrientes como el fósforo (Chowdhury et al., 2021; Singh et al., 2014). Lo antes mencionado se aplica para el sitio de estudio ya que tiene un intervalo de pH de 7.82 a 8.60.

El suelo testigo tuvo un valor de conductividad eléctrica (CE; Tabla 3) de 0.60 dS m<sup>-1</sup>. Entre las especies vegetales estudiadas el intervalo de CE en el suelo rizosférico fue de 1.17 a 6.76 dS m<sup>-1</sup>. El valor más alto obtenido en esta investigación fue de 6.76 dS m<sup>-1</sup>, obtenido en el suelo rizosférico de la especie vegetal *L. andersonii*, el cual cae en el intervalo fuertemente salino (4.5 a 8.9 dS m<sup>-1</sup>) establecido por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) en el 2014. Los suelos rizosféricos de las especies *Haplopappus* sp. y *L. tridentata* tuvieron valores en el intervalo de 3.55 a 3.71 dS m<sup>-1</sup> los cuales pertenecen a la categoría medianamente salino (2.5 a 4.4 dS m<sup>-1</sup>) de la USDA. En las especies *P. sericea* y *Prosopis* spp. se encontraron valores en el intervalo de 1.17 a 1.35 dS m<sup>-1</sup> los cuales pertenecen a la categoría

ligeramente salino ( $1.2$  a  $2.4$   $\text{dS m}^{-1}$ ) de la USDA mientras que el suelo testigo tuvo un valor de también  $0.60$   $\text{dS m}^{-1}$  el cual pertenece a la categoría no salino de la USDA ( $0$  a  $1.1$   $\text{dS m}^{-1}$ ).

#### **19.4. Materia orgánica (MO)**

El porcentaje máximo de materia orgánica del suelo rizosférico de las especies de interés fue  $3.1\%$  para *Lycium andersonii* y el porcentaje más bajo de materia orgánica,  $2.1\%$ , se encontró en *Pluchea sericea*. Según la NOM-021-RECNAT-2000 el porcentaje de M.O encontrado en la rizósfera de las especies vegetales se encuentra en la clasificación de M.O media. Mediante esta prueba también se obtuvieron los porcentajes de carbono orgánico (Tabla 3) del suelo rizosférico y no rizosférico. *Larrea tridentata* y *Lycium andersonii* tuvieron los valores más altos de carbono orgánico ( $1.8\%$ ) y *Pluchea sericea* fue la especie que menos carbono orgánico tuvo ( $1.2\%$ ).

Con los resultados de carbono orgánico y la materia orgánica se realizó otra comparación utilizando la escala de Hazelthon y Murphy (2007) adaptada de Emerson (1991) y Charman y Roper (2007). En esta escala, un porcentaje de materia orgánica en el intervalo de  $1.72$  a  $3.09\%$  y un porcentaje de carbono orgánico en el intervalo de  $1$  a  $1.59\%$  indican que los suelos poseen una cantidad moderada de carbono orgánico y materia orgánica. Comparando los resultados con las dos tablas se corroboró que los datos obtenidos coinciden y que el suelo de la Laguna salada, en el sitio de estudio, posee una cantidad de materia orgánica moderada tanto en su suelo rizosférico como en su suelo no rizosférico.

Tabla 3. Resultados obtenidos de porcentaje de humedad, pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO) y carbono orgánico (CO) del suelo rizosférico las especies de interés del sitio de estudio.

<b>Especie vegetal</b>	<b>% Humedad</b>		<b>pH</b>		<b>CE (dS m<sup>-1</sup>)</b>		<b>MO (%)</b>		<b>CO (%)</b>	
Testigo	0.17±0.17	b	8.23±0.01	b	0.60±0.15	c	2.2±0.25	a	1.3±0.15	a
<i>Prosopis</i> spp.	0.37±0.07	b	8.31±0.08	b	1.17±0.37	c	2.4±0.60	a	1.4±0.35	a
<i>Lycium andersonii</i>	1.46±0.43	a	8.21±0.12	b	6.76±1.30	a	3.1±0.67	a	1.8±0.39	a
<i>Haplopappus</i> sp.	1.50±0.39	a	8.68±0.09	a	3.71±0.08	b	2.4±0.50	a	1.4±0.29	a
<i>Larrea tridentata</i>	1.43±0.31	a	8.13±0.06	b	3.55±0.33	b	3.0±0.12	a	1.8±0.07	a
<i>Pluchea sericea</i>	0.38±0.21	b	7.77±0.09	c	1.35±0.16	c	21.±0.21	a	1.2±0.12	a

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a p<0.05 basado en la prueba de Tukey.

### 19.5. Textura de suelos

La distribución de las partículas del suelo está conformada por arena (93 a 97%), limo (0 a 1.7%) y arcilla (0 a 7%) (Tabla 4). Los promedios de los porcentajes del tipo de partícula fueron 94.1% para la arena, 0.3% para el limo y 5.1% para la arcilla, resultando la textura en un suelo arenoso. Esto tiene la ventaja de que estos suelos no fácilmente lavables si se establece un buen drenaje y se agrega una enmienda para remover el exceso de sal, para mejorar su fertilidad.

Tabla 4. Distribución de las partículas del suelo en porcentaje en los suelos rizosféricos de cada especie vegetal del sitio de estudio

<b>Especie vegetal</b>	<b>Textura del suelo</b>					
	<b>Arena (%)</b>		<b>Limo (%)</b>		<b>Arcilla (%)</b>	
Testigo	93±0	a	0±0	b	7±0	a
<i>Prosopis</i> spp.	93±0	b	0±0	b	7±0	a
<i>Lycium andersonii</i>	93±0	b	0±0	b	7±0	a
<i>Haplopappus</i> sp.	95.67±2.31	a	1.73±1.73	a	2.33±4.04	b
<i>Larrea tridentata</i>	97±0	a	3±0	a	0±0	b
<i>Pluchea sericea</i>	93±0	b	0±0	b	7±0	a

Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a  $p < 0.05$  basado en la prueba de Tukey.

### **19.6. Fósforo disponible**

El método utilizado para la determinación del fósforo disponible en suelo rizosférico y no rizosférico del sitio de estudio fue el método de Olsen (1983) debido a que el pH del suelo del sitio de estudio está en la clasificación alcalina ( $\text{pH} > 7.0$ ). El suelo rizosférico que tiene una mayor concentración de fósforo (Tabla 5) es el de la especie vegetal *Larrea tridentata* ( $61.60 \text{ mg kg}^{-1}$ ), en contraste el suelo que menos fósforo tuvo fue el suelo testigo ( $7.0 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Según la tabla de resultados de Olsen, el contenido de fósforo en el suelo rizosférico de las plantas de la laguna salda se encuentra en la clasificación elevada ( $>11 \text{ mg kg}^{-1}$ ) mientras que el suelo testigo se encuentra en la clasificación mediana ( $5.5$  a  $11 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

### **19.7. Nitrógeno total**

La especie vegetal con más nitrógeno en su suelo rizosférico fue *Larrea tridentata* ( $43.17 \text{ mg kg}^{-1}$ ) seguida por *Lycium andersonii* ( $35.73 \text{ mg kg}^{-1}$ ), en tercer lugar, se encuentra *Haplopappus* sp. ( $12.53 \text{ mg kg}^{-1}$ ), cuarto lugar se encuentra *Prosopis* spp. ( $10.20 \text{ mg kg}^{-1}$ ), finalmente se encuentran el suelo testigo ( $2.37 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y la especie *Pluchea sericea* ( $2.33 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Tabla 5).

Comparando los resultados anteriores con la tabla de nitrógeno total encontrada en la NOM-021-RECNAT-2000 (muy bajo =  $<0.05\%$ , bajo =  $0.05$  a  $0.10\%$ , medio =  $0.10$  a  $0.15\%$ , alto =  $0.15$  a  $0.25\%$  y muy alto =  $>0.25\%$ ) se observa que el suelo rizosférico de las especies vegetales y el suelo testigo desértico tienen escasa concentración de nitrógeno. Todos los resultados pertenecen a la categoría muy bajo de la tabla encontrada en la NOM, es decir tienen concentración de nitrógeno inferior a  $0.05\%$ .

## 19.8. Cationes solubles en el suelo

### 19.8.1. Capacidad de intercambio de cationes (CIC)

En los suelos rizosféricos de las especies de interés del sitio de estudio el valor de la CIC (Tabla 5) más alto fue de 10.93 cmol (+) kg<sup>-1</sup>, el cual corresponde a la especie vegetal *Larrea tridentata*, y el más bajo (1.9 cmol (+) kg<sup>-1</sup>) se encontró en el suelo testigo. Según la tabla de Metson (1961) (Hazelthon y Murphy, 2007) los valores en el intervalo de 2.83 a 10.93 cmol (+) kg<sup>-1</sup> del suelo rizosférico de las especies vegetales estudiadas pertenece a la clasificación muy bajo (<6 cmol (+) kg<sup>-1</sup>) y bajo (6 a 12 cmol (+) kg<sup>-1</sup>). Mientras que el suelo testigo no rizosférico pertenece a la clasificación muy bajo.

El intervalo, 1.9 a 10.93 cmol (+) kg<sup>-1</sup>, muestra que el suelo tiene baja resistencia a los cambios químicos, es bajo en fertilidad y es susceptible a la acidificación. Sin embargo, los resultados de pH realizados muestran que el suelo tiende a ser alcalino.

Tabla 5. Concentraciones de fósforo (P), nitrógeno (N) y la capacidad de intercambio de cationes (CIC) encontradas en los suelos rizosféricos de las especies de interés del sitio de estudio.

Especie vegetal	P (mg kg <sup>-1</sup> )	N (mg kg <sup>-1</sup> )	CIC (cmol+ kg <sup>-1</sup> )
Testigo	0.17±0.17	8.23±0.01	1.3±0.17
<i>Prosopis</i> spp.	0.37±0.07	8.31±0.08	2.8±0.32
<i>Lycium andersonii</i>	1.46±0.43	8.21±0.12	9.6±2.51
<i>Haplopappus</i> sp.	1.50±0.39	8.68±0.09	8.6±2.6
<i>Larrea tridentata</i>	1.43±0.31	8.13±0.06	10.9±4.58
<i>Pluchea sericea</i>	0.38±0.21	7.77±0.09	3.9±1.71

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a p<0.05 basado en la prueba de Tukey.

### 19.8.2. Cationes intercambiables (CI)

El análisis individual de las especies de interés demostró que el catión que más impacto tuvo en la CIC total (Tabla 6) fue el calcio con un intervalo de 50.7 a 85% del total, seguido por el sodio con un intervalo de 10.0 a 40.3%. El potasio ocupa el tercer lugar en todas las especies vegetales. Finalmente, el magnesio comparte porcentaje de participación con el potasio en *Lycium andersonii* y ocupa el cuarto lugar en porcentaje de participación en el resto de las plantas.

Tabla 6. Porcentaje de participación de los cationes intercambiables (CI) por especie.

<b>Especie</b>	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>K<sup>+</sup></b>
<i>Lycium andersonii</i>	40.3	50.7	4.3	4.3
Testigo	10.0	85.0	3.0	2.0
<i>Pluchea sericea</i>	22.7	57.7	5.3	14.0
<i>Larrea tridentata</i>	19.3	60.0	6.7	16.0
<i>Haplopappus</i> sp.	20.7	56.7	4.7	17.7
<i>Prosopis</i> sp.	32.0	54.3	5.0	8.3

### 19.9. Concentración de clorofila en las hojas de las especies vegetales del sitio de estudio

Para la clorofila “a” el intervalo de concentración fue de 3.52 a 12.46  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , para la clorofila “b” el intervalo de concentración fue 1.69 a 3.83  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y el intervalo de clorofila total fue 5.21 a 16.30  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Tabla 7). La concentración más alta de clorofila “a”, “b” y total se observó en las hojas de *Haplopappus* sp. (12.46, 3.83 y 16.30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente), mientras que la concentración menor se observó en las hojas de *Lycium andersonii* (3.52, 1.69 y 5.21  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente).

El contenido de clorofila en las plantas del sitio de estudio en comparación a los obtenidos en otras investigaciones, por ejemplo, la de Yan et al. (2021), es considerablemente menor. Yan et al. (2021) encontró que exponer a 35°C a plantas de lechuga la concentración de clorofila a, b y total de reducía considerablemente. A temperatura ambiente (25°C) y en suelo salino la concentración para clorofila a, b y total

fue de 924, 386 y 1310  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. En el caso de la exposición de la lechuga a 35°C se observó un decremento en la concentración de clorofila de 30%. En el caso de la presente investigación el valor más alto de clorofila total fue de 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Basado en lo anterior, estas concentraciones bajas se pueden atribuir a las temperaturas considerablemente mayores del sitio de estudio (45°C a 55°C dependiendo de la hora del día), la sequía extrema del sitio (humedad máxima del suelo de 1.70%) y la presencia de sales.

Tabla 7. Concentración de pigmentos fotosintéticos encontrada en las hojas de las plantas de la Laguna salada.

Especie vegetal	Contenido de clorofila ( $\text{mg mL}^{-1}$ )		
	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total
<i>Pluchea sericea</i>	9.09±0.66 ab	2.02±0.56 bc	11.2±0.94 b
<i>Prosopis</i> spp.	10.51±1.83 ab	1.73±0.54 c	12.25±2.33 b
<i>Haplopappus</i> sp.	12.46±2.30 a	3.83±0.75 a	16.30±3.01 a
<i>Larrea tridentata</i>	9.84±1.21 ab	2.84±0.34 bc	12.68±1.33 b
<i>Lycium andersonii</i>	3.52±1.04 c	1.69±0.13 c	5.21±0.94 c

Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a  $p < 0.05$  basado en la prueba de Tukey.

### 19.10. Colonización micorrízica

Las especies vegetales estudiadas tuvieron colonización micorrízica entre 82 y 100% (Fig. 1). El valor porcentual de colonización más bajo le corresponde a la especie *Larrea tridentata* y los valores más altos corresponden a dos especies, *Haplopappus* sp. y *Prosopis* spp. Además, se observó que la presencia de arbusculos en las especies de interés se encuentra en el intervalo de 16 a 40%, siendo el valor más alto correspondiente a la especie *Pluchea sericea* y el valor más bajo le corresponde a *Prosopis* spp. También se analizó el porcentaje de colonización de otros hongos y se encontró que en las especies *Lycium andersonii* y *Prosopis* spp. la presencia de otros hongos es nula, en el caso de las otras especies se encontró que *Pluchea sericea*, *Haplopappus* sp. y *Larrea tridentata* si fueron colonizadas por otros hongos.

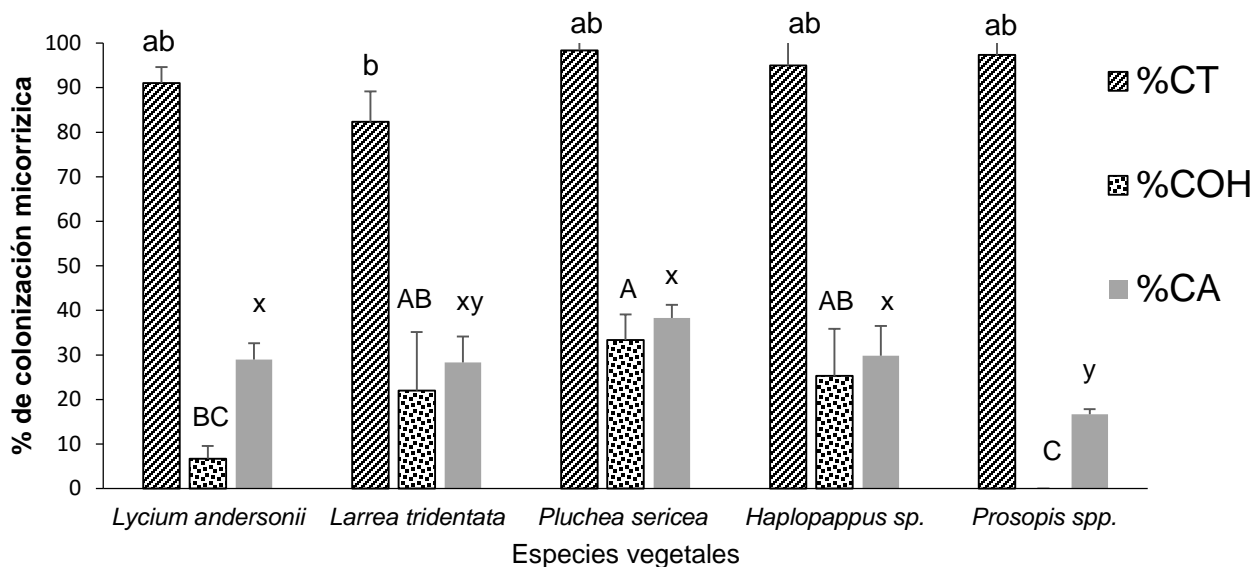


Figura 1. Colonización micorrízica en las especies vegetales estudiadas. Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ . CT = colonización total, COH = colonización de otros hongos, %CA = colonización de arbusculos.

### 19.11. Correlación entre la colonización micorrízica y los datos de variables ecológicas del sitio de estudio

#### Colonización micorrízica vs materia orgánica

La materia orgánica tuvo un coeficiente de correlación de Pearson de 0.28 y una  $P$  de 0.598. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación débil ( $0.2 < r < 0.4$ ), mientras que la  $P$  al ser mayor que 0.05 indica que dicho coeficiente no es estadísticamente significativo. Por lo tanto, en este caso el efecto de la colonización micorrízica sobre la materia orgánica no es significativo.

#### Colonización micorrízica vs nitrógeno total

El nitrógeno total y la colonización micorrízica tuvieron un coeficiente de correlación de Pearson de 0.30 y una  $P$  de 0.567. El coeficiente de Pearson se encuentra en el

intervalo de correlación débil ( $0.2 < r < 0.4$ ), mientras que la  $P > 0.05$  indica que dicho coeficiente no es estadísticamente significativo. En este caso el efecto de la colonización micorrízica de sobre la concentración nitrógeno total del suelo rizosférico no es significativo.

#### *Colonización micorrízica vs fósforo*

La concentración de fósforo y la colonización micorrízica tuvieron un coeficiente de correlación de Pearson de 0.35 y una  $P$  de 0.495. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación débil ( $0.2 < r < 0.4$ ), mientras que la  $P > 0.05$  indica que dicho coeficiente no es estadísticamente significativo. Por lo tanto, el efecto en la colonización micorrízica no es significativo.

#### *Potasio vs colonización micorrízica*

El potasio tuvo un coeficiente de correlación de Pearson de 0.24 y una  $P$  de 0.326. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación débil ( $0.2 < r < 0.4$ ), mientras que la  $P > 0.05$  indica que dicho coeficiente no es estadísticamente significativo. El efecto de la colonización micorrízica en el potasio del suelo rizosférico no es significativo.

#### *Colonización micorrízica vs calcio*

El calcio y la colonización micorrízica tuvieron un coeficiente de correlación de Pearson de 0.42 y una  $P$  de 0.080. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación moderada ( $0.4 < r < 0.6$ ). En este caso el efecto de la colonización micorrízica sobre el calcio del suelo rizosférico no es significativo ( $P > 0.05$ ).

### *Colonización micorrízica vs magnesio*

El magnesio y la colonización micorrízica tuvieron un coeficiente de correlación de Pearson de 0.44 y una P de 0.065. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación moderada ( $0.4 < r < 0.6$ ), mientras que la  $P > 0.05$  indica que dicho coeficiente no es estadísticamente significativo. En este caso el efecto de la colonización micorrízica sobre el magnesio del suelo rizosférico no es significativo.

