



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

**VARIACIÓN EN LA
COLONIZACIÓN DE HONGOS
MICORRÍMICOS ARBUSCULARES
EN UNA POBLACIÓN DE LÍNEAS
CASI ISOGÉNICAS DE MAÍZ**

BENJAMÍN BARRALES GAMEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2023



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Variación en la colonización de hongos micorrícicos arbusculares en una población de líneas casi isogénicas de maíz**, realizada por el estudiante: **Benjamín Barrales Gamez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


DR. RICARDO LOBATO ORTIZ

ASESOR


DR. SERAFÍN CRUZ IZQUIERDO

ASESOR


DR. ANDRÉS ADOLFO ESTRADA LUNA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, enero de 2023

VARIACIÓN EN LA COLONIZACIÓN DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN UNA POBLACIÓN DE LÍNEAS CASI ISOGÉNICAS DE MAÍZ

Benjamín Barrales Gamez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

RESUMEN

Las raíces de la mayoría de las especies vegetales se asocian con hongos del suelo del filo Glomeromycota para formar asociaciones simbióticas micorrícicas. Esta interacción beneficia a la planta porque mejora el crecimiento y desarrollo a través del incremento en la adquisición de agua, fósforo, nitrógeno y otros nutrimentos, mientras que la planta brinda carbohidratos al simbiote. Si bien la simbiosis se remonta a más de 450 millones de años, la agricultura es un evento reciente donde los principales cultivos (maíz, trigo y arroz) fueron domesticados. A lo largo de este proceso, se ha mantenido la capacidad de interactuar con micorrizas arbusculares (MA). Sin embargo, estudios recientes con variedades modernas y sus parientes silvestres han revelado una reducción en la capacidad para obtener el máximo beneficio de las interacciones con MA, lo cual parece ser consecuencia del cambio de lo natural al cultivo de altos insumos, sobre todo el mejoramiento genético de los últimos 70 años. Con el propósito de ver si esta tendencia afecta al cultivo de maíz, se llevó a cabo este estudio con el objetivo de determinar el porcentaje de estructuras fúngicas durante el establecimiento de la colonización de las micorrizas en una población de 76 líneas casi-isogénicas desarrolladas a partir de cruzar la línea subtropical CML312 y Teocintle *parviglumis* (*Zea mays parviglumis*) (BC3S4), sus progenitores y el híbrido H383 para compararlos. Los resultados obtenidos señalan que las líneas casi-isogénicas mostraron una muy amplia variación en el porcentaje de hifas y arbusculos (33.7 a 85.5 y 11 a 64.07) respectivamente, identificando 41 líneas con valores elevados y 4 líneas con valores bajos comparables con el progenitor moderno. Los datos de los progenitores resultaron contrastantes, ya que los valores para Teocintle (97.3 y 82.2 %) fueron elevados, mientras que para CML312 fueron bajos (34.4 y 11.85 %) respectivamente y comparables a los del Híbrido H383. Los datos sugieren que en el parental donante (*T. parviglumis*) hay genes que podrían estar relacionados con la capacidad de interactuar con los hongos y gracias a las combinaciones genéticas únicas en cada línea que se expresan de manera diferencial por tener la región genómica de dicho parental. Nuestros datos sugieren que la domesticación del maíz y el mejoramiento genético han tenido un impacto negativo en la capacidad de interactuar con micorrizas arbusculares.

Palabras clave: *Zea mays parviglumis*, líneas casi isogénicas, micorrizas arbusculares

VARIATION IN THE COLONIZATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN A NEAR ISOGENIC MAIZE LINE POPULATION

Benjamín Barrales Gamez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

ABSTRACT

The roots of most plant species associate with soil fungi of the phylum Glomeromycota to form mycorrhizal symbiotic associations. This interaction benefits the plant because it enhances growth and development through increased acquisition of water, phosphorous, nitrogen, and other nutrients, while the plant provides the symbiont with carbohydrates. Although the symbiosis dates back more than 450 million years, agriculture is a recent event where the main crops (maize, wheat and rice) were domesticated. Throughout this process, the ability to interact with arbuscular mycorrhizae (AMF) has been maintained. However, recent studies with modern varieties and their wild relatives have revealed a reduced ability to derive maximum benefit from AMF interactions, which appears to be a consequence of the shift from natural to high-input cultivation, especially breeding of the last 70 years. In order to see if this trend affects the maize crop, this study was carried out with the aim of determining the percentage of fungal structures during the establishment of mycorrhizal colonization in a maize population of 76 near-isogenic lines developed from crossing the subtropical line CML312 and Teosinte *parviglumis* (*Zea mays parviglumis*) (BC3S4), their parents and the hybrid H383 to compare them. The results obtained indicated that the near-isogenic lines showed a very wide variation in the percentage of hyphae and arbuscules (33.7 to 85.5 and 11 to 64.07) respectively, identifying 41 lines with high values and 4 lines with low values comparable to the modern parent. The data of the parents were contrasting, since the values for teosinte (97.3 and 82.2 %) were high, while for CML312 they were low (34.4 and 11.85 %) respectively and comparable them with hybrid H383. The data suggest that in the donor parent (*T. parviglumis*) there are genes that could be related to the ability to interact with fungi and thanks to the unique genetic combinations in each line that are differentially expressed due to having the genetic region said parent. Our data suggest that maize domestication and plant breeding have had a negative impact on the ability to interact with arbuscular mycorrhizae fungi.

Key words: *parviglumis* , Near isogenic lines, Mycorrhizal fungi

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado la beca con la cual pude realizar mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y al Departamento de Recursos Genéticos y Productividad-Genética por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

A mi consejo tutorial, Dr. Ricardo Lobato Ortiz, Dr. Serafín Cruz Izquierdo y al Dr. Andrés Adolfo Estrada Luna, por haberme apoyado con sus consejos, guía y revisión de este trabajo.

Al Dr. Víctor Olalde Portugal por permitirme realizar el procesamiento de las muestras en su laboratorio de Bioquímica Ecología del CINVESTAV Unidad Irapuato.

A la Dra. María del Rosario Ramírez Flores por la amistad, apoyo y conocimientos durante la colecta y procesamiento de las muestras en campo y laboratorio.

Al Dr. Ruairidh J. H. Sawers y Dr. Julio Bernal por el apoyo, enseñanza y tiempo durante el incremento de semilla y por haberme permitido trabajar con la población de maíz.

Al Dr. Luis Díaz García por el trabajo y mantenimiento de las plantas sembradas en el INIFAP, Aguascalientes. Así como, permitirme tomar muestras de las plantas.

Al M. C. Marco Antonio Meraz por el apoyo incondicional y el trabajo durante la toma de muestras en campo y la colecta de Teocintle, así como por el asesoramiento en laboratorio.

Al Dr. Tarsicio Corona Torres, la Dra. Cristina Silvia Zepeda y la M. C. Irma por el apoyo y permitirme trabajar en el laboratorio de Citogenética.

A todo el personal académico, administrativo, de intendencia, biblioteca y en general al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, por la dedicación a su trabajo y a mi formación profesional y como persona.

DEDICATORIA

A mis padres por darme la vida y a mi mamá por la confianza, apoyo que deposito en mí para terminar mi posgrado y concluir este proyecto.

A mis hermanos por el entusiasmo y ánimo que me dieron incondicionalmente.

A mis sobrinos por el ánimo que me han ofrecido siempre.

A toda mi familia y amigos que siempre están a mi lado.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Micorrizas arbusculares	3
2.2 Desarrollo de las micorrizas arbusculares MA	4
2.3 Componentes requeridos en la vía común de señalización	6
2.4 Domesticación del maíz	9
2.5 Efecto de <i>Tb1</i> en el sistema redicular de maíz	10
2.6 Variación de comunidades microbianas en la rizosfera	11
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	14
3.1 Hipótesis	14
3.2 Objetivo general.....	14
3.3 Objetivos específicos	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1 Material genético.....	15
4.2 Incremento de semilla	15
4.3. Descripción del experimento.....	18
4.4. Colecta de muestras en campo	18
4.5. Tinción de raíces con azul de tripano.....	19
4.6 Identificación de estructuras de micorrizas arbusculares en microscopio.....	21
4.7 Modelo estadístico y transformación de variables estimadas	21
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5.1 Porcentaje de la raíz colonizada por arbusculos.....	23
5.2 Porcentaje de la raíz colonizada por hifas	26
5.3 Porcentaje de vesículas arbusculares en la raíz.....	30

5.4 Discusión	35
VI. RECOMENDACIONES.....	40
VII. CONCLUSIONES	41
VIII. LITERATURA CITADA	42
ANEXOS	48

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Población de 76 líneas casi isogénicas de maíz RC ₃ S ₄	17
Cuadro 2. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de arbúsculos.	24
Cuadro 3. Porcentaje de arbúsculos en la raíz de Teocintle parviglumis	26
Cuadro 4. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de hifas.	28
Cuadro 5. Porcentaje de hifas en la raíz de Teocintle parviglumis.....	30
Cuadro 6. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de vesículas arbusculares.	32
Cuadro 7. Porcentaje de vesículas arbusculares en la raíz de Teocintle parviglumis.	34
Cuadro 8. Líneas casi isogénicas sobresalientes en para las variables porcentaje de hifas y arbúsculos en la raíz	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de los hongos arbusculares	4
Figura 2. Colonización por micorrizas arbusculares en la raíz	6
Figura 3. Componentes comunes de la señalización de simbiosis en micorrizas arbusculares.....	8
Figura 4. Morfología de raíces de plantas de maíz y <i>T. parviglumis</i>	11
Figura 5. Proceso de generación de la población de líneas casi isogénicas de maíz	16
Figura 6. Incremento de semilla en el ciclo primavera-invierno del 2019.....	16
Figura 7. Esquema de colecta de raíces en campo en la etapa de floración	19
Figura 8. Proceso de aclarado de raíces con KOH al 10 %	20
Figura 9. Proceso de tinción de raíces con azul de Tripano.....	21
Figura 10. Fenotipos de arbusculos en líneas casi isogénicas y controles estudiados	26
Figura 11. Fenotipos de hifas en líneas casi isogénicas y controles estudiados.....	30
Figura 12. Fenotipos de vesículas arbusculares en líneas casi isogénicas y controles.....	34
Figura 13. Análisis de varianza para porcentaje de arbusculos	48
Figura 14. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para porcentaje de arbusculos	48
Figura 15. Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianza en porcentaje de arbusculos	48
Figura 16. Supuesto de no aditividad de Tukey para el porcentaje de arbusculos	48
Figura 17. Análisis de varianza para porcentaje de hifas	48
Figura 18. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para la variable porcentaje de hifas.....	48
Figura 19. Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianza en porcentaje de hifas.....	49
Figura 20. Prueba de no aditividad de Tukey para la variable porcentaje de hifas	49
Figura 21. Transformación Boxcox para la variable vesículas arbusculares.....	49
Figura 22. Análisis de varianza para la variable vesículas arbusculares.....	49

Figura 23. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para la variable vesículas arbusculares.....	49
Figura 24. Homogeneidad de varianza con Levene para la variable porcentaje de vesículas	49
Figura 25. Prueba de no aditividad de Tukey para la variable vesículas arbusculares.....	50

I. INTRODUCCIÓN

La simbiosis de micorrizas arbusculares (MA), es la asociación de plantas y hongos del filo Glomeromycota más común, extendida y antigua (MacLean, Bravo, & Harrison, 2017). Los fósiles de las primeras plantas (hace aprox. 450 millones de años) proporcionan evidencia de que los hongos son morfológicamente similares a los actuales (Sawers, Gutjahr, & Paszkowski, 2008). Aproximadamente, del 70-90% de las plantas terrestres incluyendo cultivares importantes como: maíz, arroz, trigo y sorgo son capaces de establecer esta asociación simbiótica (Parniske, 2008). Las MA son biótrosos u obligados, es decir, necesitan a un hospedero para completar su ciclo de vida (Geilfus, 2019). En esta asociación, el hongo mejora el desarrollo de la planta con la adquisición de agua y nutrientes (P y N) a través de arbusculos e hifas intra y extracelulares, mientras que la planta brinda hasta el 20% de carbohidratos (Parniske, 2008).

Si bien la simbiosis de MA se remonta a más de 450 millones de años (Strullu-Derrien et al., 2018), la agricultura es un desarrollo relativamente reciente, ya que, nuestros principales cereales fueron domesticados hace 10 000 años a partir de especies silvestres, entre los cuales destaca el maíz (Pankin & von-Koff, 2017). El maíz fue domesticado a partir de *Teocintle parviglumis* hace 9 000 años en México (van Heerwaarden et al., 2010). Durante dicho proceso, hubo cambios drásticos en la parte aérea de la planta (Brisson et al., 2019). Evidencia sugiere que la disminución de la función de *teocinte branched1 (tb1)* en maíz da como resultado raíces más largas y cuando su expresión aumenta, presenta mayor densidad de raíces laterales y de la corona (Gaudin et al., 2014). Dado el efecto de *tb1*, parece lógico que haya habido un impacto negativo en simbiontes durante la domesticación (Brisson et al., 2019).

Se han encontrado diferencias en microbios de la rizosfera en el maíz actual y Teocintle. El maíz dulce presenta menos tipos de bacterias y hongos simbióticos (Szoboszlay et al., 2015). Esto concuerda con estudios del microbioma en cebada cultivada y silvestre (Bulgarelli et al., 2015) y lechuga (Cardinale et al., 2014). Estudios en maíces híbridos y razas muestran interacciones reducidas en estructuras de MA (Sangabriel-Conde., 2015). En experimentos con trigo actual y sus parientes silvestres

los resultados mostraron menor colonización en el trigo moderno, lo cual indica que puede haberse reducido la capacidad de los trigos modernos para asociarse con MA. Las modificaciones en las comunidades simbióticas en plantas actuales y sus parientes silvestres, como el maíz, siguen sin estar claras (Sawers et al., 2018)

Para sacar conclusiones sólidas sobre las diferencias entre las plantas domesticadas y sus parientes silvestres, es necesario muestrear mejor la diversidad, utilizando información genómica para tener en cuenta la estructura de la población. Idealmente, la respuesta de la planta se evaluará en plantas maduras cultivadas en campo y evaluar la colonización por HMA (Sawers et al., 2018). Una estrategia para responder preguntas sobre el efecto de domesticación y fitomejoramiento en las estructuras y beneficio de las MA podría ser el uso de líneas de introgresión de parientes silvestres como: líneas casi isogénicas (NIL's), es decir, variedades modernas que portan una región genómica de parientes silvestres. Esto puede facilitar la evaluación y dar una idea de si la región genómica fijada en una línea elite brinda mayor o menor porcentaje de colonización en las raíces de la población (Sawers et al., 2018).

