



00361 34
zej.

**Universidad Nacional Autónoma
de México**

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**" PRUEBAS DE CRECIMIENTO, SINTESIS IN VITRO Y
CARACTERIZACION DE 10 CEPAS DE
HONGOS ECTOMICORRIZOGENOS "**

TESIS

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**Que para optar por el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

**Presenta :
MARIA GUADALUPE SANTIAGO MARTINEZ**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES	
GENERALIDADES.....	3
ESTUDIOS SOBRE LAS ECTOMICORRIZAS EN MÉXICO.....	10
CULTIVOS PUROS.....	12
SÍNTESIS IN VITRO.....	13
CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS.....	14
OBJETIVOS.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS	
AISLAMIENTO.....	16
CULTIVO EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS.....	16
CULTIVO EN DIFERENTES PH.....	17
SÍNTESIS IN VITRO.....	18
CARACTERIZACIÓN.....	19
RESULTADOS	
AISLAMIENTOS OBTENIDOS Y PROCEDENCIA.....	20
CARACTERIZACIÓN DE LAS COLONIAS EN DIFERENTES MEDIOS.....	22
CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA.....	32
PRUEBAS DE CRECIMIENTO	
DIÁMETRO FINAL.....	37
RAPIDEZ DE CRECIMIENTO.....	51
PRODUCCIÓN DE BIOMASA.....	55
CORRELACIÓN BIOMASA VS. DIÁMETRO FINAL.....	62
PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN DIFERENTES PH.....	68
SÍNTESIS IN VITRO	74

CARACTERIZACIÓN.....	75
DISCUSIÓN	
AISLAMIENTOS.....	86
PRUEBAS DE CRECIMIENTO.....	86
CARACTERIZACIÓN COLONIAL.....	87
<i>Amanita</i>	88
<i>Rhizopogon</i>	88
<i>Suillus</i>	88
<i>Pisolithus tinctorius</i>	89
CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA.....	89
DIÁMETRO FINAL.....	90
RAPIDEZ.....	92
PRODUCCIÓN DE BIOMASA.....	94
CORRELACIÓN BIOMASA-DIÁMETRO FINAL.....	94
PRODUCCIÓN DE BIOMASA EN DISTINTOS pH.....	95
SÍNTESIS <i>IN VITRO</i>	97
CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS.....	99
PERSPECTIVAS EN VIVERO O CAMPO.....	103
CONCLUSIONES.....	105
BIBLIOGRAFÍA.....	108
APÉNDICE 1	
PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS NUTRITIVOS.....	119
APÉNDICE 2	
pH DE LOS MEDIOS.....	121
APÉNDICE 3	
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA ECTOMICORRIZA.....	123
APÉNDICE 4	

MEDICIONES DE LA MICORRIZA.....	124
FORMA DE LAS TERMINACIONES.....	125
CARACTERÍSTICAS DE LA SUPERFICIE DEL MANTO.....	126
TIPOS DE RIZOMORFOS.....	127

RESUMEN

Se estudió el crecimiento de 10 cepas de hongos potencialmente ectomicorrízicos, 7 de las cuales proceden de carpóforos recolectados en bosques de *Abies-Pinus* y *Pinus* sp. del estado de Tlaxcala, 2 de plantaciones de *Juglans* sp. del estado de Oaxaca y 1 de Estados Unidos. Las cepas de Tlaxcala, pertenecen a los siguientes taxa: *Amanita muscaria*, *Amanita* sp. Sección *Vaginatae*, *Rhizopogon* sp., *Suillus granulatus* y *S. tomentosus*; las restantes son de *Pisolithus tinctorius*.

Se hicieron pruebas de crecimiento en diferentes medios nutritivos, observándose que las cepas del mismo género mostraron una coloración y textura similar. El género *Amanita* se caracterizó por presentar un micelio blanquecino a cremoso y un crecimiento irregular y lento; el género *Rhizopogon* por su coloración café oscura y su colonia plana con algunas hifas aéreas; *Suillus* por su coloración café-naranja y su textura aterciopelada densa; y *Pisolithus tinctorius* por su coloración café-olivácea, su textura algodonosa y su crecimiento rápido.

Microscópicamente, el micelio que presentaron todas las cepas es septado y de pared delgada. Las cepas de *Pisolithus tinctorius* y *Amanita* presentaron fíbulas, *Suillus* no presentó estas estructuras pero se observaron incrustaciones en las hifas, siendo más conspicuas en los micelios viejos. *Rhizopogon* presentó pústulas de tamaño irregular y fíbulas escasas.

Para determinar la dinámica de las cepas estudiadas, se elaboraron gráficas del crecimiento en cada medio nutritivo, obteniéndose que las cepas con mayor rapidez de crecimiento fueron las de *Pisolithus tinctorius* y las más lentas las de *Amanita*, quedando como intermedias las cepas de *Suillus* y *Rhizopogon*. La mayoría de las cepas presentaron mejor crecimiento micelial en Sabouraud (SAB), siguiéndole papa dextrosa agar (PDA), biotina-aneurina-ácido fólico-agar (BAF) e Ingstad (ING). No hubo correlación entre la biomasa y el diámetro de la colonia ya que en los medios de ING y Melin y Norkrans modificado (MNM) se observó un diámetro final grande pero escasa producción de biomasa.

En las pruebas de crecimiento en diferentes pH se encontró que algunas cepas de *Amanita*, *Suillus* y *Pisolithus tinctorius* presentan mejor desarrollo desde pH 4.0 hasta pH 6.0; en tanto algunas cepas de *Amanita* y *Rhizopogon* se desarrollan mejor a pH de 6.0 y 5.0 respectivamente.

En las pruebas de síntesis *in vitro* se obtuvieron las asociaciones de *Pinus montezumae* con *Suillus granulatus*, *S. tomentosus* y *Pisolithus tinctorius*; y *Pinus greggii* con *Rhizopogon*, *Suillus granulatus* y *S. tomentosus*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos que tienen gran importancia en el mantenimiento de los bosques, porque además de ser degradadores de materia orgánica, son capaces de formar asociaciones mutualistas con numerosos árboles de importancia económica (Le Tacon, 1985; Malloch y Malloch, 1981; Molina y Trappe, 1982 a; Pope et al., 1983; Trappe, 1984).

Estas asociaciones se llaman micorrizas y se establecen entre los micelios fúngicos y las raíces secundarias de muchas plantas, entre las que destacan árboles de interés forestal que son completamente dependientes de esta asociación. Por esta razón, una de las condiciones indispensables para el establecimiento de pinos en áreas que se desean reforestar es la presencia de estos hongos en sus raíces (Dixon et al., 1981; Sohn, 1981; Vogt et al., 1982).

La importancia de la micorriza ectótrofa o ectomicorriza no estriba solamente en el papel fisiológico de aumentar la superficie de absorción o de solubilizar sustancias necesarias para el crecimiento de las plantas, sino también en otras funciones, tales como la sugerida por Zak (1964) y comprobada por Marx y Davey (1967, 1969) quienes refieren que las raíces que presentan micorriza son menos susceptibles que las no micorrizadas a la infección por patógenos radicales como *Phytophthora cinnamomi*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* (Marx, 1973). Los mecanismos de protección incluyen barreras físicas (manto) contra la penetración de organismos patógenos a la raíz y secreción de antibióticos e inhibidores de crecimiento de patógenos (Marx, 1969, 1972; Zak, 1964).

A la vez, la micorrizósfera es rica en bacterias, diatomeas, actinomicetos y otros hongos (Marks y Foster, 1973). En algunas ocasiones las plantas micorrizadas establecen interacciones con bacterias del suelo, tales como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Clostridium*, las cuales son fijadoras de nitrógeno y crecen mejor en presencia de exudados producidos por los hongos micorrizicos, siendo en ocasiones totalmente dependientes de estos hongos y beneficiando a las plantas por el incremento en las fuentes de nitrógeno disponibles (Larsen et al., 1980 fide Amaranthus et al., 1988; Amaranthus et al., 1987a, 1988).

Otra de las propiedades ecológicamente significativas de la micorriza es el hecho de que provee a la planta de resistencia a condiciones adversas, tanto a heladas (Cromer, 1935; Harley, 1940) como a sequías (Amaranthus et al. 1987 a, 1987 b; Goss, 1960).

ANTECEDENTES

GENERALIDADES

Solamente el 3 % de las fanerógamas presentan ectomicorriza, siendo esta asociación más común en plantas de las familias Pinaceae, Salicaceae, Betulaceae y Fagaceae; en otras familias como Ulmaceae, Dipterocarpaceae, Rosaceae, Caesalpinioidea, Sapindaceae, Aceraceae, Tiliaceae, Myrtaceae y Ericaceae solamente existe la asociación en algunos taxa. Los géneros **Arbutus**, **Cupressus**, **Eucalyptus**, **Juniperus**, **Malus**, **Pyrus**, **Salix**, y **Tilia** pueden formar micorriza vesículo-arbuscular (VA) y ectomicorriza (Meyer, 1973).

Existen plantas ectomicorrízicas obligadas que pertenecen a los géneros **Abies**, **Carpinus**, **Fagus**, **Larix**, **Picea**, **Pinus** y **Quercus**, las cuales no tienen éxito sin sus respectivos simbiontes, y plantas ectomicorrízicas facultativas típicas de los géneros **Acer**, **Alnus**, **Betula**, **Corylus**, **Cupressus**, **Eucalyptus**, **Juniperus**, **Pyrus**, **Salix** y **Ulmus**, las cuales son capaces de vivir en ausencia del hongo simbionte (Meyer op cit., 1973).

Los hongos formadores de ectomicorriza pertenecen a géneros como **Amanita**, **Boletus**, **Cenococcum**, **Chloridium**, **Complexipes**, **Elaphomyces**, **Endogone**, **Hebeloma**, **Lactarius**, **Paxillus**, **Pisolithus**, **Rhizopogon**, **Russula**, **Scleroderma**, **Sepultaria**, **Suillus**, **Telephora** y **Tuber**, que son simbiontes obligados en condiciones naturales. En algunos casos es imposible el aislamiento en cultivos puros; para otros el crecimiento es escaso, pero también existen organismos cuyo aislamiento es fácil y crecen bien en cultivos puros. Este grupo puede tener una gama amplia de hospederos y además puede crecer saprofiticamente (Jackson y Mason, 1984).

La ectomicorriza está integrada por una trama de células fúngicas que rodea a la raíz formando un pseudotejido llamado manto; continuando con una capa de células de color café oscuro nombrada capa de taninos, que es capaz de inhibir el desarrollo de la micorriza; y la penetración intercelular de las hifas del hongo, formando la red de Hartig que es la evidencia de la verdadera micorriza (Fig. 1) (Jackson y Mason, 1984; Marks y Foster, 1973).

Las raíces micorrizadas difieren de las no infectadas por su morfología gruesa, cuando las dos tienen la misma edad, difiriendo en forma según el hospedero. Por ejemplo, en **Abies**, **Fagus** y **Eucalyptus** las micorrizas son pinadas, en tanto en **Pinus** hay ramificación dicotómica, coraloide o nodulosa cuando las ramificaciones son repetitivas y con crecimiento apical lento (Fig. 2). El color está influenciado por la capa de taninos que se encuentra abajo del manto, aunque éste puede variar con el

Fig. 1. Diagrama de un corte transversal de micorrizas de *Picea* formada por cuatro hongos diferentes. (Tomado de Jakson y Mason, 1984)

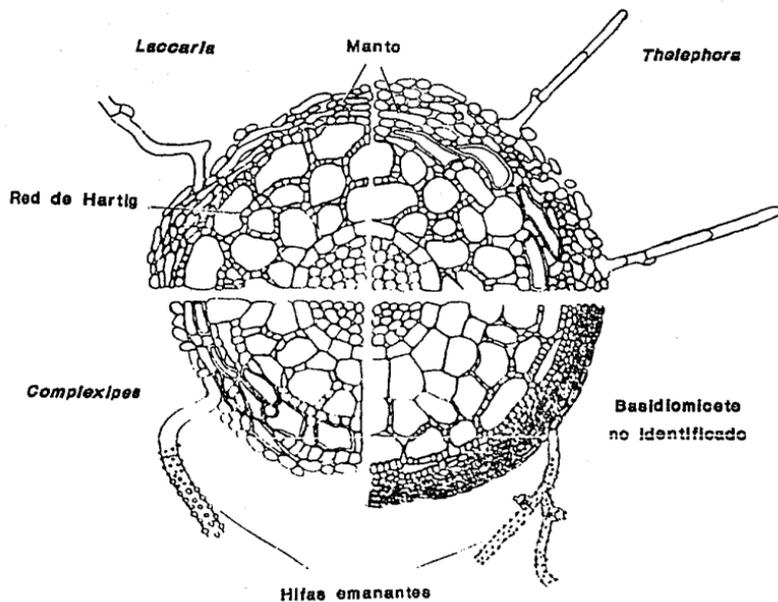
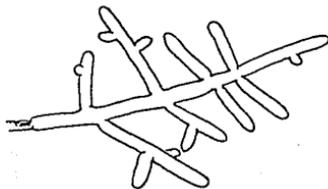


Figura 2. Tipos de ramificación
(tomado de Agerer, 1987 a)



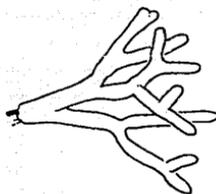
SIMPLE = MONOPODIAL



PINADA



PIRAMIDAL



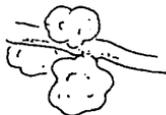
DICOTÓMICA



IRREGULAR PINADA



CORALOIDE



TUBERCULADA

tiempo. El manto de la micorriza puede ser variable en la forma como cubre a la raíz (Ingleby et al., 1990) además de presentar en ocasiones estructuras tales como pelos, cistidios y rizomorfos (Marks y Foster, 1973).

La formación de la micorriza aparentemente tiene dos fases: 1) Infección primaria, en la cual el hongo no infecta a las plántulas aunque en el suelo se encuentren propágulos. Los hongos forman una trama de hifas alrededor de la raíz primaria y con el tiempo se forman las primeras raíces secundarias las cuales crecerán entre la trama del hongo; y 2) Cuando el protoxilema aparece, la penetración ocurre entre las células corticales formándose la red de Hartig, penetrando en ocasiones hasta la endodermis (Fig. 3), sin embargo algunas veces la penetración no llega a ocurrir (Marks y Foster, *op. cit.*).