### *Colonización micorrízica vs altura de la planta*

La colonización micorrízica y la altura de las plantas tuvo un coeficiente de correlación de Pearson de 0.66 y una P de 0.003. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación alta ( $0.6 < r < 0.8$ ), mientras que la  $P < 0.05$  indica que es estadísticamente significativo. Por lo tanto, el efecto de la colonización micorrízica sobre la altura de las plantas es significativo.

### *Colonización micorrízica vs clorofila total*

La colonización micorrízica y el contenido de clorofila total tuvo un coeficiente de correlación de Pearson de 0.78 y una P de 0.001. El coeficiente de Pearson se encuentra en el intervalo de correlación alta ( $0.6 < r < 0.8$ ), mientras que la  $P < 0.05$  indica que el efecto de la colonización micorrízica sobre la concentración de clorofila en las plantas es significativo.

### **19.12. Conteo de esporas y esporocarpos (suelo rizosférico del sitio de estudio)**

El número de esporocarpos en algunos casos es el doble que el de las esporas (Fig. 2), previamente en este mismo sitio de estudio se encontraron valores similares de esporas y esporocarpos (Sánchez, 2015). Las especies vegetales que más esporocarpos tuvieron en el suelo rizosférico por cada 100 g fueron *Prosopis* spp. (742), *Lycium*

*andersonii* (726) y *Larrea tridentata* (706). Dos de las especies vegetales (*Prosopis* spp. y *Larrea tridentata*) que más esporocarpos poseen son las que tienen menos esporas en su suelo rizosférico. Las especies vegetales con más esporas de hongos micorrízicos arbusculares fueron *Haplopappus* sp. (429), *Lycium andersonii* (380) y *Pluchea sericea* con (330). En el caso de los esporocarpos no existe diferencia estadística entre los datos obtenidos ( $p>0.05$ ), por otra parte, existe diferencia significativa ( $p<0.05$ ) entre la cantidad de esporas encontradas en la especie *Haplopappus* sp. y la especie *Larrea tridentata*. Las esporas presentes en el sitio de estudio (Fig. 3) se clasificaron en 14 tipos: ESP1 a ESP 14. Los esporocarpos se clasificaron en siete: NoCTM1 a NoCTM7. En total se encontraron 21 tipos de esporas y esporocarpos.

Mediante las características morfológicas de las esporas y esporocarpos se determinó que las esporas ESP9 y ESP11 corresponden a los géneros *Glomus* y *Gigaspora*, respectivamente. Mientras que los esporocarpos NoCTM1 y NoCTM6 corresponden a los géneros *Sclerocystis* y *Glomus*, respectivamente (De acuerdo con el experto en taxonomía Eduardo Chimal)

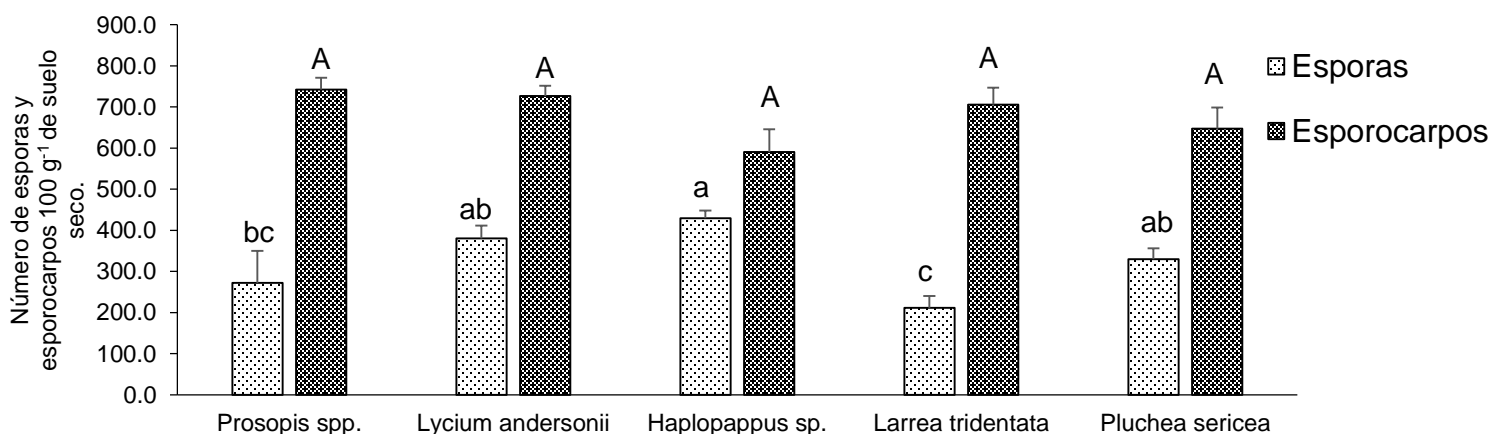


Figura 2. Numero de esporas y esporocarpos en el suelo rizosférico del sitio de estudio. Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$  para las especies vegetales). Letras diferentes indican diferencias significativas,  $p<0.05$ .

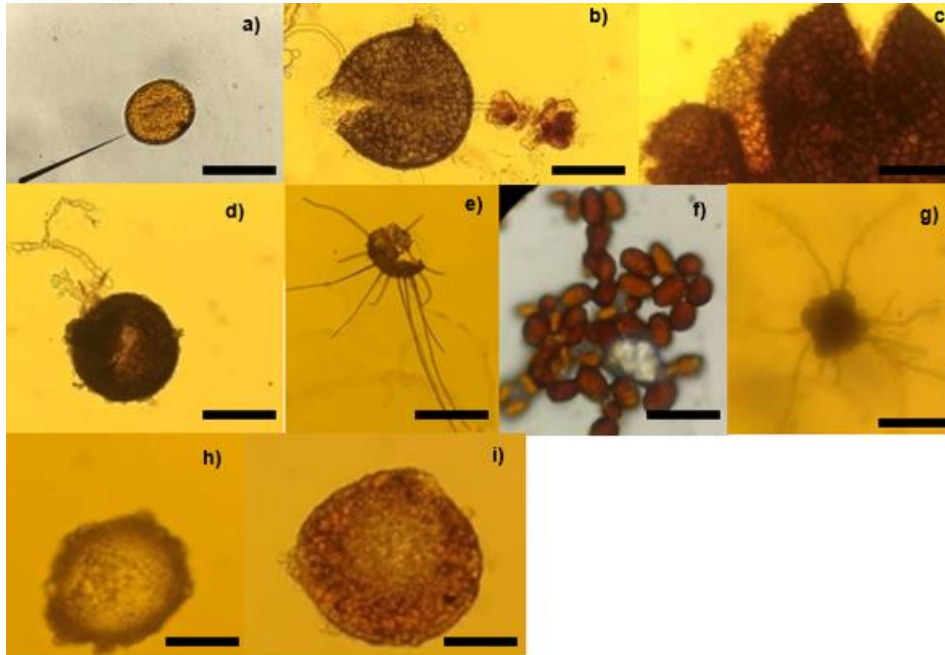


Figura 3. Morfotipos de esporas y esporocarpos obtenidos del suelo rizosférico de las especies del sitio de estudio. Esporas: a) ESP1, b) ESP2, d) ESP3, e) ESP4, h) ESP5, i) ESP6. Esporocarpos: c) NoCTM1, f) NoCTM2 y g) NoCTM3. La barra negra representa 10  $\mu\text{m}$ .

### **19.13. Propagación de hongos micorrízicos arbusculares en cultivos trampa**

Los cultivos trampa presentaron colonización micorrízica con escasas esporas y esporocarpos a los tres meses, por lo tanto, las plantas trampa (lechuga romana) se dejaron crecer dos meses más para obtener abundantes esporas y esporocarpos.

#### **19.13.1. Colonización micorrízica observada en las raíces de los cultivos trampa**

En la Fig. 4 se pueden apreciar las estructuras micorrízicas observadas en los diferentes cultivos de propagación, la especie que mostró arbuscúlos lo suficientemente definidos para capturar una imagen fue *Lycium andersonii*. En todas las raíces se

podieron apreciar vesículas e hifas, pero la presencia de arbuscúlos se observó en las plantas trampa inoculadas con *Lycium andersonii* y *Prosopis* spp.

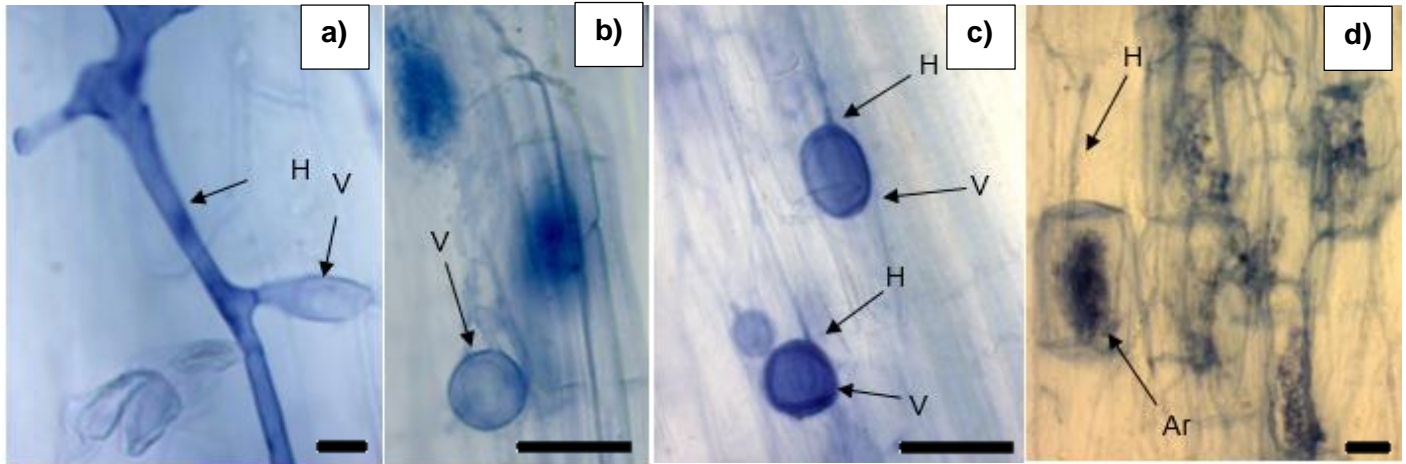


Figura 4. Estructuras micorrízicas observadas en las raíces de las plantas trampa en los cultivos de propagación con el suelo rizosférico de las especies vegetales del sitio de estudio. a): vesículas, observadas con el objetivo 40x. b): hifas, observadas con el objetivo 100x. c) vesículas e hifas, observadas con el objetivo 100x. d) Arbuscúlos e hifas, observados con el objetivo 40x. H = Hifas, V = Vesículas y Ar = Arbuscúlos. La barra negra representa 5  $\mu$ m.

#### 19.14. Extracción de esporas de HMAs de cultivos trampa.

Se encontraron dos morfotipos nuevos en las macetas de los cultivos trampa, los cuales corresponde a la Fig. 5, en esta figura se observaron esporas sanas viables similares en morfología a ESP9 (a) y ESP 11 (b) (espora encontrada en los suelos rizosféricos de las especies vegetales de interés).

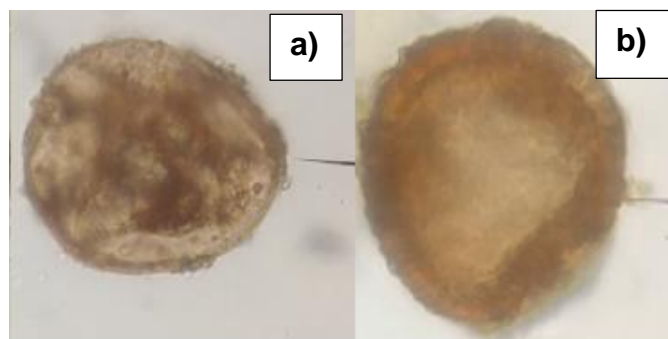


Figura 5. Primeras esporas encontradas en los cultivos trampa. Esporas: a) esporas similares a ESP9 y b) tiene similitud a ESP11. Las esporas fueron observadas mediante estereoscopio.

### **19.15. Conteo de propágulos (Cultivos trampa)**

El conteo de propágulos para los cultivos trampa se realizó después de 6 meses bajo la lente de un estereoscopio Stemi DV4 de la marca ZEISS. La presencia de esporocarpos en algunos casos fue hasta cinco veces mayor al de las esporas (Fig. 6). Entre los cultivos trampa y el suelo rizosférico de las especies vegetales estudiadas en campo (Fig. 7) se observó un aumento de esporas (entre 15.5 y 44.6%) por cada 100 g de suelo. Se encontró que las macetas de propagación en donde más se propagaron HMA fueron *Haplopappus* sp. (545 esporas), *Prosopis* sp. (493 esporas), *Lycium Andersonii* (451 esporas) y *Pluchea sericea* (423 esporas), por otra parte, en las macetas de propagación con suelo rizosférico de *Larrea tridentata* (289) no se encontraron tantas esporas como en las demás.

En cuanto a los esporocarpos, el cultivo trampa de lechuga donde se propagaron esporas y esporocarpos provenientes de la rizósfera de *Lycium andersonii* fue el que presentó un mayor número (312), en segundo lugar, estuvo el cultivo trampa inoculado con suelo rizosférico de *Pluchea sericea* con 50.33, seguido por *Larrea tridentata* (40) y *Prosopis* spp. (29) y finalmente *Haplopappus* sp. (15). En el anexo 4 se pueden observar los morfotipos identificados de HMA, esto se hizo mediante la opinión de expertos en el tema.

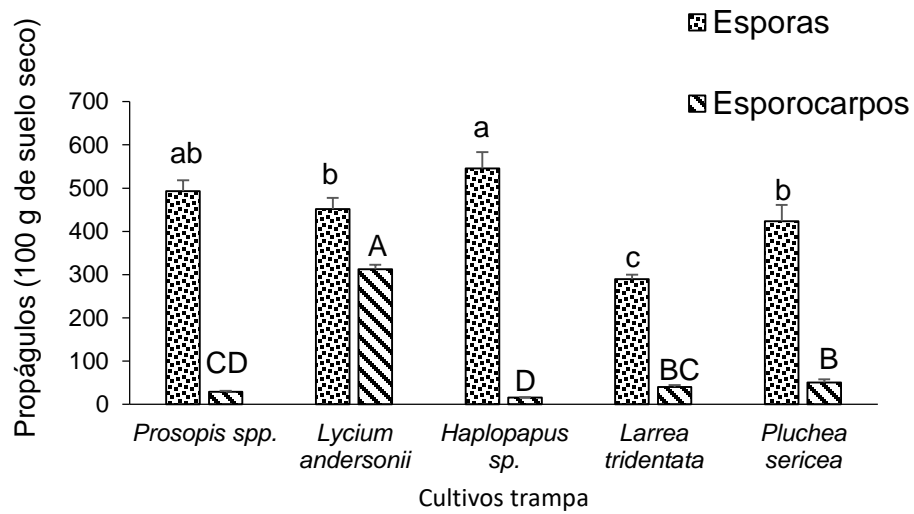


Figura 6. Esporas y esporocarpos encontrados en los cultivos trampa. Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ .

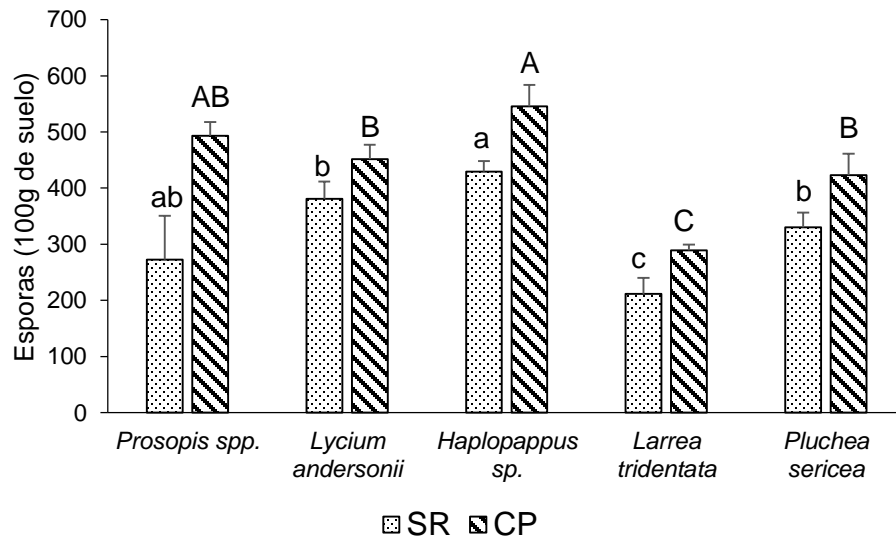


Figura 7. Comparación entre las esporas encontradas en el suelo rizosférico en el sitio de estudio (SR) y los cultivos de propagación (CP). Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ .

## 19.16. Análisis de diversidad de las especies de HMA encontrados en campo y cultivos trampa

### 19.16.1. Índice de Simpson, Shannon, Chao1 y Alfa de Fisher

El análisis de datos para obtener los índices de diversidad (Tabla 8) de las especies, demostró que la especie vegetal con mayor coeficiente de Simpson, para el suelo rizosférico de campo, fue *Pluchea sericea* con 0.721 (72.1%) seguido por *Haplopappus* sp (0.712 = 71.2%), esto quiere decir que si se muestreara el suelo rizosférico de estas especies existe 70% de probabilidad de obtener especies diferentes. En los cultivos trampa se obtuvo que *Pluchea sericea* fue el primer lugar (0.762 = 76.2%) e incluso aumentó su índice de Simpson un 4% en comparación al encontrado en campo, es importante destacar que en los cultivos de propagación de *Lycium andersonii* y *Larrea tridentata* hubo un aumento en el índice de Simpson y por lo tanto en el número de especies observadas en estos. Por otro lado, se observó que el índice de Shannon en todas las especies era bajo, tanto en campo como en los cultivos trampa, encontrándose en el intervalo de 1.33 a 1.82 en el caso de los cultivos trampa y de 1.36 a 1.72 en el caso de las muestras de campo.

En el caso del índice de Fisher se observó que las muestras de suelo rizosférico de campo de *Prosopis* spp. y *Lycium andersonii* tienen mayor diversidad en comparación a los cultivos trampa, esto es diferente para las otras tres especies en las que se observó aumento de abundancia en los cultivos de propagación. Al observar los resultados obtenidos en el análisis Chao-1 se obtuvo que los cultivos de propagación poseen una mayor riqueza de especies raras en comparación a las muestras de campo.

Tabla 8. Coeficientes de diversidad de Simpson y Shannon realizados a las especies de HMA de campo y de los cultivos de propagación.

	Índices de diversidad								
	Simpson		Shannon		Fisher		Chao-1		
	C	P	C	P	C	P	C	P	
<b>Suelo rizosférico</b>									
<i>Prosopis</i> spp.	0.64	0.67	1.59	1.33	2.5	2.19	15	21.98	
<i>Lycium andersonii</i>	0.66	0.75	1.36	1.83	2.45	2.23	15	16	

<b><i>Haplopappus</i> sp.</b>	0.71	0.62	1.41	1.25	2.1	2.84	13.5	19.99
<b><i>Larrea tridentata</i></b>	0.57	0.76	1.35	1.43	2.35	3.52	14.25	17
<b><i>Pluchea sericea</i></b>	0.72	0.76	1.72	1.75	2.92	2.95	17	16.5

C = Índice de diversidad de campo.