Por lo cual, en ésta investigación nos planteamos el objetivo de evaluar el porcentaje de colonización de estructuras (hifas, vesículas y arbusculos) de MA nativas del suelo en una población de líneas casi isogénicas de maíz que se desarrolló a partir de la cruce de la línea CML312 y *T. parviglumis*, y comparar los resultados con el parental recurrente (CML312), parental donante *parviglumis* colectado en su hábitat natural y el Híbrido H383 en un experimento de bloques completos al azar bajo condiciones de campo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Micorrizas arbusculares

La mayoría de las plantas terrestres son capaces de formar diferentes tipos de simbiosis con los microorganismos del suelo. Estas simbiosis pueden contribuir significativamente en la sustentabilidad natural y agrícola de los ecosistemas (Schübler, Schwarzott & Walker, 2001). Se ha planteado la hipótesis de que la simbiosis micorrícica arbuscular (MA) es una de las innovaciones evolutivas esenciales para la colonización de la tierra desde hace 400 millones de años (Sawers, Gutjahr & Paszkowski, 2008). Aproximadamente el 70-90% de las plantas terrestres incluyendo cultivos importantes a nivel mundial tales como: maíz (*Zae mays*), arroz (*Oryza zativa*), trigo (*Triticum spp*) y sorgo (*Sorghum bicolor*), son capaces de formar esta asociación simbiótica con hongos pertenecientes al filo *Glomeromycota* (Parniske, 2008), en el cual se presenta alta diversidad genética y funcional entre aproximadamente 150 especies de hongos de este filo que colonizan especies tanto momo y dicotiledóneas (Paszkowski, 2006).

Los hongos micorrícicos arbusculares son organismos biótrofos u obligados, es decir, son capaces de germinar sin la presencia del simbionte, sin embargo necesitan a su hospedero para crecer y completar su ciclo de vida (Figura 1) (Geilfus, 2019). En esta asociación el hongo mejora el desarrollo de la planta con la adquisición de agua y nutrientes (principalmente fosfato (Pi) y N), mejora el suministro de agua, protección contra patógenos e incrementa la flora bacteriana benéfica, entre otros, mientras que la planta brinda hasta el 20% carbohidratos y protección al hongo (Parniske, 2008). Cabe mencionar que el mayor beneficio de la simbiosis se da cuando existe una baja disponibilidad de nutrientes (Schmitz & Harrison, 2014).

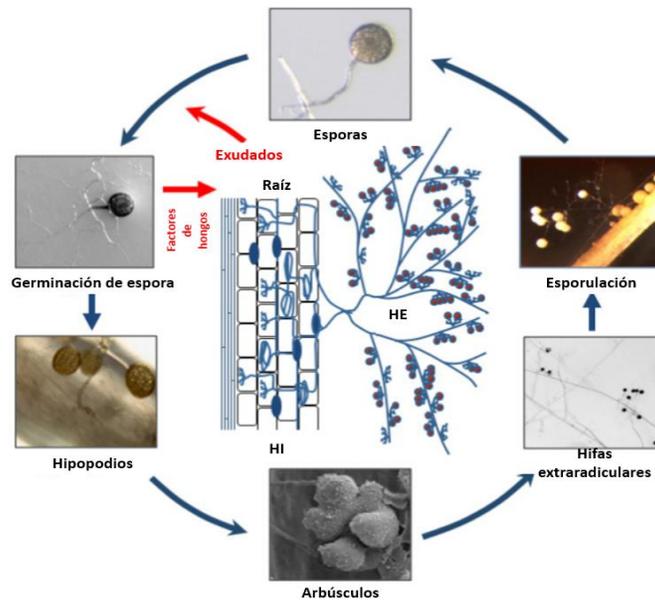


Figura 1. Ciclo de vida de los hongos arbusculares

Inicia con la germinación de las esporas donde se ven involucradas las moléculas de señalización, después el hongo forma los apresorios. Se extienden las hifas extraradiculares, donde se producen nuevamente los esporas que son liberadas al suelo (Bücking, Liepold & Ambilwade, 2012).

2.2 Desarrollo de las micorrizas arbusculares MA

Las esporas de los hongos MA se encuentran en el suelo, pueden germinar en ausencia de un huésped (crecimiento no simbiótico) y vivir pocos días de sus reservas de lípidos antes de encontrar a su hospedero. Ante la ausencia de una raíz hospedera y ante la falta de señales por parte de la planta, las hifas se retraen (Akiyama, Matsuzaki & Hayashi, 2005); sin embargo, un mayor crecimiento y ramificación de hifas en la germinación antes de la infección de la raíz requiere la presencia de exudados de las raíces los cuales están involucrados en la vía de señalización en la fase presimbiótica, estos incluyen a las estrigolactonas. Estas hormonas vegetales endógenas desencadenan germinación de semillas en plantas parasitas, como *Striga* (Parniske, 2008). Con los descubrimientos más recientes se sugirió la participación de estas moléculas en la señalización de la simbiosis. Cuando las plantas se encuentran bajo una escasez de nutrientes existe un aumento considerable en la producción y liberación de estrigolactona, es ahí cuando el hongo micorrícico percibe la señal y responde con un incremento en la actividad fisiológica y en el desarrollo de hifas. Este

proceso incrementa la posibilidad de establecer la simbiosis (Yoneyama et al., 2007). No obstante, en experimentos de campo, se observó que plantas de sorgo colonizadas con MA presentaban una disminución en el número de *Estriga*. Estos resultados sugieren que las MA confieren resistencia a las plantas parasitas, debido a la disminución de los exudados de la raíz como consecuencia de una mejora en la absorción de nutrientes (Lendzemo et al., 2001). Por otro lado, los hongos también producen moléculas que intervienen en la señalización, entre ella una de las más estudiadas es la de las oscilaciones de calcio en la epidermis de la raíz, así como la inducción de la activación transcripcional de genes relacionados con la simbiosis. Dichas moléculas que se caracterizaron como factores de hongos (factores Myc) son los lipoquitooligosacáridos y son muy similares a los que liberan bacterias fijadoras de nitrógeno del género *Rhizobium* en el proceso de nodulación llamados factores Nod. A este paso de reconocimiento de señales previo al contacto entre el hongo y la planta se denomina etapa presimbiótica (Kosuta et al., 2003).

Después de que se desarrollan las hifas, el primer paso decisivo para marcar el inicio de la colonización exitosa es la formación de una estructura llamada hipopodio en la epidermis de la raíz y es el primer punto de contacto célula a célula entre simbiosiontes (Paszowski, 2006). En las células de las plantas, el núcleo migra hacia el punto de contacto para formar el aparato de prepenetración (APP). El APP es una estructura subcelular compuesta de microtúbulos y microfilamentos que se forma de 4 a 5 horas después de la formación del hipopodio, dicha estructura se alinea con el retículo endoplásmico formando un tubo hueco que guía a la hifa a través de las células hasta llegar al córtex (Figura 2). Es ahí donde se forman estructuras llamadas arbusculos, por los cuales se da el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta, hasta este punto se puede decir que la simbiosis está bien establecida (Parniske, 2008). En consecuencia, la arquitectura de la célula del huésped sufre cambios notables: como el núcleo de la célula se mueve de una posición periférica a una central y se desarrolla una membrana periarbuscular que rodea al arbusculo (Gutjahr & Parniske, 2013).

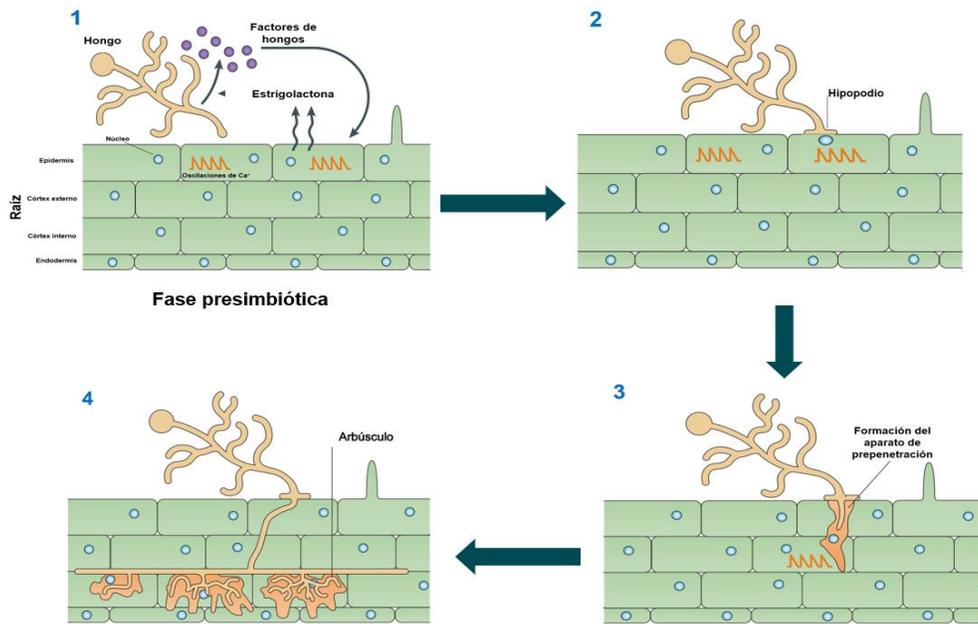


Figura 2. Colonización por micorrizas arbusculares en la raíz

El proceso de colonización por micorrizas arbusculares en la raíz incluye los siguientes pasos: 1) La liberación de estrigolactonas por la raíz de la planta envía señales a las MA en la rizosfera. La percepción de estrigolactonas promueve la germinación de esporas y la ramificación de las hifas. Las MA producen factores de hongos y, posiblemente, señales que activan la vía de señalización de la simbiosis en la raíz, lo que lleva a oscilaciones de calcio. 2) La formación del hipopodio permite el crecimiento de hifas fúngicas en la célula epidérmica de la raíz. 3) La ruta de invasión de las hifas en la célula vegetal se produce por el aparato de prepenetración en una zona de la célula debajo del primer punto de contacto fúngico. 4) El hongo coloniza la corteza de la raíz de la planta a través del crecimiento de hifas intercelulares. Los arbusculos se forman en las células corticales de la raíz a partir de las hifas intercelulares (Oldroyd, 2013).

2.3 Componentes requeridos en la vía común de señalización

Se han identificado al menos 7 genes que intervienen en la vía común de señalización (VCS) simbiótica para bacterias fijadoras de nitrógeno y micorrizas arbusculares. Estos componentes se describieron por primera vez en los modelos de estudio, *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula* y *Oryza sativa*. Estos genes codifican proteínas que están directa o indirectamente involucradas en una red de señales que se requiere para el desarrollo de estructuras intercelulares para hongos y bacterias simbióticas (Parniske, 2008). Dichos genes se describen a continuación (Figura 3):

SYMRK. (*DMI2*) en *Medicago truncatula* y *NORK* en *Medicago sativa*. Las simbiosis con micorrizas arbusculares y bacterias fijadoras de nitrógeno basan sus vías de

señalización parcialmente superpuestas. La base molecular de esta convergencia es *SYMRK*, la cual es una proteína transmembranal que codifica para un receptor rico en péptidos de Leucina que tiene un dominio con actividad enzimática quinasa. Este receptor percibe de manera directa o indirecta las señales extracelulares de las bacterias u hongos, además, activa genes relacionados con la simbiosis (Stracke et al., 2002).

CASTOR y POLLUX. (*DMI1*) en *Medicago truncatula*. Codifican para canales iónicos ubicados en la membrana nuclear. Ambos canales iónicos no selectivos de un ión en específico, si embargo tienen como preferencia el K^+ sobre otros canales como Na^+ y Ca^+ . *CASTOR* y *POLLUX* están conservados en monocotiledoneas y dicotiledoneas. Además, tienen una alta similitud de secuencia y estructura, por lo cual se les llamó *CASTOR* y *POLLUX*, haciendo referencia a los gemelos griegos de la mitología griega. La función que se les ha dado a los canales de potasio es que compensan el desbalance de cationes durante cada evento de fluctuación de calcio, además, se les atribuye la activación de los canales de Ca^{2+} mediante el cambio de membrana (Kim et al., 2019). En *Zea mays*, (*CASTOR*) es importante en la simbiosis, ya que el alelo mutante *castor-2* muestra ausencia de estructuras fúngicas dentro de la raíz (Ramírez-Flores et al., 2020).

NUP133 y NUP85. Son genes que codifican para dos nucleoporinas transportadoras de proteínas, dentro y fuera del núcleo. Son esenciales para las interacciones con simbiontes y la producción de semillas, así como, se les ha asociado con la inducción al incremento de calcio en los pelos radiculares y a las oscilaciones de calcio en el núcleo. Además, regulan la temperatura de la célula una vez iniciada la simbiosis (Kanamori et al., 2006; Saito et al., 2007).

CCaMK. (*DMI3*) en *Medicago truncatula*. Es una proteína quinasa dependiente de calcio-calmodulina que es esencial para el desarrollo de micorrizas arbusculares y su vía de señalización. Sensa las firmas de calcio, pero lo induce, lo que se sugiere es que activa genes río abajo de las oscilaciones de calcio (Singh & Parniske, 2012). Se

ha propuesto que la traducción de las señales de calcio da como resultado eventos de fosforilación, así mismo se le asocia con la organogénesis de nodulos (Parniske, 2008).

CYCLOPS. (IPD3) En *Medicago truncatula* es una proteína con función desconocida, pero se localiza en el núcleo. *CYCLOPS* interactúa con *CCaMK* y está implicado en el alojamiento de intercelular de las bacterias y hongos (Yano et al., 2008; Capoen & Oldroyd, 2008).

De acuerdo a la caracterización de las mutantes de los genes antes mencionados, *SYMRK*, *CASTOR*, *POLLUX*, *NUP133* y *NUP85*, inducen las oscilaciones de calcio, es decir, actúan río arriba. Mientras que *CCaMK* y *CYCLOPS* no requieren las oscilaciones, actúan río abajo (Gutjahr et al., 2008).