El crecimiento de las plántulas se efectúa en un período corto cuando las condiciones son favorables, en el momento que no hay frío, sequía ni escasez de nutrimentos; en este lapso la micorriza incrementa su capacidad para capturar recursos precozmente, alargando la vida de la raíz y protagiéndola contra patógenos (Amaranthus et al., 1988).

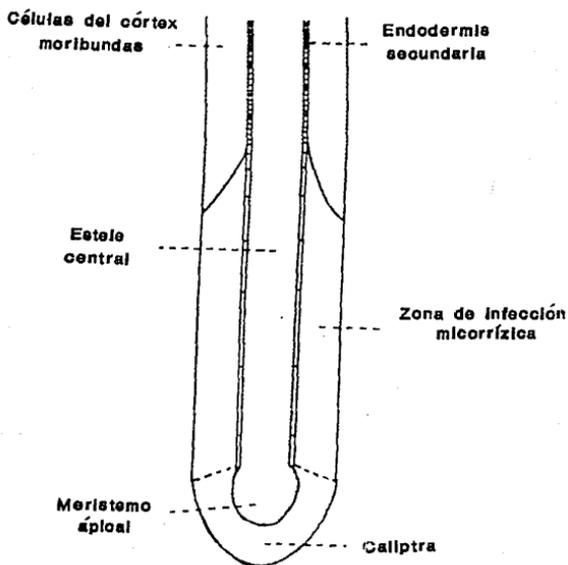
Se conoce poco acerca de la persistencia y distribución del hongo ectomicorrízico en ausencia del hospedero; Hacsckaylo (1973) sugirió que no persiste mucho tiempo sin él, aunque se ha observado que las esporas y algunos fragmentos de hifas son metabólicamente activos después de dos años (Person, 1982; Ferrier y Alexander, 1985).

El proceso de infección de la raíz por el hongo (usualmente un basidiomiceto) depende de las condiciones fisiológicas específicas de la raíz, definiéndose una zona de formación de la micorriza. No existen reportes de infección intercelular en el tejido del meristemo apical, tampoco hay penetración al tejido de la endodermis y estele y no existe asociación cuando las células están moribundas o muertas (Fig. 3) (Marks y Foster, 1973).

Cuando plantas producidas con suelos forestales se trasladan a medios adversos, su sobrevivencia es baja, lo que contribuye a la alta mortalidad de plantas en las campañas de reforestación (Perry et al., 1987), razón por la cual las micorrizas tienen una gran importancia práctica y se han incrementado los ensayos sobre la influencia de los hongos micorrízicos sobre las coníferas usadas en los programas de reforestación (Bjorkman, 1967, 1970; Hacsckaylo y Vozzo, 1967).

Molina y Trappe (1982 c) mencionaron que los hongos varían en su habilidad para formar micorrizas, agrupándolos en 3 categorías: 1) hongos con amplio potencial ectomicorrízico, baja especificidad y esporocarpos asociados con diferentes hospederos en el campo; 2) hongos con potencial ectomicorrízico intermedio y limitación

Fig. 3 Corte esquemático mostrando las regiones de la raíz y las zonas donde se puede originar la simbiosis micorrizal. Las áreas sombreadas representan las regiones donde no ocurre una verdadera infección micorrizica (tomado de Marks y Kozlowki, 1973).



para asociarse con algunos hospederos; y 3) hongos con potencial ectomicorrízico estrecho, capaces de formar ectomicorriza solamente con una especie o género de hospedero.

Numerosos hongos producen esporocarpos en el campo exclusivamente en asociación con hospederos específicos, pero al enfrentarse en el laboratorio con otro tipo de hospederos son capaces de tener un buen desarrollo ectomicorrízico. De esta manera, la especificidad hospedero-esporocarpo no limita la asociación micorrízica con otros hospederos bajo condiciones axénicas.

Los hongos con amplia gama de asociación hospedero-esporocarpo muestran compatibilidad con cualquier hospedero, sugiriéndose que puede existir algún factor de reconocimiento común para muchos hospederos. El hongo con asociaciones específicas hospedero-esporocarpo frecuentemente muestra incompatibilidad con otros hospederos (Molina y Trappe, *op cit*).

Amanita muscaria, *Boletus edulis* y *Laccaria laccata* comúnmente se asocian con diferentes hospederos, considerándose simbioses de amplio espectro, en tanto *Suillus* y *Rhizopogon* forman cuerpos fructíferos asociados sólo con especies vegetales particulares, considerándose hongos con hospedero específico (Molina y Trappe, 1982 c).

Los hospederos también varían en su habilidad para formar ectomicorriza con varios hongos. Molina y Trappe (1982 b) sugirieron que existe un espectro entre los hospederos altamente receptivos, los más especializados y los hospederos restringidos.

Entre las coníferas, el género *Pinus* muestra pocas diferencias infragenéricas en su habilidad para formar ectomicorrizas con varios hongos, en tanto *Pseudotsuga menziesii* y *Larix occidentalis* sólo son capaces de formar ectomicorriza con hongos muy específicos (Molina y Trappe, 1982 c).

Marks y Foster (1973) sugirieron que los taninos contienen polifenoles que son tóxicos para los hongos y resinas que tienen una conocida actividad fungistática. Estos compuestos son secretados por el hospedero y podrían actuar como un tamiz biológico que va a seleccionar solamente especies de hongos que pueden tolerar este compuesto.

El rompimiento de la corteza por la invasión de hongos y la lignificación de la raíz son síntomas de incompatibilidad. Estas respuestas del hospedero sugieren un tipo de mecanismo de defensa fenólica como se ha demostrado en muchas interacciones planta-patógeno (Molina y Trappe, 1982 c).

Las raíces crecidas en agua no muestran rasgos de micorriza u otras infecciones. Levisohn (*vide* Slankis, 1973) sugirió que la ramificación de las raíces puede ser inducida por los exudados de los hongos simbioses y que la bifurcación no ocurre cuando las plántulas no necesitan asociarse a un hongo micorrízico. Las auxinas sintéticas pueden inducir la morfología simple, coraloide o tuberculada en la raíz de plántulas de *Pinus sylvestris* y *Pinus strobus* (Slankis, 1973).

Cuando la planta hospedera se encuentra bajo la influencia de exudados de los hongos, se forman nuevas regiones apicales que se hinchan y quedan libres de pelos radicales. Se ha demostrado que bajo condiciones de campo se puede obtener la estructura dicotómica de las raíces, concluyéndose que este cambio es inducido por exudados de hongos simbioses (Slankis, *op. cit.*).

Concentraciones de 1.0 - 1.5 mg/l de ácido indol acético (AIA) inducen dicotomía e inhabilidad para formar pelos radicales en raíces de pino; las concentraciones de 5 - 10 mg/l de AIA producen un notable parecido de la estructura de la raíz a las micorrizas simples y coraloideas; y concentraciones de 10 - 20 mg/l inducen desviaciones estructurales parecidas a la micorriza tuberculada (Slankis, *op. cit.*).

Se han inducido fuertes cambios morfogénicos por ácido naftalén acético (ANA) y otras auxinas, causando decremento en la ramificación de la raíz en el siguiente orden: ácido indol acético (AIA), ácido indol butírico (AIB) y ácido indol propiónico (AIP). No obstante, los cambios morfológicos que se logran no son permanentes (Slankis, 1973).

Cuando se suspende la adición de exudados fungales o auxinas sintéticas, a la segunda semana los ápices bifurcados comienzan a alargarse hasta desaparecer y las regiones apicales elongadas y adelgazadas se cubren densamente con pelos radicales, por lo que Slankis (1973) concluyó que la morfogénesis que sufren las raíces cortas durante la conversión en micorriza es inducida por metabolitos exudados por el hongo simbiote.

Palmer (*vide* Slankis, 1973) sugirió que la bifurcación y proliferación de nuevas raíces en la naturaleza son inducidas por el AIA extracelular del hongo simbiote o sustitutos con la misma propiedad de promoción de crecimiento.

Ulrich (*vide* Slankis, 1973) hizo experimentos de inoculación de plántulas de *Pinus lambertiana* con hongos formadores de micorriza que no produjeron cambios en la morfología de la raíz aún cuando se formó la red de Hartig. Este mismo autor indicó que en plántulas crecidas asépticamente con 10 especies de hongos micorrízicos, solamente *Amanita rubescens* produjo dicotomía en las raíces.

Torner (fide Slankis, 1973) estableció que la habilidad para inducir dicotomía es una característica casi exclusiva de los basidiomicetos, pero no necesariamente de los simbioses micorrízicos.

ESTUDIOS SOBRE LA ECTOMICORRIZA EN MÉXICO

La erosión afecta aproximadamente el 80 % del territorio mexicano. El deterioro constante y veloz de los ecosistemas se manifiesta a través del avance de la desertificación, especialmente en áreas densamente pobladas y con escasos recursos económicos y tecnológicos, constituyendo una grave amenaza para el bienestar económico y social y consecuentemente un grave problema para el desarrollo general del país (Valdés et al., 1983).

Siendo México uno de los países que cuenta con un gran número de coníferas, muchas de las cuales son explotadas económicamente, es importante determinar todos los factores que puedan favorecer su crecimiento para obtener mayores rendimientos (Peña-Cabriales y Valdés, 1973).

En nuestro país se utiliza suelo forestal para la obtención de plántulas en los almacigos. Sin embargo, además de las consecuencias ecológicas y costos del movimiento de grandes volúmenes de suelo, con esta medida existe el peligro de introducir microorganismos patógenos que frecuentemente causan mayor daño que el beneficio derivado de los hongos simbioses presentes en el suelo acarreado (Valdés et al., 1983). Por este método tradicional se favorece la simbiosis entre las plántulas y el hongo ectomicorrízico bajo condiciones de alta humedad y fertilidad; sin embargo, las plántulas en su mayor parte mueren con frecuencia al ser transplantadas en áreas altamente erosionadas, dado que las condiciones de estos lugares son completamente diferentes a las que tenían en donde fueron obtenidas, ya que los hongos tienen dificultad para sobrevivir y crecer en áreas severamente perturbadas (Marx, 1977 a).

Los programas de reforestación con pinos u otras coníferas prosperan rápidamente en las áreas en donde existen hongos micorrízicos indígenas o nativos pues de esta manera se tiene el inóculo de manera natural. Sin embargo, en las áreas desnudas que se encuentran desprovistas de vegetación es necesaria la introducción de plántulas nativas o exóticas ectomicorrizadas, por lo que estas plantas deben de ser inoculadas ya sea con suelo forestal o con los hongos simbioses adecuados (Marx y Bryan, 1975; Valdés et al., 1983).

En nuestro país, los ensayos con especies forestales y hongos ectomicorrizógenos son aún escasos pero han dado resultados prometedores.

Valdés y Grada-Yautentzi (1980) encontraron que el crecimiento de *Pinus michoacana*, *P. montezumae*, *P. pseudostrobus* y *P. radiata* fue incrementado al introducir inóculos de *Pisolithus tinctorius*, *Laccaria laccata* y *Lepiota lutea*. Valdés et al. (1983) obtuvieron una buena respuesta de crecimiento de *Pinus pseudostrobus*, *P. radiata* y *P. teocote* al ser inoculados con cultivos de *Pisolithus tinctorius* y *Laccaria laccata* en mezclas de suelo erosionado y arena.

Valdés (1986) registró mayor sobrevivencia de algunas especies de *Pinus* inoculados con *Pisolithus tinctorius* tanto en vivero como en los lugares de trasplante en el campo.

Quintos y Valdés (1987) observaron un ligero incremento en crecimiento de *Pinus engelmannii* cuando se inoculó con *P. tinctorius*.

En algunas ocasiones se han obtenido resultados contradictorios pues en ensayos en vivero, Cuevas-Rangel (1979) no obtuvo respuesta de plántulas de *Pinus montezumae* inoculadas con *Pisolithus tinctorius*, mientras que Estrada-Torres y Valdés (1986) registraron un incremento en tamaño, volumen y peso seco con respecto a las plántulas testigo al inocular el mismo hospedero con la misma especie fúngica.

No obstante, en todos estos trabajos se utilizaron cepas exóticas de hongos y los estudios sobre hongos nativos se han restringido a la elaboración de listados de especies potencialmente micorrizógenas de lugares determinados (Castillo et al., 1979; León y Guzmán, 1980; Quintos et al. 1984; Garza-Ocañas, 1986). Peña-Cabriales y Valdés (1974) realizaron algunos aislamientos y caracterizaciones de cepas mexicanas de hongos ectomicorrizógenos asociados a *Abies*, pero en este caso las especies de hongos no fueron identificadas en forma precisa.

En fechas recientes se han iniciado estudios en plantaciones sobre la morfología de algunas micorrizas, evaluando su relación con el crecimiento de pinos (López-Olivares y Fierros, 1990; López-Olivares et al., 1990).

Ávila (1988) aisló y caracterizó micelios de 4 especies de *Amanita* confirmando su identificación a través de la observación del septo doliporo.

Cruz-Ulloa (1990) inició la formación de una colección de micelios de hongos ectomicorrízicos, aislándolos, propagándolos y caracterizándolos.

CULTIVOS PUROS

Molina y Trappe (1984) mencionaron que existen miles de hongos ectomicorrizicos que presentan una gran diversidad fisiológica, haciéndose evidente por la facilidad o dificultad que se tiene para aislarlos, por el crecimiento que presentan en cultivos puros, por su efectividad al ser utilizados como inóculo y por el beneficio que pueden aportar al hospedero. Por esta razón propusieron una serie de criterios que sirven para seleccionar el mayor número de hongos ectomicorrizógenos que prometan, a pequeña o gran escala, prácticas satisfactorias en los viveros. Entre estos caracteres se pueden señalar:

- Buen crecimiento en cultivo.
- Adaptaciones ecológicas especiales tales como a pH extremos y altas temperaturas.
- Efectividad para formar micorrizas.
- Amplia gama de hospederos.

No obstante, los estudios de cultivo *in vitro* son la vía para conocer estos caracteres a través del conocimiento de la biología básica de los hongos, como son sus respuestas de crecimiento variando el pH, temperatura y régimen de humedad, fisiología de la nutrición mineral y de carbohidratos, y producción de enzimas y hormonas (Molina y Palmer, 1982).

El estudio de los cultivos puros bajo condiciones axénicas tuvo en un principio el propósito de establecer criterios para distinguir las especies en cultivo y por comparación poder identificar los cultivos desconocidos de hongos aislados desde la raíz micorrizada de los árboles forestales (Pantidou, 1962).

También se han utilizado para separar dos especies con carpóforos muy parecidos, siendo el principal criterio la tasa de crecimiento medida a través del diámetro de la colonia en cultivo de un mes de edad, que aunque no es un criterio con significado taxonómico, nos ayuda a separar cepas de diferentes géneros a través del color del micelio (Pantidou, 1961), así como también con los cambios de color del medio nutritivo (Oort, 1981).