P = Índice de diversidad de los cultivos de propagación.

#### 19.16.2. Curvas de rarefaccion de las especies de HMA

Las curvas de rarefacción y extrapolación se consideran la presencia de las especies de HMA observadas y las no observadas en los suelos rizosféricos de las especies de interés en campo (Fig. 8) y en los cultivos trampa (Fig. 9), estas curvas se calcularon con 95% de nivel de confianza. En cada gráfica, la línea continua representa los datos observados. Mientras que la línea punteada muestra la estimación de los datos que se podrían obtener en caso de que se aumentara el esfuerzo de muestreo, la zona sombreada indica los valores mínimos y máximos estimados.

Las muestras de campo tuvieron la formación de mesetas en las especies *Prosopis* sp., *Lycium andersonii* y *Pluchea sericea* lo que indica que se realizó el muestreo apropiado para poder detectar las especies de HMA que se unen a las raíces de las plantas mencionadas, por otra parte el análisis estima que se necesita doblar el esfuerzo de muestreo en las especies vegetales *Haplopappus* spp. y *Larrea tridentata* para poder observar más especies de HMA. A pesar de lo antes mencionado se considera que el muestreo estuvo muy cerca de obtener todas las posibles especies, ya que los valores estimados de todas las especies están en el mismo rango de mínimos y máximo.

Las curvas de rarefacción y extrapolación en las plantas trampa (Fig. 9) no alcanzaron la meseta, por lo que se necesitaría un mayor esfuerzo de muestreo para capturar o detectar todas las especies de HMA asociados a las raíces. Las gráficas de extrapolación permitieron hacer una estimación del número de especies de HMA que se podría observar al aumentar el esfuerzo de muestreo:

- En el caso de *Prosopis* sp., pasaría de 12 especies de HMA observadas a 15.93 si se doblara el número de organismos muestreados. El valor de especies máximo podría superar poco más de 24 especies.
- *Lycium andersonii*: Pasaría de 13 a 14.89 especies. El valor máximo podría alcanzar 19 especies.
- *Haplopappus* spp. Pasaría de 15 a 19.37 especies. El valor máximo podría superar las 33.79 especies.
- *Larrea tridentata* pasaría de 16 especies observadas a 17.65. El valor máximo estimado es de 26.80 especies.
- *Pluchea sericea* pasaría de 15 especies observadas a 17.18, con un valor máximo estimado de 24.38.

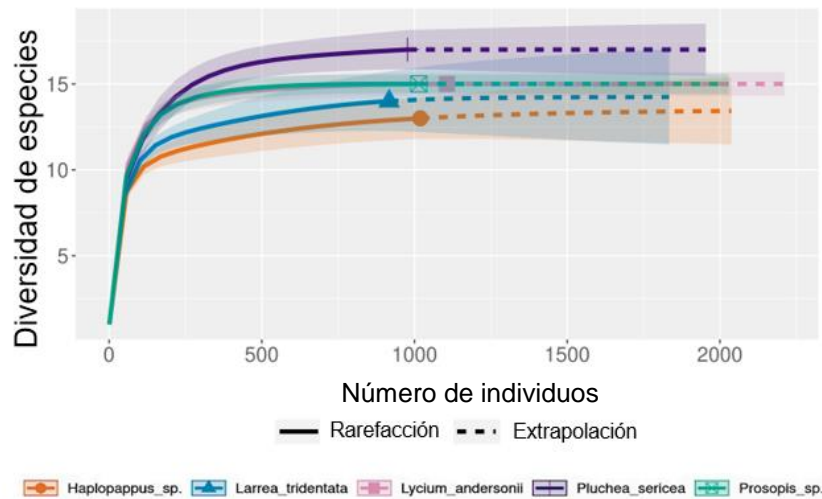


Figura 8. Curvas de rarefacción y extrapolación de las especies encontradas en los suelos rizosféricos de campo.

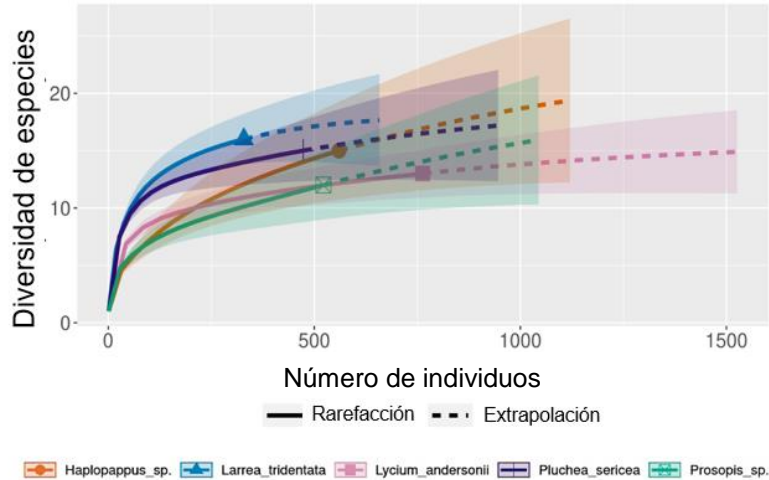


Figura 9. Curvas de rarefacción y extrapolación de las especies encontradas en los suelos rizosféricos de las plantas trampa.

### 19.16.3. Análisis de componentes principales (diversidad beta)

Mediante el análisis de los componentes principales (PCA) se apreciaron (Fig. 10) las agrupaciones de los datos y cuales conjuntos son más similares. En este análisis se agregaron las especies de HMA (representadas con los vectores verdes y las letras del alfabeto desde la A hasta la U) para poder analizar qué especies de HMA tienen mayor influencia sobre los puntos que se encuentran cerca de ellos. Se encontraron 9 ejes o componentes principales, siendo el eje 1 y 2 los que explican 74.08% y 8.38% de la varianza observada, respectivamente. En conjunto ambos componentes explican el 82.4% de la variación observada.

En el caso de las muestras tomadas de campo (representadas con la palabra en inglés "field" en la Fig. 10) las poblaciones de hongos en las especies vegetales *Larrea tridentata* y *Pluchea sericea* son más similares entre sí en comparación con el resto de los tratamientos, en el mismo cuadrante que estos se encuentra *Lycium andersonii* y se puede decir que esta correlacionado positivamente con estas plantas. Por otra parte, *Prosopis spp.* y *Haplopappus sp.* están en un cuadrante diferente y están negativamente correlacionadas a las otras especies. Las especies de HMA que más impactan en el cuadrante de *Larrea tridentata*, *Pluchea sericea* y *Lycium andersonii* son las especies D (ESP4), J (ESP10), L (ESP12) y P (NoCTM2) siendo la última la que tiene mayor

influencia (determinado por el vector más grande en comparación a las otras especies). En el caso del cuadrante de *Haplopappus* spp. y *Prosopis* sp. las especies que más influyen sobre estas plantas son A (ESP1), C (ESP3), E (ESP5), O (NoCTM1), Q (NoCTM3) y R (NoCTM4) siendo la especie A la que más influencia presenta sobre estas especies vegetales.

En el caso de las plantas trampa (representado con "trap plant" en el PCA) se observó que las poblaciones de hongos de *Haplopappus* spp. y *Prosopis* sp. son más similares entre sí que con el resto de los tratamientos. Por otra parte, *Pluchea sericea*, *Lycium andersonii* y *Larrea tridentata* están en un cuadrante diferente y están negativamente correlacionadas a las otras especies. También se aprecia que las especies de HMA que más impactan en el cuadrante de *Haplopappus* spp. y *Prosopis* sp. son las especies B (ESP2), H (ESP8) y N (ESP14) siendo la especie B la que mayor influencia tiene. En el caso del cuadrante de *Pluchea sericea*, *Lycium andersonii* y *Larrea tridentata* se observa que las especies que más influyen sobre estas plantas son I (ESP9), K (ESP11), S (NoCTM5) y U (NoCTM7) en este caso se puede observar que la mayoría de las especies comparten influencia.

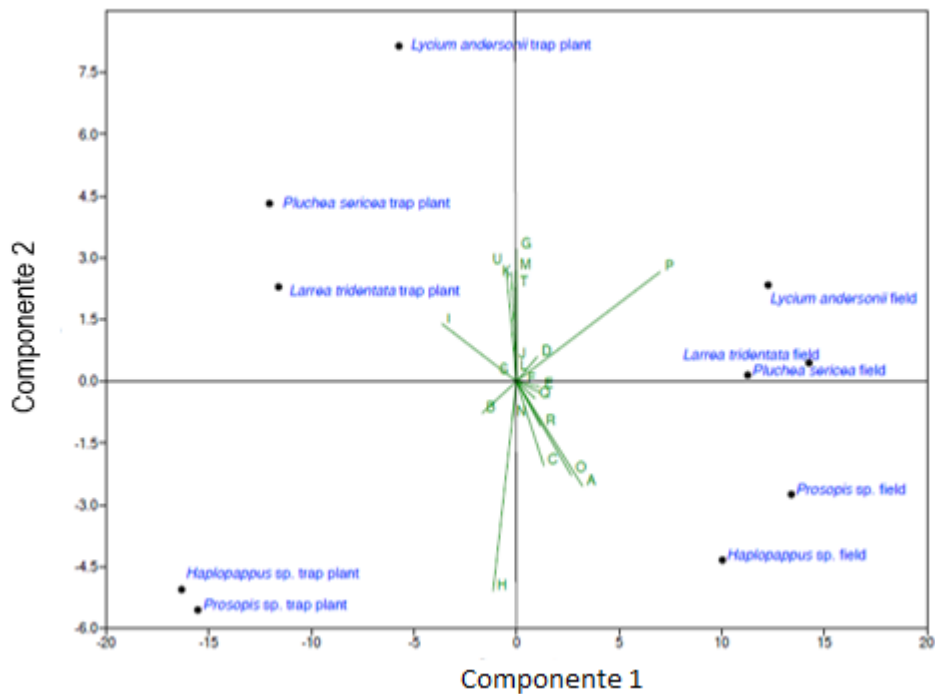


Figura 10. Grafica de componentes principales de las especies fúngicas de campo y las plantas trampa obtenido con PAST versión 4.11.

#### 19.16.4. Dendrogramas

En el dendrograma (Fig. 11) los datos de muestreo en campo y las plantas trampa se separan en dos ramas principales, con 100% de valor bootstrap. En los suelos de las plantas trampa inoculadas con suelo rizosférico de *Prosopis* spp. y *Haplopappus* sp. se observó un índice de similitud de 0.85 de acuerdo al índice de Bray-Curtis (Ricotta y Podani, 2017). *Larrea* y *Pluchea* formaron otro agrupamiento, con un valor de 0.71. *Lycium andersonii* se agrupa con el cluster de *Prosopis-Haplopappus*, con un valor de 0.65.

En el caso de los datos de campo, *Larrea tridentata* y *Prosopis* forman un cluster, donde su índice de similitud es de 0.89. A este cluster se les une *Lycium andersonii* con un valor de entre 0.85 y 0.90. Al cluster *Larrea-Prosopis-Lycium* se les asocia *Haplopappus*, con un valor inferior a 0.85. El más distante es *Pluchea sericea*.

El dendrograma compara los sitios y los tratamientos para determinar que poblaciones de hongos se parecen entre sí. La razón de estos agrupamientos puede deberse a factores ambientales, tales como el pH, salinidad, temperatura, nutrientes, y posiblemente las plantas estén generando presión de selección sobre los hongos.

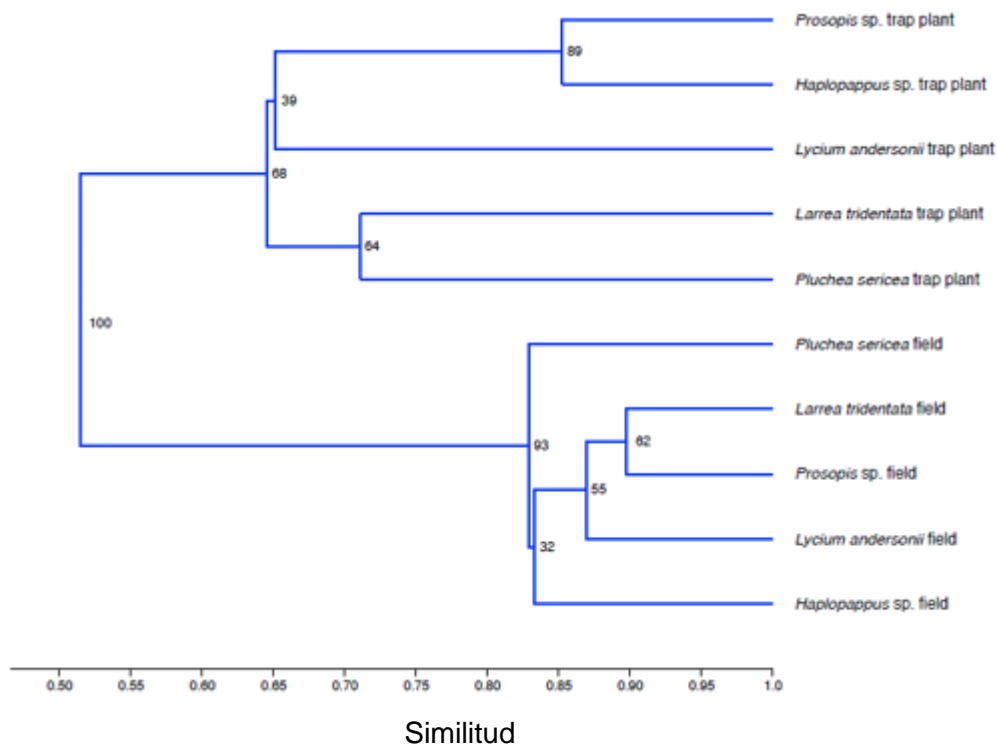


Figura 11. Dendrograma que muestra la similitud en la composición de especies de HMA en las plantas trampa y el campo. Las plantas de campo, representadas en el diagrama con la palabra en inglés “field”, y las plantas de los cultivos trampa las cuales están representadas con las palabras en inglés “trap plant”.

#### 19.16.5. Análisis multivariantes

##### 19.16.5.1. Análisis de correlaciones canónicas (CCA)

En el CCA (Fig. 12) de las plantas de campo la variable con mayor influencia es la temperatura del suelo, seguido por el pH. *Haplopappus* sp. así como las especies de HMA: C (ESP3), D (ESP4), E (ESP5), N (ESP14) y L (ESP12) se correlacionan con valores bajos de pH, carbono orgánico, calcio, nitrógeno, magnesio, porcentaje de arena y fósforo. Por otra parte, la especie *Larrea tridentata* y las especies de HMA: K (ESP11) y S (NoCTM5) no se correlacionan con las variables ambientales consideradas. *Lycium andersonii*, *Prosopis* spp. y las especies de HMA: B (ESP2), H (ESP8), I (ESP9), T

(NoCTM6) y U (NoCTM7) tienen una correlación con la conductividad eléctrica los sulfatos y la temperatura del suelo. *Pluchea sericea* y las especies de HMA: A (ESP1), G (ESP7), J (ESP10), M (ESP13) y R (NoCTM4) se correlacionan positivamente con el de arcilla en el suelo, es importante destacar que *Lycium andersonii* se acerca al vector del porcentaje de arcilla el cual también podría ser un factor a considerar.

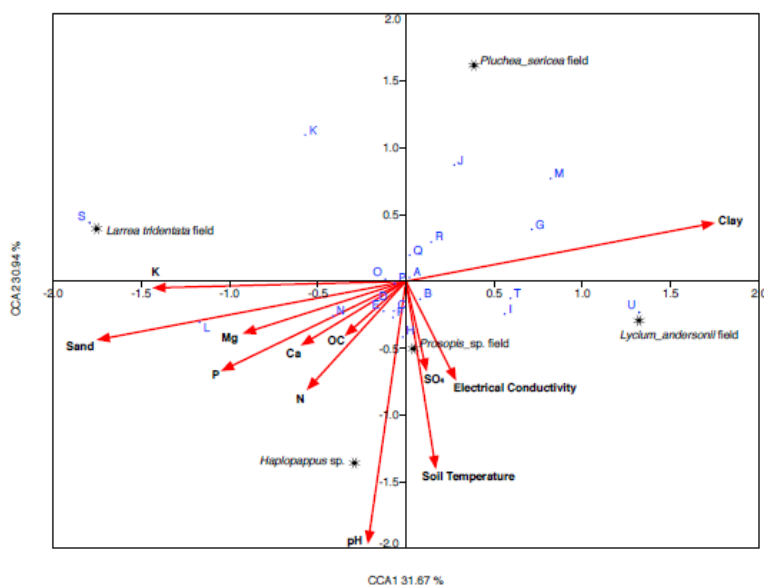


Figura 12. Análisis de correlaciones canónicas (CCA) de las plantas de campo. Los vectores marcados en rojo son las variables ambientales tomadas en cuenta para este análisis y las letras en azul son las especies de HMA encontrados.

En el caso de las plantas trampa (Fig. 13) se observó que la variable con mayor influencia es el pH (vector más largo). *Larrea tridentata*, así como las especies de hongos S (NoCTM5), L (ESP12), F (ESP6), C (ESP3) y N (ESP14) se correlacionan con el pH. *Pluchea sericea* y *Prosopis* tienen mayor cercanía con la temperatura y conductividad eléctrica. Hay mayor correlación con estas variables ambientales en estas especies vegetales. Las especies de HMA que prefieren temperaturas elevadas fueron D (ESP4), G (ESP7), A (ESP1) y O (NoCTM1). Las especies de HMA que prefirieron una conductividad eléctrica elevada fueron: H (ESP8) y J (ESP10).

*Lycium andersonii* está más lejos de las variables analizadas. Es posible que otras variables ambientales no incluidas en el análisis correlacionen con este experimento. Otro factor que puede afectar el resultado es que los datos de temperatura y pH no son unimodales (algunos valores se repiten en ambos conjuntos de datos).

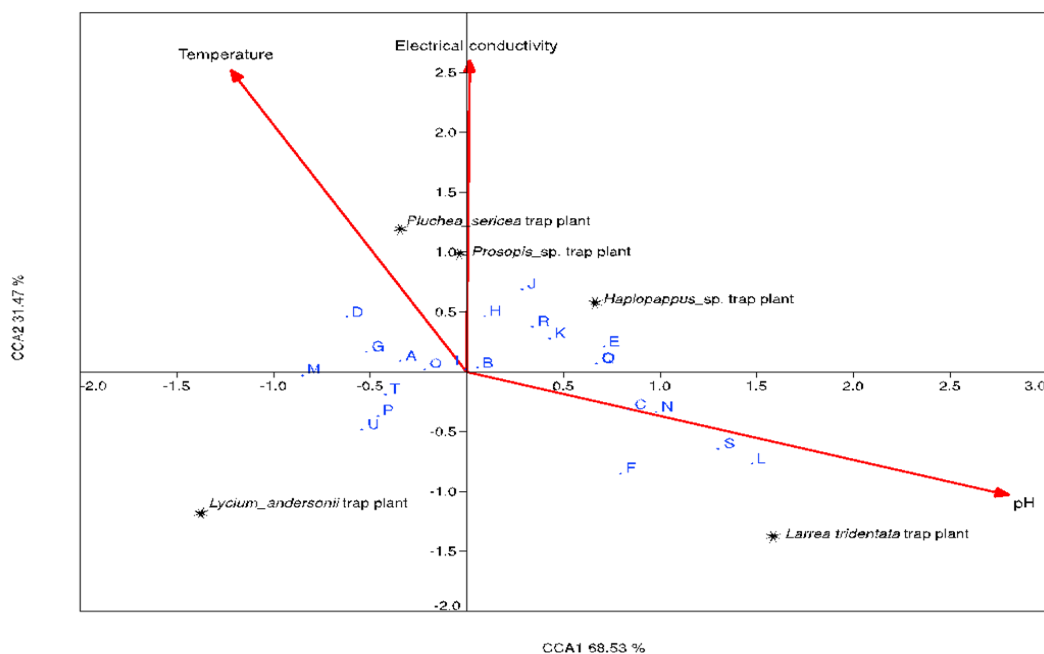


Figura 13. Correlación canónica (CCA) de las plantas trampa. Los vectores marcados en rojo son las variables ambientales tomadas en cuenta para este análisis, los asteriscos en negro son los suelos rizosféricos de las plantas trampa y las letras en azul son las especies de HMA encontrados.