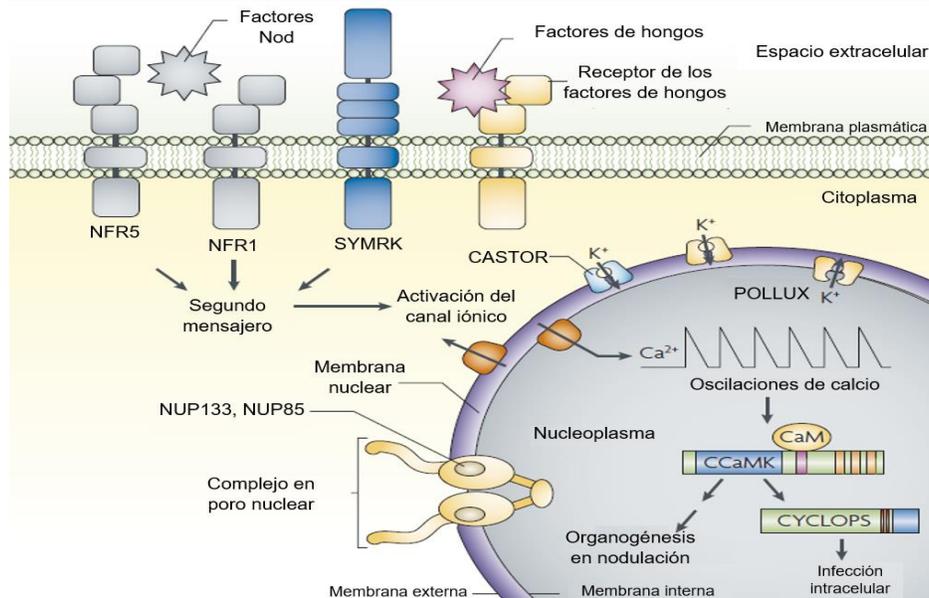


Figura 3. Componentes comunes de la señalización de simbiosis en micorrizas arbusculares

La percepción de señales derivadas de MA están mediadas por al menos 7 genes. *SYMRK*, percibe las señales extracelulares. *CASTOR* y *POLLUX*, mantienen el balance de cationes durante las fluctuaciones de Ca^+ . *NUP85* y *NUP133*, su papel principal es regular la temperatura durante la simbiosis. *CCaMK*, activa genes que se expresan río debajo de los eventos de oscilaciones de calcio. *CYCLOPS*, interactúa con *CCaMK* (Parniske, 2008).

Este proceso de simbiosis tiene lugar en la rizosfera, que se define como la parte estrecha del suelo que está influenciada por raíces vivas y que se caracteriza por una intensa actividad de crecimiento microbiano. Entre los microbios se encuentran los

hongos micorrícicos arbusculares (Geilfus, 2019), los cuales, están omnipresentes en los suelos cultivados formando relaciones simbióticas con las principales especies cultivadas, y debido a su potencial para mejorar el crecimiento de las plantas huésped, incluida una mayor absorción de nutrientes inmóviles (especialmente fósforo), agua y tolerancia a tipos de estrés, dichos hongos tienen un gran interés en la agricultura actual y sostenible (Sawers et al., 2018).

Si bien la simbiosis de micorrizas arbusculares se remonta a más de 450 millones de años (Strullu-Derrien et al., 2018), la agricultura es un desarrollo relativamente reciente, ya que, nuestros principales cereales fueron domesticados hace 10 000 años a partir de diferentes especies de pastos silvestres en distintos centros de domesticación, entre los cuales destaca el maíz (Pankin & von-Koff, 2017).

2.4 Domesticación del maíz

Comunmente, la domesticación es la modificación genética de una especie silvestre para crear una planta alterada, la cual satisface las necesidades humanas. Dichas modificaciones se expresan en rasgos como: frutos o semillas más grandes, indehisencia, mayor dominancia apical o mejor sabor de frutos, las cuales se conocen como síndrome de domesticación, un claro ejemplo es el maíz (Doebley, Gaut, & Smith, 2006).

La domesticación del maíz comenzó hace 9000 años en el periodo Pleistoceno tardío. Los datos genéticos y arqueológicos sugieren que el proceso de domesticación del maíz se llevó a cabo en el valle central del río Balsas en México, a partir del Teocintle (*Zea mays ssp. parviglumis*), un pariente silvestre que es endémico de las tierras bajas del suroeste de México (van Heerwaarden et al., 2010).

Uno de los pasos más críticos en la domesticación del maíz fue quizá la liberación del grano de la cubierta protectora endurecida que envuelve el grano en el progenitor del maíz. Este evento evolutivo clave está controlado por un solo gen (*teocinte glume architecture; tga1*) y es posible que solo un cambio de aminoácidos dentro de este gen sea responsable de tener granos de maíz desnudos (Wang et al., 2006).

Un segundo locus clave de domesticación es, *grassy tillers1 (gt1)*, el cual se expresa en las ramas axilares formadoras de mazorcas en maíz y teocintle y el cambio de fenotipo es causado por la ganancia relativamente sutil de la expresión en el plexo nodal de las ramas formadoras de mazorcas del maíz. Este gen se expresa río abajo de *tb1*, por lo cual el fenotipo observado es que se suprime el crecimiento de macollos para formar mazorcas en las llemas axilares (Whipple et al., 2011).

Un tercer factor de transcripción, *teosinte branched1 (tb1)*, subyace a la reducción del macollamiento de los brotes del maíz. En los genotipos modernos, los meristemos del desarrollo responsables de la ramificación lateral de los brotes se inician, pero su crecimiento es reprimido por *tb1*. Durante la domesticación, la antigua selección de los elementos reguladores de *tb1* dio como resultado una mayor expresión de *tb1* en los meristemos del macollo, lo que llevó a su represión constitutiva (Zhou et al., 2011). Por lo tanto, *tb1* se considera un sitio de domesticación de brotes maestro y crítico para el surgimiento de la agricultura moderna del maíz. Dados los cambios dramáticos por *tb1* en la arquitectura y el tamaño de los brotes de maíz durante la domesticación, parece lógico que haya habido cambios equilibrados en el tamaño y la morfología del sistema de raíces (Gaudin et al., 2014).

2.5 Efecto de *Tb1* en el sistema radicular de maíz

La domesticación y el mejoramiento genético del maíz han resultado en cambios drásticos y bien documentados en las características superficiales como: dominancia apical, mayor índice de cosecha y tamaño de semilla. Estos procesos también han influido en rasgos subterráneos, incluida la arquitectura de la raíz, que a su vez pueden afectar el establecimiento de las comunidades microbianas de la rizosfera. Sin embargo, dichos efectos siguen sin comprenderse bien, a pesar de su importancia para la adquisición de nutrientes y agua (Brisson et al., 2019). La evidencia sugiere que una disminución de la función de *Tb1* en el maíz da como resultado un sistema de raíces más largo, debido a un aumento en el número de raíces laterales, pero cuando la función de *Tb1* incrementa las plantas presentan mayor número de raíces de la corona, incremento en la densidad de raíces laterales de primer y segundo orden y reducción

de la longitud de raíces laterales (Figura 4). Estos cambios hacen que el maíz moderno se asemeje al ancestro del maíz (Gaudin et., 2014).

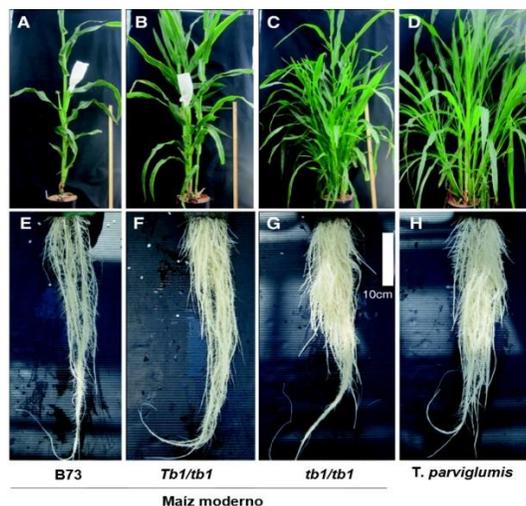


Figura 4. Morfología de raíces de plantas de maíz y *T. parviglumis*

Imágenes representativas de brotes: (A) línea de maíz moderno B73, (B) mutante heterocigoto *Tb1/tb1*, (C) mutante homocigoto *tb1/tb1*, (D) Teocintle *parviglumis*. Imágenes representativas del sistema radicular: (E) línea de maíz moderno B73, (F) mutante heterocigoto *Tb1/tb1*, (G) mutante homocigoto *tb1/tb1* y (H) Teocintle *parviglumis* (Gaudin et al., 2014).

Dado el papel crítico mediado por *Tb1* en la arquitectura radicular durante la domesticación, el mejoramiento genético y el cambio de los ecosistemas silvestres a monocultivos modernos, parece lógico que haya habido un impacto negativo en comunidades de simbiontes micorrícicos para asociarse con sus hospederos (Brisson et al., 2019).

2.6 Variación de comunidades microbianas en la rizosfera

Recientemente, se han encontrado algunas diferencias en los microbios alrededor del maíz y las raíces de Teocintle. El maíz dulce tienen menos microbios que el Teocintle y menos tipos de bacterias y hongos simbióticos (Szoboszlay et al., 2015). Dicha tendencia se puede observar en un ancestro silvestre de la remolacha *Beta vulgaris* ssp. *Maritima*, tiene mayor diversidad de simbiontes en la rizosfera y por ende mayor resistencia al estrés abiótico que la remolacha azucarera moderna (Zachow et al., 2014). El microbioma de la cebada domesticada *Hordeum vulgare* difiere de sus ancestros silvestres tanto en función como en diversidad, con genes que afectan las

interacciones huésped-microbio mostrando evidencia de selección positiva (Bulgarelli et al., 2015). En otro estudio se reportó que los cultivares de lechuga más antiguos y modernos *Lactuca sativa* tienen mayor diversidad de rizobacterias que su ancestro silvestre *Lactuca serriola*, lo que sugiere que la domesticación conduce a la diversificación bacteriana en el sistema radicular de la lechuga (Cardinale et al., 2014). En otro estudio donde compararon diferentes especies de pastos, incluyendo algunas plantas de cultivo como el maíz, se encontró que las diferencias en las comunidades microbianas de la raíz y la rizosfera están correlacionadas con la distancia filogenética de la planta huésped (Bouffaud et al., 2014).

Por otro lado, los mismos efectos negativos de domesticación y mejoramiento se han reportado para microorganismos benéficos específicos. Por ejemplo, se han encontrado interacciones reducidas de hongos micorrícicos arbusculares en híbridos modernos de maíz en comparación con las razas más antiguas (Sangabriel-Conde et al., 2015). Otro experimento en trigo *Triticum aestivum* y sus parientes silvestres mostro que la capacidad de la respuesta a *Glomus intraradices* de los parientes silvestres era mayor que en el trigo moderno, lo cual indica que pueden haber reducido la capacidad de la respuesta de los cultivares de trigo modernos a los hongos micorrícicos arbusculares (Zhu et al., 2001). Los efectos heteróticos también se han estudiado en hongos micorrícicos arbusculares, donde un híbrido y una de sus líneas endogámicas parentales pudieron seleccionar comunidades fúngicas únicas (*Glomus* para el híbrido y *Archeospora* para la línea Lo964), mientras que la otra línea parental no lo hizo, lo que sugiere que la selección de cepas fúngicas de micorrizas está controlada por la herencia dominante en lugar de la heterosis (Picard, Baruffa, & Bosco, 2008).

Esto respalda la idea de que el maíz moderno puede haber perdido algunos microbios benéficos con el tiempo y ganado otros nuevos. Sin embargo, algunos de los mismos microbios se pueden encontrar alrededor de las raíces tanto de Teocintle como del maíz. Esto demuestra que un grupo central de microbios se ha mantenido igual a lo largo del tiempo (Schmidt & Gaudin, 2017).

Sin embargo, las modificaciones en las comunidades simbióticas con las plantas y sus parientes silvestres, como el maíz, siguen sin estar claros ya que estudios no han tenido la resolución de cuantificar específicamente los hongos micorrícicos arbusculares. Para sacar conclusiones sólidas sobre las diferencias entre las plantas domesticadas y sus parientes silvestres, es necesario muestrear mejor la diversidad, utilizando información genómica para tener en cuenta la estructura de la población. Idealmente, la respuesta de la planta se evaluará en plantas maduras cultivadas en campo, evaluando rasgos fenotípicos y la colonización por hongos micorrícicos arbusculares.

El desarrollo de poblaciones de introgresión (Sawers et al, 2018) de parientes silvestres de cultivos (variedades modernas que portan un componente pequeño y conocido de un genoma de parientes silvestres) puede facilitar la evaluación y dar una idea de si el haplotipo fijado en una línea elite mejorada brinda mayor o menor porcentaje de colonización en las raíces de la población.

III.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

La región genómica de Teocintle *parviglumis* en la población de líneas casi isogénicas proporciona una mayor respuesta en el porcentaje de colonización de hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo.

3.2 Objetivo general

Determinar el porcentaje de colonización de hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo en genotipos emparentados de maíz y Teocintle: progenitor recurrente, progenitor donante y una población de líneas casi isogénicas de maíz.

3.3 Objetivos específicos

- Colectar muestras de raíces en campo durante la etapa de floración.
- Determinar el porcentaje de colonización de las estructuras de los hongos, vesículas arbusculares, hifas y arbusculos en la raíz.
- Identificar líneas que tengan mayor respuesta positiva a la colonización de hongos micorrícicos arbusculares comparado con los controles y *T. parviglumis*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Material genético

Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizó una población de líneas casi-isogénicas, misma que fue generada utilizando como parentales, la línea subtropical CML312 (progenitor recurrente) y semilla de la colección de Teocintle (*Zea mays* L. *ssp. parviglumis*) (progenitor donante), la línea proveniente del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y Teocintle de la colecta realizada en tres localidades de Talpitita (Municipio de Villa Purificación, 19°42'51.58"N, 104°48'0.52"W), Jalisco, México. Cabe destacar que la población de líneas fue generada por el doctor Julio Bernal en la Universidad Texas A&M. La línea CML312 fue polinizada con polen de una planta de Teocintle *parviglumis* para generar una F₁. Un solo individuo CML312xTeocintle *parviglumis* F₁ fue cruzado como macho con múltiples jilotes de CML312 para generar una amplia población BC₁, capturando un solo haplotipo de Teocintle *parviglumis*. La BC₁ fue cruzado nuevamente con CML312 para generar la BC₂, el proceso se repitió una hasta obtener la retrocruza BC₃. Luego, la BC₃ se autopolinizó durante 4 generaciones para formar una población de BC₃S₄ de líneas casi isogénicas, con el 6.25 % del genoma de Teocintle *parviglumis*, y el 93.75 % de CML312 en promedio (Figura 5). Por otro lado, se colectaron muestras de raíces de tres plantas de Teocintle *parviglumis* en su habitat natural en la etapa de floración y contrastar los resultados de la población de líneas y los controles.