Además, también se ha establecido que los hongos ectomicorrizicos solamente producen micelio estéril *in vitro*, contrastando con los conidios descritos para un gran número de hongos formadores de ectendomicorriza y pseudomicorriza. Esto

sugiere que la ausencia de conidios *in vitro* puede ser una característica común entre los hongos ectomicorrízicos y la presencia de estas estructuras citada por algunos autores se debe a contaminantes o especies saprobitas confundidas como ectomicorrizógenas (Hutchison, 1989). Además, los hongos ectomicorrízicos presentan otras características tales como inhibición total o parcial de la germinación de basidiosporas *in vitro*, una tendencia hacia el crecimiento lento o ausencia de crecimiento en cultivos axénicos, inhabilidad para degradar celulosa, actividad pectinolítica muy leve o nula y una ausencia general de producción de basidiomas en cultivos de agar.

SÍNTESIS IN VITRO

Melin en 1921-1922 fue el primer investigador en producir técnicas de síntesis *in vitro* de hongos ectomicorrízicos por inoculación de plántulas de *Picea*, *Abies*, *Pinus silvestris* y *Larix europaea* con ciertos hongos. Después él y otros investigadores pudieron aplicar estas técnicas básicas a estudios de determinación de la identidad del hongo micorrizógeno y en experimentos fisiológicos. Inicialmente, el sustrato utilizado para la síntesis en cultivo fue arena humedecida con solución nutritiva; ésta combinación ha sido adaptada en experimentos que requieren condiciones estériles y conocimiento definido concerniente a la composición del sustrato, teniendo como desventaja el que se tiene que limpiar químicamente para la remoción de sustancias orgánicas e inorgánicas poco deseables, además de que su área superficial y la capacidad de retención de agua son relativamente bajas, por lo que al reemplazar el líquido en condiciones asépticas se tiene riesgo de contaminación (Hacskaylo, 1953).

Al intentar superar las desventajas del empleo de la arena con medio nutritivo, Melin utilizó terra-lite, el cual es un producto biológicamente estéril de vermiculita que provee de excelentes condiciones de aereación y puede mantener la humedad por un período largo sin que se le adicionen suplementos de líquidos (Hacskaylo, *op. cit.*).

A partir de esto, numerosas técnicas y muchas variaciones de la síntesis *in vitro* han sido probadas, no obstante, algunas de ellas requieren de procesos de manipulación muy elaborados y tienen que llevarse a cabo bajo condiciones exigentes de cultivo (Richter y Bruhn, 1986).

En la actualidad los métodos asépticos más convenientes incluyen el uso de tubos de ensayo grandes con agar o con vermiculita (Molina, 1979b; Stein y Fortin, 1990; Yang y Wilcox, 1984); matraces desde 500 hasta 2000 ml (Duddridge y Read, 1984b; Mason, 1975); cajas de petri (Chilvers et al., 1986; Duddridge

1986a); bolsas de crecimiento (Fortin y Piche, 1979; Piche y Fortin, 1982); y frascos con perlita y medio nutritivo (Trappe, 1967). Wong y Fortin (1989) sugirieron que ciertos estados de desarrollo de la ectomicorriza se encuentran influenciados por factores gaseosos como bióxido de carbono, etileno y un indeterminado número de componentes atmosféricos, por lo que recomiendan el cercado o protección selectiva de la raíz.

Para lograr la síntesis es necesario tener en cuenta el período de independencia micorrízica en el cual la planta puede vivir y crecer sin necesidad de asociarse simbióticamente. Este intervalo de tiempo varía según la especie, pues existen taxa como *Quercus coccifera* que es capaz de seguir utilizando los nutrientes de la semilla hasta finales del segundo año de vida (Oria de Rueda, 1991).

CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS

De las plantas micorrízicas, la ectomicorriza es fácilmente observable por su estructura, color, forma y textura además de varias características microscópicas, hecho que la hace fácilmente distinguible de la raíz no micorrizada (Zak, 1973).

La configuración externa e interna del arreglo celular de la raíz es inherente a cada árbol, pero es modificada por la interacción con el hongo. El patrón de ramificación es poco o nada variable entre árboles de la misma especie, pero sí se pueden observar diferencias entre distintos géneros. Por ejemplo *Populus* y *Salix* tienen una morfología monopodial; *Castanea*, *Fagus* y *Quercus* una forma monopodial y pinada irregular; *Abies*, *Larix*, *Picea*, *Pseudotsuga* y *Tsuga* tienen forma monopodial y piramidal pinada regular o irregular; y *Pinus* tiene una forma monopodial y su característica forma bifurcada (Fig. 3). Algunas raíces de árboles forman nódulos o tubérculos con ciertos hongos tales como *Boletus*, *Rhizopogon cokerii* ó *R. vinicolor*. Las características internas de la raíz micorrizada que son utilizadas en la caracterización son: tamaño, número de filas de células corticales, diámetro del estele y arreglo radial de elementos primarios del xilema (Zak, op.cit.).

Son numerosos los trabajos hechos con caracterización de micorriza tanto *in situ* (Agerer, 1986, 1987a, 1987b, 1987c, 1988; Danielson, 1984; Dudridge y Read, 1984a; Uhl, 1988) como *in vitro* (Dudridge y Read, 1984b; Fortin y Piche 1979; Fortin et al. 1980, 1983; Gay, 1990; Godbout y Fortin, 1985; Ingleby et al., 1990; Mason 1975; Mason et al., 1977; Miller et al., 1986; Palm y Stewart, 1984) mostrando un panorama de la gran diversidad de micorrizas existentes, pero siendo aún escasa la información disponible si se considera el gran número de hongos ectomicorrizógenos existentes.

OBJETIVOS

Obtener el crecimiento vegetativo de varios hongos ectomicorrízicos de diferentes bosques

Encontrar el medio de cultivo y pH óptimos para el crecimiento micelial de cada cepa estudiada

Evaluar mediante la síntesis *in vitro* la interacción entre algunas cepas de hongos nativos y dos especies de *Pinus*

MATERIALES Y MÉTODOS

AISLAMIENTO

Con la finalidad de recolectar cuerpos fructíferos de hongos potencialmente formadores de ectomicorizas, se realizaron salidas a diferentes bosques del estado de Tlaxcala. Posteriormente se seleccionaron aquellos basidiomas que no presentaron daño mecánico o ataque por insectos y que aún se encontraban en estado juvenil. Con base en el procedimiento descrito por Molina y Palmer (1982), se extrajeron aproximadamente 3 milímetros cúbicos de tejido del contexto del pileo, el cual fue colocado en tubos de ensaye con los medios de cultivo de papa-dextrosa-agar (PDA) y biotina-aneurina-ácido fólico agar (BAF), con un total de 10 repeticiones por cada medio nutritivo. Los aislamientos fueron mantenidos a una temperatura de 25° C.

El resto de los carpóforos fueron caracterizados de acuerdo con los criterios de Cifuentes *et al.* (1986). El material fue herborizado en una secadora micológica y posteriormente determinado.

Los crecimientos vegetativos obtenidos se siguieron propagando en cajas de petri con PDA hasta que se les utilizó en las pruebas propuestas en el presente trabajo.

Las cepas estudiadas se encuentran depositadas en el cepario de hongos ectomicorrízicos del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (CICB) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UAT).

CULTIVOS EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

Micelio crecido en cajas de petri durante tres semanas se cuadrículó con un bisturí estéril, cortando fragmentos de 4 a 5 mm por lado y transfiriéndolos a cajas de 90 mm de diámetro por 10 mm de alto con los siguientes medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), extracto de malta agar (EMA), Sabouraud (SAB), Ingestad (ING), Melin y Norkrans Modificado (MNM), Hagem (HG) y biotina-aneurina-ácido fólico-agar (BAF) (Apéndices 1 y 2), sembrándose cinco repeticiones para cada uno. Las muestras se incubaron en la oscuridad a 25 °C. Los medios de cultivo y las cajas de petri se esterilizaron de manera convencional.

Se caracterizó el crecimiento de las 10 cepas en cada uno de los medios nutritivos tomando como base el color del micelio (cada vez que se notó algún cambio importante y/o al final del ensayo), textura, reverse y cambio de color del medio nutritivo cercano a la colonia. Los colores fueron determinados con base en la tabla de Methuen (Kornerup y Wanscher, 1978).

El desarrollo de las cepas se evaluó midiendo el diámetro de las colonias cada tercer día, hasta que se estabilizó el crecimiento. Al final de este período se midió la producción de biomasa a través del peso seco de la colonia, modificando la técnica propuesta por Chapman et al. (1990), en la cual el micelio se separa calentando la caja hasta el punto de fusión del agar; la colonia se enjuaga con agua caliente para eliminar el medio nutritivo, secándose posteriormente a 60 °C hasta obtener peso constante.

La caracterización microscópica se efectuó siguiendo los criterios de Nobles (1965), Pantidou (1961) y Pantidou y Groves (1966).

A los resultados de diámetro final y peso seco se les aplicó análisis de varianza simple y bifactorial así como pruebas de intervalos múltiples de Tukey con un nivel de significancia del 1%.

Los valores de diámetros obtenidos cada tercer día se graficaron, obteniéndose matemáticamente el valor de r para los modelos de crecimiento lineal, exponencial y logístico; el valor de la pendiente de la curva de los modelos lineales se consideró como la rapidez media de crecimiento, efectuándose con estos datos análisis de varianza simple y bifactorial así como pruebas de intervalos múltiples de Tukey con un nivel de significancia del 1%. Finalmente, se elaboraron gráficas de correlación diámetro final - peso seco.

CULTIVOS EN DIFERENTES pH

Para las pruebas de crecimiento en diferentes pH se tomó como base el medio nutritivo donde crecieron mejor las cepas, en este caso fue el Sabouraud el cual se preparó en medio líquido con los siguientes pH: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, y 6.0. Debido a que el crecimiento en este medio no fue homogéneo, la prueba se repitió utilizando BAF con los mismos pH. Para este procedimiento se siguió la metodología propuesta por Hung y Trappe (1983) utilizando matraces de Erlenmeyer de 250 ml con 100 ml de solución nutritiva y usando trozos de vidrio para fragmentar el micelio durante la agitación de los dispositivos. Los matraces se agitaron manualmente cada tercer día. A los 30 días se midió la biomasa producida filtrando el micelio y secándolo hasta peso constante. Cada cepa se sembró por quintuplicado en cada uno de los medios usados.

A los pesos secos obtenidos se les aplicó análisis de varianza simple y bifactorial así como pruebas de intervalos múltiples de Tukey con un nivel de significancia del 1%.

SÍNTESIS IN VITRO

Tratamiento de las semillas

Para la obtención de plántulas de pino en condiciones asépticas, las testas de las semillas se desinfectaron superficialmente con peróxido de hidrógeno al 30 % durante 15 a 30 minutos, dependiendo del tamaño de la semilla y de la dureza de la testa; posteriormente se enjuagaron varias veces con agua destilada estéril (Mason, 1975; Miller *et al.*, 1986; Piche y Fortin, 1982; Trappe 1967). Las semillas se colocaron en tubos de ensayo con medio nutritivo de Ingestad (Mason, 1980). Se dejaron aproximadamente por 16 semanas a temperatura ambiente y un fotoperíodo de 16 horas de luz por 8 de oscuridad (Piche y Fortin, 1982). Las semillas utilizadas fueron de *Pinus gregii* y *P. montezumae* debido a que son especies que se encuentran en los bosques de los alrededores de Tlaxcala.

Micelio

De las colonias de los hongos creciendo en medio sólido se extrajeron de 5 a 8 cuadros de 5 mm por lado, se sembraron en matraces de Erlenmeyer de 125 ml, con pequeños trozos de vidrio en el fondo y con medio líquido de Melin y Norkrans Modificado, agitándose manualmente cada tercer día, durante 3 ó 4 semanas (Marx y Bryan, 1975; Miller *et al.*, 1986).

Para la confrontación de la plántula con el hongo se utilizaron los siguientes dispositivos:

Bolsas de crecimiento

Basándose en los procedimientos de De la Bastide y Kendrick, (1990), Fortin y Piche (1979), Fortin *et al.* (1980, 1983), y Massicotte *et al.* (1987) se usaron bolsas de polietileno de 19 X 14 cm con cierre grip, las cuales se desinfectaron previamente con hipoclorito de sodio durante 24 horas, después de lo cual se enjuagaron con agua destilada estéril. A cada bolsa se le introdujo un papel absorbente previamente esterilizado; adicionándose posteriormente aproximadamente 10 ml de medio nutritivo de BAF esterilizado por 15 minutos a 121° C. Se colocó la plántula con primordios de raíces secundarias y el hongo en crecimiento activo.

Tubos de ensaye

De acuerdo con la metodología de Mason (1980) y Mason *et al.* (1977), a tubos de ensaye de 200 X 30 mm se les adicionaron 50 ml de medio nutritivo de Ingestad agar, esterilizándolos por 15 minutos a 121° C. El medio se dejó solidificar con el tubo inclinado y después se depositó una semilla previamente desinfectada. Aproximadamente a las 16 semanas, cuando se comienzan a observar las primeras raíces secundarias, los dispositivos se inocularon con micelio crecido en medio nutritivo líquido de MNM.

Frascos

Se hizo una modificación de los métodos propuestos por Duddridge y Read (1984b), Mason (1975, 1980), Miller *et al.* (1986), Palm y Stewart (1984), Piche y Fortin (1982) y Trappe (1967), la cual consistió en introducir 300 ml de vermiculita (Insulex) 33.3 ml de turba y 200 ml de medio líquido de MNM en frascos lecheros de 1000 ml ajustando el pH entre 5.5 y 6. Estas botellas se esterilizaron a 121° C durante 2 horas. Se inoculó el hongo crecido en medio líquido, y se agitó el dispositivo para homogeneizar su contenido; posteriormente se introdujo la plántula previamente crecida y con raíces secundarias bien desarrolladas, dejándose crecer por 16 semanas.

Las plantas fueron sacadas de los dispositivos para verificar la formación de ectomicorriza. En caso de presentarse la asociación, las raíces fueron fijadas en formol-ácido acético-alcohol (FAA).

CARACTERIZACIÓN

Para la caracterización de la micorriza obtenida *in vitro* se siguieron los criterios de Agerer (1986, 1987a) e Ingleby *et al.* (1990), tomando en cuenta la morfología y coloración de la micorriza, presencia de rizomorfos, etc. (Figura 2 y Apéndices 3 y 4).