De acuerdo con lo reportado por Alguacil et al., (2012) y Chauhary et al., (2014) las especies vegetales y la composición del suelo afectan la diversidad de especies de HMA, esto es demostrado por otras investigaciones (Scheublin et al., 2004; Smith y Read, 2008) en las que se ha observado que los HMA tienen preferencia por algunas propiedades del suelo como lo son el pH, la conductividad eléctrica, los cationes solubles y la textura del suelo. Este comportamiento se puede observar en los análisis de correlaciones canónicas en esta investigación en los cuales diversas especies de HMA muestran una correlación positiva a variables del suelo como el carbono orgánico, cationes del suelo ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , N, P, y el porcentaje de arena) así como a especies

vegetales (*Haplopappus* sp.). Lo que podría explicar que especies de HMA permiten a las plantas sobrevivir a las condiciones adversas del sitio de estudio.

#### 19.16.5.2. Análisis de redundancia (ADR)

En el ADR (Fig. 14) de las plantas de campo la variable con mayor influencia es la temperatura del suelo, seguido por el pH. *Prosopis* spp y *Haplopappus* sp. así como las especies de HMA: B (ESP2), C (ESP3), H (ESP8) y O (NoCTM1) se correlacionan con esta variable y prefieren menores temperaturas y pH. Por otra parte, la especie *Larrea tridentata* y las especies de HMA: D (ESP4), E (ESP5), F (ESP6), L (ESP12) y S (NoCTM5) se ven correlacionadas con el porcentaje de arena, el potasio, el fósforo y el magnesio prefiriendo mayores cantidades de las variables antes mencionadas. *Lycium andersonii* y las especies de HMA: A (ESP1), J (ESP10), N (ESP14) y T (NoCTM6) tienen correlación con la conductividad eléctrica y el porcentaje de arcilla en el suelo, siendo el porcentaje de arcilla la variable con mayor influencia. *Pluchea sericea* y las especies de HMA: I (ESP9), M (ESP13), P (NoCTM2), Q (NoCTM3) y U (NoCTM7) se correlacionan positivamente con el porcentaje de carbono orgánico (la variable con mayor influencia), el calcio, sulfatos y nitrógeno.

Entre más cercanas estén las especies vegetales en el análisis ADR (Fig. 15), como es el caso de *Prosopis* y *Haplopappus* se sugiere que las comunidades microbianas son más similares. Las especies de HMA que forman grupos compactos entre sí, comparten sitios de muestreo en común. Por otra parte, los HMA que se observan aislados en el ADR tienen presencia en menos sitios de muestreo.

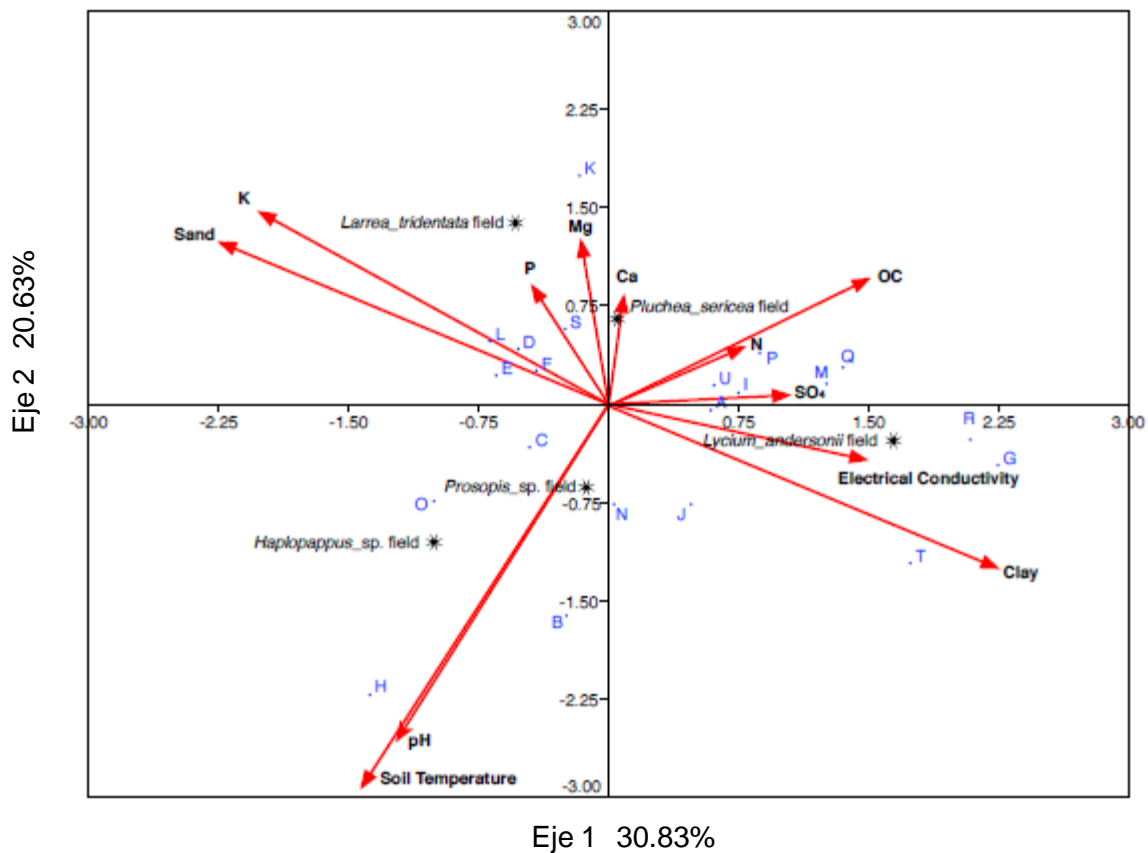


Figura 14. Análisis de redundancia (ADR) de los muestreos en campo. Los vectores marcados en rojo son las variables ambientales tomadas en cuenta para este análisis, los asteriscos en negro son los suelos rizosféricos de las plantas trampa y las letras en azul son las especies de HMA encontrados.

En el caso del ADR de las plantas trampa (Fig. 15) la variable con mayor influencia es el pH (vector más largo). *Larrea tridentata* se ve más influenciada por el pH y las especies de hongos que prefieren un pH bajo son N(ESP14), Q(NoCTM3), S(NoCTM5) y J(ESP10). *Haplopappus* y *Prosopis* tienen una mayor cercanía (influencia) con la temperatura del sustrato. Las especies de HMA C(ESP3), R(NoCTM4) y H(ESP8) prefieren una mayor temperatura mientras que F(ESP6) y D(ESP4) prefieren menores temperaturas. Para el caso de la conductividad eléctrica, las especies influenciadas son Q(NoCTM3) y N(ESP14). *Lycium andersonii* está más lejos de las variables analizadas.

Es posible que otras variables ambientales no incluidas en el análisis tengan influencia en este experimento.

Entre más cercanos estén los muestreos en el análisis ADR (Fig. 15), sugiere que guardan una comunidad microbiana similar: *Prosopis* con *Haplopappus* y *Pluchea sericea* con *Larrea tridentata*. Las especies de HMA que forman grupos más compactos entre sí, comparten sitios en común. Los HMA situados de manera aislada están presentes en menos sitios.

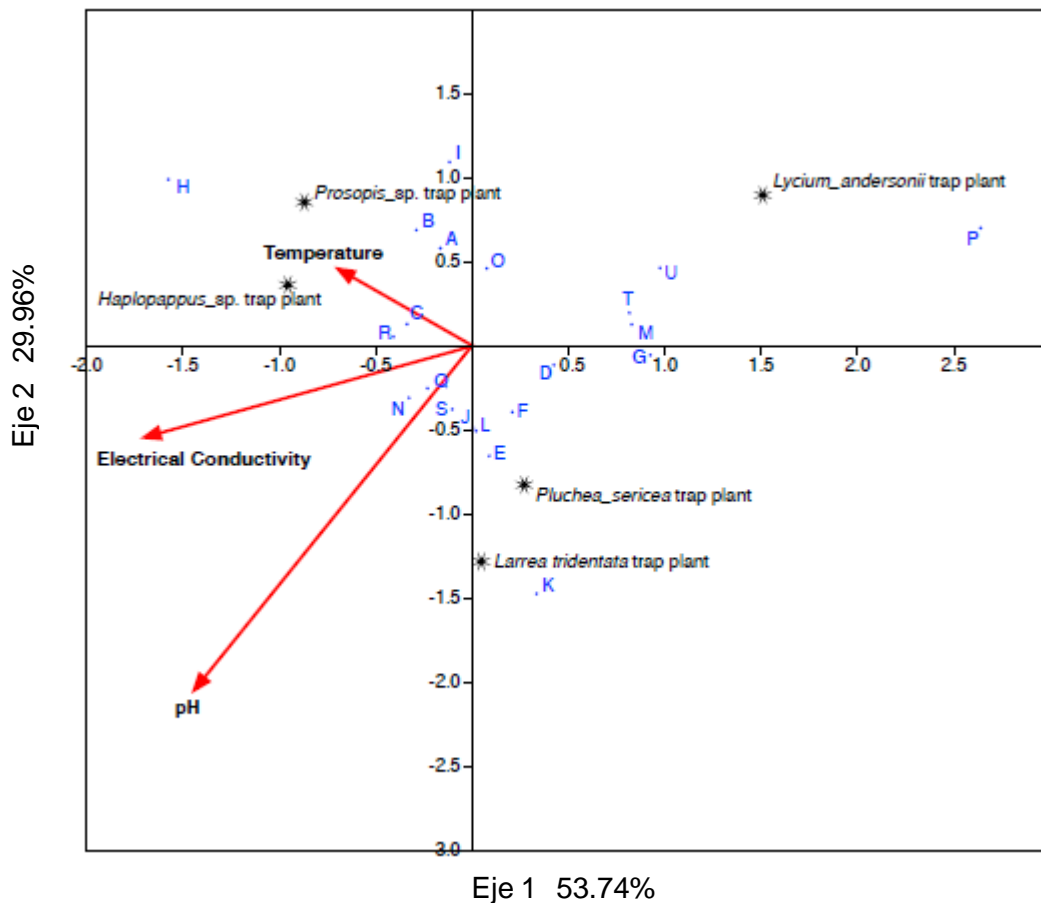


Figura 15. Análisis ADR de los cultivos trampa. Los vectores marcados en rojo son las variables ambientales tomadas en cuenta para este análisis, los asteriscos en negro son los suelos rizosféricos de las plantas trampa y las letras en azul son las especies de HMA encontrados.

### **19.17. Análisis de la superficie de esporas, esporocarpos e hifas mediante microscopia electrónica de barrido de bajo vacío**

Mediante el análisis realizado por microscopia electrónica de barrido de bajo vacío se analizaron los elementos químicos adheridos a las superficies de estas. Las esporas y esporocarpos (Fig. 16) de los cultivos de propagación y los regados con NaCl. Se observó (Fig. 17) la presencia de elementos químicos formadores de sales (Ca, Fe, Mg, K, Na, Cu, Cl y O) similares a los encontrados en otras investigaciones en las cuales se analizaron las esporas mediante EDX (China et al., 2018). Lo que indica que por lo menos en la superficie de las esporas y esporocarpos existe una acumulación de sales.

Las hifas (Fig. 18) de los tratamientos con zanahoria y lechuga también mostraron la presencia de sodio y cloro en su superficie (Fig. 19) cuando las plantas fueron regadas con diferentes concentraciones de cloruro de sodio.

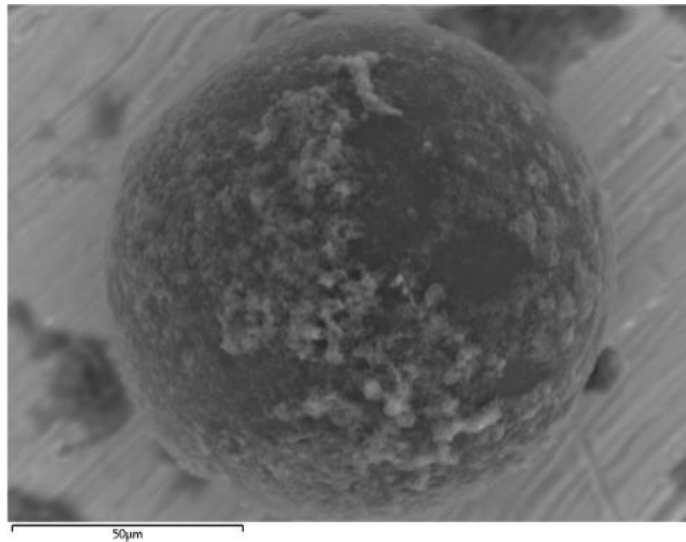


Figura 16. Análisis de bajo vacío de las esporas de los cultivos de propagación. Se puede observar las incrustaciones de sales en la superficie de la espora, en este caso siendo una espora del morfotipo ESP2.

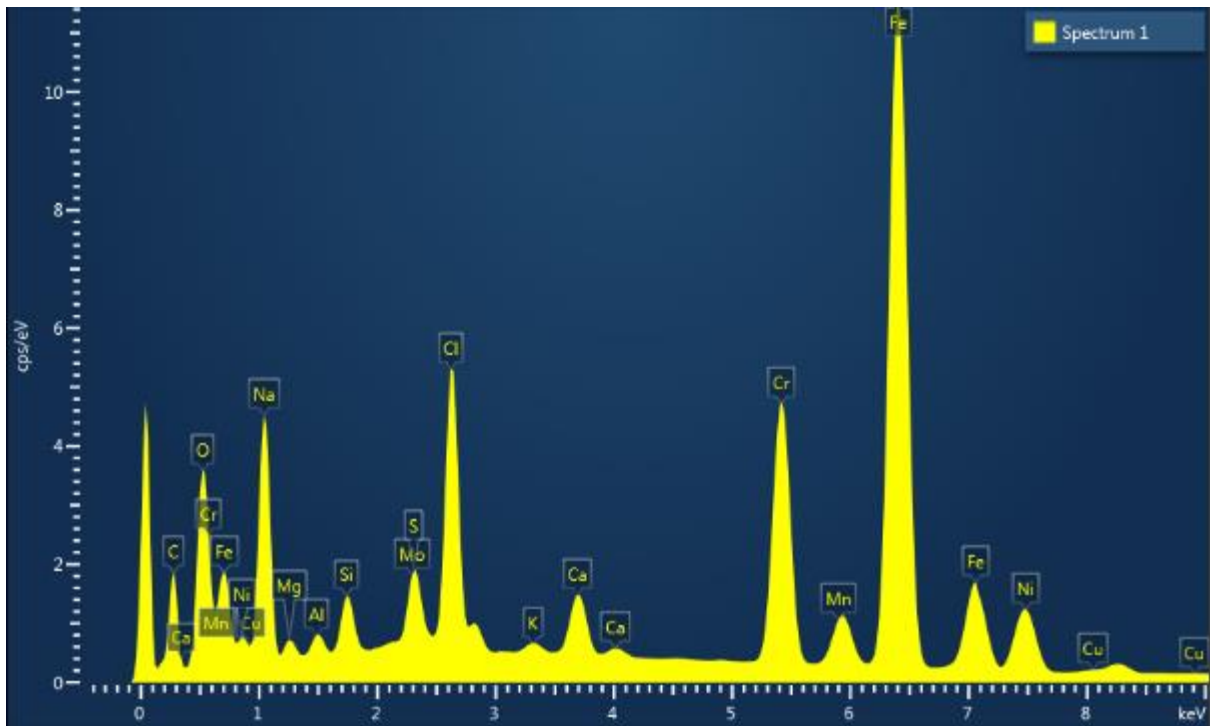


Figura 17. Grafica obtenida del análisis de elementos químicos de las esporas de los cultivos de propagación. Se puede observar la presencia de los elementos químicos formadores de sales, así como una alta concentración de hierro (Fe).

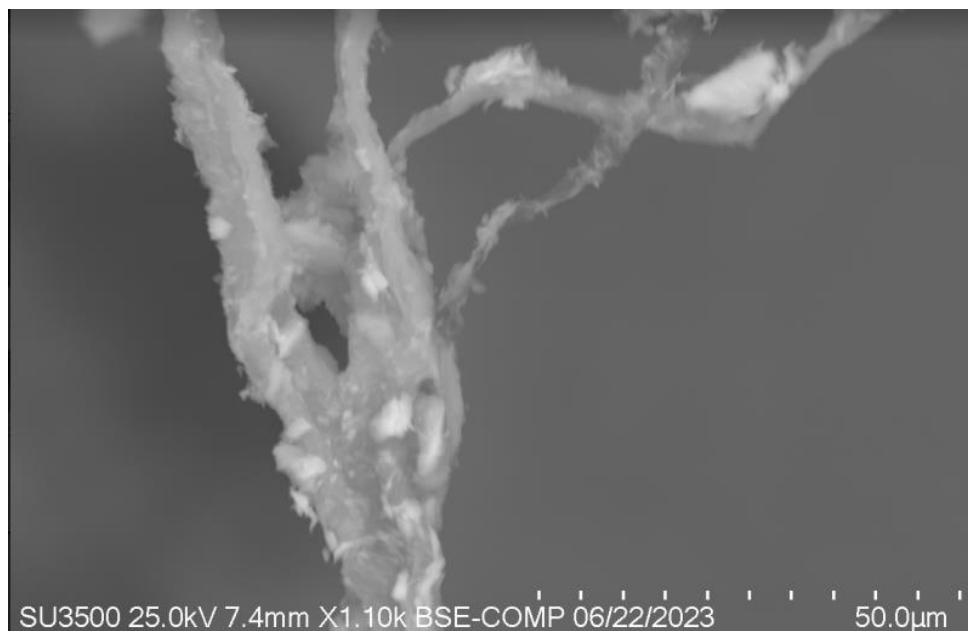


Figura 18. Hifas de los cultivos regados con NaCl que muestran incrustaciones de sales en la superficie.