4.2 Incremento de semilla

El incremento de semilla de la población constituida por 76 líneas casi-isogénicas de maíz BC₃S₄ se llevó a cabo en el ciclo invierno-primavera del año 2019 (Tabla 10). Las líneas se sembraron en el campo experimental de la empresa Agricultura invernal de Puerto Vallarta en el municipio de Valle de Banderas, Nayarit (latitud 20.78493, longitud -105.24229) a 40 m.s.n.m. Se sembraron 15 semillas de cada línea con una separación de 15 centímetros en un surco de tres metros de largo. En la etapa de floración se cubrieron los jilotes con bolsas enseradas de papel Glassine y las espigas con bolsas de papel enserado. Una vez cubiertas las estructuras florales, se tomó polen de la

primera planta para polinizar la segunda planta. Posteriormente, se colecto polen de la segunda planta para polinizar la tercera planta, el proceso se aplicó para las plantas del surco y para cada línea de maíz (Figura 6).

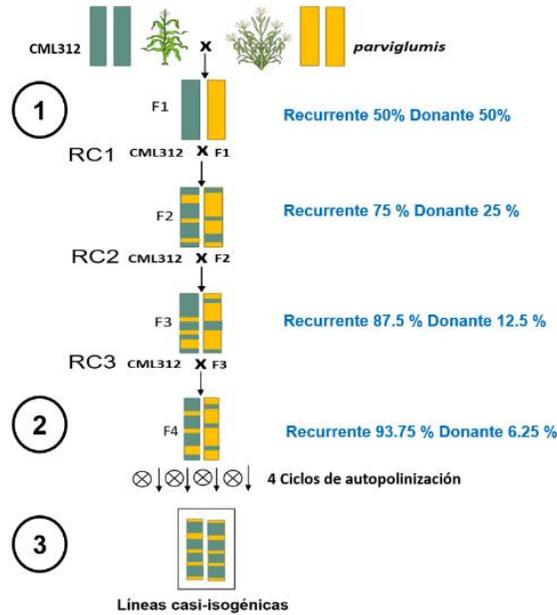


Figura 5. Proceso de generación de la población de líneas casi isogénicas de maíz

La primera cruza entre CML312 (como hembra) con polen de Teocintle *parviglumis* (como macho) generando una F₁. 2. La F₁ se retrocruzó con CML312 para capturar un solo haplotipo de T. *parviglumis*. La F₂ resultante se retrocruzó hasta obtener BC₃. 3. Cada individuo BC₃ se autopolinizó durante cuatro generaciones para generar una línea casi isogénica.



Figura 6. Incremento de semilla en el ciclo primavera-invierno del 2019

En el periodo de floración se polinizaron las plantas de cada línea de maíz, se tomó polen de la primer planta para polinizar la segunda planta. El mismo procedimiento se aplicó para cada línea de maíz.

Cuadro 1. Población de 76 líneas casi isogénicas de maíz BC₃S₄

No. Orden	Genotipo	No. Orden	Genotipo	No. Orden	Genotipo
1	LANZP1C169	26	LANZP1C203	51	LANZP1C239
2	LANZP1C170	27	LANZP1C204	52	LANZP1C240
3	LANZP1C171	28	LANZP1C205	53	LANZP1C241
4	LANZP1C172	29	LANZP1C207	54	LANZP1C242
5	LANZP1C173	30	LANZP1C208	55	LANZP1C243
6	LANZP1C174	31	LANZP1C209	56	LANZP1C244
7	LANZP1C175	32	LANZP1C210	57	LANZP1C245
8	LANZP1C177	33	LANZP1C211	58	LANZP1C246
9	LANZP1C178	34	LANZP1C216	59	LANZP1C247
10	LANZP1C180	35	LANZP1C218	60	LANZP1C249
11	LANZP1C182	36	LANZP1C219	61	LANZP1C250
12	LANZP1C183	37	LANZP1C221	62	LANZP1C251
13	LANZP1C186	38	LANZP1C222	63	LANZP1C252
14	LANZP1C187	39	LANZP1C224	64	LANZP1C253
15	LANZP1C188	40	LANZP1C225	65	LANZP1C254
16	LANZP1C189	41	LANZP1C226	66	LANZP1C256
17	LANZP1C190	42	LANZP1C227	67	LANZP1C257
18	LANZP1C191	43	LANZP1C228	68	LANZP1C258
19	LANZP1C192	44	LANZP1C229	69	LANZP1C259
20	LANZP1C193	45	LANZP1C230	70	LANZP1C260
21	LANZP1C194	46	LANZP1C231	71	LANZP1C261
22	LANZP1C195	47	LANZP1C232	72	LANZP1C264
23	LANZP1C197	48	LANZP1C233	73	LANZP1C266
24	LANZP1C200	49	LANZP1C234	74	LANZP1C267
25	LANZP1C202	50	LANZP1C236	75	LANZP1C269
				76	LANZP1C275

4.3. Descripción del experimento

Para obtener las muestras de raíces de interés, la población de líneas casi isogénicas, la línea elite CML312 y el híbrido H-383 (controles) fueron plantadas en un campo experimental del Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Pabellón, Aguascalientes (latitud 22.16211, longitud 102.29558) durante el ciclo primavera-verano 2021 a 1922 m.s.n.m. en un diseño de bloques al azar con dos repeticiones (bloques). La fecha de siembra se realizó el 20 de mayo del año 2021.

4.4. Colecta de muestras en campo

Las muestras de raíces se colectaron en la etapa de floración (98 días después de la siembra) de las plantas de la población de líneas casi isogénicas el 25 de agosto del 2021. Para tomar la muestra se tomó una planta de maíz al azar en la parte media del surco. Se desenterró cada planta de maíz en un círculo a 15 cm de distancia del tallo a una profundidad de 25 cm. Se extrajo suavemente la planta mientras mantenía las raíces lo más intactas posible. Posteriormente, con una tijeras para podar desinfectadas, se cortaron en promedio cinco raíces de la corona cerca del borde del cepellón para cada planta. La raíz colectada aún conservaba suelo de la rizosfera adherido, por lo que se depositó en un tubo Falcon de 50 ml estéril y se resguardó en una hielera a 5°C (Figura 7).

El mismo procedimiento de extracción de la planta y colecta de raíces se llevó a cabo en 2 plantas de Teocintle *parviglumis* en etapa de floración, dichas plantas crecen de forma silvestre en campos del Cinvestav, Unidad Irapuato.

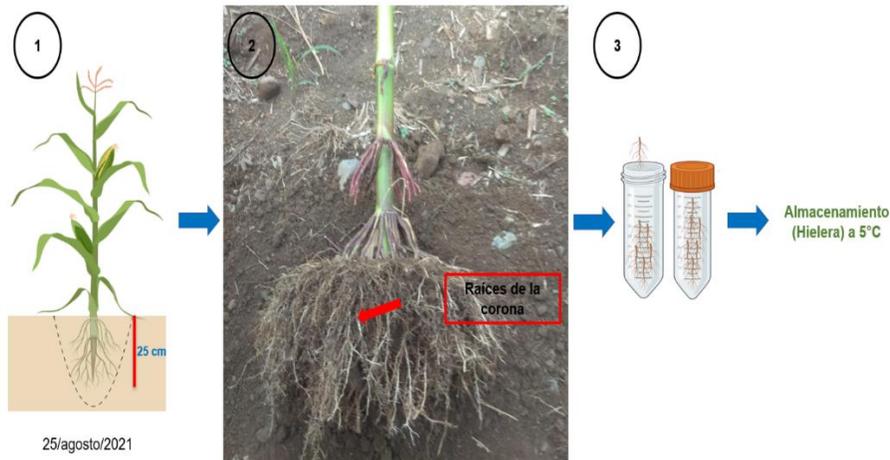


Figura 7. Esquema de colecta de raíces en campo en la etapa de floración

1 Colecta de raíces a una profundidad de 25 cm. 2 Toma de raíces de la corona con parte de la rizosfera. 3 Las muestras se almacenaron a una temperatura de 5°C.

4.5. Tinción de raíces con azul de tripano

Reactivos y preparación de soluciones para la tinción de raíces:

1.- Hidróxido de potasio al 10%

Se pesaron 100 gramos de KOH en un vaso de precipitados con capacidad de un litro y posteriormente, se aforo a 1000 ml con agua destilada.

2.- Ácido acético al 85%.

Agregar 850 ml de ácido acético de la marca Sigma Aldrich 99-100% en una probeta de un litro y aforar a un litro agregando 150ml de agua destilada.

3.- Azul de tripano de la marca Sigma Aldrich.

4.- Glicerina cien por ciento pura de la marca Corona.

Preparación de 1.5 litros de acetoglicerol para tinción:

En una botella de vidrio de color ámbar con capacidad de 2 litros, se agregaron 400 ml de Ácido acético al 85%, 500 ml de glicerina, 600 ml de agua destilada y 0.75 gramos

de azul de Tripiano. Finalmente, la botella fue cubierta con papel aluminio y resguardada en refrigeración.

Preparación de 1.5 litros de acetoglicerol para resguarda raíces.

En una botella de vidrio transparente, se agregaron 400 ml de ácido acético al 85%, 500 ml de glicerina pura y 600 ml de agua destilada. La botella se resguarda a temperatura ambiente.

Una vez colectado el tejido de la raíz se tiñen de acuerdo al siguiente protocolo:

- 1.- Las muestras de raíces se lavaron tres veces con agua corriente para remover los restos de suelo adherido (rizosfera).
- 2.- Se decoloraron las raíces adicionando KOH al 10%, y se sometieron a 10 libras de presión en una olla de presión durante 10 minutos.
- 3.- El KOH de cada tubo se decanto en un recipiente y posteriormente, las raíces se lavaron con agua corriente para remover los restos de KOH (Figura 8).
- 4.- Se adicionó acetoglicerol con el azul de tripano a cada tubo hasta cubrir las raíces y se dejó actuar durante 10 minutos en una olla de presión a 10 libras de presión (Figura 9)
- 5.- El colorante de cada tubo se removió y las raíces se enjuagaron en dos ocasiones con agua corriente.
- 6.- Se adicionó acetoglicerol a cada tubo para resguardad las muestras por más tiempo.



Figura 8. Proceso de aclarado de raíces con KOH al 10 %



Figura 9. Proceso de tinción de raíces con azul de Tripiano

7.- Una vez que las raíces fueron teñidas, se tomaron 15 segmentos de raíz de un centímetro para montarlo en cada portaobjetos y realizar la cuantificación de la colonización. Se hicieron tres replicas técnicas para cada replica biológica. La cuantificación de la colonización en las raíces fue realizada por el método de intersección (McGonigle et al., 1990).

4.6 Identificación de estructuras de micorrizas arbusculares en microscopio

Para la identificación de estructuras de los hongos micorrícicos arbusculares, es decir, arbusculos, hifas y vesículas arbusculares se utilizó un microscopio estándar de la marca CARL ZEISS con un ocular de 10X y objetivo de 40X aumentos según el protocolo de intersección mencionado anteriormente.

4.7 Modelo estadístico y transformación de variables estimadas

Para determinar si hubo diferencias en las variables analizadas entre las líneas de la población y los controles utilizados se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias. El modelo utilizado para analizar la información obtenida se eligió de acuerdo con el diseño de bloques completos al azar (Kuehl, 2000):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Observación de la variable respuesta (porcentaje de arbusculos, hifas y vesículas arbusculares) obtenida del tratamiento i -ésimo dentro del bloque j -ésimo.

μ = Media general.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

B_j = Efecto del j -ésimo bloque.

E_{ij} = Error asociado al tratamiento i en bloque j ($B_j + E_{ij}$)

Porcentaje de colonización por arbusculos en la raíz

La variable de porcentaje de la raíz colonizada por arbusculos es discreta y la distribución de los datos obtenidos es "Poisson", debido a este comportamiento se transformó a la raíz cuadrada para acercarse al supuesto de homocedasticidad. La fórmula utilizada fue $Y_i' = \sqrt{Y_i}$ y al final se transformó nuevamente la variable para concluir con las medias originales.

Porcentaje de colonización por vesículas arbusculares en la raíz

En este caso, se llevó a cabo la transformación a potencia usando Boxcox de la variable con el parámetro λ sugerido de (0.544308) y el paquete estadístico EnvStats. La fórmula de la variable fue la siguiente: $(Y^\lambda) = Y^{0.544308}$. Para el análisis estadístico se utilizó el software R versión 4.2.1.

Porcentaje de colonización por hifas en la raíz

Esta variable es discreta y su distribución es normal, por lo que no hubo necesidad de transformación.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza realizado detectó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) tanto para las variables porcentaje de arbusculos ($P < 2.2e-16$), hifas ($P < 2.2e-16$) y vesículas arbusculares ($P < 2e-16$) presentes en las raíces de la población de líneas casi isogénicas, CML312 y el híbrido comercial H383. Los siguientes resultados son de acuerdo a la comparación de medias realizadas.

5.1 Porcentaje de la raíz colonizada por arbusculos

Los resultados obtenidos para la variable de colonización de arbusculos en la raíz para la población de líneas casi isogénicas y los controles utilizados dentro del experimento (CML312 y el híbrido H383) se presentan en la (Cuadro 2). Los niveles de porcentaje de colonización de arbusculos en la población de líneas casi isogénicas variaron de 11.1 a 64.1 % en promedio y de 10 a 11.8 % para el híbrido y la línea parental CML312 respectivamente. Los genotipos más sobresalientes en relación a esta variable y de acuerdo a la comparación de medias por HSD de Tukey con $\alpha = 0.05$ fueron 47 líneas casi isogénicas que va del número 1 (LANZP1C253) al 47 (LANZP1C194) (Tabla 2). Contrario a estos genotipos se encontraron las líneas LANZP1C193 (11 %) y LANZP1C245 (11.85 %) con los niveles más bajos de la variable en cuestión (Cuadro 2). Al comparar las líneas casi isogénicas con el control que registró el nivel más alto de arbusculos (CML312), 74 de las líneas fueron estadísticamente superiores (Cuadro 2). Con respecto al híbrido comercial (H383), que registró un porcentaje de 10, 76, todas las líneas de la población fueron significativamente superiores.