RESULTADOS

ASLAMIENTOS OBTENIDOS Y SU PROCEDENCIA

Durante las épocas de lluvias de 1989 a 1991 se realizaron salidas a diferentes localidades del estado de Tlaxcala para la recolección de hongos frescos. De éstos se seleccionaron los ejemplares que se encontraban en perfectas condiciones para intentar su aislamiento.

Se intentaron aislamientos de 110 cuerpos fructíferos pertenecientes a 41 taxa diferentes. El mayor número de intentos se realizó en *Amanita caesarea*, *A. fulva*, *A. muscaria*, *A. rubescens*, *A. sp.*, *Boletus edulis*, *B. sp.*, *Chalciporus piperatus*, *Chroogomphus sp.*, *Cortinarius sp.*, *Hebeloma sp.*, *Laccaria bicolor*, *Lactarius spp.*, *Rhizopogon spp.*, *Russula brevipes*, *R. sp.*, *Suillus granulatus*, *S. tomentosus*, *S. sp.*, *Thelephora sp.*, *Terfezia sp.* y *Tricholoma sp.*. Se obtuvieron un total de 21 cepas, algunas de las cuales se perdieron durante las resiembras.

De *Amanita caesarea*, *Boletus edulis*, *Chalciporus piperatus*, *Chroogomphus sp.*, *Cortinarius sp.*, *Lactarius spp.*, *Russula brevipes*, *R. sp.*, *Thelephora sp.* y *Tricholoma sp.* nunca se obtuvo crecimiento; *Amanita fulva*, *A. rubescens* y *Thelephora sp.* crecieron levemente al principio pero el desarrollo se detuvo durante la primera resiembra; *Elaphomyces sp.*, *Hebeloma sp.*, *Laccaria bicolor*, y *Suillus sp.* crecieron bien en el primer aislamiento pero las cepas se perdieron durante las resiembras consecutivas.

Cepas de *Amanita muscaria*, *Amanita sp.*, *Boletus sp.*, *Laccaria bicolor*, *Rhizopogon sp.*, *Suillus granulatus*, *S. tomentosus* y *Terfezia* mantuvieron su crecimiento aún después de varias resiembras. De éstas se seleccionaron 10 para su estudio; 7 procedentes de diferentes localidades del estado de Tlaxcala, 2 de Oaxaca y una de Estados Unidos (Tabla 1).

Los ejemplares de herbario se encuentran depositados en la micoteca del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (C. I. C. B.) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (U. A. T.) y los aislamientos en el cepario de hongos ectomicorrizógenos de la misma Institución.

TABLA 1. CEPAS ESTUDIADAS Y PROCEDENCIA DE LAS MISMAS

CEPA	TAXA	REGISTRO DE HERBARIO	PROCE- DENCIA	ASOCIA- DO A:
TLAX 1	<i>Amanita muscaria</i> (Sing.) Jenkins	Kong Luz 1834	Malintzi	Abies, Pinus
TLAX 2	<i>Amanita muscaria</i> (Sing.) Jenkins	Santiago 54	Malintzi	Abies, Pinus
TLAX 3	<i>Rhizopogon</i> sp.	Kong Luz 1484	Malintzi	Pinus
TLAX 4	<i>Amanita</i> sp. Seccion <i>Vaginatae</i>	Santiago 134	Terrenate	<i>Pseudotsuga</i> , Abies, Pinus Quercus
TLAX 5	<i>Suillus granulatus</i> (L.) Kuntze	Kong Luz 1588	Tepeticpac	Pinus
TLAX 9	<i>Suillus tomentosus</i> (Kauf.) Sing.	Santiago 276	Malintzi	Abies, Pinus
TLAX 18	<i>Suillus granulatus</i> (L.) Kuntze	Santiago 284	Tepeticpac	Pinus
TLAX 11	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker & Couch	Donadas por el Laboratorio de	Oaxaca	Juglans
TLAX 12	<i>P. tinctorius</i> (Pers.) Coker & Couch	Micología de la E. N. C. B. del	E. U. A.	
TLAX 13	<i>P. tinctorius</i> (Pers.) Coker & Couch	I. P. N.	Oaxaca	Juglans

CARACTERIZACIÓN DE LAS COLONIAS EN DIFERENTES MEDIOS

En la Tabla 2 se integra la información de cada cepa en las pruebas de crecimiento en diferentes medios nutritivos. El género *Amanita* se caracterizó por presentar un micelio blanquecino a cremoso y un crecimiento irregular y lento; *Rhizopogon* presentó una coloración café-oscura y una colonia plana con escasas hifas aéreas; *Suillus* presentó una coloración café-naranja, textura aterciopelada densa, colonias de planas (PDA, EMA, SAB, MNM y HG) a ligeramente algodonosas con micelio elevado (ING y BAF); y *Pisolithus tinctorius* se caracterizó por presentar una coloración café-olivácea y una textura algodonosa densa con micelio aéreo abundante.

Las cepas pertenecientes a un mismo género presentaron una morfología similar en coloración y textura; pudiendo diferenciarse claramente de los otros géneros estudiados.

TABLE 2. CARACTERIZACIÓN DE LAS CEPAS EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR	
TLAX 1	PDA	Al inicio se observa el micelio blanco, y con el tiempo se pone naranja-grisáceo (5B3)	Se forma una membrana que se ondula y eleva dando apariencia cerebriforme, que después se cubre de micelio algodonoso	Bianco amarillento (4A2) en el centro, con un anillo color rosado (5A2) muy delgado en el margen	Se tiñe de café rojizo (9E5-9D5)	
	EMA	Micelio blanco	Algodonosa laxa, en el centro se compacta formando una membrana que se ondula dando la apariencia de cerebro, poco elevada	Amarillo-café oscuro (5D4) en el centro y blanco naranja (5A2) en el margen	No cambia	
	SAB	Micelio blanco a crema	Algodonoso denso, con la colonia elevada, que forma una membrana que se ondula, hasta llegar a tomar la apariencia de cerebro, se cubre de micelio algodonoso laxo, la porción del margen queda plana	naranja-café (5C4) en el centro y amarillo pálido (4A3) en el margen	No cambia	
	IMG	Micelio blanco a crema	Algodonoso denso, colonia poco elevada que forma una membrana que se ondula que llega tomar la forma de cerebro que se cubre de micelio algodonoso laxo	Naranja-grisáceo (4B2) en el centro y amarillo pálido (4A3) en el margen	No cambia	
	MMH	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	-----
	HG	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	-----
	BAF	Micelio blanquecino a naranja-grisáceo que se cubre de micelio blanquecino	Algodonoso denso formando una membrana que se ondula irregularmente hasta dar la apariencia de cerebro, que se cubre de micelio algodonoso, colonia poco elevada a 2132	Naranja-café (5C4) en el centro, amarillo pálido (4A3) hasta blanco-amarillento (4A2) en el margen	No cambia	
TLAX 2	PDA	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	
	EMA	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	
	SAB	Micelio naranja-grisáceo (5B2) cubierto de micelio blanco	Algodonosa, con micelio denso y grueso, que forma una membrana que se irruja hasta dar la apariencia de cerebro, que luego se cubre de micelio blanco de estrigoso a irrujo	Naranja-grisáceo (5B4) en el centro, naranja-café (5C3), hasta blanco-naranja (5A2) en el margen.	No cambia	
	IMG	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	
	MMH	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	
	HG	NO CRECIÓ	-----	-----	-----	

* Los números entre paréntesis se refieren al color determinado con las tablas de Methuen (Kornerup y Manscher, 1969)

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 3	BAF	Crema a blanquecino (solo se basó en la descripción de un crecimiento)	Algodonosa, forma una membrana que se ondula, se cubre de micelio llegando a formar proyecciones en forma de espigas	Naranja-grisáceo (5B2)	No cambio
TLAX 3	PDA	Micelio inicial blanco que cambia a café-oscuro (6F5) en el centro, Amarillo claro (4A4), amarillo grisáceo (4C4) hasta blanquecino cerca del margen, no se forman anillos concéntricos bien definidos	Aterciopelada laxa, colonia plana, pero con micelio aéreo blanco poco abundante. Con abundantes exudados color café oscuro (7F8)	Negro y cerca del margen café-oscuro (7F7), hasta naranja (5A6)	Se tiñe de amarillo antes de empezar a crecer el micelio, cambiando hasta amarillo oro (5B7)
	DMA	Blanquecino a naranja grisáceo (6B2), después solo se colorea una parte de blanco naranja (6A2) y violeta-naranja (16D3), lo demás café grisáceo (6F3)	Aterciopelada cremosa laxa, colonia plana	Amarillo pálido (4A3) y en los lugares donde se veía la coloración diferente café-grisáceo (6F3)	Se tiñe de amarillo desde antes de ser invadido por el micelio
	SAB	Blanco a crema, posteriormente cambian-do y formando anillos concéntricos no bien definidos, de colores café-claro (5D6), café amarillento (5F6-8)	Aterciopelada laxa y en algunos lugares hirsuto que en ocasiones forma un anillo estrigoso bien definido, en algunos lugares se observa micelio denso dispuesto irregularmente, colonia plana	Naranja-café (5C3)	Se tiñe de café-oscuro (6F8) cerca de la colonia volviéndose al alejarse de la colonia
	ING	Micelio adherido al agar color café-amarillento (5E7), en el centro hasta naranja-café (5C5) en el margen cubierto de escaso micelio aéreo blanquecino que en algunos lugares toma la coloración naranja-café (5C5)	Aterciopelada a algodonosa laxa, colonia plana a ligeramente elevada irregularmente, con margen irregular	Café-amarillento (5F7) y hacia el margen café-claro (5D6) formando un anillo muy delgado naranja-claro (5A3), margen amarillo-pálido (4A3)	Se tiñe de amarillo antes de ser invadido por el micelio cambiando a blanquecino-amarillento (2A2).
	MMH	Micelio adherido al agar naranja-café (5C4) en el centro y café-oscuro en el margen, con micelio aéreo blanquecino	Aterciopelada laxa, colonia plana, crecimiento irregular	Café-oscuro (6F8) en el centro y café (7F4) en el margen	Se tiñe de amarillo claro (4A5)
	HQ	Naranja-grisáceo (5B3) en el centro y café oscuro (6F7) en el margen, con micelio aéreo blanquecino	Aterciopelada laxa, colonia plana con algunas hifas aéreas, crecimiento irregular, con algunos pliegues radiales someros	Café-oscuro (7F6) en el centro y café (7E6) en el margen	Se tiñe de amarillo rojizo (4A6)
	BAF	Naranja-café (5C3) con algunas partes café-claro (5D6) y naranja grisáceo (5B3)	Aterciopelada densa, colonia plana, con pliegues radiales que no llegan al margen	Negro con el margen café-oscuro (6F8)	Se tiñe antes de ser invadido por el micelio, hasta llegar a café-amarillento (5E6)

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 4	PDA	Bianco-amarillento (2A2), cubriéndose de micelio blanco	Aterciopelada. Crecimiento muy irregular inicialmente plana posteriormente la colonia se eleva y arruga formando una membrana que se arruga formando cavernas al final da aspecto de cerebro	Naranja-grisáceo (5B2) y en el margen se forma un anillo color rosado (8A2) poco perceptible	Se tiñe de rosado (9A2)
	EMA	Blanquecino	Aterciopelada, crecimiento irregular ondulado y discontinuo	En el centro gris-amarillento (3D2) y en el margen blanco amarillento (3A2)	Se tiñe de café
	SAB	Micelio blanquecino	Algodonosa, colonia muy elevada en el centro y plana en el margen, posteriormente se forma una membrana que se arruga hasta tomar la forma de cerebro, cubriéndose de micelio blanquecino algodonoso, al final el micelio rompe el agar	Gris-rojizo (7B2) en el centro, también crece micelio blanco por donde se rompe el agar	No se tiñe
	IMG	Micelio inicial blanquecino cambiando a amarillo-pálido (4A3)	Aterciopelada, con crecimiento irregular, se forma una membrana que se ondula muy escasamente	Gris-dorado (4C2) en el centro y blanco amarillento (4C2) en el margen	No se tiñe
	MMH	Bianco-amarillento (4A2) cubriéndose de micelio blanco	Aterciopelada, con crecimiento irregular y ondulado que se cubre de micelio algodonoso	Naranja-grisáceo (5B3)	No se tiñe
	HG	Naranja-grisáceo (5B3) y en la parte más joven blanco-amarillento (4A2)	Aterciopelada, con crecimiento irregular y discontinuo formando arrugas	Naranja-grisáceo	No se tiñe
	BAF	Micelio blanquecino a blanco-amarillento (2A2) que se cubre de micelio blanquecino algodonoso	Aterciopelada que posteriormente se forma una membrana que se pliega y eleva tomando la forma de cerebro que se cubre de micelio algodonoso	Naranja-grisáceo (5B3) cambiando a amarillo-pálido (4A3) en el centro y blanco amarillento (4A2) en el margen	No se tiñe