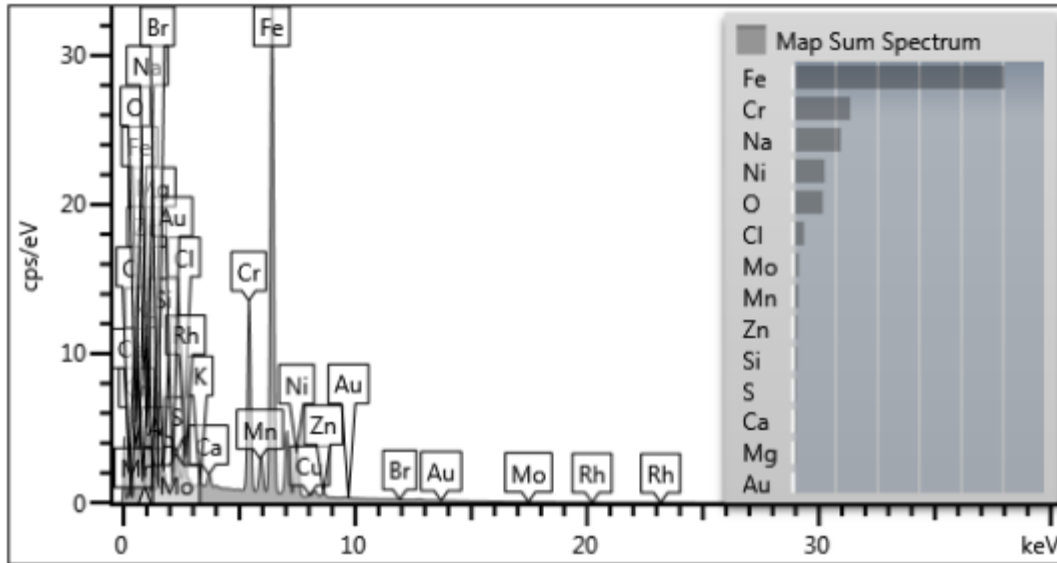


Figura 19. Análisis de elementos químicos en la superficie de las hifas de los cultivos regados con NaCl. Se puede observar la presencia de los elementos químicos formadores de sales, así como una alta concentración de hierro (Fe).

### **19.18. Hongos micorrízicos arbusculares como promotores del crecimiento en especies vegetales de interés agrícola bajo condiciones altamente salinas**

#### **19.18.1. Efecto en la morfología de las plántulas**

Las plantas sin inocular sufrieron daños morfológicos asociados a la presencia de salinidad (Fig. 20 y 21) (clorosis en las hojas, quemaduras, reducción de tamaño y biomasa) similares a los daños característicos reportados en el trabajo de Miransari (2017). En la Fig. 22 se puede observar que, en el caso de la lechuga, la plántula inoculada con HMA2 se ve mucho más sana en comparación a la plántula sin inocular y la inoculada con HMA1. Lo antes mencionado también aplica para la zanahoria (Fig. 23). En los tratamientos con NaCl a diferentes concentraciones (Fig. 57 a Fig. 60) se observó que para ambas plantas el inoculante HMA2, proveniente de los cultivos de propagación de lechuga con suelo rizosférico de *Lycium andersonii*, ayudo a que estas se desarrollaran de manera adecuada sin importar la concentración de sal. Para mitigar los daños morfológicos que se presentaron en esta investigación quizás se debería utilizar

otro consorcio microbiano ya que en investigaciones como la de Tigka et al., (2020) se encontró que diferentes consorcios tienen respuestas diferentes ante el estrés salino.

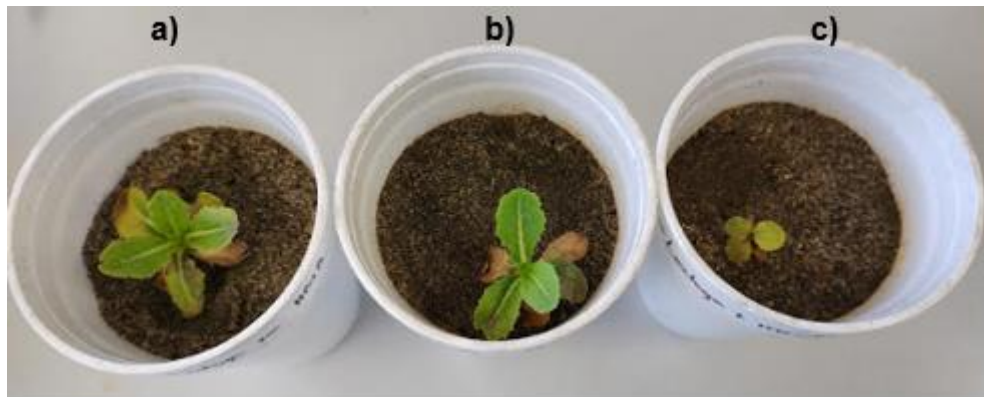


Figura 20. Comparación de los testigos de lechuga sin inocular con diferentes concentraciones de sal. En la imagen se puede observar el testigo sin inocular (a) y las plántulas sin inocular con 60 mM de NaCl (b) y 120 mM NaCl (c).

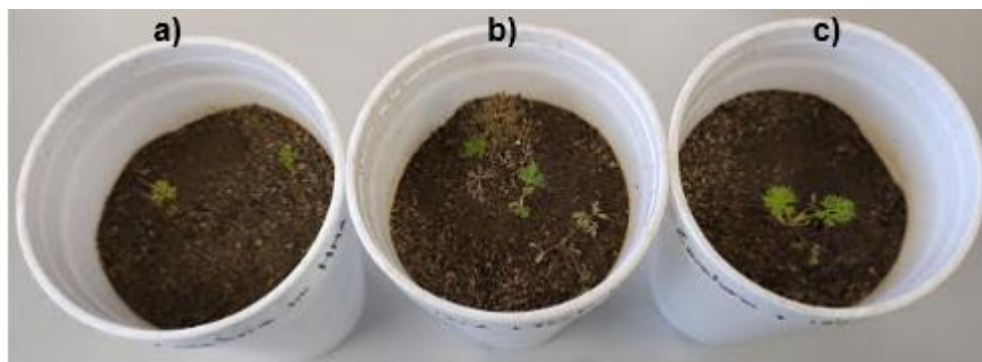


Figura 21. Comparación de los testigos de zanahoria sin inocular con diferentes concentraciones de sal. En la imagen se puede observar el testigo sin inocular (a) y las plántulas sin inocular con 60 mM de NaCl (b) y 120 mM NaCl (c).

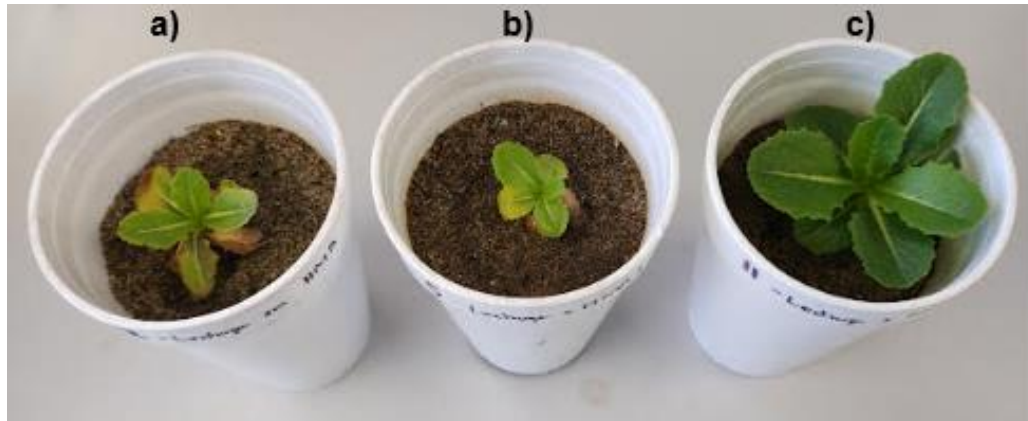


Figura 22. Comparación de las plántulas de lechuga sin inocular (a), inoculas con HMA1 (b) e inoculadas con HMA2 (c).

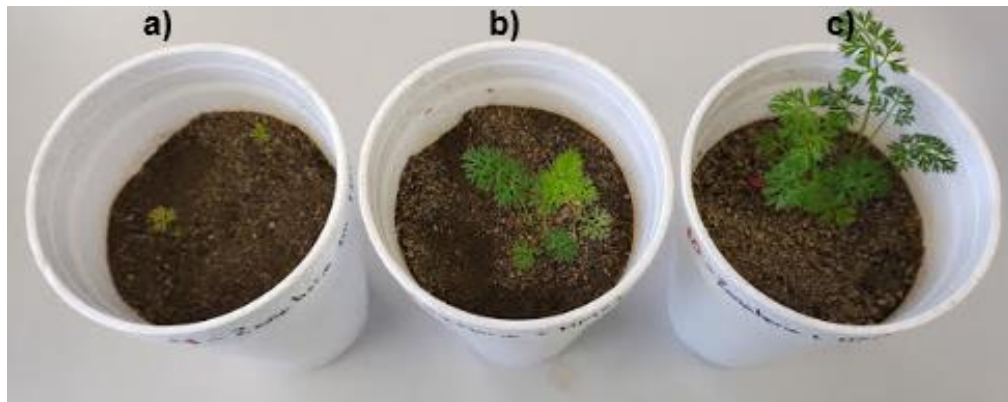


Figura 23. Comparación de las plántulas de zanahoria sin inocular (a), inoculas con HMA1 (b) e inoculadas con HMA2 (c).

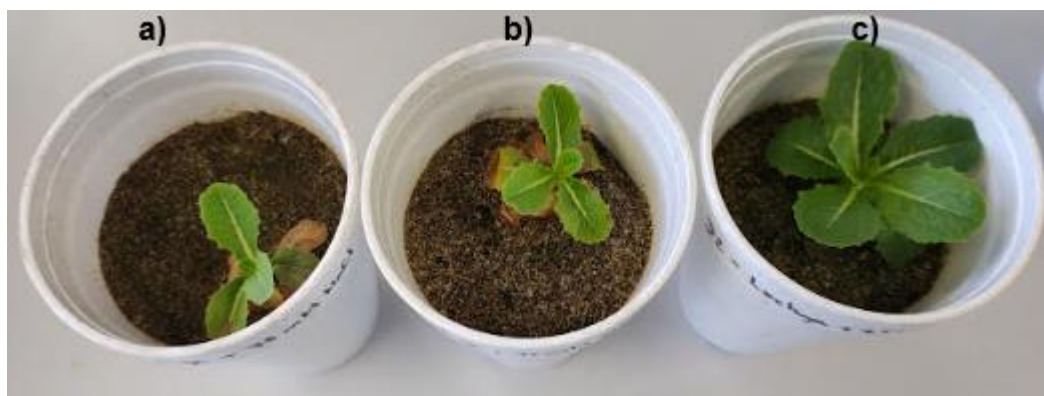


Figura 24. Comparación de las plántulas de lechuga con 75 mM de NaCl. En la imagen se puede observar el testigo sin inocular (a) y la plántula inoculada con HMA1 (b) y la plántula inoculada con HMA2 (c).

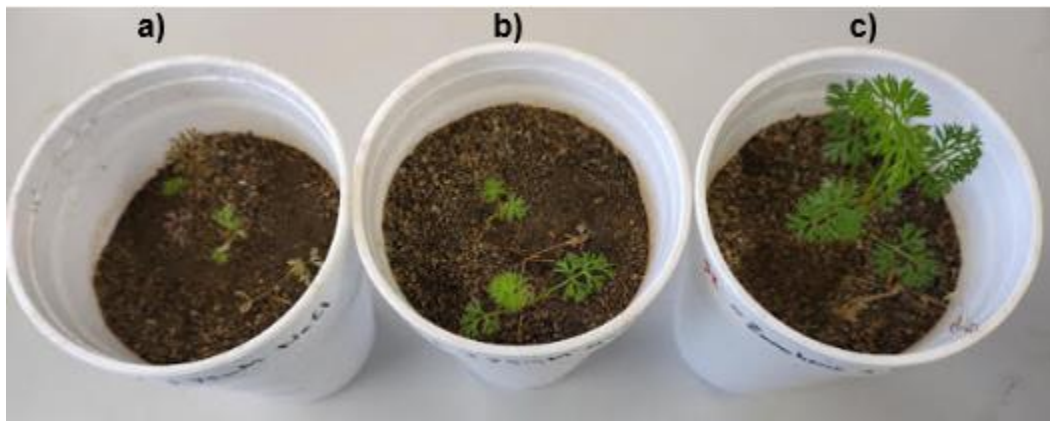


Figura 25. Comparación de las plántulas de zanahoria con 60 mM de NaCl. En la imagen se puede observar el testigo sin inocular (a) y la plántula inoculada con HMA1 (b) y la plántula inoculada con HMA2 (c).



Figura 26. Comparación de las plántulas de lechuga con 120 mM de NaCl. En la imagen se puede observar el testigo sin inocular (a) y la plántula inoculada con HMA1 (b) y la plántula inoculada con HMA2 (c).

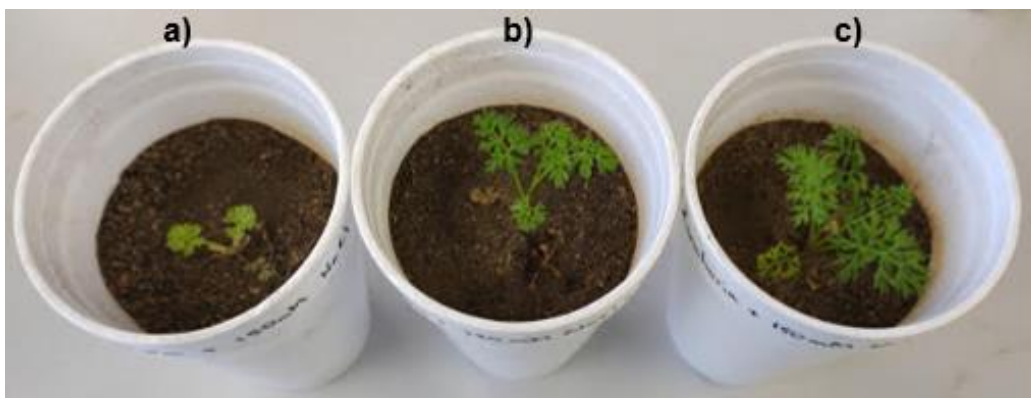


Figura 27. Comparación de las plántulas de zanahoria con 120 mM de NaCl. En la imagen **71** se puede observar el testigo sin inocular (a) y la plántula inoculada con HMA1 (b) y la plántula inoculada con HMA2 (c).

### 19.18.2. *Altura, longitud de las raíces, peso seco y clorofila total*

Las plantas de zanahoria inoculadas con HMA2 y sin NaCl tuvieron significativamente mayor altura ( $15.2 \pm 3.81$  cm), longitud de raíces ( $14.33 \pm 2.08$  cm), biomasa seca ( $0.24 \pm 0.05$  g) y contenido de clorofila ( $22.16 \pm 6.99$  mg ml<sup>-1</sup>) en comparación con las plantas sin inocular y sin NaCl ( $1.2 \pm 1.04$  cm;  $4.50 \pm 4.27$  cm;  $0.006 \pm 0.005$  g y  $0$  mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente). No se observó diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en el crecimiento de las plantas al comparar entre HMA1 y HMA2 en los tratamientos sin la adición de NaCl. Sin embargo, cuando se aplicó 60 mM de NaCl se observó mayor tolerancia a la salinidad en las plantas inoculadas con HMA2 (Fig. 28). La aplicación de 120 mM de NaCl afectó el crecimiento de las plantas micorrizadas con ambos inoculantes; sin embargo, el crecimiento de las plantas inoculadas fue mayor que el de plantas no inoculadas (Tabla 9). Las plantas de lechuga que crecieron sin NaCl e inoculadas con HMA2 tuvieron los valores más altos de las variables medidas con respecto a las plantas de lechuga inoculadas con HMA1 y las plantas de lechuga sin inocular (Tabla 9). Cuando se aplicó 60 mM de NaCl, la inoculación con HMA2 permitió significativamente mejor crecimiento de las plantas de lechuga con respecto a aquellas plantas inoculadas con HMA1 y plantas sin inocular. Con 120 mM de NaCl, las plantas de lechuga con cualquier inoculante fueron más tolerantes a la salinidad con respecto a aquellas plantas que no se inocularon (Fig. 29).

El peso seco (Tabla 10) de las plantas testigo sin NaCl fue de  $6.67 \times 10^{-3}$  g, por otra parte, las plantas inoculadas con HMA2 (sin NaCl) llegaron a producir 1.32 g de biomasa (en el caso de la lechuga) y .24 g (en el caso de la zanahoria). En el caso de los tratamientos con NaCl se observó que las plantas colonizadas con el inoculante HMA2 produjeron hasta .57 g más que las plantas inoculadas con HMA1 y .64 en comparación a los testigos. Comparando los datos con la investigación de Elhindi et al., (2017) se encontró que en todos los casos las plantas produjeron menos biomasa que plantas con tratamientos con menores concentraciones de NaCl (0, 5 y 10 mM), comprobando que los efectos de altas concentraciones de NaCl afectan el desarrollo de las plantas.

Al analizar el contenido de clorofila total (Tabla 11) de las especies agrícolas de interés se pudo observar que la especie con mayores concentraciones de clorofila en sus hojas era la zanahoria, en el caso de las plantas inoculadas con HMA2 sin NaCl se obtuvieron 22.16 mg mL<sup>-1</sup>, en las plantas con 60 mM NaCl hubo una reducción de 5.01 mg mL<sup>-1</sup> y al aumentar la concentración a 120 mM NaCl la concentración de clorofila aumento 1.63 mg mL<sup>-1</sup> en comparación a la encontrada a 60 mM NaCl. Comparando los resultados obtenidos con la investigación de Shahvali et al., (2020) se observó que las plantas de inoculadas con HMA 2 y 120 mM tenían 57% más clorofila en comparación a plantas con 80 mM NaCl inoculadas con *F. mosseae* y *R. intraradices*. Haciendo otra comparación con el trabajo de Elhindi et al., (2017) se encontró que las plantas con 120 mM tenían casi la misma concentración de clorofila que plantas de albacá expuestas a 10 mM.

La lechuga, por otra parte, sufrió daños morfológicos significativos en las hojas los cuales afectaron el crecimiento y expansión de sus hojas, esto coincide con lo reportado en el trabajo de Osman (2018) y Yan et al., (2021). Debido a lo antes mencionado no se pudieron obtener datos de las plantas expuestas a los tratamientos con 120 mm NaCl.

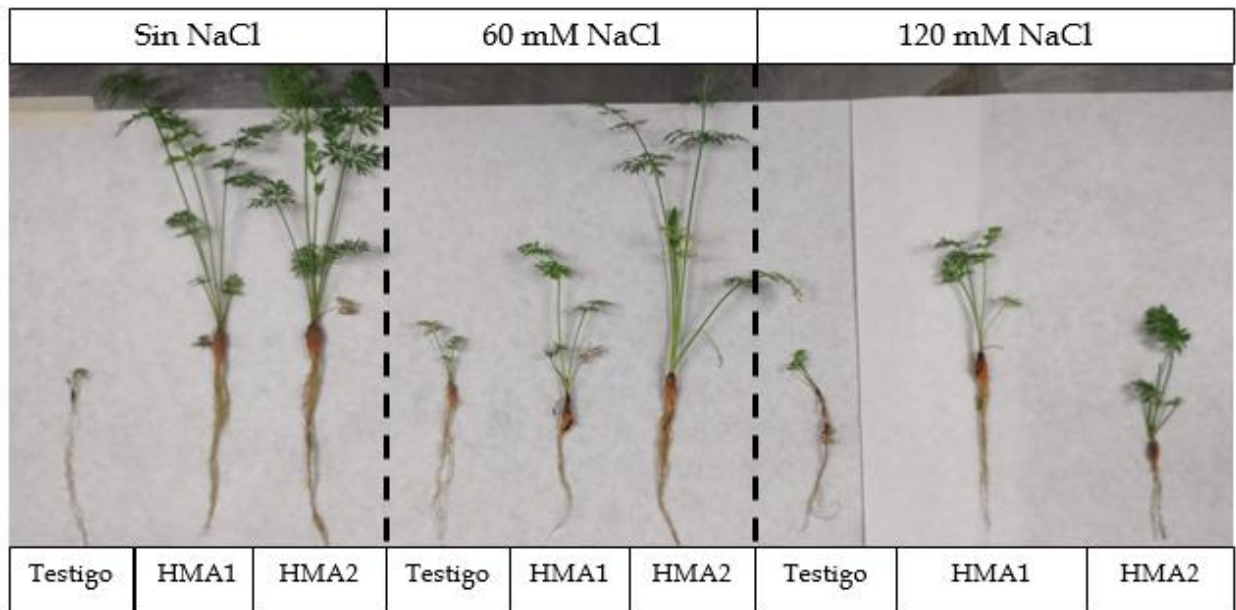


Figura 28. Efecto del NaCl e inoculación con dos consorcios micorrízicos en el crecimiento de zanahoria.