Para comparar los resultados del experimento, se colectaron muestras de *T. parviglumis* en su habitat original. Los resultados para la variable estudiada mostraron un mínimo de 66.6 y un máximo de 93.3% (Cuadro 3). Claramente la media (82.2 %) es superior a la media máxima mostrada por la línea LANZP1C253 (64.07 %) con la medición más alta. Referente a los controles, el híbrido H383 (10.0 %) y la línea elite CML312 (11.85 %) tuvieron resultados muy bajos comparados con la media de *parviglumis*.

Cuadro 2. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de arbúsculos.

Número de orden	Genotipo	Arbúsculos en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Arbúsculos en la raíz (%)	Grupo
1	LANZP1C253	64.07	a	40	LANZP1C200	33.70	abcdefghijkl
2	LANZP1C187	52.96	ab	41	LANZP1C260	34.44	abcdefghijkl
3	LANZP1C239	51.48	abc	42	LANZP1C243	32.59	abcdefghijkl
4	LANZP1C222	51.85	abcb	43	LANZP1C192	32.59	abcdefghijkl
5	LANZP1C202	50.37	abcd	44	LANZP1C169	31.85	abcdefghijkl
6	LANZP1C250	48.51	abcde	45	LANZP1C209	32.22	abcdefghijkl
7	LANZP1C228	48.14	abcde	46	LANZP1C178	31.48	abcdefghijkl
8	LANZP1C241	48.14	abcde	47	LANZP1C194	31.11	abcdefghijkl
9	LANZP1C191	48.14	abcdef	48	LANZP1C240	30.00	bcdefghijkl
10	LANZP1C256	47.40	abcdefg	49	LANZP1C258	31.48	bcdefghijkl
11	LANZP1C227	47.03	abcdefg	50	LANZP1C251	32.96	bcdefghijkl
12	LANZP1C188	47.40	abcdefg	51	LANZP1C224	29.25	bcdefghijkl
13	LANZP1C174	47.40	abcdefg	52	LANZP1C257	29.25	bcdefghijkl
14	LANZP1C249	44.92	abcdefg	53	LANZP1C175	31.85	bcdefghijkl
15	LANZP1C229	45.92	abcdefg	54	LANZP1C195	31.11	bcdefghijkl
16	LANZP1C205	44.81	abcdefgh	55	LANZP1C190	29.62	bcdefghijkl
17	LANZP1C216	47.77	abcdefgh	56	LANZP1C259	28.14	bcdefghijkl
18	LANZP1C266	42.59	abcdefgh	57	LANZP1C210	27.77	bcdefghijkl
19	LANZP1C233	42.22	abcdefgh	58	LANZP1C221	27.40	bcdefghijkl
20	LANZP1C208	42.59	abcdefgh	59	LANZP1C261	27.40	bcdefghijkl
21	LANZP1C197	41.48	abcdefghi	60	LANZP1C246	28.51	bcdefghijkl
22	LANZP1C252	42.22	abcdefghi	61	LANZP1C232	28.51	bcdefghijkl
23	LANZP1C225	42.22	abcdefghi	62	LANZP1C189	27.40	bcdefghijkl
24	LANZP1C218	40.74	abcdefghi	63	LANZP1C219	26.66	bcdefghijkl
25	LANZP1C242	42.96	abcdefghi	64	LANZP1C231	25.25	bcdefghijkl
26	LANZP1C226	41.11	abcdefghi	65	LANZP1C186	25.55	bcdefghijkl
27	LANZP1C211	40.74	abcdefghi	66	LANZP1C170	24.07	bcdefghijkl
28	LANZP1C264	40.00	abcdefghi	67	LANZP1C269	23.70	bcdefghijkl

Número de orden	Genotipo	Arbúsculos en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Arbúsculos en la raíz (%)	Grupo
29	LANZP1C234	39.62	abcdefghi	68	LANZP1C247	22.96	cdefghijkl
30	LANZP1C230	39.62	abcdefghi	69	LANZP1C236	20.74	defghijkl
31	LANZP1C244	39.62	abcdefghi	70	LANZP1C183	20.74	efghijkl
32	LANZP1C177	38.51	abcdefghi	71	LANZP1C203	18.88	fghijkl
33	LANZP1C207	38.14	abcdefghi	72	LANZP1C180	19.62	ghijkl
34	LANZP1C267	40.37	abcdefghi	73	LANZP1C254	18.88	hijkl
35	LANZP1C204	37.40	abcdefghi	74	LANZP1C173	15.55	ijkl
36	LANZP1C172	34.81	abcdefghi	75	CML312	11.85	Jkl
37	LANZP1C275	35.18	abcdefghij	76	LANZP1C193	11.85	Jkl
38	LANZP1C171	34.81	abcdefghij	77	LANZP1C245	11.00	Kl
39	LANZP1C182	37.03	abcdefghij	78	H383	10.00	l
Estadísticos							
HSD (0.05)	***						
Genotipo	5.98						

HSD: Honestly Significant Difference de Tukey; *, ** y *** significativo a una p-valor menor de 0.05, 0.01 o 0.001 respectivamente.

Cuadro 3. Porcentaje de arbusculos en la raíz de Teocintle *parviglumis*

Variable	Min	Max	Media	Mediana	Desv. Esta.	Var.	C.V.
Arbusculos en la raíz (%)	66.6	93.3	82.2	82.2	10.4	108.6	12.6%

Significado: **Min:** Mínimo; **Max:** Máximo; **Desv. Esta:** Desviación Estándar; **C.V.:** Coeficiente de variación; **Var.:** Varianza.

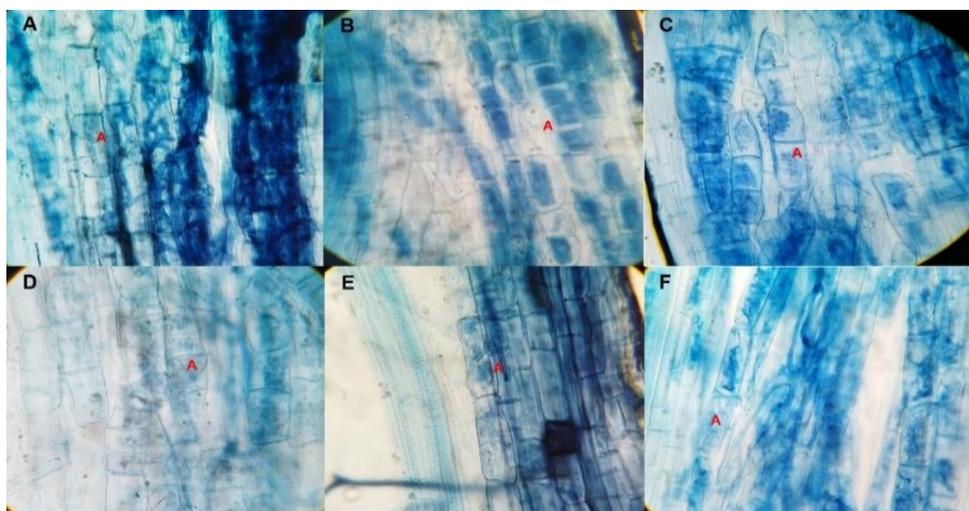


Figura 10. Fenotipos de arbusculos en líneas casi isogénicas y controles estudiados

En la figura se muestran raíces de maíz para las líneas casi isogénicas y controles estudiados, cosechadas a los 98 días después de la siembra (etapa de floración) y colonizadas con hongos micorrízicos arbusculares nativos del suelo. **(A)** a **(C)** Raíces de líneas casi isogénicas de maíz LANZP1C253 **(A)**, LANZPIC187 **(B)** y LANZP1C202 **(C)**. **(D)** a **(H)** Raíces de los controles estudiados, híbrido H383 **(D)**, CML312 **(E)** y Teocintle *parviglumis*, muestran colonización por arbusculos. **A=** arbusculos.

5.2 Porcentaje de la raíz colonizada por hifas

Los resultados obtenidos para el porcentaje de hifas en las células de la raíz para la población de líneas casi isogénicas y los controles utilizados dentro del experimento (CML312 y el híbrido H383) se presentan en la (Cuadro 4)

Los niveles del porcentaje de hifas en las líneas casi isogénicas variaron de 85.56 a 33.70 %, mientras que en los controles (CML312 y el híbrido H383) fue de 34.44 a 34.84 % respectivamente. Las líneas de la población con los niveles más altos para esta estructura y de acuerdo a la comparación de medias por HSD de Tukey con

$\alpha=0.05$ fueron 47 (número de orden 1 al 47), las cuales alcanzaron porcentajes de 56.26 a 85.56. Al realizar el comparativo de los porcentajes de hifas con el control que registro el porcentaje más alto (H383 con 34.81 %), 74 de las líneas casi isogénicas de la población fueron superiores significativamente. Las mismas 74 líneas mencionadas anteriormente, fueron superiores a CML312.

Los resultados del experimento se compararon con muestras de *T. parviglumis*. El porcentaje de hifas del ancestro del maiz mostraró un mínimo de 95.55 y un máximo de 97.77 % (Cuadro 5). La media (97.03 %) es superior a la media máxima mostrada por la línea LANZP1C256 (85.56 %). Con referencia a los controles estudiados, el híbrido H383 (34.81 %) y la línea elite CML312 (34.44 %) tuvieron resultados muy inferiores comparados con la media de *parviglumis*. Esta misma tendencia se observa en la línea LANZP1C269 con el promedio más bajo (33.70 %).

Cuadro 4. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de hifas.

Número de orden	Genotipo	Hifas en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Hifas en la raíz (%)	Grupo
1	LANZP1C256	85.56	a	40	LANZP1C177	60.37	abcdefghijklmn
2	LANZP1C253	82.96	ab	41	LANZP1C249	59.63	abcdefghijklmn
3	LANZP1C202	78.52	abc	42	LANZP1C232	59.63	abcdefghijklmn
4	LANZP1C191	75.19	abcd	43	LANZP1C219	58.52	abcdefghijklmn
5	LANZP1C264	75.19	abcd	44	LANZP1C227	57.41	abcdefghijklmn
6	LANZP1C187	74.07	abcde	45	LANZP1C231	57.04	abcdefghijklmn
7	LANZP1C205	72.59	abcdef	46	LANZP1C192	56.30	abcdefghijklmn
8	LANZP1C171	72.22	abcdef	47	LANZP1C251	56.30	abcdefghijklmn
9	LANZP1C216	71.48	abcdef	48	LANZP1C194	55.19	bcdefghijklmn
10	LANZP1C230	71.48	abcdef	49	LANZP1C186	54.44	bcdefghijklmn
11	LANZP1C208	71.11	abcdef	50	LANZP1C260	53.33	bcdefghijklmn
12	LANZP1C207	70.37	abcdefg	51	LANZP1C200	52.96	bcdefghijklmn
13	LANZP1C252	70.00	abcdefg	52	LANZP1C259	52.59	cdefghijklmn
14	LANZP1C169	68.89	abcdefgh	53	LANZP1C246	51.48	cdefghijklmn
15	LANZP1C218	68.52	abcdefghi	54	LANZP1C183	50.37	cdefghijklmn
16	LANZP1C188	68.15	abcdefghij	55	LANZP1C189	50.37	cdefghijklmn
17	LANZP1C225	68.15	abcdefghij	56	LANZP1C275	50.00	cdefghijklmn
18	LANZP1C250	67.78	abcdefghilk	57	LANZP1C175	49.26	cdefghijklmn
19	LANZP1C222	67.04	abcdefghilk	58	LANZP1C195	48.89	cdefghijklmn
20	LANZP1C229	67.04	abcdefghilk	59	LANZP1C209	48.15	defghijklmn
21	LANZP1C172	66.30	abcdefghilk	60	LANZP1C240	48.15	defghijklmn
22	LANZP1C266	65.93	abcdefghilk	61	LANZP1C221	47.78	defghijklmn
23	LANZP1C226	65.56	abcdefghilk	62	LANZP1C170	46.67	defghijklmn
24	LANZP1C239	65.56	abcdefghilk	63	LANZP1C236	46.30	defghijklmn
25	LANZP1C244	65.56	abcdefghilk	64	LANZP1C254	45.19	defghijklmn
26	LANZP1C241	65.19	abcdefghilk	65	LANZP1C178	44.07	efghijklmn
27	LANZP1C242	65.19	abcdefghilk	66	LANZP1C224	44.07	efghijklmn
28	LANZP1C234	64.81	abcdefghilk	67	LANZP1C180	43.33	fghijklmn
29	LANZP1C243	64.44	abcdefghiklm	68	LANZP1C261	43.33	fghijklmn

Número de orden	Genotipo	Hifas en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Hifas en la raíz (%)	Grupo
30	LANZP1C182	63.70	abcdefghijklmn	69	LANZP1C210	42.59	fghijklmn
31	LANZP1C258	63.70	abcdefghijklmn	70	LANZP1C247	40.74	ghijklmn
32	LANZP1C204	63.70	abcdefghijklmn	71	LANZP1C173	39.26	hijklmn
33	LANZP1C267	62.96	abcdefghijklmn	72	LANZP1C245	38.52	ijklmn
34	LANZP1C257	62.22	abcdefghijklmn	73	LANZP1C193	38.15	jklmn
35	LANZP1C228	61.85	abcdefghijklmn	74	LANZP1C190	37.78	klmn
36	LANZP1C197	61.11	abcdefghijklmn	75	H383	34.81	lmn
37	LANZP1C233	61.11	abcdefghijklmn	76	CML312	34.44	mn
38	LANZP1C174	60.74	abcdefghijklmn	77	LANZP1C203	34.44	mn
39	LANZP1C211	60.74	abcdefghijklmn	78	LANZP1C269	33.70	n
Estadísticos							
HSD (0.05)	***						
Genotipo	5.99						

Honestly Significant Difference de Tukey; *, ** y *** significativo a una p-valor menor de 0.05, 0.01 o 0.001 respectivamente.