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CSPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 3	PDA	Presenta una gradación de colores durante su crecimiento, iniciando con micelio blanquecino después gris-rojizo (7B2) en el centro y blanco-naranja en el margen, posteriormente se forman anillos concéntricos naranja-café (66) en el centro, naranja-grisáceo (5B3), amarillo-verdoso (IA6) y en ocasiones café-oscuro (677) en el margen	Al inicio algodonosa cambiando a aterciopelada densa en el centro y algodonosa en el margen, colonia plana, con crecimiento irregular, con pliegues radiales tanto en la superficie como en el reverso	Se forman anillos concéntricos café-amarillento en el centro, amarillo-carduso (5C7) a naranja (5A6) en el margen, al final del crecimiento café-grisáceo (6F3), café-oscuro (6F8), café (6E2) y naranja (6B8) en el margen	Se tiñe al inicio de naranja (5A6) y al final del crecimiento amarillo-rojizo (4A7)
	DM	Presenta una gradación de colores, desde blanquecino, café-grisáceo (5C2) en el centro y gris-naranja (5B2) en el margen	Aterciopelada-cremosa, colonia plana con pliegues radiales poco pronunciados, cortos, crecimiento irregular	Inicialmente café-amarillento (5F6) con el centro amarillo-café oscuro (5D4), al final se forman anillos concéntricos gris-carduso (6F2), café-grisáceo (6F3) y naranja café (5C4) en el margen	No se tiñe
	SAB	Presenta una gradación de colores que inicia con blanquecino luego naranja-café (3C4), posteriormente se forman anillos concéntricos café-amarillento (3D6) en el centro, amarillo-pálido (4A3) y blanco-amarillento (4A2) en el margen	Aterciopelada densa en algunas partes con apariencia algodonosa, rugosa en el centro, con pliegues radiales, crecimiento irregular, colonia plana, con exudados color café-oscuro (7F8)	café-oscuro (6F7)	Se tiñe de amarillo claro (4A4)
	IMG	Se presenta una gradación de colores durante su crecimiento, comenzando de blanquecino a naranja-grisáceo (5B3), formándose luego anillos concéntricos café (6E4), naranja-grisáceo (6B3) (5B4) y blanco amarillento (4A2)	Aterciopelada a aterciopelada densa en el centro y algodonosa laxa en el margen, al inicio la colonia es plana elevándose en el margen, con algunos pliegues radiales al reverso de la colonia	Café-oscuro (6F7) y amarillo-pálido (4A4), llegando a formar anillos concéntricos rojo-opaco (6C3), café-carduso (2E4), gris-verdoso (2E2) y amarillo-pálido (2A3) en el margen	Se tiñe de amarillo pálido (2A3) muy cerca de la colonia
	MM	Inicialmente blanquecino cambiando a naranja grisáceo (6B3)	Aterciopelada laxa, colonia plana	Se forman anillos concéntricos café (6F4), naranja-claro (5A4), naranja-grisáceo (5B4) y blanco-naranja (5R2)	No se tiñe
	HG	Se observa una gradación de colores, inicialmente blanco formando anillos concéntricos naranja-café (5C3-4), café-oscuro (7F3) y naranja grisáceo (5B3) en el margen	Aterciopelada laxa, colonia plana	Se forman anillos concéntricos café-amarillento (5F5), naranja-café (5C3) cambiando a café-oscuro (6F5), café-claro (6D4) y naranja-café (5C3) en el margen	No se tiñe

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 5	BAF	Con una gradación de colores, desde blanquecino hasta naranja-café (6C3) con el margen blanco con tonos amarillo-claro (4A4)	Aterciopelada densa en el centro y algo donosa laxa en el margen, con abundantes pliegues radiales bien marcados, la colonia plana al inicio y poco elevada al final	Café oscuro (6F6), naranja-café (3C5) y amarillo claro (4A4) con un anillo intermedio café-oscuro (6F4)	Se tinte de amarillo pálido (3A3)
TLAX 9	PDA	Micelio inicial blanquecino cambian do a rojo-grisáceo (7B3) y gris-rojizo (7B2), después se forman anillos concéntricos no bien delimitados de color naranja-grisáceo (6B3), naranja-café (6C3), hasta blanquecino en el margen	Algodonosa en el centro y aterciopelada densa en el margen, de crecimiento discontinuo, colonia plana, con algunos pliegues radiales; al final del ensayo el margen presenta micelio muy laxo, con secreciones color café-oscuro (6F8)	Café-oscuro (6F8-9F5) y hacia el margen (6F5) amarillento (5D5)	Se tinte de naranja-grisáceo (5B6)
	EPA	Blanquecina que cambia a blanco-amarillento (4A2)	Aterciopelada cremosa, colonia plana	Bianco amarillento (3A2)	Amarillo-pálido (3A2)
	SAB	Se presenta una gradación de colores desde blanquecino hasta café (6E4) en el centro, blanco-naranja (6A2), formando anillos concéntricos café-claro (6D6), naranja-café (6C5-6), naranja-grisáceo (5B4), beige (4C3), blanco-naranja (3A2) hasta blanco en el margen	Aterciopelada a aterciopelada densa con crecimiento ondulado discontinuo irregular, en forma de pinón y al final en forma redonda, colonia plana, con pliegues radiales muy pronunciados que se marcan de los dos lados	Se forman anillos concéntricos café-oscuro (6F5), café-rojizo (8D7) y margen café-naranja (7C7), se forma un anillo muy delgado negro entre los demás anillos	Se tinte de amarillo claro (4A5) hasta naranja (5A7)
	INO	Blanquecino cambian do a blanco naranja (6A2) y amarillo pálido (4A2), finalmente blanco-naranja (6A2) a blanco rosado (7A2) con tonos naranja-grisáceo (6B6)	De algodónosa densa a algodónosa laxa, colonia muy elevada con pequeñas gotas de exudado color naranja-café (5C5)	Haranja-café (5C5) formando al final anillos concéntricos rojo-opaco (8B3), naranja-grisáceo (6B4), naranja-pálido (3A3) y naranja-grisáceo (5B5) en el margen	Se tinte ligeramente de blanco-amarillento (4A2)
	NNM	La colonia inicia con micelio blanco que cambia a naranja-café (6C4) en el centro y blanquecino en el margen, posteriormente se forman anillos concéntricos naranja-grisáceo (6B4), café (6E4), amarillo-pálido (3A3), gris-naranja (3B2) y blanquecino en el margen	Aterciopelada algodónosa, al final algodónosa en el centro y aterciopelada laxa en el margen, colonia elevada en el centro y plana en el margen	Café (6C7), posteriormente se forman anillos concéntricos café-oscuro (6F6), café-claro (6D6-6D4), naranja-grisáceo (5B4) y blanco-naranja (3A2) en el margen	Se tinte de amarillo pálido (4A4)

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 9	HG	Micelio inicial blanco con algunas partes café-claro, cambiando a blanco-naranja (5A2), naranja-café (5C6) y naranja-grisáceo (5B3) en el margen	Aterciopelada-algodosa a algodonosa en el centro y aterciopelada laxa en el margen, colonia elevada en el centro y micelio aéreo escaso, crecimiento irregular con exudados color café oscuro (6F8)	Café-oscuro (6F9) en el centro, café-amarillento (5E6) hasta naranja-café (5B5) en el margen, finalmente café (5E8), amarillopálido (4A5), más claro (4A3) en el margen	Se tiñe ligeramente de amarillo
	SAB	Bianco cambiando a blanco-naranja (5A2) en el centro y blanco-amarillento (4A2) en el margen, cambiando a naranja-grisáceo (6B3), blanco-naranja (6A2), con tonos grisáceos y algunas partes naranja-grisáceo (5B6)	Inicialmente aterciopelada cambiando a algodonosa densa, colonia elevada y con pliegues radiales	Café-oscuro (6F8) a (6F5) cambiando a negro y café (6C6) en el margen	Amarillo-oro (5B7) a amarillo-rojizo (4A6)
TLAX 10	PDA	Inicia de blanquecino a amarillo-pálido (4A3) y naranja-café (5C3) a blanquecino en el margen, terminando en naranja-café (6C4), café-claro (6D4-6), café-grisáceo (5E3), café-amarillento (5E4), café (6E6) y en ocasiones amarillo pastel (3A4)	Aterciopelada en el centro y al envejecer algodonosa en el margen, crecimiento discontinuo, colonia plana, micelio aéreo escaso, con plegamientos radiales someros, con exudados abundantes color café oscuro (7F8)	Inicia con café-claro (7d6) y termina con la formación de anillos concéntricos café-oscuro (6F7), café (6E7), hasta naranja-claro (3A4)	Se tiñe de amarillo pastel (3A4) hasta amarillo-rojizo (4A7)
	EMA	Naranja-grisáceo (5B3) con tonos blanquecinos, cambiando a gris-café (5C2), naranja-grisáceo (5B3) y finalmente naranja-café (6C3) y naranja-grisáceo (5B3) en el margen	Aterciopelada laxa, ligeramente cremosa micelio aéreo muy escaso, crecimiento irregular, colonia plana, ligeramente ondulada, con pliegues radiales ligeros	Varia desde amarillo-oro (5B7) café amarillento (5F6) cambiando a naranja café (5C3) y naranja-grisáceo (5B3) y finalmente naranja-grisáceo (5B3), café-oscuro (6F5) y naranja-café (5C5)	Se tiñe ligeramente de amarillo-pálido (4A2)
	SAB	La colonia inicia de color blanquecino cambiando a amarillo-claro (6A4) y naranja-grisáceo (5B3), naranja-café (5C3) en el margen, posteriormente se diferencian anillos concéntricos naranja-grisáceo (5B3-5 a 6B3), con el margen blanco	Aterciopelada densa, rugosa, colonia plana con micelio escaso al inicio y abundante al final, ligeramente ondulada, crecimiento irregular con abundantes pliegues radiales bien marcados, con abundantes exudados color café-oscuro (6F8)	Café-oscuro (6F7) y café (6D7) en el margen, cambiando a café-grisáceo (5F3), café-rojizo (8F7), con tonos naranja-café (7C7)	Se tiñe de amarillo claro (4A5) a amarillo-naranja (4A7)

TABLE 2 (CONTINUACIÓN)

CIPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 10	IMO	Micelio inicial blanquecino con tonos café cambiando sólo de color en el centro a naranja-grisáceo (5B3), después a naranja-café (6C3) y por último naranja-café (6C3) y café (6E7) perdurando el margen blanquecino durante todo el crecimiento	Algodonosa, con abundante micelio aéreo, con pliegues radiales, con exudados de color amarillo-claro (4A4)	Café-amarillento (3D3), con tendencia a formar anillos concéntricos café-oscuro (5F7), gris-café (5C2) y blanco-amarillento (4A2), hasta quedar café-oscuro (6F5) y café-claro (6D6)	Se tiñe ligeramente de blanco-amarillento (3A2)
	NNN	Micelio inicial blanquecino, cambiando a naranja-café (5C3) en el centro y naranja-grisáceo (5B4) en el margen, posteriormente naranja-café (5C4-5C5), hasta llegar a café (6D7-6E6)	Aterciopelada lava, colonia plana y en algunas partes se eleva la colonia escasamente	Café-oscuro (6F7) y naranja-café (5C6) posteriormente se forman anillos concéntricos café-oscuro (6F6), café-amarillento (5F5), naranja-grisáceo (5B4) y finalmente café-oscuro (6F6) y café-claro (6D5)	Se tiñe de blanco-amarillento (4A2) a amarillo-claro (4A4)
	HG	Micelio inicial blanquecino a amarillo-grisáceo cambiando a naranja-grisáceo (5B5), (5B4), posteriormente se forman anillos concéntricos naranja-grisáceo (5B4), café-oscuro (2F4), naranja-café (5C3) y naranja-grisáceo (5B4) en el margen	Aterciopelada laxa y ligeramente cremosa, colonia plana con micelio aéreo escaso, crecimiento irregular, ligeramente ondulado	Se forman anillos concéntricos café-oscuro (6F7), café-amarillento (5E4), naranja-café (5C4), (4A3) y finalmente café-oscuro (6F7), café (5E6) y naranja-grisáceo (5B5) el margen	Se tiñe ligeramente de blanco-amarillento (4A2)
	RAF	Micelio inicial blanquecino, naranja-grisáceo (5B3) a blanco-rosado (7A2) con el margen blanquecino, posteriormente se forman anillos concéntricos naranja-grisáceo (5B3-4), naranja-café (5C3), naranja-grisáceo (5B3), gris-dorado (4C2) perdurando el micelio blanquecino en el margen durante todo el crecimiento	Aterciopelada lava a ligeramente algodonosa laxa, al final el centro queda aterciopelado y el margen algodonoso, colonia plana, con micelio aéreo abundante, con pliegues radiales muy marcados, en algunas partes la colonia se eleva	Café-oscuro (6F7) con el margen naranja-grisáceo (5B6) cambiando a café-oscuro y naranja (6B8)	Se tiñe de amarillo-rojizo (4A6)
TLAX 11	PDA	Café-claro y verde blanquecino en el margen, posteriormente forma anillos concéntricos rojo-opaco (8B3) en el centro, amarillo-grisáceo (4B3-4)	Algodonosa densa, micelio abundante, colonia elevada, crecimiento radial homogéneo, con exudados color café (7D7) (7D7)	Formando anillos concéntricos café-rojizo (9F6) en el centro, café-oscuro (7F5), café (7F4), hasta café-grisáceo (7D3)	Se tiñe ligeramente de amarillo-pálido (3A3)

TABLA 2 (CONTINUACIÓN)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 11	EMA	Amarillo-pálido (4R3) y hacia el margen blanco-amarillento (4R2)	Algodonosa laxa, micelio escaso, colonia elevada, radial uniforme	Amarillo-pastel (3A4)	No se tiñe
	SAB	Micelio blanquecino con tonos gris-naranja (5B2), cambia a olivo (3E3) con tonos café (7E4)	Algodonosa densa, micelio abundante, colonia muy elevada	Rojo-grisáceo (9B4) gris-dorado (4C2)	Se tiñe de amarillo claro (4A4)
	IMG	Naranja-café (6C4) en el centro y formando anillos concéntricos café-olivo (4D5) y amarillo grisáceo (4B5) en el margen	Algodonosa laxa a algodonosa densa con la edad, micelio poco abundante, colonia elevada	Se forman anillos concéntricos café-oscuro (6F6), naranja-café (5C6) y café-claro (5D4) en el margen	No se tiñe
	MMH	Micelio blanquecino hasta naranja-café (6C3) y gris-naranja (6B3) hacia el margen	Algodonosa, cambian-do a aterciopelada laxa, micelio escaso, colonia plana a ligeramente elevada	Café-oscuro (6F7) en el centro, café (6E5) y café-claro (6D4) en el margen se forman anillos concéntricos no bien definidos	Se tiñe de café-rosado (8C3)
	MG	Blanquecino a blanco-naranja (3A2), naranja-grisáceo (3B3), café-claro (5D4) hacia el margen, se forman anillos concéntricos no bien definidos	Aterciopelada a algodonosa laxa, micelio escaso, colonia plana a ligeramente elevada	Café-oscuro (6F8) en el centro, café-oscuro (6F6) y café-claro (6D5) en el margen, se forman anillos concéntricos no bien definidos	Se tiñe de naranja-café (3C3)
TLAX 12	PDA	Micelio inicial blanquecino y finalmente blanco-naranja (3A2) y naranja-grisáceo formándose en el centro anillos concéntricos, tonos amarillo-grisáceo (4B4) más claro hacia el margen (4C3)	Algodonosa densa, micelio abundante, colonia ligeramente elevada	Café-oscuro (7F6) con el margen naranja-café (6C7)	Se tiñe de amarillo pálido (3A3)
	EMA	Blanco a blanco-amarillento (4A2), uniforme	Ligeramente algodonosa, micelio aéreo poco abundante, colonia plana a ligeramente elevada	Amarillo-pálido (4A3)	Se tiñe de amarillo pastel (3A4)
	SAB	Micelio inicial blanquecino cambian-do a amarillo-grisáceo (4B4) con el margen amarillo-grisáceo (4C3) con tonos olivo	Algodonosa densa, micelio abundante y compacto, colonia poco elevada, crecimiento irregular, con pliegues radiales que posteriormente se cubre con el mismo micelio que se eleva dando un aspecto algodonoso compacto	Café-rojizo (9F7), café-olivo (4F4), en la parte media café-oscuro (6F7), naranja-café (3C4) y amarillo-claro (4A4) en el margen	Se tiñe de amarillo pastel (3A4)