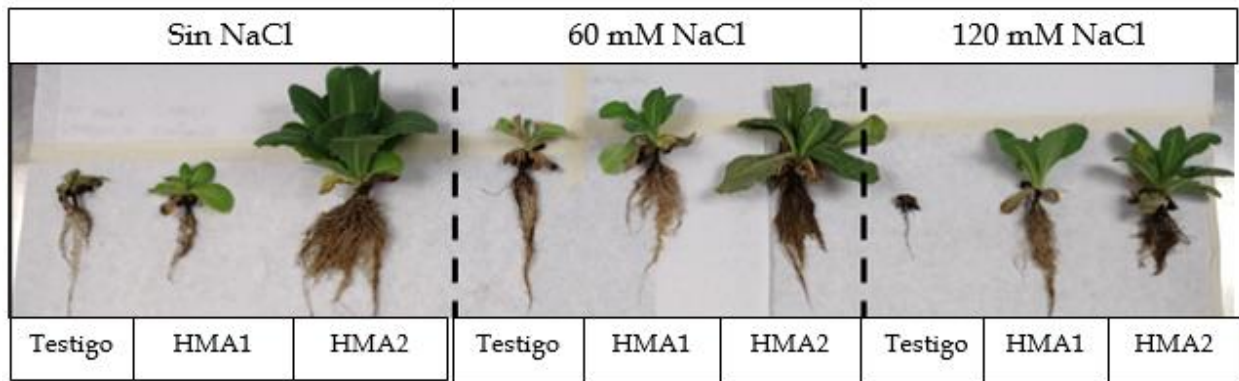


Figura 29. Efecto del NaCl e inoculación con dos consorcios micorrízicos en el crecimiento de lechuga.

Tabla 9. Altura (cm) y longitud de las raíces (cm) obtenidas de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola *Daucus carota* (zanahoria) y *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana).

	Altura de la parte aérea (cm)				Longitud de la raíz (cm)			
	Zanahoria		Lechuga		Zanahoria		Lechuga	
<b>Testigo sin HMA</b>	1.2 ± 1.04	b	2.7 ± 0.93	B	5.67 ± 5.30	y	11.30 ± 7.27	XY
<b>HMA1</b>	8.97 ± 9.47	ab	4.2 ± 1.08	B	18.67 ± 11.59	xy	9.07 ± 2.11	XY
<b>HMA2</b>	15.2 ± 3.81	a	8.7 ± 3.78	A	29.67 ± 4.25	x	22.03 ± 6.96	X
<b>Testigo + 60 mM NaCl</b>	4.3 ± .58	ab	2.1 ± 1.44	B	7.83 ± 1.76	y	1.53 ± 2.66	Y
<b>60 mM NaCl + HMA1</b>	6.3 ± 0.58	ab	2.8 ± 1.91	B	14.50 ± 3.91	y	6.67 ± 0.76	Y
<b>60 mM NaCl + HMA2</b>	15 ± 6	a	2.5 ± 1.32	B	11.67 ± 2.89	y	8.87 ± 4.54	Y
<b>Testigo +120 mM NaCl</b>	2.6 ± 1.6	b	2.7 ± 0.93	B	11.17 ± 3.82	y	5.4 ± 1.04	Y

<b>120 mM NaCl + HMA1</b>	7.2 ± 0.76	ab	1.5 ± 0.93	B	12.33 ± 2.89	y	5.17 ± 3.00	Y
<b>120 mM NaCl + HMA2</b>	8.50 ± .50	ab	5.7 ± 2.51	B	11.83 ± 0.57	y	11.97 ± 6.71	XY

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a p<0.05 basado en la prueba de Tukey.

Tabla 10. Pesos secos (g) obtenidos de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola *Daucus carota* (zanahoria) y *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana).

	<b>Zanahoria</b>		<b>Lechuga</b>	
<b>Testigo sin HMA</b>	6.67E-03 ± 5.57E-03	e	0.260 ± 0.200	ED
<b>HMA1</b>	0.09 ± 0.10	ed	0.17 ± 0.04	D
<b>HMA2</b>	0.24 ± 0.05	ed	1.32 ± 1.07	E
<b>Testigo + 60 mM NaCl</b>	0.04 ± 0.01	ed	0.01 ± 0.03	D
<b>60 mM NaCl + HMA1</b>	0.03 ± 0.02	ed	0.07 ± 0.04	D
<b>60 mM NaCl + HMA2</b>	0.27 ± 0.23	d	0.14 ± 0.10	D
<b>Testigo +120 mM NaCl</b>	0.01 ± 0.01	e	0.04 ± 0.03	D
<b>120 mM NaCl + HMA1</b>	0.113 ± 5.57E-03	ed	0.12 ± 0.06	D
<b>120 mM NaCl + HMA2</b>	0.1133 ± 0.05	ed	0.69 ± 0.42	ED

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a p<0.05 basado en la prueba de Tukey.

Tabla 11. Clorofila total obtenidos ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola *Daucus carota* (zanahoria) y *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana).

	Clorofila total ( $\text{mg mL}^{-1}$ )			
	Zanahoria		Lechuga	
<b>Testigo sin HMA</b>	0	b	$0 \pm 0$	B
<b>HMA1</b>	$16.34 \pm 6.19$	a	$2.93 \pm 5.07$	B
<b>HMA2</b>	$22.16 \pm 6.99$	a	$20.42 \pm 8.04$	A
<b>Testigo + 60 mM NaCl</b>	0	b	$3.03 \pm 5.24$	B
<b>60 mM NaCl + HMA1</b>	$23.28 \pm 1.20$	a	$0.1 \pm 1.724$	B
<b>60 mM NaCl + HMA2</b>	$17.15 \pm 3.36$	a	$5.05 \pm 8.75$	B
<b>Testigo +120 mM NaCl</b>	0	b	$0 \pm 0$	B
<b>120 mM NaCl + HMA1</b>	$12.69 \pm 5.75$	a	$0 \pm 0$	B
<b>120 mM NaCl + HMA2</b>	$18.78 \pm 2.16$	a	$0 \pm 0$	B

Los datos representan el promedio  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a  $p < 0.05$  basado en la prueba de Tukey.

### 19.18.3. pH, conductividad eléctrica y colonización micorrízica

Se analizó el pH (Tabla 12), la conductividad eléctrica (CE) (Tabla 12) y colonización micorrízica (Tabla 13) para evaluar el efecto que tuvieron los tratamientos salinos en los suelos de las plantas de interés agrícola. En los testigos sin inocular y sin NaCl se obtuvieron valores de 8.08 para la zanahoria y 8.57 para la lechuga, comparando estos resultados con los de las plantas inoculadas se puede ver que la planta inoculada con HMA1 sin NaCl el pH aumento .02 para la zanahoria, en el caso de la lechuga aumento

.03. Lo anterior contrasta con lo obtenido en las plantas inoculadas con HMA2 sin NaCl en las cuales se observó una reducción de pH en comparación al testigo y las plantas inoculadas con HMA1, lo anterior se observó en todos los tratamientos que tuvieran HMA2.

Se realizó la medición de conductividad eléctrica de las soluciones de 60 y 120 mM NaCl para primero tener el dato de CE para poder asegurarse que los tratamientos llegaran a la CE deseada y segundo poder realizar una comparación entre los resultados finales de los tratamientos, los valores fueron 6.39 dS m<sup>-1</sup> para 60 mM NaCl y 12.78 dS m<sup>-1</sup> para 120 mM NaCl. La conductividad eléctrica de los tratamientos con zanahoria estaba en el intervalo de 1.85 a 11.28 dS m<sup>-1</sup> y para los tratamientos de lechuga se obtuvieron valores en el intervalo de 1.95 a 11.73 dS m<sup>-1</sup> encontrándose, para ambas plantas, los valores más altos en los tratamientos testigo con 120 mM NaCl. Los tratamientos en los que se encontró la menor cantidad de sal fueron los tratamientos con HMA2, en el caso de los tratamientos de zanahoria con 60 mM NaCl hubo una reducción de 30.51% en la CE en comparación a la CE inicial (6.39 dS m<sup>-1</sup>) y para los tratamientos de 120 mM NaCl la reducción fue de 31% en comparación a la CE inicial. En el caso de la lechuga se observó en los tratamientos con 60 mM NaCl una reducción de 30.51% en la CE del suelo en comparación a la CE inicial y en el caso de los tratamientos con 120 mM NaCl la reducción fue de 23.47%.

Tabla 12. Comparación de los datos de pH y conductividad eléctrica (CE) obtenidos de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola *Daucus carota* (zanahoria) y *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana).

	pH			Conductividad eléctrica (dS/m)				
	Zanahoria		Lechuga		Zanahoria		Lechuga	
Testigo sin HMA	8.08 ± 0.01	d	8.57 ± 0.09	B	2.09 ± 0.18	z	1.95 ± 0.11	Z
HMA1	8.10 ± 0.02	d	8.60 ± 0.04	AB	2.05 ± 0.16	z	2.08 ± 0.32	Z
HMA2	8.01 ± 0.01	d	8.47 ± 0.02	B	1.85 ± 0.23	z	1.95 ± 0.38	Z
Testigo + 60 mM NaCl	8.56 ± 0.07	c	8.53 ± 0.04	AB	5.18 ± 0.10	x	5.94 ± 0.14	X

60 mM NaCl + HMA1	8.58 ± 0.005	bc	8.44 ± 0	B	4.38 ± 0.10	y	4.93 ± 0.41	Y
60 mM NaCl + HMA2	8.51 ± 0.08	c	8.54 ± 0.01	B	4.44 ± 0.60	y	4.34 ± 0.02	Y
Testigo +120 mM NaCl	8.79 ± 0.03	a	8.44 ± 0.03	B	11.28 ± 0.08	v	11.72 ± 0.12	V
120 mM NaCl + HMA1	8.73 ± 0.03	a	8.81 ± 0.09	A	9.33 ± 0.10	w	11.73 ± 0.02	V
120 mM NaCl + HMA2	8.68 ± 0.02	ab	8.54 ± 0.19	B	8.82 ± 0.06	w	9.78 ± 0.13	W

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a  $p < 0.05$  basado en la prueba de Tukey.

En la colonización micorrízica (Fig. 30 y 31) se observó que para ambas plantas el inoculante que mejor formó simbiosis fue HMA2 (Tabla 13), obtenido valores en el intervalo de 82.67 a 96.67% en la zanahoria y valores en el intervalo de 80.3 a 98% para la lechuga. Es importante destacar que los valores más altos de colonización se presentaron en las plantas expuestas al nivel más alto de salinidad. En contraste a HMA2, HMA1 obtuvo valores en los intervalos de 0 a 79.33% para zanahoria y valores en el intervalo de 45.17 a 54.67% en la lechuga. En ambas plantas se observó una reducción en la colonización micorrízica entre más altas fueran las concentraciones de sales en el tratamiento. También se observó que HMA1 no hizo simbiosis con la zanahoria hasta que se presentó el estrés salino. Comparando estos resultados con otras investigaciones se observó que las plantas inoculadas con HMA2 presentaron más colonización micorrízica en comparación a otras investigaciones (79.3 a 92.98%) en las que se utilizaron niveles menores de salinidad (0, 5 y 10 mM) (Elhindi et al., 2017)

También se observaron al microscopio las raíces teñidas con azul de tripano, en el caso de las raíces de las plantas con HMA2 no se observó ninguna diferencia en los morfotipos sin importar la concentración de sal, sin embargo, en los tratamientos con HMA1 se observaron cambios en los morfotipos.

Tabla 13. Comparación de los porcentajes de colonización de las raíces de los tratamientos realizados en las especies de interés agrícola *Daucus carota* (zanahoria) y *Lactuca sativa* L. var. Longifolia (lechuga romana).

	Colonización (%)			
	Zanahoria		Lechuga	
Testigo sin HMA	0 ± 0	d	0 ± 0	D
HMA1	0 ± 0	d	65 ± 24	ABC
HMA2	92.33 ± 7.51	ab	80.3 ± 29.8	ABC
Testigo + 60 mM NaCl	0 ± 0	d	0 ± 0	D
60 mM NaCl + HMA1	79.33 ± 4.04	b	45.17 ± 15.09	C
60 mM NaCl + HMA2	82.67 ± 3.06	ab	90.67 ± 9.02	AB
Testigo +120 mM NaCl	0 ± 0	d	0 ± 0	D
120 mM NaCl + HMA1	36 ± 12	c	54.67 ± 8.08	BC
120 mM NaCl + HMA2	96.67 ± 5.77	a	98 ± 2	A

Los datos representan el promedio ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas a p<0.05 basado en la prueba de Tukey.

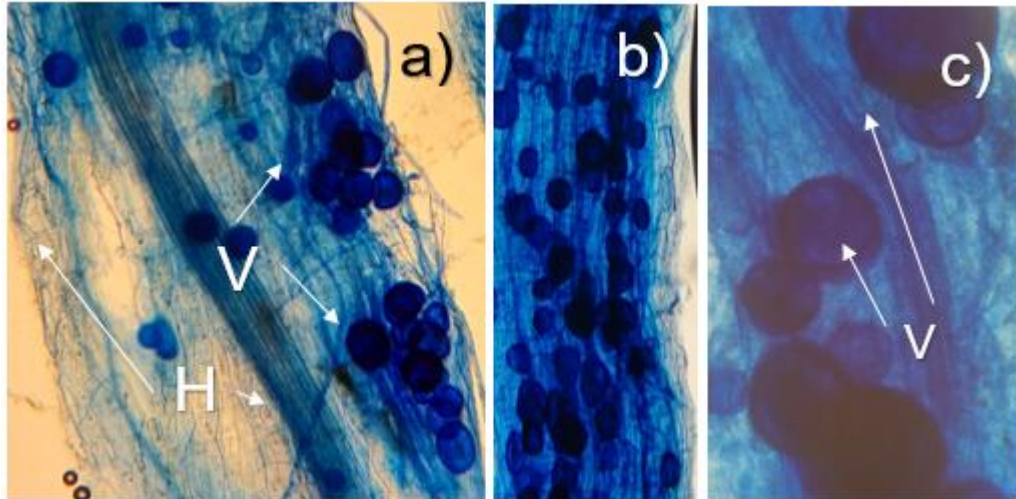


Figura 30. Vesículas e hifas encontradas en las raíces de las plantas inoculadas con HMA2. La imagen a) fue tomada con el objetivo 20x, la imagen b) con el objetivo 40x y la imagen c) fue capturada con el objetivo 100x. Las letras H y V son para señalar la ubicación de las vesículas e hifas.

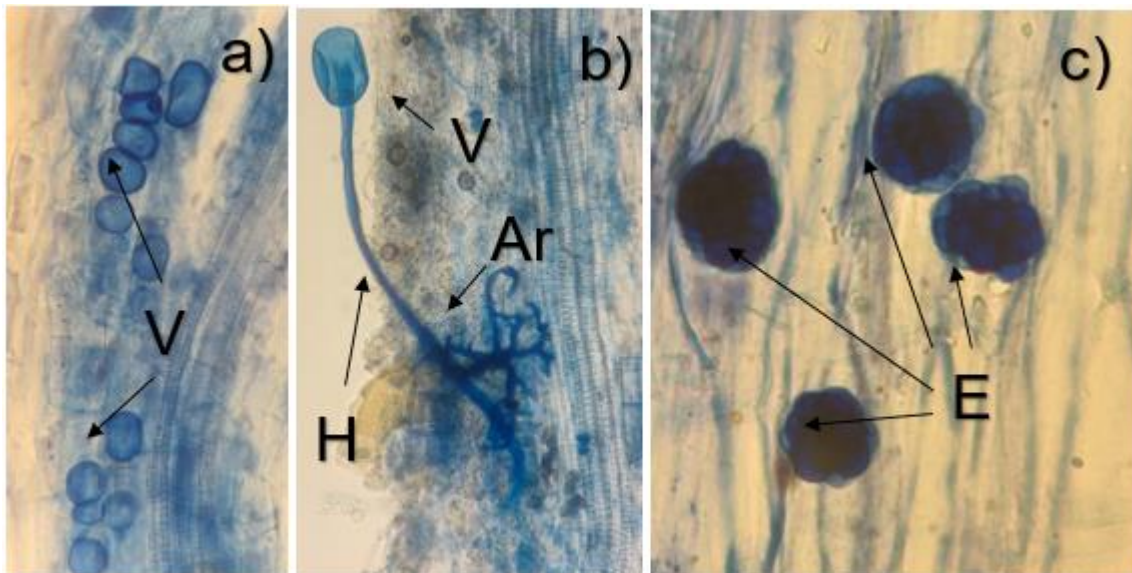


Figura 31. Vesículas, arbusculos, hifas y esporas encontrados en las raíces de las plantas inoculadas con HM1. La imagen a) fue tomada con el objetivo 40x, la imagen b) con el objetivo 40x y la imagen c) fue capturada con el objetivo 100x. Las letras V, E, H y AR señalizan la ubicación de vesículas, esporas, hifas y arbusculos, respectivamente.

## 20. Conclusiones

El suelo del sitio de estudio varía de ligeramente alcalino a alcalino y salino, y no es muy abundante en microorganismos. El intervalo de pH está entre 7 y 9, mientras que el intervalo de CE se encuentra entre  $0.60 \text{ dS m}^{-1}$  y  $6.71 \text{ dS m}^{-1}$ . Los cationes intercambiables predominantes en el suelo fueron el calcio y el sodio. Este suelo es poco fértil y tiene baja resistencia a los cambios químicos. El valor de unidades formadoras de colonias de bacterias ( $2.00 \times 10^5$  a  $1.07 \times 10^6 \text{ UFC g}^{-1}$ ) y hongos ( $5.00 \times 10^1$  a  $1.26 \times 10^3 \text{ UFC g}^{-1}$ ) se encuentran cercano al intervalo de microorganismos que tienen los suelos agrícolas. Las interacciones de hongos, bacterias y HMA del suelo de la Laguna Salda pueden estar realizando una función importante para que las plantas puedan desarrollarse en este ambiente tan hostil.