Cuadro 5. Porcentaje de hifas en la raíz de Teocintle *parviglumis*.

Variable	Min	Max	Media	Mediana	Desv. Esta.	Var.	C.V.
Hifas en la raíz (%)	95.55	97.77	97.03	97.77	1.14	1.31	1.18%

Significado: **Min:** Mínimo; **Max:** Máximo; **Desv. Esta:** Desviación Estándar; **C.V.:** Coeficiente de variación; **Var.:** Varianza.

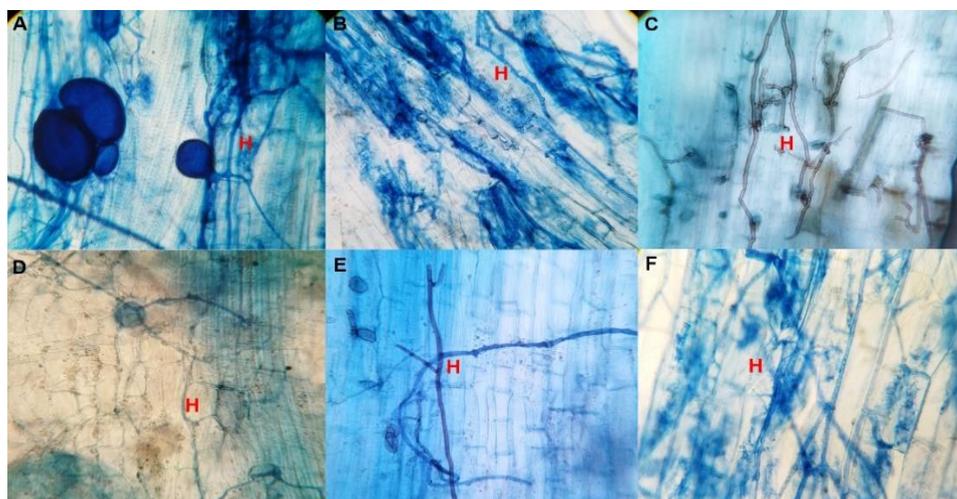


Figura 11. Fenotipos de hifas en líneas casi isogénicas y controles estudiados

En la figura se muestran raíces de maíz para las líneas casi isogénicas y controles estudiados, cosechadas a los 98 días después de la simbra (etapa de floración) y colonizadas con hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo. **(A)** a **(C)** Raíces de líneas casi isogénicas LANZP1C256 **(A)**, LANZP1C253 **(B)** y LANZP1C203 **(C)**, **(D)** a **(H)** Raíces de los controles estudiados, híbrido H383 **(D)**, CML312 **(E)** y Teocintle *parviglumis*, muestran colonización por hifas. **H**= hifa.

5.3 Porcentaje de vesículas arbusculares en la raíz

El porcentaje de vesículas arbusculares en las células de la raíz para la población de líneas casi isogénicas fue de 1.48 a 25.92 % y en los controles (CML312 y H383) de 1.1 a 2.96 % respectivamente (Cuadro 6). Las líneas de la población que más sobresalieron a razón del porcentaje de vesículas de acuerdo a la comparación de medias utilizando la prueba HSD de Tukey con $\alpha=0.05$ fueron: LANZP1C191 (25.92 %), LANZP1C22 (24.07 %) y LANZP1C256 (24.81 %) con los números de orden 1, 2 y 3 (Cuadro 6). Por otro lado, 65 líneas de la población de maíz registraron de 2.59 a 10.74

% de vesículas intracelulares. Por contraparte, hubo líneas que presentaron porcentajes bajos, los cuales oscilan de 1.48 a 1.85 % (Cuadro 6).

Los resultados del experimento se compararon con muestras de *T. parviglumis* colectadas en su habitat natural y se identificaron hifas intracelulares de los HMA. Los resultados para el porcentaje de vesículas arbusculares en las células de *parviglumis* mostraron un mínimo de 4.44 y un máximo de 11.11 % (Cuadro 7). Se observa que la media (6.29 %) es claramente inferior a las tres líneas casi isogénicas superiores (LANZP1C191), LANZP1C22) y LANZP1C256) en cuanto a esta variable. El promedio del porcentaje de vesículas de *parviglumis* (6.29 %) se encuentra entre las 65 líneas que registraron porcentajes entre 2.59 a 10.74 %, al igual que el híbrido H383 (2.95 %). Finalmente, comparando el promedio de la línea elite CML312 (1.11 %) y el promedio de teocintle, podemos ver que el porcentaje es menor.

Cuadro 6. Comparación de medias para el porcentaje de colonización de vesículas arbusculares.

Número de orden	Genotipo	Vesículas en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Vesículas en la raíz (%)	Grupo
1	LANZP1C191	25.92	a	40	LANZP1C200	3.70	cdefg
2	LANZP1C222	24.07	ab	41	LANZP1C266	3.70	cdefg
3	LANZP1C256	24.81	ab	42	LANZP1C192	4.07	cdefg
4	LANZP1C187	10.74	bc	43	LANZP1C172	4.07	cdefg
5	LANZP1C173	10.74	cd	44	LANZP1C246	4.07	cdefg
6	LANZP1C251	9.25	cde	45	LANZP1C218	3.33	cdefg
7	LANZP1C241	8.88	cde	46	LANZP1C240	3.33	cdefg
8	LANZP1C225	8.88	cdef	47	LANZP1C250	3.33	cdefg
9	LANZP1C202	8.14	cdef	48	LANZP1C216	3.33	cdefg
10	LANZP1C253	7.77	cdef	49	LANZP1C171	2.96	cdefg
11	LANZP1C170	8.14	cdef	50	LANZP1C188	2.96	cdefg
12	LANZP1C195	7.77	cdefg	51	LANZP1C207	2.96	cdefg
13	LANZP1C221	7.40	cdefg	52	LANZP1C257	2.96	cdefg
14	LANZP1C219	7.40	cdefg	53	LANZP1C178	3.33	cdefg
15	LANZP1C252	7.03	cdefg	54	LANZP1C209	3.33	cdefg
16	LANZP1C234	7.40	cdefg	55	LANZP1C177	2.59	cdefg
17	LANZP1C229	6.66	cdefg	56	LANZP1C204	2.59	cdefg
18	LANZP1C249	6.66	cdefg	57	LANZP1C264	2.96	cdefg
19	LANZP1C242	6.29	cdefg	58	H383	2.96	cdefg
20	LANZP1C226	5.92	cdefg	59	LANZP1C236	2.96	cdefg
21	LANZP1C254	6.29	cdefg	60	LANZP1C182	3.33	cdefg
22	LANZP1C261	5.55	cdefg	61	LANZP1C210	2.22	cdefg
23	LANZP1C258	5.92	cdefg	62	LANZP1C228	2.22	cdefg
24	LANZP1C208	6.66	cdefg	63	LANZP1C233	2.22	cdefg
25	LANZP1C244	5.55	cdefg	64	LANZP1C245	2.22	cdefg
26	LANZP1C205	5.55	cdefg	65	LANZP1C247	2.22	cdefg
27	LANZP1C239	5.18	cdefg	66	LANZP1C211	2.59	cdefg
28	LANZP1C180	5.18	cdefg	67	LANZP1C230	2.59	cdefg

Número de orden	Genotipo	Vesículas en la raíz (%)	Grupo	Número de orden	Genotipo	Vesículas en la raíz (%)	Grupo
29	LANZP1C183	4.81	cdefg	68	LANZP1C231	2.59	cdefg
30	LANZP1C232	4.81	cdefg	69	LANZP1C243	2.59	cdefg
31	LANZP1C269	4.44	cdefg	70	LANZP1C203	1.85	defg
32	LANZP1C194	4.44	cdefg	71	LANZP1C275	1.85	defg
33	LANZP1C224	4.44	cdefg	72	LANZP1C259	2.22	defg
34	LANZP1C175	4.81	cdefg	73	LANZP1C267	2.22	defg
35	LANZP1C186	4.44	cdefg	74	LANZP1C169	1.85	efg
36	LANZP1C197	4.07	cdefg	75	LANZP1C174	1.48	fg
37	LANZP1C260	4.07	cdefg	76	LANZP1C190	1.48	fg
38	LANZP1C193	4.81	cdefg	77	LANZP1C227	1.48	fg
39	LANZP1C189	3.70	cdefg	78	CML312	1.11	g
Estadísticos							
HSD (0.05)	***						
Genotipo	5.98						

HSD: Honestly Significant Difference de Tukey; *, ** y *** significativo a una p-valor menor de 0.05, 0.01 o 0.001 respectivamente.

Cuadro 7. Porcentaje de vesículas arbusculares en la raíz de Teocintle *parviglumis*.

Variable	Min	Max	Media	Mediana	Desv. Esta.	Var.	C.V.
Vesículas en la raíz (%)	4.44	11.11	6.29	4.44	2.95	8.72	46.91%

Significado: **Min**: Mínimo; **Max**: Máximo; **Desv. Esta**: Desviación Estándar; **C.V.**: Coeficiente de variación; **Var.**: Varianza.

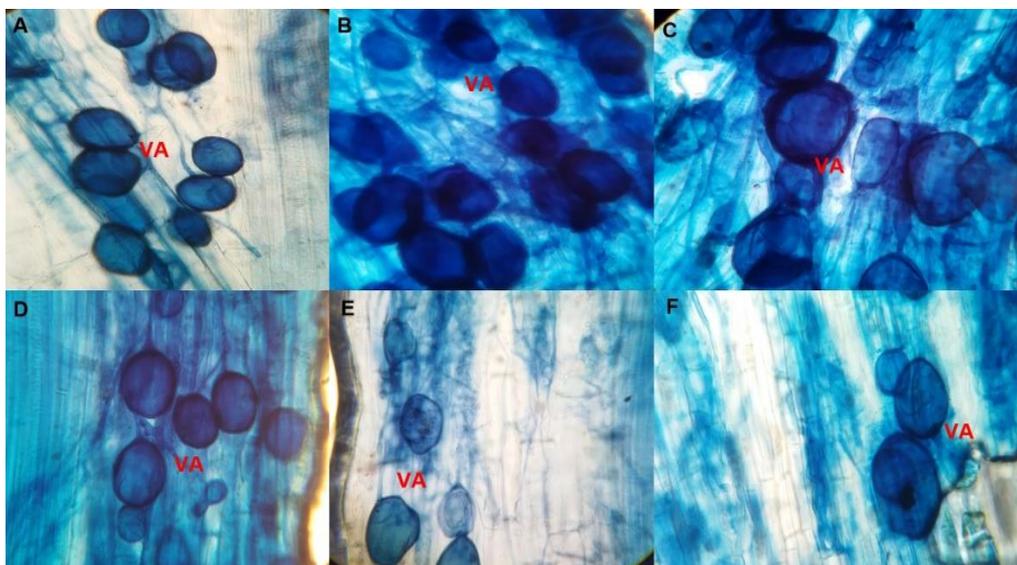


Figura 12. Fenotipos de vesículas arbusculares en líneas casi isogénicas y controles

En la figura se muestran raíces de maíz para líneas casi isogénicas y controles estudiados, cosechadas a los 98 días después de la simbra (etapa de floración) y colonizadas con hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo. **(A)** a **(C)** Raíces de líneas casi isogénicas de maíz LANZP1C208 **(A)**, LANZP1C226 **(B)** y LANZP1C222 **(C)**, **(D)** a **(H)** Raíces de los controles estudiados, híbrido H383 **(D)**, CML312 **(E)** y Teocintle *parviglumis*, muestran colonización por vesículas. **VA**= vesículas arbusculares.

Cuadro 8. Líneas casi isogénicas sobresalientes en para las variables porcentaje de hifas y arbusculos en la raíz

No. Orden	Genotipo	No. Orden	Genotipo
1	LANZP1C253	21	LANZP1C197
2	LANZP1C187	22	LANZP1C252
3	LANZP1C239	23	LANZP1C225
4	LANZP1C222	24	LANZP1C218
5	LANZP1C202	25	LANZP1C242
6	LANZP1C250	26	LANZP1C226
7	LANZP1C228	27	LANZP1C211
8	LANZP1C241	28	LANZP1C264
9	LANZP1C191	29	LANZP1C234
10	LANZP1C256	30	LANZP1C230
11	LANZP1C227	31	LANZP1C244
12	LANZP1C188	32	LANZP1C177
13	LANZP1C174	33	LANZP1C207
14	LANZP1C249	34	LANZP1C267
15	LANZP1C229	35	LANZP1C204
16	LANZP1C205	36	LANZP1C172
17	LANZP1C216	37	LANZP1C171
18	LANZP1C266	38	LANZP1C182
19	LANZP1C233	39	LANZP1C243
20	LANZP1C208	40	LANZP1C192
		41	LANZP1C169

5.4 Discusión

Comparamos los resultados obtenidos para las variables estudiadas: porcentaje de arbusculos, hifas y vesículas arbusculares en la raíz para la población de 76 líneas casi isogénicas que tienen un haplotipo de su parental donante *T. parviglumis* en el fondo genético de la línea CML312 y los controles, híbrido H383, CML312 y la colecta de *T. parviglumis* en su hábitat natural. Nuestros resultados muestran que las plantas provocaron cambios sustanciales en las estructuras de hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo. Encontramos diferencias importantes entre los controles y la población de líneas casi isogénicas en la composición de porcentaje de arbusculos, hifas y vesículas arbusculares según lo indicado por el análisis de intersección de las muestras analizadas (McGonigle et al., 1990).

Los hallazgos encontrados para las variables de colonización por arbusculos, hifas intracelulares y vesículas arbusculares en el híbrido H383 (parental materno CML312) y

la línea CML312 están de acuerdo con lo reportado por (Picard, Baruffa, & Bosco, 2008) donde estudiaron líneas puras de maíz (Lo964 y Lo1016) y su híbrido (Lo964xLo1016), los resultados mostraron que cada genotipo de maíz estimula la población de HMA de manera diferente. Tanto el híbrido como la línea Lo964 pudieron seleccionar sus propios grupos de micorrizas arbusculares (*Glomus*) para el híbrido y *Archeospora* para Lo964, mientras que la línea Lo1016 no lo hizo, lo que ocasionó diferencias en las estructuras de los hongos, esto sugiere que la selección de HMA esta controlada por la herencia dominante en lugar de la heterosis.