TABLE 2 (CONTINUACION)

CEPA	MEDIO	COLOR DE LA COLONIA	MORFOLOGÍA Y TEXTURA	COLOR REVERSO	COLOR DEL AGAR
TLAX 12	IMG	Inicialmente blanquecino cambiando a naranja-grisáceo (5B4) en el centro y formando anillos concéntricos naranja-café (5C3) y naranja-grisáceo (5B6) en el margen	Algodonosa, poco densa, micelio aéreo abundante, colonia elevada	Café oscuro (6F7), formando anillos concéntricos café (6E7), naranja-café (6C6) hasta amarillo-café (5C7)	No se tife
	MMH	Blanquecino a blanco amarillento (4A2) en el centro, y margen naranja-grisáceo (5B4)	Aterciopelada a algodonosa laxa, micelio aéreo escaso, colonia plana a poco elevada	Café claro (6D5) con el margen naranja-grisáceo (5B2)	No se tife
	NG	Micelio inicial blanquecino, finalmente en el centro blanco-amarillento (4A2) y naranja claro (5A4) hacia el margen	Aterciopelada-algodonosa laxa, colonia plana con micelio aéreo escaso	Café oscuro (6F7) y café claro (5D6) en el margen	Se tife de café-rosado (8D4)
TLAX 13	PDA	Micelio inicial blanquecino, posteriormente formando anillos concéntricos café-oscuro (6F6) en el centro, naranja grisáceo (5B3), amarillo-claro (5A3) café-amarillo (5F4) en el margen	Algodonosa-aterciopelada laxa, micelio aéreo escaso cuando la colonia es joven, posteriormente micelio aéreo abundante, colonia plana	Café oscuro (7F6) y en el margen café (6E5)	Se tife de naranja-grisáceo (6B4)
	DNA	Micelio inicial blanquecino cambiando a café-claro (6D4) y café-oro (5D6)	Algodonosa-aterciopelada laxa, micelio aéreo escaso, colonia plana a ligeramente elevada	Café (6E5)	Se tife de café-grisáceo (6B4)
	SAB	Micelio inicial blanquecino cambiando a café-oscuro (6F6) en el centro y formando anillos concéntricos café (5F3) y café-amarillento (6E5)	Algodonosa densa, colonia ligeramente elevada a elevada con el tiempo, micelio aéreo abundante	Café (6F5)	Se tife de amarillo pálido (4A3)
	IMG	Micelio inicial blanquecino cambiando a café (6E6) en el centro, con un anillo muy delgado café-rojizo-oscuro (6F5), después anillos concéntricos café-oro (5D6) y café-amarillento (5E6)	Algodonosa laxa, micelio aéreo poco abundante a abundante, colonia ligeramente elevada a elevada	Se forman anillos concéntricos café-rojizo-oscuro (6F5) rojo-grisáceo (7B3) café-olivo (4E5)	No se tife

CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

El micelio de todas las cepas fue septado y de pared delgada, algunas hifas presentaron fíbulas como en el caso de *Pisolithus tinctorius* y *Amanita*, en cambio en el género *Suillus* no existió indicio de fíbulas, presentándose incrustaciones en las hifas, característica que se acentuó en los micelios más viejos. El micelio de *Rhizopogon* presentó pústulas de tamaño irregular y fíbulas escasas.

TLAX 1 y 2

Amanita muscaria

Figuras 4 - 9

Hifas filamentosas de (1.0-) 1.5 - 2.9 μm de diámetro, hialinas en KOH, con pared delgada y lisa, poco ramificadas, septadas, en ocasiones con hinchamientos de la hifa en el septo, cilíndricas, con fíbulas entre el 10 y el 40 % de los septos observados; algunas hifas terminales dicotomizadas, otras con ramificación irregular a partir de un eje principal, en ocasiones divaricada, septadas, con pared gruesa; algunas células moniliformes, globosas o elipsoides de 9.8 - 14.7 X 10.8 - 23.5 μm que en ocasiones forman cadenas; las células que forman la membrana desde globosas, elipsoides o piriformes de 41.2 X 11.8 μm , hifas moniliformes frecuentes de 9.8 - 10.8 μm formando un pseudoparénquima.

TLAX 4

Amanita sp. Sección *Vaginatae*

Figuras 10 - 12

Hifas filamentosas de 1.5 - 2.0 (-3.9) μm de diámetro, hialinas en KOH, con pared delgada y lisa, poco ramificadas, septadas, con fíbulas en el 40 % de los septos observados, algunas hifas con ramificación irregular a partir de un eje principal, septadas y en ocasiones con hifa terminal hinchada; algunas células moniliformes, globosas o elipsoides de 9.8 - 14.7 X 19.5 - 23.5 μm , las células de la membrana son desde globosas, elipsoides o piriformes de 41.2 X 11.8 μm , presentándose también hifas moniliformes 9.8 - 10.8 μm formando un pseudoparénquima.

TLAX 3
Rhizopogon sp.
Figuras 13 - 18

Hifas filamentosas de (1.5-) 2.0 - 4.4 (5.9) μm de diámetro, ramificación divaricada o muy escasamente a partir de un eje principal, hialinas, con pared delgada, con pústulas de tamaño irregular, septos escasos, fibulas entre el 5 y el 10 % de los septos observados; micelio sumergido en el agar con hifas tortuosas; células moniliformes de (3.1-) 4.7 - 5.5 (-9.4) μm con las puntas adelgazadas; vesículas intercalares y terminales de 6.2 - 17.9 μm de diámetro.

TLAX 5 y 10
Suillus granulatus
Figuras 19 - 22

Presenta hifas filamentosas de hialinas a café amarillento en KOH, de (1.0-) 2.0 - 2.9 (-5.9) μm de diámetro, con pared delgada, septadas, algunas sinuosas, otras con terminaciones ensanchadas; en ocasiones con grandes vesículas terminales, intercalares o en la base de las ramificaciones, de 13.7 - 19.6 X 7.8 - 12.7 μm , con abundantes papilas grandes y gruesas que dan la apariencia de costras y abundantes verrugas.

TLAX 9
Suillus tomentosus
Figuras 23 -27

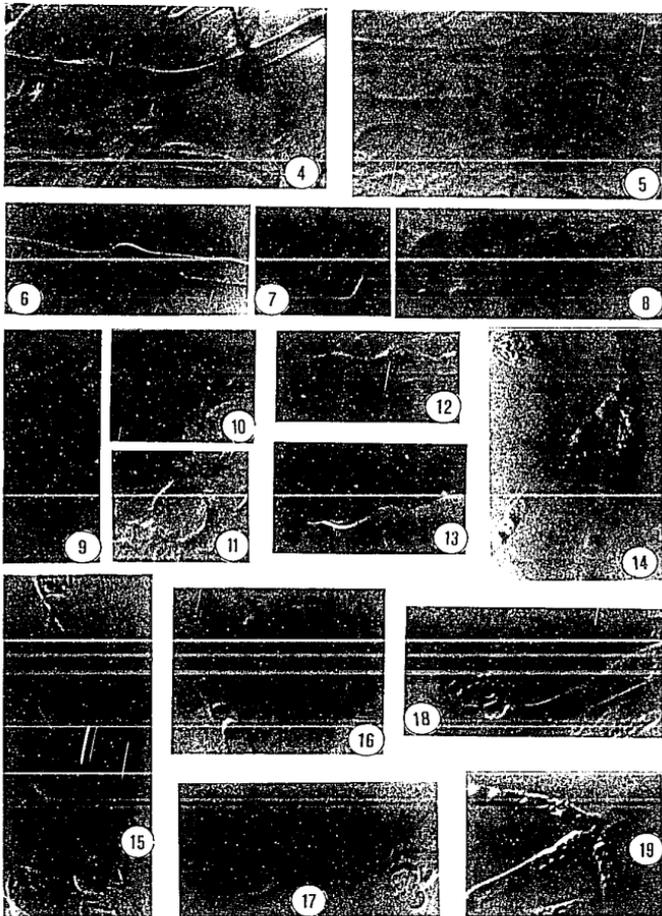
Hifas filamentosas de (2.0-) 2.4 - 2.9 (-4.9) μm de diámetro, hialinas en KOH a café amarillento, con pared delgada, septadas, algunas sinuosas, otras con terminaciones ensanchadas; en ocasiones con grandes vesículas terminales e intercalares de 13.7 - 19.6 X 7.8 - 12.7 μm ; hifas dendríticas escasas; con abundantes verrugas y papilas grandes.

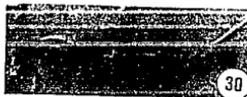
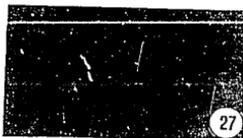
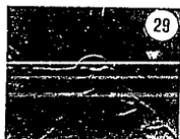
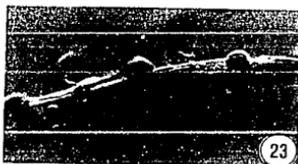
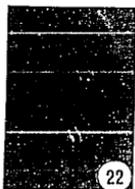
TLAX 11, 12 y 13
Pisolithus tinctorius
Figuras 28 - 31

Hifas de 2.9 - 3.9 (-4.9) μm de diámetro, desde hialinas a amarillo claro hasta amarillo café en KOH, con pared delgada y lisa a ligeramente engrosada, ramificadas en ángulo recto o divaricadas, con septos que en ocasiones se encuentran ensanchados, con abundantes fibulas abultadas; en ocasiones se encuentran hifas ornamentadas con pequeñas verrugas; las hifas sumergidas son de la misma forma y tamaño que las aéreas pero a veces muy apretadas y/o sinuosas.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Amanita muscaria.** Figuras 4 - 9. (4) Ramificación divaricada 1250 X. (5) Membrana formando pseudoparénquima 1250 X. (6) Hinchamiento de la hifa en el septo 1250 X. (7) Vesícula terminal 1250 X. (8) Células globosas a elípticas formando cadenas 1250 X. (9) Hifas tortuosas 1250 X.
- Amanita sp. Sección Vaginatae.** Figuras 10 - 12. (10) Célula globosa 1250 X. (11) Hifa terminal hinchada 1250 X. (12) Células globosas a elípticas formando cadenas 1250 X.
- Rhizopogon sp.** Figuras 13 - 18. (13) Hifas moniliformes con la punta adelgazada 1250 X. (14) Ramificación divaricada 1250 X. (15) Células globosas a elípticas formando cadenas 1250 X. (16) Hifas con pústulas de tamaño irregular y célula globosa 1250 X. (17) Hifas tortuosas 1250 X. (18) Vesícula intercalar 1250 X.
- Suillus granulatus.** Figuras 19 - 22. (19) Ramificación 1250 X. (20) Hifas con papilas y verrugas 1250 X. (21) Hifas con verrugas 1250 X. (22) Hifa moniliforme 1250 X.
- Suillus tomentosus.** Figuras 23 - 27. (23) Hifas con verrugas y papilas 1250 X. (24) Hifas sinuosas 1250 X. (25) Hifas dendríticas 1250 X. (26) Vesículas intercalares 1250 X. (27) Ramificación de las hifas 1250 X.
- Pisolithus tinctorius.** Figuras 28 - 31. (28) Hifas sinuosas 1250 X. (29) Hifas fibuladas 1250 X. (30) Hifas con incrustaciones piramidales 1250 X. (31) Ramificación con septos ensanchados 1250 X.





PRUEBAS DE CRECIMIENTO

DIÁMETRO FINAL

En la Tabla 3 se muestran los resultados de diámetro final de las colonias. Las pruebas estadísticas elaboradas con los resultados obtenidos del diámetro final, indican que no existen diferencias estadísticas ($P = 95$ y 99%) en el comportamiento de las cepas pertenecientes a un mismo género, sin embargo, 2 cepas de *Amanita muscaria* y 1 de *Pisolithus tinctorius* no crecieron en los medios de MNM y HG. En cuanto a los medios de cultivo, la prueba de rango múltiple de Tukey indicó que 4 medios favorecen en mayor proporción el crecimiento radial de las cepas siendo éstos el PDA, SAB, ING y BAF; sólo en la cepa TLAX 12 el mayor diámetro se registró en MNM.

En 1 cepa de *Amanita muscaria* (TLAX 1) al inició de las pruebas se presentó un crecimiento lento en todos los medios (Gráfica 1), el análisis de varianza indicó que no se presentaron diferencias significativas entre los crecimientos en los diferentes medios. En los medios de MNM y HG no se presentó crecimiento. La cepa TLAX 2 únicamente creció en el medio de Sabouraud (Gráfica 2) alcanzando un diámetro de 15.7 mm. La cepa de *Amanita* sp. Sección *Vaginatae* (TLAX 4) (Gráfica 3) tuvo su mayor crecimiento en el SAB (32.3 mm) presentándose diferencias significativas en los valores de diámetro final (Tabla 3) respecto al MNM (7.3 mm), ING (8.7 mm), HG (9.0) y PDA (10.7), los que tuvieron un diámetro final menor; el EMA y BAF tuvieron valores intermedios. Este ensayo duró 42 días. Debido a que las cepas no crecieron en todos los medios o que el medio nutritivo de algunas cajas de Petri se contaminó, en estas pruebas el análisis de varianza simple solo se efectuó con 3 repeticiones y no se realizó análisis de varianza bifactorial.

La cepa de *Rhizopogon* sp. (TLAX 3) tardó de 12 a 20 días en iniciar su crecimiento (Gráfica 4), presentando un patrón similar en todos los medios, pero al terminar el ensayo el PDA fue en el que se dió el mayor diámetro final, alcanzando hasta 61.2 mm (Tabla 3) y presentando diferencias significativas respecto a los demás medios, le siguieron los diámetros obtenidos en el BAF (41.8 mm), el SAB (41.0 mm) y el EMA (39.2 mm), con valores intermedios; la cepa presentó un crecimiento lento en los medios de ING (29.4 mm), MNM (31.8), y HG (32.6 mm). Esta cepa se observó durante 58 días.