La tolerancia de *Lycium andersonii* a las condiciones de alta CE ( $6.76 \text{ dS m}^{-1}$ ) y pH alcalino (8.60) encontrado en el suelo rizosférico se debe a su asociación micorrízica presente, sin embargo, dicha especie mostró el valor de clorofila total más baja ( $5.21 \text{ mg mL}^{-1}$ ) en comparación al resto de las especies vegetales encontradas en el sitio de estudio (intervalo de 11.12 a  $16.30 \text{ mg mL}^{-1}$ ). El suelo rizosférico con mayor porcentaje de humedad (1.46, 1.50 y 1.43%) fue el de *L. andersonii* junto a *Haplopappus* sp. y *Larrea tridentata*. *L. andersonii* presentó colonización micorrízica de 91% y en su suelo rizosférico se encontraron 381 esporas y 727 esporocarpos por cada 100 g de suelo; esta fue la segunda especie con más presencia de esporas y esporocarpos. Adicionalmente, se observó que *Prosopis* spp. funciona como de planta nodriza ya que bajo su dosel se encontró el crecimiento de *L. andersonii* y raíces de esta especie vegetal conectadas a *Prosopis* spp.

Los HMA aislados de *Lycium andersonii* y *Prosopis* spp fueron los mejores para probarse como inoculantes en Lechuga y Zanahoria regadas con concentraciones elevadas de NaCl. La diversidad de hongos y bacterias varió entre las especies vegetales recolectadas. En los análisis de redundancia se observó que *Prosopis* spp. tiene afinidad con los HMA ESP1, ESP2, ESP8 y ESP9, *Pluchea sericea* con la especie de HMA ESP5, *Larrea tridentata* con la especie de HMA ESP11 y *Lycium andersonii* con los

esporocarpos NoCTM2. Es posible que esta asociación les otorgue algún beneficio como en el caso de *Prosopis* spp. y su relación ESP8, la cual se caracteriza por tener mayor resistencia a la temperatura del suelo y pH alcalino. Se observó que esta especie de HMA posee una relación positiva con la especie vegetal *Prosopis* spp. cuando están en condiciones ambientales adversas, infiriéndose que esta especie de HMA le aporta los beneficios comúnmente asociados a la simbiosis. Cabe mencionar que se intentó identificar las especies de HMA por MALDI-TOF, sin embargo, no fue posible debido a la interferencia producida por los residuos de metales y sales depositados en la superficie de las esporas/esporocarpos. Mediante las características morfológicas observadas se determinó que los géneros predominantes en la zona de estudio son *Glomus*, *Gigaspora* y *Sclerocystis*.

Los HMA encontrados en los cultivos de propagación de *Prosopis* spp al que se le denominó HMA1 y los *Lycium andersonii*, denominado HMA2, fueron seleccionados como inoculantes micorrízicos. Estos se eligieron por que promovieron el crecimiento y tuvieron mayor colonización micorrízica en plantas de chile jalapeño. Los análisis de diversidad mostraron que estas especies de HMA tienen mayor tolerancia a las condiciones de un suelo salino (pH alto y conductividad eléctrica alta). Las plantas de zanahoria y lechuga presentaron crecimiento saludable cuando estuvieron colonizadas por el consorcio micorrízico HMA2 sin la adición de NaCl (CE en el sustrato de  $2.09 \pm 0.18$  dSm<sup>-1</sup>) y bajo concentraciones elevadas de NaCl también mostraron mayor tolerancia, por lo que este inoculante podría usarse para mejorar el crecimiento de algunos cultivos como la zanahoria y la lechuga en los suelos salinos de Mexicali, Baja California.

## 21. Referencias

- Adriano-Anaya, M. L., Solís-Domínguez, F., Gavito-Pardo, M. E., y Salvador-Figueroa, M. (2006). *Agronomical and Environmental Factors Influence Root Colonization, Sporulation and Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi at a Specific Phneological Stage of Banana Trees* (1). 5(1), Article 1.
- Alexander, M. (1980). *Introducción a la microbiología del suelo* (1a ed.). AGT.
- Alguacil, M. M., Torrecillas, E., Roldán, A., Díaz, G., y Torres, M. P. (2012). Perennial plant species from semiarid gypsum soils support higher AMF diversity in roots than the annual *Bromus rubens*. *Soil Biology and Biochemistry*, 49, 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.02.024>
- Ambreetha, S., Chinnadurai, C., Marimuthu, P., y Balachandar, D. (2018). Plant-associated *Bacillus* modulates the expression of auxin-responsive genes of rice and modifies the root architecture. *Rhizosphere*, 5, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.12.001>
- Anderson, J. M., y Ingram, J. S. I. (1993). *Tropical soil biology and fertility—A handbook of methods* (2da ed.). CAB International.
- Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M., y García-Barradas, O. (2018). Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema ii en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.03.011>
- Athar, H.-R., Zulfiqar, F., Moosa, A., Ashraf, M., Zafar, Z. U., Zhang, L., Ahmed, N., Kalaji, H. M., Nafees, M., Hossain, M. A., Islam, M. S., El Sabagh, A., y Siddique, K. H. M. (2022). Salt stress proteins in plants: An overview. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.999058>
- Augé, R. M., Toler, H. D., y Saxton, A. M. (2014). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: A meta-analysis. *Mycorrhiza*.

- Barrer, S. E. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi as an alternative to sustentable agriculture. *Revista de la facultad de ciencias agropecuarias de Bucaramanga, Colombia*, 7(1), Article 1.
- Bencherif, K., Boutekrabt, A., Fontaine, J., Laruelle, F., Dalpè, Y., y Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2015). Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with *Tamarix articulata* Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas. *Science of The Total Environment*, 533, 488–494. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.007>
- Bianciotto, V., Bandi, C., Minerdi, D., Sironi, M., Tichy, H. V., y Bonfante, P. (1996). An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(8), 3005–3010.
- Boersen, O. (2000). Influence of Salts, Buffers, Detergents, Solvents, and Matrices on MALDI-MS Protein Analysis in Complex Mixtures. En *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* (Vol. 146, pp. 387–404). <https://doi.org/10.1385/1-59259-045-4:387>
- Bouyoucos, G. J. (1936). DIRECTIONS FOR MAKING MECHANICAL ANALYSES OF SOILS BY THE HYDROMETER METHOD: *Soil Science*, 42(3), 225–230. <https://doi.org/10.1097/00010694-193609000-00007>
- Calvo Vélez, P., Reymundo Meneses, L., y Zúñiga Dávila, D. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Ecología Aplicada*, 7(1–2), 141–148.
- Castorena, M. V., Valencia, E. A. C., Ibarra, M. A. I., y Ulery, A. L. (2006). Absorción y traslocación de sodio y cloro en plantas de Chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(1), 79–88.
- Charman, P. E. V., y Roper, M. M. (2007). *Soil organic matter*. In “*Soils—Their properties and management*” (3a ed.). Oxford University Press: Melbourne.
- Chaudhary, V. B., O’Dell, T. E., Rillig, M. C., y Johnson, N. C. (2014). Multiscale patterns of arbuscular mycorrhizal fungal abundance and diversity in semiarid shrublands. *Fungal Ecology*, 12, 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.06.003>

- Chen, H., y Jiang, J.-G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environmental Reviews*, 18(NA), 309–319. <https://doi.org/10.1139/A10-014>
- China, S., Burrows, S. M., Wang, B., Harder, T. H., Weis, J., Tanarhte, M., Rizzo, L. V., Brito, J., Cirino, G. G., Ma, P.-L., Cliff, J., Artaxo, P., Gilles, M. K., y Laskin, A. (2018). Fungal spores as a source of sodium salt particles in the Amazon basin. *Nature Communications*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07066-4>
- Chowdhury, S., Bolan, N., Farrell, M., Sarkar, B., Sarker, J. R., Kirkham, M. B., Hossain, M. Z., y Kim, G.-H. (2021). Chapter Two—Role of cultural and nutrient management practices in carbon sequestration in agricultural soil. En D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 166, pp. 131–196). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.10.001>
- Compean-Jiménez, G., Baylon Grecco, O., Robles, H., y Aranda J., E. (1981). Estudio preliminar de la pesquería de la laguna salada, Baja California. *Delegación federal de pesca, Baja California*. <http://www.sci.sdsu.edu/salton/EstudioPesqueriaLagunaSala.html>
- CONAGUA. (2020). Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Laguna Salada (0209), Estado de Baja California. *Diario Oficial de la Federación*, 33.
- Dabravolski, S. A., y Isayenkov, S. V. (2023). The regulation of plant cell wall organisation under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1118313. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1118313>
- Das, K., y Roychoudhury, A. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2014.00053>
- Diao, F., Dang, Z., Xu, J., Ding, S., Hao, B., Zhang, Z., Zhang, J., Wang, L., y Guo, W. (2021). Effect of arbuscular mycorrhizal symbiosis on ion homeostasis and salt tolerance-related gene expression in halophyte *Suaeda salsa* under salt

- treatments. *Microbiological Research*, 245, 126688.  
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126688>
- Emerson, W. W. (1991). Structural decline of soil, assesment and prevention. *Australian Journal of Soil Research*, 29, 905–922.
- Ferrera Cerrato, R., González Chávez, M. del C. Á., y Rodríguez Mendoza, M. de las N. (1993). *Manual de agromicrobiología* (1a ed.). Trillas.
- Gerdemann, J., y Trappe, J. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *The New York Botanical Garden*, 1–76.
- Gerdemann, J. W., y Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235–244. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- González Chávez, Ma. del C. A., Carrillo-González, R., Cuellar-Sánchez, A., Delgado-Alvarado, A., Suárez-Espinosa, J., Ríos-Leal, E., Solís-Domínguez, F. A., y Maldonado-Mendoza, I. E. (2019). Phytoremediation assisted by mycorrhizal fungi of a Mexican defunct lead-acid battery recycling site. *Science of the Total Environment*, 650, 3134–3144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.031>
- Gonzalez-Chavez, C., D’Haen, J., Vangronsveld, J., y 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), Article 2. <https://doi.org/10.1023/A:1015794622592>
- Goss, M. J., Carvalho, M., y Brito, I. (2017). Functional Diversity of Mycorrhiza and Sustainable Agriculture. En M. J. Goss, M. Carvalho, y I. Brito (Eds.), *Functional Diversity of Mycorrhiza and Sustainable Agriculture* (pp. 59–79). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804244-1.00004-6>
- Hadian-Deljou, M., Esna-Ashari, M., y Mirzaie-asl, A. (2020). Alleviation of salt stress and expression of stress-responsive gene through the symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungi with sour orange seedlings. *Scientia Horticulturae*, 268, 9. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109373>

- Hammer, E. C., y Rillig, M. C. (2011). The Influence of Different Stresses on Glomalin Levels in an Arbuscular Mycorrhizal Fungus—Salinity Increases Glomalin Content. *PLoS ONE*, 6(12), e28426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028426>
- Hazelton, P., y Murphy, B. (2007). *Interpreting soil test results: What do all the numbers mean?* (2a ed.). CSIRO.
- Hewitt, E. J. (1966). *Sand and water culture methods used in study of plant nutrition* (2a ed.). Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Horrocks, R. D., y Vallentine, J. F. (1999). 11—Soil fertility and forage production. En R. D. Horrocks y J. F. Vallentine (Eds.), *Harvested Forages* (pp. 187–224). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012356255-5/50033-X>
- Hussain, S., Cao, X., Zhong, C., Zhu, L., Khaskheli, M. A., Fiaz, S., Zhang, J., y Jin, Q. (2018). Sodium chloride stress during early growth stages altered physiological and growth characteristics of rice. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 78(2), 183–197. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392018000200183>
- Jiang, O., Li, L., Duan, G., Gustave, W., Zhai, W., Zou, L., An, X., Tang, X., y Xu, J. (2023). Root exudates increased arsenic mobility and altered microbial community in paddy soils. *Journal of Environmental Sciences*, 127, 410–420. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.05.036>
- Khalil, H. A., Eissa, A. M., El-Shazly, S. M., y Aboul Nasr, A. M. (2011). Improved growth of salinity-stressed citrus after inoculation with mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*, 130(3), 624–632. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.08.019>
- Kjeldahl, J. (1883). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Zeitschrift für Analytische Chemie*, 22(1), 366–382. <https://doi.org/10.1007/BF01338151>
- Lee, E.-H., Eo, J.-K., Ka, K.-H., y Eom, A.-H. (2013). Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. *Mycobiology*, 41(3), Article 3. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.3.121>
- Li, Z., Wu, N., Meng, S., Wu, F., y Liu, T. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) enhance the tolerance of *Euonymus maackii* Rupr. At a moderate level of salinity. *PLOS ONE*, 15(4), e0231497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231497>

- Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. En *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350–382). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Liu, X., y Baird, W. (2003). Differential expression of genes regulated in response to drought or salinity stress in sunflower. *Crop Science*, 43(2), 678–687. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.6780>
- López Arreguin, A. A. (2015). *Bacterias extremofilas y su potencial en la producción de auxinas y metabolitos con actividad tensoactiva* [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma de Baja California.
- Martínez-González, F., Sosa-Pérez, F., y Ortiz-Medel, J. (2010). Comportamiento de la humedad del suelo con diferente cobertura vegetal en la Cuenca La Esperanza. *Tecnología y ciencias del agua*, 1(4), 89–103.
- Miransari, M. (2017). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Soil Salinity. *Mycorrhizal Mediation of Soil*, 263–277. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804312-7.00015-2>
- Moreira, H., Pereira, S. I. A., Vega, A., Castro, P. M. L., y Marques, A. P. G. C. (2020). Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria benefit maize growth under increasing soil salinity. *Journal of Environmental Management*, 257, 109982. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109982>
- Morton, J. B., Benny, G. L., Morton, J. B., y Benny, G. L. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi zygomycetes a new order glomales two new suborders glomineae and gigasporineae and two new families acaulosporaceae and gigasporaceae with an emendation of glomaceae. *Mycotaxon*, 37, 471–492.
- Munns, R., y Gilliam, M. (2015). Salinity tolerance of crops – what is the cost? *New Phytologist*, 208(3), 668–673. <https://doi.org/10.1111/nph.13519>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. (2002). *Diario Oficial de la Federación*, 73.
- Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S., y Dean, L. A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *United States Department of Agriculture*, 939, 1–18.

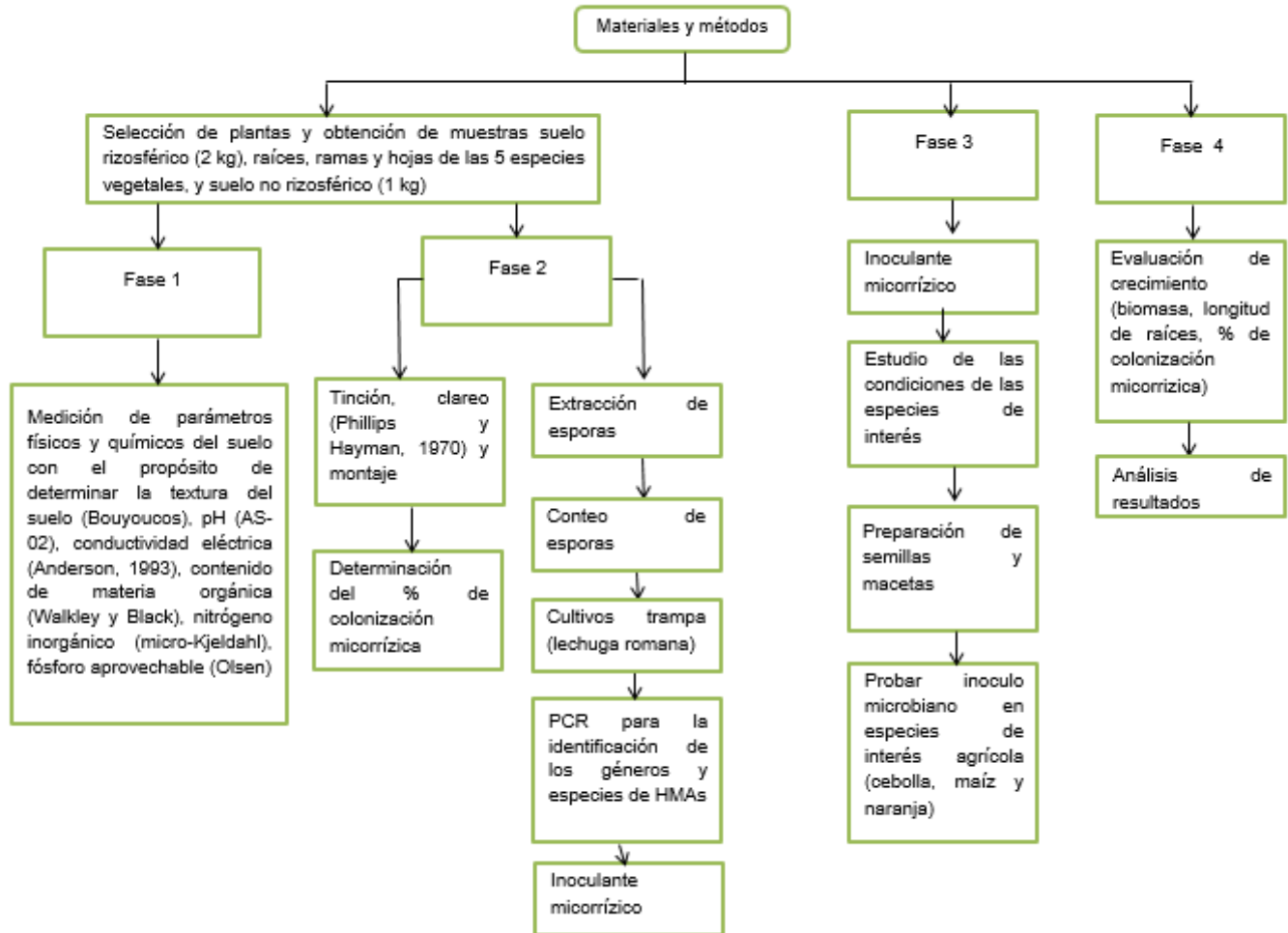
- Osman, K. T. (2018). Saline and Sodic Soils. En K. T. Osman (Ed.), *Management of Soil Problems* (pp. 255–298). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_10)
- Parvin, S., Van Geel, M., Yeasmin, T., Lievens, B., y Honnay, O. (2019). Variation in arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with lowland rice (*Oryza sativa*) along a gradient of soil salinity and arsenic contamination in Bangladesh. *Science of The Total Environment*, 686, 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.450>
- Phillips, J. M., y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), Article 1. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73(1–3), 149–156. <https://doi.org/10.1023/A:1020470224740>
- Ricotta, C., y Podani, J. (2017). On some properties of the Bray-Curtis dissimilarity and their ecological meaning. *Ecological Complexity*, 31, 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2017.07.003>
- Sánchez Leyva, I. M. (2015). *Hongos micorrízicos arbusculares asociados a plantas de la laguna salada, Baja California* [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma de Baja California.
- Santander, C., García, S., Moreira, J., Aponte, H., Araneda, P., Olave, J., Vidal, G., y Cornejo, P. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungal abundance in elevation belts of the hyperarid Atacama Desert. *Fungal Ecology*, 51, 101060. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2021.101060>
- Scagel, C. F., y Lee, J. (2020). Salinity sensitivity and mycorrhizal responsiveness of polyphenolics in ‘Siam Queen’ basil grown in soilless substrate. *Scientia Horticulturae*, 269, 109394. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109394>
- Scheublin, T. R., Ridgway, K. P., Young, J. P. W., y Van Der Heijden, M. G. A. (2004). Nonlegumes, Legumes, and Root Nodules Harbor Different Arbuscular