Sin embargo, para Teocintle *parviglumis* que presento 82 % de arbusculos e hifas (97.03 %) en la raíz, los porcentajes fueron más altos, estos datos concuerdan con otros estudios realizados donde se plantea que la domesticación puede haber disminuido la capacidad de las plantas para responder positivamente a los HMA (Lehman et al., 2012). Esto se ha corroborado en un estudio de la comunidad microbiana y HMA en dos teocintles, tres líneas endogámicas y cinco híbridos de maíz modernos. Los resultados mostraron diferencias significativas en la comunidad microbiana en la rizosfera entre los grupos genéticos de plantas. Los híbridos modernos mostraron mayores diferencias lo que sugiere que los avances en el desarrollo de híbridos afectan significativamente a las comunidades microbianas de la rizosfera (Brisson et al., 2019).

Otra explicación es que las líneas y los híbridos se han mejorado en condiciones óptimas de fertilizantes, seleccionando altos rendimientos. Por lo tanto, en comparación con las razas de maíz y sus parientes silvestres, los cultivares modernos pueden haber perdido cierta capacidad para reclutar microorganismos (Pérez-Jaramillo, Mendes, & Raaijmakers, 2016). La variación en los porcentajes de las estructuras de HMA esta relacionada a fitohormonas como reguladores de la simbiosis, es el caso de auxinas en maíz, esta hormona ha sido objetivo de selección durante el mejoramiento de cereales, especialmente con el tiempo de floración. Sin embargo se desconoce cómo las diferencias en la señalización de auxinas entre cereales y sus parientes silvestres afectan la colonización de HMA (Sawers et al., 2018).

Los resultados superiores que se obtuvieron para la población de líneas casi isogénicas respecto a los porcentajes de arbusculos, hifas y vesículas arbusculares durante la etapa de floración comparado con CML312 coinciden con lo reportado por (Seres et al., 2014), donde analizaron estructuras de HMA en el maíz transgénico *Bt* (DAS-59122-7) tolerante a herbicidas y su línea casi isogénica en condiciones de campo. La línea casi isogénica mostró porcentaje de hifas y arbusculos mayor que su línea parental materna, sin embargo, no se encontraron diferencias en cuanto a la colonización de vesículas arbusculares. Se ha encontrado que durante las etapas reproductivas (R2 y R6) en maíz, la intensidad de infección arbuscular aumenta independientemente del aporte alto o bajo fósforo (Sabat & Whalen, 2022). La colonización micorrizica reducida puede ser producida por la sobreproducción de etileno y la deficiencia de Ácido Abscísico en las raíces como se demostró en una línea casi isogénica de tomate deficiente de ABA (Fracetto, Peres, & Lambais, 2017).

En teocintle se ha encontrado una adaptación más fuerte a la biota de la rizosfera local en sitios más fríos y estresantes. Sin embargo, la biota de sitios menos estresantes y más cálidos proporciona mayores beneficios en las poblaciones de teocintles (O'Brien et al., 2019). Así mismo, se ha estudiado si la domesticación y el fitomejoramiento han afectado las interacciones entre las plantas y sus microbiomas. Se ha encontrado que los perfiles de metabolitos de exudados de la raíz entre teocintle y el maíz moderno son distintos, por lo tanto sus comunidades microbianas en la rizosfera para solubilizar fósforo también lo son (Brisson et al., 2019).

La disminución del número de arbusculos en los controles excepto Teocintle, podría deberse a fallas en los procesos presimbióticos, en cuyo caso se refleja en la disminución en la abundancia de todas las estructuras fúngicas simbióticas. Por el contrario, es posible que los hongos se propaguen en las raíces pero el genotipo controle la formación de arbusculos (Montero, Choi, & Paszkowski, 2018) y (Sawers, Gutjahr, & Paszkowski, 2008). Lo que sugiere una influencia de la genética de las plantas en el crecimiento de estructuras fúngicas. Los mecanismos moleculares de las plantas que determinan el desempeño de los hongos es desconocido, pero pueden

estar relacionados con la cantidad de carbohidratos y lípidos liberados al hongo (Lahmidi et al., 2016).

En otro estudio donde se midió el efecto de la domesticación en la capacidad de respuesta de micorrizas en 27 cultivos con sus progenitores silvestres pertenecientes a las familias: Poaceae, Solanaceae, Fabaceae, Cucurbitaceae, Asteraceae, Amaranthaceae etc. La respuesta de la simbiosis de HMA a la domesticación varió con la disponibilidad de fósforo. Los progenitores silvestres se beneficiaron independientemente de la disponibilidad de fósforo, mientras que los cultivares domesticados solo se beneficiaron en condiciones limitadas de fósforo. Por lo tanto, los resultados indican interrupciones en la eficiencia de la simbiosis vinculada a la domesticación (Martín-Robles et al., 2017). A la vez, las prácticas agrícolas como la labranza, el monocultivo y altas tasas de fertilización dificultan la proliferación de hifas y disminuye la funcionalidad de la simbiosis micorrízica arbuscular (Martín-Robles et al., 2017). En estudios recientes, se ha reportado que el complejo de proteínas DELLA son clave en las vías hormonales y metabólicas, controlando fuertemente el desarrollo de la morfología de estructuras arbusculares (Sawers et al., 2018). Además, se ha documentado que la capacidad de las plantas para hacer frente a insectos herbívoros se ve afectada en los cultivos domesticados, en parte como consecuencia de los cambios en los rasgos morfológicos y en los niveles de metabolitos secundarios como emisiones volátiles en comparación con los parientes silvestres (Chen, Gols, & Benrey, 2015).

Nuestras observaciones también revelaron que el porcentaje de vesículas arbusculares es variable en la población de líneas estudiadas. Sin embargo, los controles H383 y Teocintle *parviglumis* se encontraron dentro de los porcentajes de la mayoría de las líneas casi isogénicas. Cuando un arbusculo desaparece de una célula de la raíz, nacen otros nuevos en otros lugares. Paralelamente, aparecen vesículas y esporas fúngicas. Las vesículas son estructuras intercelulares globulares que se cree que son órganos de almacenamiento de lípidos, incluidos los fosfolípidos (Tabaji-Hare, Deschene, & Kendrick, 1984). Sin embargo, las funciones biológicas de las vesículas siguen sin estar claras. Los primeros estudios citológicos sugirieron que el

protoplasma de las vesículas jóvenes contiene muchos núcleos, gránulos de glucógeno y pequeñas vacuolas (Bonfante-Fasolo, 1984). Dado que a menudo el número de vesículas aumenta en raíces viejas o muertas (Bonfante-Fasolo, 1984), se cree que las vesículas son órganos en reposo y desempeñan un papel importante como propágulo dentro de las raíces (Smith & Read, 2008). Recientemente, se ha reportado que en una etapa posterior a la colonización, los lípidos se eliminan de las vesículas y se transportan rápidamente a las hifas de la colonización posterior. En consecuencia, las vesículas se vacían; por lo tanto, dichas estructuras se consideran órganos de reserva temporales (Kobae et al., 2016). Las observaciones mostradas en este estudio se relacionan con la opinión de (Kobae et al., 2016), y los contenidos variables de vesículas en los genotipos puede reflejar roles pleiotrópicos de las vesículas en el ciclo de colonización de las raíces micorrízicas. Aunque se necesitan más estudios, es tentador especular que las vesículas sirven como recipientes de retención para alimentar a arbusculos nuevos a base de las gotitas de citoplasma y lípidos de arbusculos colapsados (Kobae et al., 2014). Las vesículas son estructuras que a menudo son pasadas por alto, pero dan cuenta de la finalización del ciclo de vida del hongo o colapso de la asociación (Montero, Choi, & Paszkowski, 2018). Por lo tanto, es probable pensar que dentro de las líneas casi isogénicas que muestran mayor número de arbusculos esté ocurriendo mayor colapsamiento de arbusculos, eso podría explicar el porcentaje mayor de vesículas de las células de la raíz.

VI. RECOMENDACIONES

Dado los resultados obtenidos y para aclarar más preguntas referentes a si la domesticación del maíz y el fitomejoramiento han tenido un impacto negativo en el establecimiento de la simbiosis de hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo es necesario implementar más experimentos en distintas condiciones de campo, medir rasgos agronómicos de rendimiento, arquitectura aérea y radicular de las plantas, así como, estudios bioquímicos del grano de maíz y la parte aérea de la planta. Por otro lado, sería de suma importancia determinar el tipo de hongos presentes en la rizosfera (microbioma) de las líneas aquí estudiadas y sus controles, esto permitiría saber si hay diferencia entre genotipos estudiados. Finalmente, se recomendaría, estudiar los exudados emitidos por parte de la raíz para entender si son un factor clave en la selección de hongos micorrícicos específicos por la planta e incluir variedades nativas de razas para contrastar los resultados.

VII. CONCLUSIONES

La población de líneas casi isogénicas mostró una variación muy amplia en el porcentaje de colonización, diferenciación de vesículas hifas y arbusculos.

Los parentales mostraron datos contrastantes en cuanto a la colonización, diferenciación en hifas, vesículas y arbusculos observándose que el parental donante posee valores elevados, mientras que el parental recurrente se caracteriza por tener niveles bajos. Por otro lado, los valores de los genotipos *Zea mays* (CML312 y H383) mostraron valores equiparables.

Los datos obtenidos sugieren que en el parental donante (*T. parviglumis*) hay genes que pudieran estar relacionados con el control de la capacidad de interactuar con las micorrizas arbusculares y gracias a las combinaciones genéticas únicas en cada línea casi isogénica se expresan de manera diferencial por tener la región genómica de dicho parental.

Se encontraron, 41 líneas casi isogénicas (Cuadro 8) sobresalientes con porcentajes altos en estructuras (arbusculos e hifas) analizadas que posiblemente podrían usarse en programas de mejoramiento genético para hacer introgresión de los atributos aquí estudiados. También, será importante evaluar en otros ambientes y practicas de manejo diferentes ya que solo se cuenta con datos de un ciclo del cultivo en campo.

Finalmente, parece probable que la domesticación del maíz y el mejoramiento genético han tenido un impacto negativo sobre la capacidad de interactuar y establecer asociaciones arbusculares, lo cual podría limitar los beneficios conferidos por los hongos micorrícicos arbusculares nativos del suelo.

VIII. LITERATURA CITADA

- Akiyama, K., Matsuzaki, K.-i., & Hayashi, H. (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 435(7043), 824-827. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/nature03608>
- Bonfante-Fasolo, P. (1984). *Anatomy and Morphology of Va Mycorrhizae*. CRC Press.
- Bouffaud, M.-L., Poirier, M.-A., Müller, D., & Moëgne-Laccoz, Y. (2014). Root microbiome relates to plant host evolution in maize and other Poaceae. *Environmental Microbiology*, 16(9), 2804-2814. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12442>
- Brisson, V. L., Schmidt, J. E., Northen, T. R., Vogel, J. P., & Gaudin, A. C. (2019). Impacts of Maize Domestication and Breeding on Rhizosphere Microbial Community Recruitment from a Nutrient Depleted Agricultural Soil. *Scientific Reports*, 9(15611), 1-14. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52148-y>
- Bücking, H., Liepold, E., & Ambilwade, P. (2012). The Role of the Mycorrhizal Symbiosis in Nutrient Uptake of Plants and the Regulatory Mechanisms Underlying These Transport Processes. *Plant Science*, 107-138. doi:DOI: 10.5772/52570
- Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Münch, P. C., Weiman, A., Dröge, J., Pan, Y., . . . Schulze-Lefert, P. (2015). Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota an Wild and Domesticated Barley. *Cell Host and Microbe*, 17(3), 392-403. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.011>
- Capoen, W., & Oldroyd, G. (2008). How CYCLOPS keeps an eye on plant symbiosis. *PNAS*, 105(51), 20053-20054. Obtenido de <https://doi.org/10.1073/pnas.0811417106>
- Cardinale, M., Grube, M., Erlacher, A., Quehenberger, J., & Berg, G. (2014). Bacterial networks and co-occurrence relationships in the lettuce root microbiota. *Environmental Microbiology*, 17(1), 239-252. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12686>
- Chen, Y. H., Gols, R., & Benrey, B. (2015). Crop Domestication and its Impact on Naturally Selected Trophic Interactions. *Annual Review of Entomology*, 60, 35-58. Obtenido de <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020601>
- Doebley, J. F., Gaut, B. S., & Smith, B. D. (2006). The molecular Genetics of Crop Domestication. *Cell*, 127(7), 1309-1321. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.006>.
- Fracetto, G. G., Peres, L. E., & Lambais, M. R. (2017). Gene expression analysis in tomato near isogenic lines provide evidence for ethylene and abscisic acid biosynthesis fine-tuning during arbuscular mycorrhiza development. *Archives of*

- Microbiology*, 199, 787-789. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1354-5>
- Gaudin, A. C., McClymont, S. A., Soliman, S. S., & Raizada, M. N. (2014). The effect of altered dosage of a mutant allele of Teosinte branched 1 (tb1-ref) on the root system of modern maize. *BMC Genetics*, 15(23), 1-14. Obtenido de <https://doi.org/10.1186/1471-2156-15-23>
- Geilfus, C. M. (2019). *Mycorrhiza*. Berlin, Germany: Springer. Obtenido de https://doi.org/10.1007/978-3-030-23197-2_11
- Gutjahr, C., & Parniske, M. (2013). Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 69, 593-617. doi:10.1146/annurev-cellbio-101512-122413
- Gutjahr, C., & Parniske, M. (2013). Cell and Developmental Biology of Arbuscular Mycorrhiza Symbiosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 29(1), 593-617. Obtenido de <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122413>
- Gutjahr, C., Banba, M., Croset, V., An, K., Miyao, A., An, G., . . . Paszkowski, U. (2008). Arbuscular Mycorrhiza-Specific Signaling in Rice Transcends the Common Symbiosis Signaling Pathway. *The Plant Cell*, 20(11), 2989-3005. Obtenido de <https://doi.org/10.1105/tpc.108.062414>
- Kim, S., Zeng, W., Bernard, S., Liao, J., Venkateshwaran, M., Ane, J.-M., & Jiang, Y. (2019). Ca²⁺-regulated Ca²⁺ channels with RCK gating ring control plants symbiotic associations. *Nature Communications*, 10(3703). Obtenido de <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11698-5>
- Kobae, Y., Gutjahr, C., Paszkowski, U., Kojima, T., Fujiwara, T., & Hata, S. (2014). Lipid Droplets of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Emerge in Concert with Arbuscule Collapse. *Plant and Cell Physiology*, 55(11), 1945-1953. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu123>
- Kobae, Y., Ohmori, Y., Saito, C., Yano, K., Ohtomo, R., & Fujiwara, T. (2016). Phosphate Treatment Strongly Inhibits New Arbuscule Development But Not The Maintenance of Arbuscule in Mycorrhizal Rice Roots. *Plant Physiology*, 171(1), 566-579. Obtenido de <https://doi.org/10.1104/pp.16.00127>
- Kosuta, S., Chabaud, M., Loughon, G., Gough, C., Dénarié, J., Barker, D. G., & Bécard, G. (2003). A Diffusible Factor from Arbuscular Mycorrhizal Fungi Induces Symbiosis-Specific MtENOD11 Expression in Root of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 131(3), 952-962. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC166861/>
- Kuehl, R. O. (2000). *Diseño de experimentos Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación 2a. Edición* (Seunda ed.). Ciudad de México: Thomson Learning.