Para la cepa de *Suillus granulatus* (TLAX 5) los medios donde crecieron mejor las colonias fueron el PDA (62.6 mm), ING (56.4 mm), SAB (51.6 mm), y BAF (48.6 mm); el diámetro intermedio se presentó en el medio de HG y los medios de SAB y BAF no presentaron diferencias significativas con éste; los diámetros menores se obtuvieron en los medios de EMA y MNM que presentaron

TABLA 3. DIÁMETRO FINAL (mm) DE LAS CEPAS EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

CEPA	PDA	ENA	SAB	ING	MMH	HC	RAF
*TLAX 1 *	16.7 σ=6.6	17.9 σ=8.2	35.7 σ=10.8	21.7 σ=13.3	δ	δ	17.9 σ=2.6
*TLAX 2	δ	δ	13.7 σ=1.53	δ	δ	δ	δ
*TLAX 4	19.7 σ=3.8 (c)	18.9 σ=8.2 (b)	32.3 σ=5.0 (a)	8.7 σ=2.1 (c)	7.3 σ=1.5 (c)	9.9 σ=2.6 (c)	22.3 σ=3.5 (b)
Promedio de las cepas ANURABIF	δ	δ	δ	δ	δ	δ	δ
*TLAX 3	61.2 σ=8.2 (a)	39.2 σ=4.2 (b)	41.0 σ=8.4 (b)	29.4 σ=12.7 (c)	31.8 σ=9.4 (c)	32.6 σ=5.1 (c)	41.8 σ=9.0 (b)
*TLAX 5	62.6 σ=6.6 (a)	33.8 σ=3.4 (c)	51.6 σ=4.7 (ab)	56.4 σ=5.5 (a)	29.8 σ=3.0 (c)	43.2 σ=3.1 (b)	49.6 σ=2.6 (ab)
*TLAX 9	63.2 σ=3.8 (a)	27.2 σ=1.9 (c)	62.3 σ=4.8 (a)	62.5 σ=2.3 (a)	34.3 σ=7.8 (c)	41.7 σ=1.5 (b)	57.9 σ=1.3 (a)
*TLAX 10	62.0 σ=3.7 (a)	27.8 σ=1.9 (d)	64.2 σ=3.2 (a)	53.8 σ=0.8 (b)	42.2 σ=1.3 (c)	39.3 σ=0.3 (c)	61.2 σ=3.2 (a)
Promedio de las cepas ANURABIF	62.6 σ=0.6 (a)	29.6 σ=3.7 (c)	59.4 σ=6.8 (a)	57.6 σ=4.5 (a)	32.4 σ=10.8 (c)	49.7 σ=1.2 (b)	55.6 σ=0.4 (ab)
*TLAX 11	83.2 σ=1.4 (a)	29.5 σ=2.3 (c)	83.0 σ=12.2 (a)	84.0 σ=5.5 (a)	49.0 σ=1.9 (b)	39.0 σ=4.4 (b)	---
*TLAX 12	53.6 σ=4.1 (a)	33.2 σ=4.9 (c)	35.8 σ=2.5 (c)	55.2 σ=1.2 (a)	58.9 σ=1.8 (a)	44.2 σ=1.1 (b)	---
*TLAX 13	69.6 σ=0.9 (a)	41.6 σ=3.4 (b)	41.4 σ=4.5 (b)	61.2 σ=17.7 (a)	δ	δ	---
Promedio de las cepas ANURABIF	60.8 σ=14.8 (a)	31.4 σ=10.6 (b)	53.4 σ=25.8 (a)	66.8 σ=15.2 (a)	δ	δ	δ

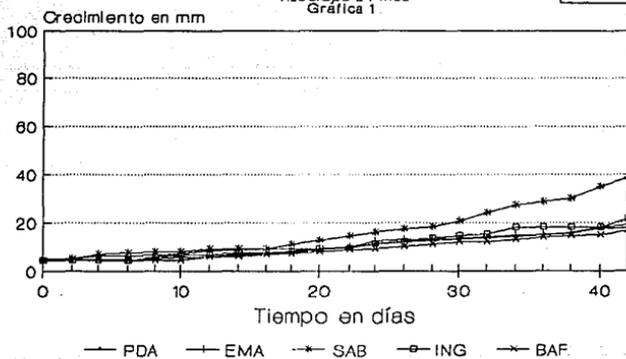
- δ Promedio de 3 repeticiones
- x Promedio de 5 repeticiones
- δ No se obtuvo crecimiento
- δ No se efectuó ANURABIF
- Entre cepas del mismo género no hay diferencias significativas (P=0.01)
- Letras iguales no hay diferencias significativas (P=0.01)
- para medios de cultivo de acuerdo con la Prueba de Tukey
- * No hay diferencias significativas entre medios de cultivo (P=0.01)
- σ Desviación estándar

Amanita muscaria

Ceпа procedente de la Malintzi

Asociado a *Pinus*
Gráfica 1.

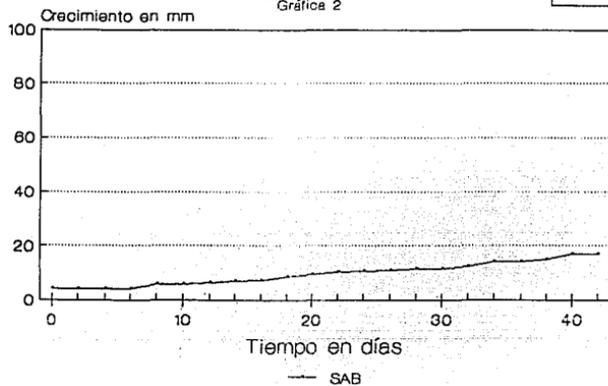
TLAX 1



Amanita muscaria
Cepa procedente de la Malintzi

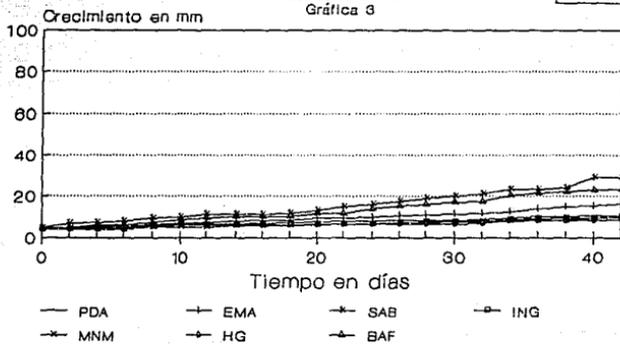
Asociado a *Pinus*
Gráfica 2

TLAX 2



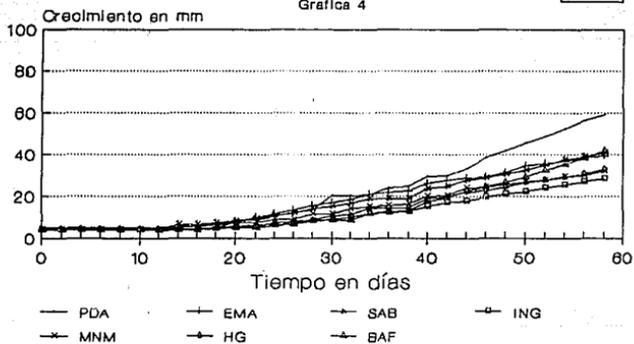
Amanita sp.
Cepa procedente de Terrenate
Asociación mixta
Gráfica 3

TLAX 4



Rhizopogon sp.
Cepa procedente de la Malintzi
Asociado a Pinus
Gráfica 4

TLAX 3



diferencias significativas con los demás grupos (Tabla 3); en la cepa TLAX 10 los medios donde se obtuvieron mayores diámetros finales fueron SAB (64.2 mm), PDA (62.6 mm) y BAF (61.2 mm); el ING (53.8 mm) presentó un diámetro intermedio, siguiéndole los crecimientos en los medios de MNM (42.2 mm) y HG (38.2 mm) con un crecimiento lento; en el EMA (27.8 mm) se presentó el menor diámetro presentándose diferencias significativas entre los diferentes grupos mencionados. Para el caso de *Suillus tomentosus* (TLAX 9) los medios en los que se obtuvo un diámetro mayor fueron PDA (63.2 mm), ING (62.5 mm) SAB (62.3 mm) y BAF (57.0 mm) siendo significativamente diferentes con los demás; el diámetro en el HG (41.7 mm) fue intermedio y con diferencias estadísticas respecto a los otros medios; las colonias más pequeñas se presentaron en los medios de MNM (34.3 mm) y EMA (27.2 mm) siendo significativamente diferentes de los demás grupos.

De acuerdo con el análisis de varianza bifactorial, todas las cepas de *Suillus* se comportaron de manera similar y no se encontraron diferencias significativas entre ellas. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas en los crecimientos radiales de cada medio de cultivo, resultando los diámetros finales más grandes en PDA (62.6 mm), SAB (59.4 mm), ING (57.6 mm) y BAF (55.6 mm); los crecimientos radiales intermedios se dieron en HG (40.7 mm) y BAF quedando este último con crecimiento similar con el primer y segundo grupo; y los más bajos en EMA (29.6 mm) y MNM (32.4 mm).

En las Gráficas 5 y 6 se observa un periodo de adaptación a los medios cuando son transferidos a cajas nuevas. En el caso de la cepa TLAX 5 este periodo puede variar entre 8 y 26 días dependiendo del medio utilizado, siendo el MNM en donde el inicio de crecimiento se retardó más. La cepa TLAX 10 tardó en iniciar su crecimiento de 4 a 6 días en ING y de 10 a 12 días en los demás medios; mientras que la TLAX 9 inició su desarrollo desde los primeros días en que fue sembrada (Gráfica 7). No obstante, una vez que los micelios comienzan a invadir los medios, las cepas TLAX 5 y 10 tienen una rapidez de crecimiento promedio mayor que la cepa TLAX 9 en los medios de PDA, SAB, HG y BAF (Tabla 5), por lo que al final del crecimiento los diámetros coloniales que se producen en estos medios son similares (Tabla 3). Este ensayo duró 36 días.

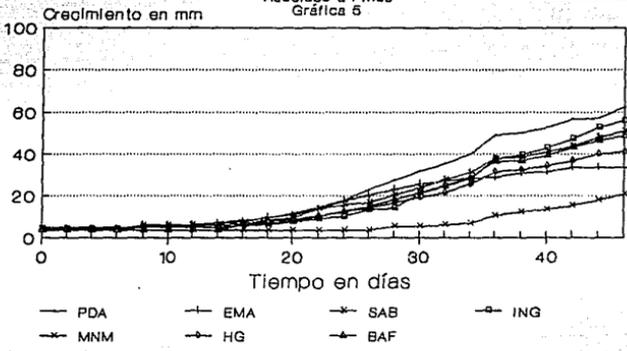
Para las cepas de *Pisolithus tinctorius* (TLAX 11, 12 y 13), el medio donde hubo un desarrollo mayor en los primeros 20 días fue el ING. En la cepa TLAX 11 (Gráfica 8) los medios en los que se presentaron los mayores diámetros sin existir diferencias significativas entre ellos fueron ING, PDA y SAB (83.0 - 84.0 mm), presentando diferencias significativas (Tabla 3) con los otros dos grupos. En EMA (20.5 mm) se obtuvo el crecimiento menor, presentando un crecimiento significativamente menor. La cepa TLAX 12 (Gráfica 9) creció mejor en los medios de MNM (58.0 mm), ING (55.2 mm) y PDA (53.6 mm); siguiéndole el HG (44.2 mm) que fue significativamente diferente y los menores crecimientos se

Suillus granulatus

Cepa procedente de Tepeticpac

TLAX 6

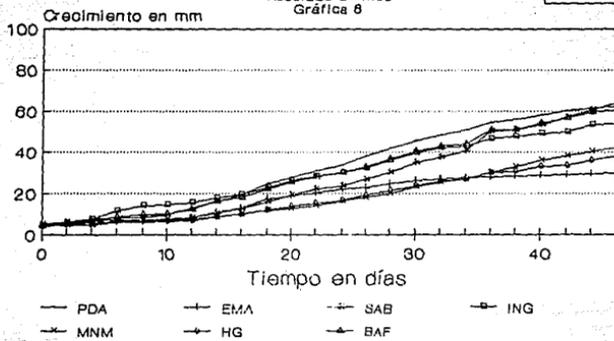
Asociado a *Pinus*
Gráfica 5



Suillus granulatus
Cepa procedente de Tepeticpac

Asociado a *Pinus*
Gráfica 8

TLAX 10



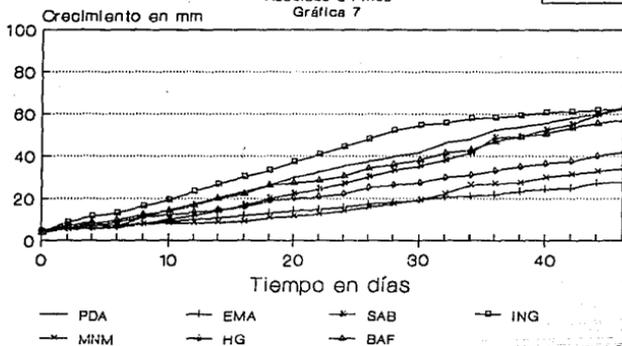
Suillus tomentosus

Cepa procedente de la Malintzi

Asociado a *Pinus*

Gráfica 7

TLAX 8



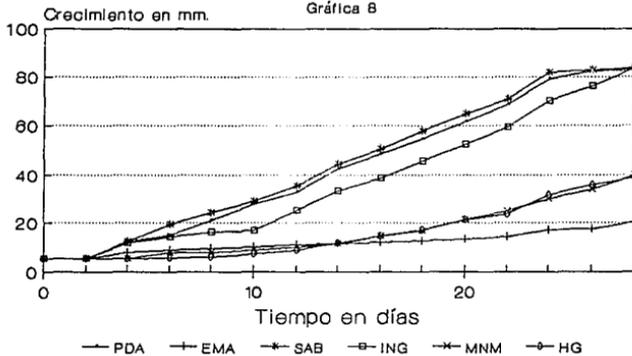
Pisolithus tinctorius

Cepa procedente de Oaxaca

Asociado a *Juglans*

Gráfica 8

TLAX 11



obtuvieron en los medios de SAB (35.8 mm) y EMA (33.2 mm) presentándose diferencias significativas entre los 3 grupos. La cepa TLAX 13 (Gráfica 10) no creció en los medios de MNM y HG, siendo los medios en que creció mejor el PDA (69.6 mm) y el ING (61.2 mm), presentando diferencias significativas con EMA (41.6 mm) y SAB (41.4 mm).