- Mycorrhizal Fungal Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(10), 6240–6246. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6240-6246.2004>
- Schüßler, A., y Walker, C. (2010). The Glomeromycota. *The Royal Botanic Garden Kew*.
- Shahvali, R., Shiran, B., Ravash, R., Fallahi, H., y Banović Đeri, B. (2020). Effect of symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi on salt stress tolerance in GF677 (peachxalmond) rootstock. *Scientia Horticulturae*, 272, 109535. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109535>
- Shin, H., Sampat, M. P., Bish, S. F., Koomen, J. M., y Markey, M. K. (2006). Statistical Characterization of Chemical Noise in MALDI TOF MS by Wavelet Analysis of Multiple Noise Realizations. *AMIA Annual Symposium Proceedings, 2006*, 1092.
- Singh, B., Cattle, S. R., y Field, D. J. (2014). Edaphic Soil Science, Introduction to. En N. K. Van Alfen (Ed.), *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (pp. 35–58). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00092-9>
- Smith, S. E., y Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed). Academic Press.
- Solís-Domínguez, F. A., Valentín-Vargas, A., Chorover, J., y Maier, R. M. (2011). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant biomass and the rhizosphere microbial community structure of mesquite grown in acidic lead/zinc mine tailings. *Science of The Total Environment*, 409(6), Article 6. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.11.020>
- Solís-Dominguez, F. A., White, S. A., Hutter, T. B., Amistadi, M. K., Root, R. A., Chorover, J., y Maier, R. M. (2012). Response of keysoil parameters during compost-assisted phytostabilization in extremely acidic tailings: Effect of plant species. *Environmental Science y Technology*, 46(2), 1019. <https://doi.org/10.1021/es202846n>
- Stürmer, S. L., y Morton, J. B. (1999). Taxonomic Reinterpretation of Morphological Characters in Acaulosporaceae Based on Developmental Patterns. *Mycologia*, 91(5), 849–857. <https://doi.org/10.2307/3761538>
- Vengosh, A. (2003). 9.09—Salinization and Saline Environments. En H. D. Holland y K. K. Turekian (Eds.), *Treatise on Geochemistry* (pp. 1–35). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/09051-4>

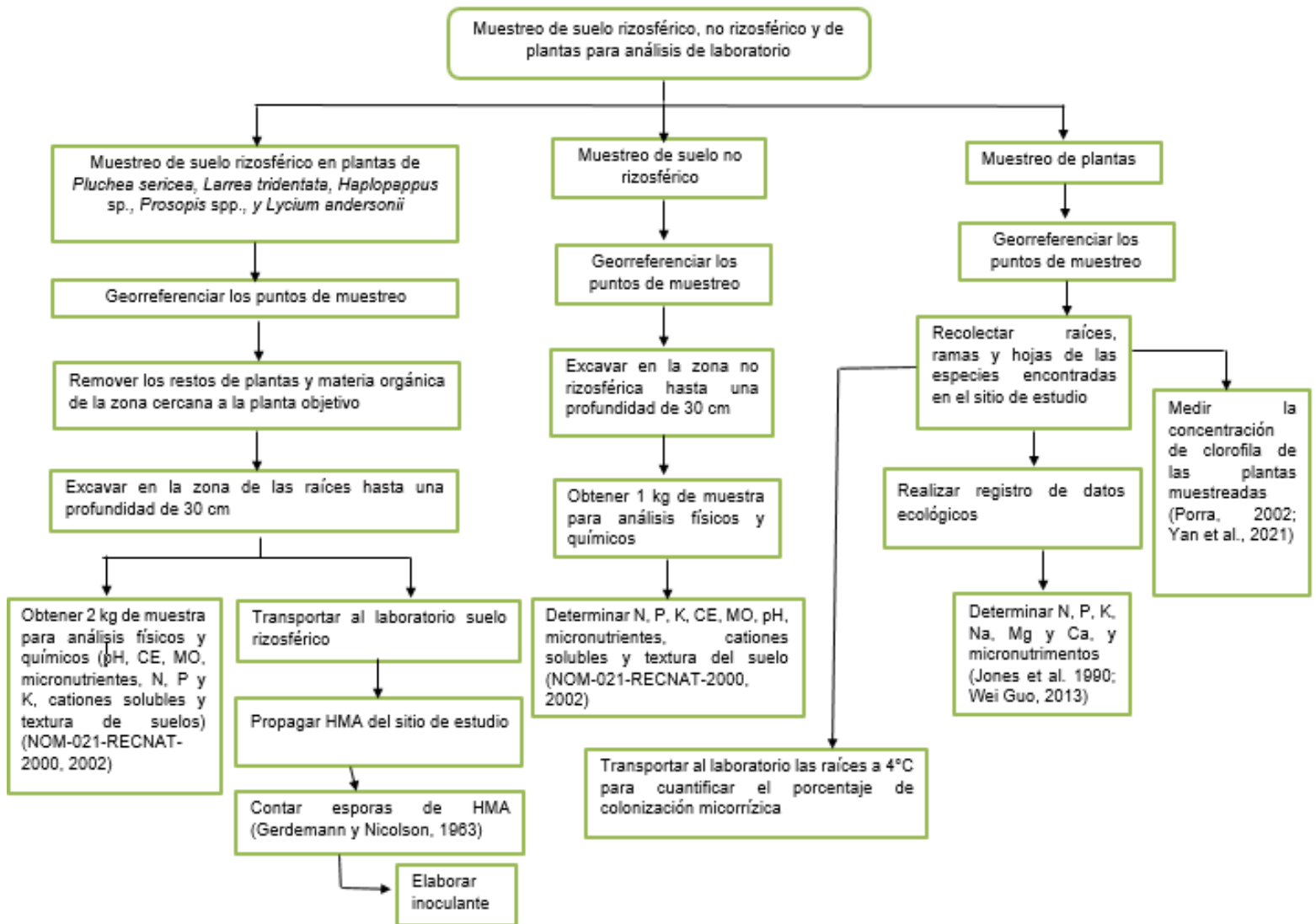
- Walker, C., Vestberg, M., y Schüßler, A. (2007). Nomenclatural clarifications in the Glomeromycota. *Mycological Research*, 111, 253. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.02.009>
- Walkley, A. J., y Black, I. A. (1934). Estimation of soil organic carbon by the chromic acid tritration method. *Soil Sci*, 37, 29–38.
- Wang, P., Wang, Y., y Wu, Q. S. (2016). Effects of soil tillage and planting grass on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and soil properties in citrus orchards in southeast China. *Soil and Tillage Research*, 155, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.still.2015.07.009>
- Yan, Z., Ma, T., Guo, S., Liu, R., y Li, M. (2021). Leaf anatomy, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of lettuce as influenced by arbuscular mycorrhizal fungi under high temperature stress. *Scientia Horticulturae*, 280, 8. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109933>
- Zhang, X., Han, C., Gao, H., y Cao, Y. (2019). Comparative transcriptome analysis of the garden asparagus (*Asparagus officinalis* L.) reveals the molecular mechanism for growth with arbuscular mycorrhizal fungi under salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.013>

## Anexos

### Anexo 1. Diagrama de fases de muestreo



## Anexo 2. Diagrama de muestreos a realizar en el sitio de estudio



### Anexo 3. Soluciones

#### Solución nutritiva Long-Ashton

Solución	Reactivo	Concentración (g L <sup>-1</sup> )
1	KNO <sub>3</sub>	80.8
2	MgSO <sub>4</sub>	73.6
3	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	188.8
4	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	14.8
5	MnSO <sub>4</sub>	1.69
	CuSO <sub>4</sub>	0.23
	ZnSO <sub>4</sub>	0.29
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.1
	NaCl	5.9
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>	0.088
6	Citrato Férrico	1 %

#### Receta para un litro de solución Long-Ashton:

1. 5 mL de solución 1.
2. 5 mL de solución 2.
3. 5 mL de solución 3.
4. 0.73 mL de solución 4.
5. 1 mL de solución 5.
6. 5 mL de solución 6.
7. 978.271 mL de agua destilada.

**Citrato férrico (400 mL) al 1%:** La solución se preparó disolviendo 4 g de citrato férrico en 400 mL de agua destilada a una temperatura de 80 °C con un agitador magnético.

## *Soluciones del método de Olsen (fósforo aprovechable)*

### ***Solución extractora de bicarbonato de sodio 0.5 M***

Se preparó disolviendo 42 g de bicarbonato de sodio en aproximadamente 1 litro de agua. Se ajustó el pH de la solución a 8.5 mediante la adición de una solución de NaOH 1 M. Se llevó a volumen con agua destilada si es que no se llegó al litro. La solución se guardó en un recipiente de cristal y se revisó el pH de la solución antes de usarse, si el pH no era 8.5 este se ajustó a esta cantidad.

### **Soluciones para preparación de blancos**

Solución de tartato de antimonio y potasio al 0.5%. Se pesaron 0.5 g de  $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2H_2O$  (tartato de antimonio), se transfirió el tartato de antimonio a un matraz volumétrico de 100 mL para disolverlo y se aforó con agua destilada.

Solución de molibdato de amonio tetrahidratado  $((NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O)$ . Se disolvieron 20 g de molibdato de amonio tetrahidratado  $((NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O)$  en 300 mL de agua destilada. Se agregaron lentamente bajo constante agitación y con cuidado, 450 mL de  $H_2SO_4$  14 N (la cual se realizó diluyendo 194.4 mL de  $H_2SO_4$  concentrado en 305.6 mL de agua destilada). Se agregaron 100 mL de la solución al 0.5% de tartrato de antimonio y potasio. Se diluyeron las mezclas a 1 L con agua destilada. El frasco que contuvo la solución se fue tapado con papel aluminio para protegerlo de la luz.

Solución reductora con ácido ascórbico. Para preparar esta solución se disolvieron 0.50 g de ácido ascórbico con un poco de solución de molibdato de amonio y se aforó a 100 mL con la misma solución. Esta solución se preparó cada vez que se comenzará a formar color.

Solución patrón de fósforo  $(200 \text{ mg L}^{-1})$ . Se pesaron exactamente 0.8786 g de fosfato de potasio monobásico ( $KH_2PO_4$ ) secado al horno a  $105^\circ C$ , posteriormente se

disolvieron en agua y se aforó a un litro (se debe tener en consideración el adicionar 25 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  7N antes de aforar para conservar la solución libre de contaminantes biológicos).

Solución patrón de 5 mg L<sup>-1</sup> de fósforo (P). Se diluyeron 5 mL de la solución de 200 mg L<sup>-1</sup> de fósforo con 200 mL de agua destilada. Se preparó solución nueva cada 5 días.

### ***Soluciones para el método micro-Kjedahl (nitrógeno total)***

Óxido de magnesio (MgO) - Se calcinó en una mufla a 600 – 700 °C durante dos horas, se dejó enfriar en un desecador provisto de gránulos de KOH y posteriormente se almacenó en frascos con tapa hermética.

Mezcla de indicadores. Se disolvieron 0.300g de verde de bromocresol y 0.165 g de rojo de metilo en 500 ml de etanol (96%).

Solución de ácido bórico con indicador. Se disolvieron 20 g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  puro en 700 ml de agua caliente y se transfirió la solución fría a un matraz volumétrico de 1 litro que contenía 200 ml de etanol (96%) y 20 ml de la mezcla de indicadores. Se ajustó a pH de 5.0 con NaOH 0.05 N. Finalmente se completó el volumen de 1 litro con agua destilada.

### ***Soluciones para obtener cationes solubles en suelos***

Solución de acetato de amonio 1.0N, pH 7.0. Se diluyeron 57 mL de ácido acético glacial (99.5%) con agua a un volumen de aproximadamente 500 mL. Se agregaron 60 mL de hidróxido de amonio concentrado, posteriormente se diluyó con agua a un volumen de 990 ml, se mezcló completamente, después se ajustó el pH a 7.0 y finalmente se completó a un litro con agua destilada.

Solución de cloruro de sodio al 10%. Se pesaron 100 g de cloruro de sodio y se disolvieron en 1 L de agua empleando un matraz aforado.

Solución de cloruro de amonio 1N. Se pesaron 53.50 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se disolvieron con agua. Se ajustó el pH a 7.0 con hidróxido de amonio y posteriormente se diluyó a 1 litro empleando un matraz aforado.

Solución de cloruro de amonio 0.25N. Se pesaron 13.38 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se disolvieron con agua. Se ajustó el pH a 7.0 con hidróxido de amonio y posteriormente se diluyó a 1 L empleando un matraz aforado.

Indicador mixto. Se mezclaron volúmenes iguales de rojo de metilo al 0.66% y de verde de bromocresol al 0.99%. Ambos se disolvieron en etanol al 95%.

Solución de ácido bórico. Usar  $\text{H}_3\text{BO}_3$  al 2% en agua destilada que contenga 10 mL del indicador por litro.

Ácido clorhídrico diluido. Se usó HCl 0.01 N.

Hidróxido de sodio al 40%. Se disolvieron 400 g de NaOH en agua destilada y posteriormente se aforó a 1000 mL.

Nitrato de plata 0.1 N. Se disolvieron 16.98 de  $\text{AgNO}_3$  en agua destilada y posteriormente se aforó a 1000 mL.

Solución de lantano acidificada. Para esta solución se pesaron 7.742 g de  $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  en un matraz volumétrico de 250 mL, posteriormente se añadieron 100 mL de agua destilada y 17.5 ml de  $\text{HNO}_3$  concentrado, finalmente se aforó con agua destilada hasta los 250 ml.

Solución diluida de lantano acidificada. Primeramente, se tomaron 50 mL de la solución de lantano acidificada y se colocaron en un matraz volumétrico de 500 mL. Posteriormente se aforó con agua.

Solución de cloruro de cesio acidificada. Se disolvieron 11.12 g de  $\text{CsCl}$  y 250 g de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$  en aproximadamente 500 mL de agua en un matraz volumétrico de 1000 mL, posteriormente se añadieron 20 mL de  $\text{HNO}_3$  2 M y finalmente se aforó con agua.

Solución de ácido nítrico 2 M. Se diluyeron 7 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado en agua, posteriormente se aforó a 100 mL en un matraz volumétrico.

Solución estándar de 1000 mg L<sup>-1</sup> de Ca. Se pesaron 2.497 g de CaCO<sub>3</sub> en un vaso de precipitado de 250 mL, posteriormente se añadieron 100 mL de agua y 12.5 mL de HCl 4M, luego se dejó hervir para eliminar el CO<sub>2</sub> (en caso de que partículas de CaCO<sub>3</sub> permanecieran en la disolución se añadieron 2 mL más de HCl 4M). Después se enfrió la solución y se transfirió a un matraz volumétrico de un litro. Finalmente se aforó con agua destilada.

Solución estándar de 100 mg L<sup>-1</sup> de Mg. Se pesaron 1.013 g de MgSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O en un matraz volumétrico de un litro y posteriormente se aforó con agua destilada.

Solución estándar de 1000 mL<sup>-1</sup> de K y 40 mg L<sup>-1</sup> de Na. Se disolvieron 1.9065 g de KCl y 1.0168 g de NaCl en agua destilada en un matraz volumétrico de 1000 mL y posteriormente se aforó con agua destilada.

#### Anexo 4. HMA identificados


Clave	Imágenes	Descripción
ESP9		<p><b>ESPORA/ESPOROCARPO:</b> Espora.</p> <p><b>CULTIVOS TRAMPA EN LOS QUE SE ENCONTRÓ:</b> Estos esporocarpos se encontraron en todos los cultivos trampa de <i>Lactuca sativa</i> L. var. Longifolia.</p> <p><b>FORMA:</b> Globosa.</p> <p><b>COLOR:</b> Naranja amarillento brillante (0-10-60-0 de la tabla de colores del INVAM).</p> <p><b>DIMENSIONES:</b> 20 a 70 µm (promedio = 47 µm) de diámetro.</p>

Figura 32. Espora ESP9 vista con estereoscopio en el aumento 32x (a) con iluminación reflejada, con microscopio con el objetivo 10x (b) y el objetivo 40x (c).

ESP14

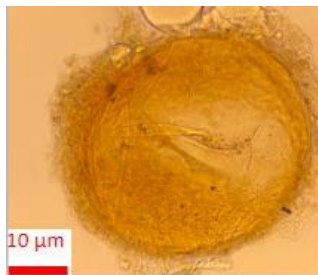


Figura 33. Espora ESP14 vista con estereoscopio en el aumento 32x (a) con iluminación reflejada, con microscopio con el objetivo 40x (b).

**ESPORA/ESPOROCARPO:** Espora.

**CULTIVOS TRAMPA EN LOS QUE SE ENCONTRÓ:** Estas esporas se encontraron en los cultivos trampa de *Lactuca sativa* L. var. Longifolia con los tratamientos de *Pluchea sericea*, *Haplopappus* sp. y *Larrea tridentata*.

**FORMA:** Globosa.

**COLOR:** Café amarillento (0-10-80-10 de la tabla de colores del INVAM) y café-amarillo pálido (0-5-20-0 de la tabla de colores del INVAM).

**DIMENSIONES:** 30 a 50 µm (promedio = 38 µm) de diámetro.

NoCTM1



Figura 34. Esporocarpio NoCTM1 visto con estereoscopio en el aumento 32x con iluminación reflejada.

**ESPORA/ESPOROCARPO:** Esporocarpio.

**CULTIVOS TRAMPA EN LOS QUE SE ENCONTRÓ:** Se le encontró en los cultivos trampa de *Lactuca sativa* L. var. Longifolia con los tratamientos de *Larrea tridentata* y *Lycium andersonii*.

**FORMA:** Globosa y en algunos casos irregular.

**COLOR:** Café oscuro rojizo (40-50-70-10 de la tabla de colores del INVAM).

**DIMENSIONES:** 150 a 200 µm (promedio = 177 µm) de diámetro.

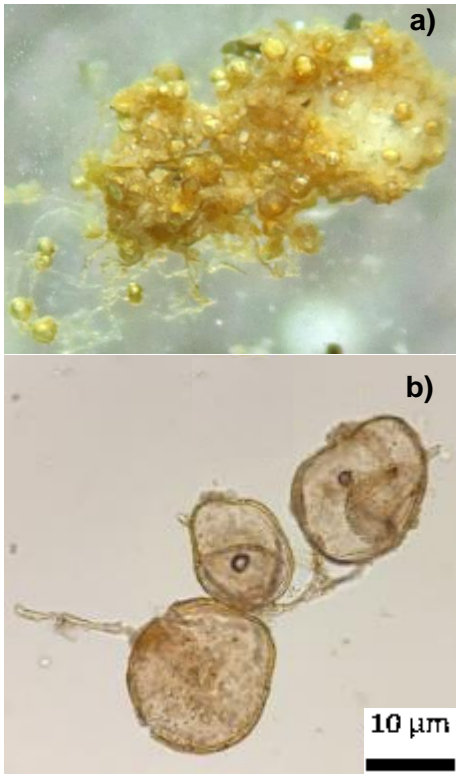


Figura 35. Esporocarpio NoCTM6 visto con estereoscopio en el aumento 32x (a) con iluminación reflejada y con microscopio en el objetivo 40x (b).

**ESPORA/ESPOROCARPO:**

Esporocarpio.

**CULTIVOS TRAMPA EN LOS QUE SE ENCONTRÓ:** Este esporocarpio se encontró en todos los cultivos trampa de *Lactuca sativa* L. var. Longifolia.

**FORMA:** Globosa.

**COLOR:** Café-amarillo pálido (0-5-20-0 de la tabla de colores del INVAM).

**DIMENSIONES:** 10 a 50 µm (promedio = 26 µm) de diámetro.