- Lahmidi, N. A., Courty, P.-E., Brulé, D., Chatagnier, O., Arnould, C., Doidy, J., . . .
 Bonneau, L. (2016). Sugar exchanges in arbuscular mycorrhiza: RiMST5 and
 RiMST6, two novel *Rhizophagus irregularis* monosaccharide transporters, are
 involved in both sugar uptake from the soil and from the plant partner. *Plant
 Physiology and Biochemistry*, *107*, 354-363. Obtenido de
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.06.023>
- Lanfranco, L., Fiorilli, V., & Gutjahr, C. (2018). Partners communication and role of
 nutrients in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist Foundation*,
220(4), 1031-1046. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/nph.15230>
- Lehman, A., Barto, E. K., Powell, J., & Rillig, M. C. (2012). Mycorrhizal responsiveness
 trends in annual crop plants and their wild relatives- a meta-analysis on studies
 from 1981 to 2010. *Plant and Soil*, *355*, 231-250. Obtenido de
<https://doi.org/10.1007/s11104-011-1095-1>
- Lenzemo, V. W., Kuyper, T. W., Matusova, R., Bouwmeester, H., & Van Ast, A. (2001).
 Colonization by Arbuscular Mycorrhizal Fungi of Sorghum Leads to Reduced
 Germination and Subsequent Attachment and Emergence of *Striga hermonthica*.
Plant Signaling Behavior, *2*(1), 58-62. doi: 10.4161/psb.2.1.3884
- MacLean, A. M., Bravo, A., & Harrison, M. J. (2017). Plant Signal and Metabolic
 Pathways Enabling Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *The Plant Cell*, *29*(10),
 2319-335. Obtenido de <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00555>
- Martín-Robles, N., Lehmann, A., Seco, É., Aroca, R., Rillig, M. C., & Milla, R. (2017).
 Impacts of domestication on the arbuscular mycorrhizal symbiosis of 27 crop
 species. *New Phytologist Foundation*, *218*(1), 322-334. Obtenido de
<https://doi.org/10.1111/nph.14962>
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L., & Swan, J. A. (1990). A
 new method which gives an objective measure of colonization of roots by
 vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist Foundation*, *115*(3), 495-
 501. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x>
- Montero, H., Choi, J. M., & Paszkowski, U. (2018). Arbuscular, mycorrhizal
 phenotyping: the dos and don'ts. *New Phytologist*, *221*(3), 1182-1186. Obtenido
 de <https://doi.org/10.1111/nph.15489>
- O'Brien, A. M., Sawers, R. J., Strauss, S., & Ross-Ibarra, J. (2019). Adaptive
 phenotypic divergence in an annual grass differs across biotic contexts.
Evolution, *73*(11), 2230-2246. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/evo.13818>
- Oldroyd, G. E. (2013). Speak, friend, and enter: signalling systems that promote
 beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Reviews Microbiology*, *11*,
 252-263. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/nrmicro2990>

- Pankin, A., & von-Koff, M. (2017). Co-evolution of methods and thoughts in cereal domestication studies: a tale of barley (*Hordeum vulgare*). *Current Opinion in Plant Biology*, 36, 15-21. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.12.001>.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 763-775. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>
- Paszkowski, U. (2006). A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist Foundation*, 172(1), 35-46. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01840.x>
- Pérez-Jaramillo, J. E., Mendes, R., & Raaijmakers, J. M. (2016). Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology*, 90, 635-644. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0337-7>
- Picard, C., Baruffa, E., & Bosco, M. (2008). Enrichment and diversity of plant-probiotic microorganisms in the rhizosphere of hybrid maize during four growth cycles. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 106-115. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.011>.
- Pumplin, N., Zhang, X., Noar, R. D., & Harrison, M. J. (2011). Polar localization of a symbiosis-specific phosphate transporter is mediated by a transient reorientation of secretion. *PNAS*, 109(11), 665-672. Obtenido de <https://doi.org/10.1073/pnas.111021510>
- Ramírez-Flores, M., Perez-Limon, S., Li, M., Barrales-Gamez, B., Albinsky, D., Paszkowski, U., . . . Sawers, R. J. (2020). The genetic architecture of hot response reveals the importance of arbuscular mycorrhizae to maize cultivation. *eLife*, 9. Obtenido de <https://doi.org/10.7554/eLife.61701>
- Sabat, E., & Whalen, J. K. (2022). Mycorrhizal colonization associated with roots of field-grown maize does not decline with increasing plan-available phosphorus. *Soil Use and Management*, 38(3), 1370-1379. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/sum.12786>
- Saito, K., Yoshikawa, M., Yano, K., Uchida, H., Asamizu, E., Sato, S., . . . Hayashi, M. (2007). NUCLEOPORIN85 Is Required for Calcium Spiking, Fungal and Bacterial Symbioses, and Seed Production in *Lotus japonicus*. *The Plant Cell*, 19(2), 610-624. doi:10.1105/tpc.106.046938
- Sangabriel-Conde, W., Maldonado-Mendoza, I. E., Mancera-López, M. E., Cordero-Ramírez, J. D., Trejo-Aguilar, D., & Negrete-Yankelevich, S. (2015). Glomeromycota associated with Mexican native maize landraces in Los Tuxtlas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, 87, 63-71. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.10.017>

- Sawers, J. R., Gutjahr, C., & Paszkowski, U. (2008). Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in Plant Science*, 13(2), 93-97. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.11.006>
- Sawers, R. J., Ramírez-Flores, M., Olalde-Portugal, V., & Paszkowski. (2018). The impact of domestication and crop improvement on arbuscular mycorrhizal symbiosis in cereals: Insights from genetics and genomics. *New Phytologist Foundation*, 220(4), 1135-1140. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/nph.15152>
- Schmidt, J. E., & Gaudin, A. C. (2017). Where Did My Friend Go?: How Corn's Microbe Partners Have Changed Over Time. *Frontiers for Young Minds*, 5(37). doi:10.3389/frym.2017.00037
- Schmitz, A. M., & Harrison, M. J. (2014). Signaling events during initiation of arbuscular mycorrhizal symbioses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(3), 250-261. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/jipb.12155>
- Schübler, A., Schwarzott, D., & Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105(12), 1413-1421. Obtenido de <https://doi.org/10.1017/S0953756201005196>.
- Seres, A., Kiss, I., Nagy, P., Sály, P., Darvas, B., & Bakonyi, G. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi colonization of Cry3 toxin producing Bt maize and near isogenic maize. *Plant Soil and Environment*, 60(12), 569-573. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/269092678>
- Singh, S., & Parniske, M. (2012). Activation of calcium-and calmodulin-dependent protein kinase (CCaMK), the central regulator of plant root endosymbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(4), 444-453. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.04.002>.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Great Britain : Academic Press .
- Stracke, S., Kistner, C., Yoshida, S., Mulder, L., Kaneko, T., Tabata, S., . . . Parniske, M. (2002). A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature*, 417, 959-962. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/nature00841>
- Strullu-Derrien, C., Selosse, M.-A., Kendrick, P., & Martin, F. M. (2018). The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist*, 220(4), 1012-1030. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/nph.15076>
- Szoboszlay, M., Lambers, J., Chappell, J., Kupper, J. V., Moe, L. A., & McNear, J. H. (2015). Comparison of root system architecture and rhizosphere microbial communities of Balsas teosinte and domesticated corn cultivars. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 34-44. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.09.001>

- Tabaji-Hare, S., Deschene, A., & Kendrick, B. (1984). Lipid Content and Composition of Vesicles of a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Ecological Society of America*, 76(6), 1024-1030.
- van Heerwaarden, J., Doebley, J., Briggs, W. H., Glaubitz, J. C., Goodman, M. M., Gonzales, J. d., & Ross-Ibarra, J. (2010). Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *PNAS*, 108(3), 1088-1092. Obtenido de <https://doi.org/10.1073/pnas.1013011108>
- Wang, H., Nussbaum-Wagler, T., Li, B., Zhao, Q., Vigouroux, Y., Faller, M., . . . Doebley, J. (2006). The origin of the naked grains of maize. *Nature*, 436(7051), 714-719. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/nature03863>
- Whipple, C. J., Kebrom, T. H., Weber, A. L., Yang, F., Hall, D., Meeley, R., . . . Jackson, D. P. (2011). Grassy tillers1 promotes apical dominance in maize and responds to shade signals in the grasses. *PNAS*, 108(33), 506-512. Obtenido de <https://doi.org/10.1073/pnas.110281910>
- Yano, K., Yoshida, S., Muller, J., Singh, S., Banda, M., Vickers, K., . . . Parniske, M. (2008). CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation. *PNAS*, 105(51), 20540-20545.
- Yoneyama, K., Xie, X., Kasumoto, D., Sekimoto, H., Sugimoto, Y., Takeuchi, Y., & Yoneyama, T. (2007). Nitrogen deficiency as well as phosphorus deficiency in sorghum promotes the production and exudation of 5-deoxystrigol, the host recognition signal for arbuscular mycorrhizal fungi and root parasites. *Planta*, 227, 125-132. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0600-5>
- Zachow, C., Müller, H., Tilcher, R., & Berg, G. (2014). Differences between the rhizosphere microbiome of Beta vulgaris ssp.-ancestor of all beet crops-and modern sugar beets. *Frontiers in Microbiology*, 5(415), 1-13. Obtenido de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00415>
- Zhou, L., Zhang, J., Yan, J., & Song, R. (2011). Two transposable element insertions are causative mutations for the major domestication gene teosinte branched 1 in modern maize. *Cell Research*, 21, 1267-1270. Obtenido de <https://doi.org/10.1038/cr.2011.104>
- Zhu, Y. G., Smith, S. E., Barrit, A. R., & Smith, F. A. (2001). Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. *Plant and Soil*, 237, 249-255. Obtenido de <https://doi.org/10.1023/A:1013343811110>

ANEXOS

```
Analysis of Variance Table
Response: colarbusculos.rc
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
genotipo  77 471.17    6.119   5.6086 < 2.2e-16 ***
bloque    1  74.91   74.907  68.6582 1.916e-15 ***
Residuals 389 424.41    1.091
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> |
```

Figura 13. Análisis de varianza para porcentaje de arbúsculos

```
Shapiro-Wilk normality test
data:  residuos.rc
W = 0.9967, p-value = 0.4586
```

Figura 14. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para porcentaje de arbúsculos

```
Bartlett test of homogeneity of variances
data:  residuos.rc by genotipo
Bartlett's K-squared = 103.53, df = 77, p-value = 0.02358
|
```

Figura 15. Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianza en porcentaje de arbúsculos

```
$ANOVA
Analysis of Variance Table
Response: residual
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Nonadditivity  1  3.42  3.4218  3.1364 0.07735 .
Residuals    389 424.40    1.0910
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Figura 16. Supuesto de no aditividad de Tukey para el porcentaje de arbúsculos

```
Analysis of Variance Table
Response: colhifas
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
genotipo  77 69769    906.1   5.9827 < 2.2e-16 ***
bloque    1  7445   7445.4  49.1599 1.049e-11 ***
Residuals 389 58915    151.5
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
< |
```

Figura 17. Análisis de varianza para porcentaje de hifas

```
Shapiro-Wilk normality test
data:  residuos
W = 0.99384, p-value = 0.05422
```

Figura 18. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para la variable porcentaje de hifas

```

Bartlett test of homogeneity of variances
data: residuos by genotipo
Bartlett's K-squared = 104.41, df = 77, p-value = 0.02055

```

Figura 19. Prueba de Bartlett para homogeneidad de varianza en porcentaje de hifas

```

SQ
Nonadditivity
4439812

$ANOVA
Analysis of Variance Table

Response: residual
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Nonadditivity 1    510   510.38   3.3689 0.0672 .
Residuals    389  58934   151.50
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Figura 20. Prueba de no aditividad de Tukey para la variable porcentaje de hifas

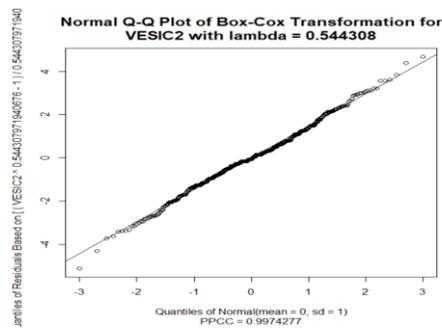


Figura 21. Transformación Boxcox para la variable vesículas arbusculares

```

Analysis of Variance Table

Response: colvesículas.p
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
genotipo 77 397.37   5.1606   6.6589 < 2e-16 ***
bloque   1   3.20   3.1955   4.1232 0.04298 *
Residuals 389 301.47   0.7750
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
>

```

Figura 22. Análisis de varianza para la variable vesículas arbusculares

```

Shapiro-wilk normality test

data: residuos.v
W = 0.99531, p-value = 0.1711

```

Figura 23. Prueba de normalidad con Shapiro Wilk para la variable vesículas arbusculares

```

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "mean")
      Df F value Pr(>F)
group 77 2.4912 0.00000005281 ***
      390
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Figura 24. Homogeneidad de varianza con Levene para la variable porcentaje de vesículas

```

$Q
Nonadditivity
  10.85289

$ANOVA
Analysis of Variance Table

Response: residual
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
Nonadditivity  1    0.521  0.52136   0.6727 0.4126
Residuals    389  301.475  0.77500

```

Figura 25. Prueba de no aditividad de Tukey para la variable vesículas arbusculares