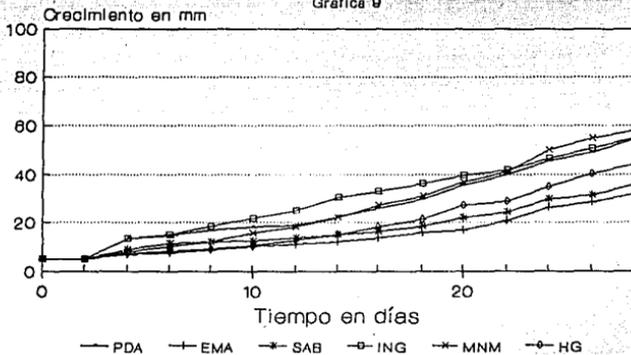
El análisis de varianza bifactorial sólo se efectuó con los resultados de los crecimientos en PDA, EMA, SAB e ING, pues la cepa TLAX 13 no creció en el resto de los medios. Las colonias crecidas en PDA (68.8 mm), ING (66.8 mm) y SAB (53.4 mm) fueron las que alcanzaron mayor diámetro, sin embargo, en EMA su crecimiento fue muy escaso presentando diferencias significativas con los valores obtenidos en los demás medios.

Pisolithus tinctorius

Cepa procedente de E.U.

TLAX 12

Gráfica 9



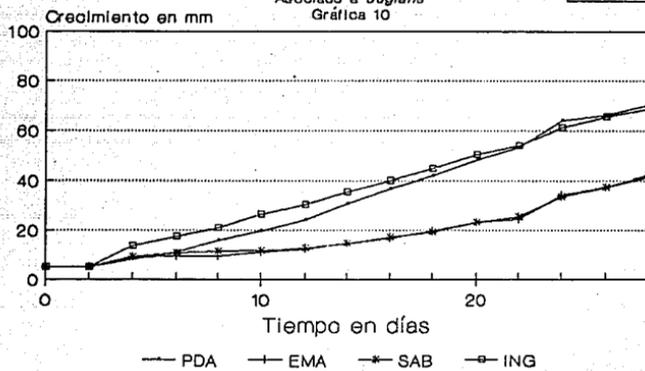
Pisolithus tinctorius

Cepa procedente de Oaxaca

Asociado a *Juglans*

Gráfica 10

TLAX 15



RAPIDEZ DE CRECIMIENTO

Se elaboraron 57 curvas de crecimiento, de las cuales 34 presentaron mayor índice de correlación al hacer el ajuste al modelo exponencial y 23 con el modelo lineal. Cabe señalar que los índices de los modelos lineales y exponenciales de todos los juegos de datos son muy semejantes y muy cercanos a la unidad, lo que indica que el ajuste a estos modelos es bastante aceptable. Para todos los casos, se tomó la pendiente del modelo lineal para obtener la rapidez media de crecimiento (Tabla 4). Para verificar si existían diferencias significativas en la rapidez media de crecimiento entre los diferentes medios se efectuaron análisis de varianza simple para las cepas de *Amanita* y *Rhizopogon*. Para detectar diferencias significativas en la rapidez media de crecimiento entre las cepas de un mismo género y los medios en los que se cultivaron, se realizaron análisis de varianza simple y bifactorial para las cepas de *Suillus* y *Pisolithus*.

En *Amanita*, la cepa TLAX 1 creció más rápido en el SAB registrándose tasas de crecimiento de 0.844 mm/día, obteniéndose diferencias significativas con los demás grupos, los medios donde se presentó la menor rapidez de crecimiento fueron BAF y PDA (0.347 - 0.328 mm/día) siendo significativamente diferentes a los valores de otros medios; la cepa TLAX 2 sólo creció en SAB teniendo una rapidez de 0.317 mm/día. En la cepa TLAX 4 se observó que el medio donde se obtuvo mayor rapidez de crecimiento fue SAB (0.620 mm/día), los valores de rapidez en los medios de BAF y EMA (0.425 - 0.312 mm/día) presentaron diferencias significativas con el SAB y con los medios donde se presentó una baja rapidez de crecimiento: MNM, ING, PDA y HG (0.178 - 0.113 mm/día) (Tabla 5).

Para la cepa de *Rhizopogon* se observó mayor rapidez en el medio de PDA (0.943 mm/día), siguiéndole el BAF, SAB y EMA (0.644 - 0.698 mm/día) presentando diferencias significativas con el primero y con los valores de rapidez más bajos 0.477 - 0.546 mm/día (ING, MNM y HG) (Tabla 5).

En el análisis de varianza simple se observó que la cepa TLAX 5 (*Suillus*) creció más rápido en los medios de PDA, ING, SAB y BAF (1.043 - 1.391 mm/día), los medios que le siguen son HG y EMA (0.815 - 0.855 mm/día) presentando diferencias significativas con el primer grupo y con el MNM que proporcionó la menor rapidez (0.120 mm/día). La mayor rapidez de la cepa TLAX 9 se obtuvo en los medios de ING, PDA, SAB y BAF (1.184 - 1.372 mm/día), siguiéndole los crecimientos en HG y MNM (0.646 - 0.791 mm/día) que presentaron diferencias significativas con los grupos de rapidez antes mencionados y la registrada en EMA (0.531 mm/día). En la cepa TLAX 10 la mayor rapidez se obtuvo en los medios de PDA, SAB y BAF (1.343 - 1.436 mm/día) presentando diferencias significativas con los demás grupos, siguiéndole la rapidez en el medio de ING (1.156 mm/día) y los valores más bajos se presentaron en los medios de MNM, HG y EMA (0.638 - 0.854 mm/día) (Tabla 5).

TABLA 4.
VALORES DE r EN LOS DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

CEPA	MODELO	MEDIOS DE CULTIVO						
		PDA	EMA	SAB	ING	MMN	HG	BAF
TLAX 1	LIN	0.984	0.984	0.963	0.980	---	---	0.989*
	EXP	0.988*	0.990*	0.990*	0.991*	---	---	0.988
	LOG	0.831	0.863	0.787	0.825	---	---	0.844
TLAX 2	LIN	---	---	0.989*	---	---	---	---
	EXP	---	---	0.985	---	---	---	---
	LOG	---	---	0.862	---	---	---	---
TLAX 4	LIN	0.984*	0.987	0.982	0.973*	0.987	0.953*	0.989*
	EXP	0.969	0.993*	0.985*	0.963	0.989*	0.940	0.987
	LOG	0.903	0.862	0.850	0.876	0.863	0.876	0.837
TLAX 3	LIN	0.946	0.979*	0.973	0.948	0.967	0.953	0.910
	EXP	0.984*	0.978	0.988*	0.983*	0.979*	0.980*	0.972*
	LOG	0.730	0.796	0.783	0.731	0.769	0.740	0.677
TLAX 5	LIN	0.953	0.967	0.952	0.913	0.916	0.946	0.940
	EXP	0.982*	0.988*	0.988*	0.976*	0.968*	0.989*	0.977*
	LOG	0.750	0.776	0.752	0.690	0.573	0.746	0.727
TLAX 9	LIN	0.998*	0.999*	0.989*	0.983*	0.973	0.997*	0.999*
	EXP	0.955	0.973	0.981	0.910	0.983*	0.966	0.946
	LOG	0.893	0.894	0.840	0.932	0.608	0.893	0.900
TLAX 10	LIN	0.991*	0.972*	0.977	0.997*	0.967	0.984	0.994*
	EXP	0.966	0.939	0.989*	0.951	0.994*	0.988*	0.972
	LOG	0.867	0.895	0.721	0.897	0.783	0.825	0.862
TLAX 11	LIN	0.994*	0.920	0.995	0.981*	0.942	0.937	---
	EXP	0.857	0.973*	0.944*	0.980	0.991*	0.980*	---
	LOG	0.893	0.871	0.963	0.844	0.765	0.749	---
TLAX 12	LIN	0.980*	0.956	0.972	0.997*	0.980	0.948	---
	EXP	0.959	0.995*	0.978*	0.939	0.990*	0.996*	---
	LOG	0.866	0.983	0.850	0.921	0.840	0.785	---
TLAX 13	LIN	0.990*	0.952	0.954	0.998*	---	---	---
	EXP	0.977	0.988*	0.984*	0.940	---	---	---
	LOG	0.867	0.797	0.807	0.914	---	---	---

LIN = Modelo lineal
 EXP = Modelo exponencial
 LOG = Modelo logístico
 * Modelo en el que la r fue más alta

TABLA 5.
 RAPIDEZ MEDIA DE CRECIMIENTO $\mu\mu/\text{día}$
 DE LAS CEPAS CRECIDAS
 EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

CEPA	PDA	DPA	SAB	ING	MMI	HC	BAF
◁ TLAX 1	0.328 $\sigma=0.203$ (c)	0.411 $\sigma=0.085$ (b)	0.844 $\sigma=0.182$ (a)	0.378 $\sigma=0.282$ (b)	§	§	0.347 $\sigma=0.400$ (c)
◁ TLAX 2	§	§	0.317 $\sigma=0.031$	§	§	§	§
◁ TLAX 4	0.146 $\sigma=0.084$ (c)	0.312 $\sigma=0.214$ (b)	0.628 $\sigma=0.048$ (a)	0.167 $\sigma=0.083$ (c)	0.178 $\sigma=0.094$ (c)	0.113 $\sigma=0.372$ (c)	0.425 $\sigma=0.133$ (b)
× TLAX 3	0.943 $\sigma=0.084$ (a)	0.698 $\sigma=0.214$ (b)	0.669 $\sigma=0.048$ (b)	0.477 $\sigma=0.083$ (c)	0.512 $\sigma=0.094$ (c)	0.546 $\sigma=0.372$ (c)	0.644 $\sigma=0.133$ (b)
× TLAX 5	1.391 $\sigma=0.222$ (a)	0.815 $\sigma=0.067$ (b)	1.082 $\sigma=0.084$ (a)	1.152 $\sigma=0.211$ (a)	0.294 $\sigma=0.120$ (c)	0.855 $\sigma=0.349$ (b)	1.043 $\sigma=0.079$ (a)
× TLAX 9	1.344 $\sigma=0.023$ (a)	0.531 $\sigma=0.046$ (c)	1.328 $\sigma=0.116$ (a)	1.372 $\sigma=0.046$ (a)	0.646 $\sigma=0.191$ (b)	0.791 $\sigma=0.038$ (b)	1.184 $\sigma=0.084$ (a)
× TLAX 10	1.436 $\sigma=0.100$ (a)	0.638 $\sigma=0.047$ (c)	1.378 $\sigma=0.091$ (a)	1.156 $\sigma=0.031$ (b)	0.854 $\sigma=0.030$ (c)	0.705 $\sigma=0.140$ (c)	1.343 $\sigma=0.051$ (a)
Promedio de las cepas ANAUBAF	1.398 $\sigma=0.046$ (a)	0.661 $\sigma=0.143$ (c)	1.262 $\sigma=0.158$ (a)	1.227 $\sigma=0.126$ (c)	0.598 $\sigma=0.203$ (c)	0.818 $\sigma=0.038$ (b)	1.190 $\sigma=0.150$ (a)
× TLAX 11	3.162 $\sigma=0.203$ (a)	0.468 $\sigma=0.078$ (d)	3.197 $\sigma=0.176$ (a)	2.871 $\sigma=0.167$ (c)	1.197 $\sigma=0.135$ (c)	1.217 $\sigma=0.094$ (c)	λ
× TLAX 12	1.672 $\sigma=0.155$ (b)	0.972 $\sigma=0.184$ (c)	0.997 $\sigma=0.050$ (bc)	1.798 $\sigma=0.145$ (a)	2.155 $\sigma=0.461$ (a)	1.399 $\sigma=0.114$ (b)	λ
× TLAX 13	2.528 $\sigma=0.049$ (a)	1.251 $\sigma=0.109$ (b)	1.287 $\sigma=0.175$ (b)	2.367 $\sigma=0.089$ (a)	§	§	λ
Promedio # de las cepas ANAUBAF	2.451 $\sigma=0.747$	0.897 $\sigma=0.397$	1.888 $\sigma=1.214$	1.787 $\sigma=0.585$	#	#	#

- ◁ Promedio de 3 repeticiones
- × Promedio de 5 repeticiones
- # No se obtuvo crecimiento
- § No se efectuó el ANAUBAF
- λ No se efectuó la prueba
- σ Desviación estándar
- Rápidez ajustada al modelo de crecimiento lineal
- # No hay diferencias significativas entre tratamientos (P=0.01)
- Entre cepas del mismo género no hay diferencias significativas (P=0.01)
- Letras iguales no hay diferencias significativas (P=0.01), de acuerdo a la Prueba de Tukey

En el análisis de varianza bifactorial no se encontraron diferencias significativas entre los valores de rapidez de las cepas de *Suillus*, no obstante, se observó una rapidez similar en los medios PDA, SAB, ING, y BAF (1.191 a 1.388 mm/día) presentando diferencias significativas con los demás medios, en el MNM y EMA se dió una rapidez menor que va desde 0.610 hasta 0.661 mm/día (Tabla 5).

Para las cepas de *Pisolithus tinctorius* se observó en el análisis de varianza simple que los medios donde se obtuvo mayor rapidez de crecimiento para la cepa TLAX 11 fueron el SAB y el PDA (3.162 - 3.197 mm/día); siguiéndole el crecimiento en ING (2.871 mm/día) que presentó diferencias significativas con el primer y los últimos grupos; los crecimientos en HG y MNM fueron menos rápidos (1.197 - 1.217 mm/día); y el medio donde se obtuvo un crecimiento muy lento fue el EMA (0.468 mm/día) presentándose diferencias significativas entre los diferentes grupos mencionados. La cepa TLAX 12 su mayor rapidez la obtuvo en el medio de MNM (2.155 mm/día); le siguen los crecimientos en los medios de PDA, HG, ING y SAB (0.997 - 1.672 mm/día) presentando diferencias significativas con los otros grupos, menos el crecimiento en el SAB que presentó similitud con el crecimiento en el EMA (0.972 mm/día). La cepa TLAX 13 presentó mayor rapidez en los medios de PDA e ING (2.367 - 2.520 mm/día) que presentaron diferencias significativas con EMA y SAB (1.251 - 1.207 mm/día) (Tabla 5).

En el análisis de varianza bifactorial no se presentaron diferencias significativas entre las 3 cepas y entre los 4 medios analizados (Tabla 5).

PRODUCCIÓN DE BIOMASA

En cuanto a la biomasa micelial la cepa TLAX 1 de *Amanita* (Tabla 6 y Gráfica 11) produjo la mayor cantidad en el SAB (281.4 mg) siendo significativamente diferente con los valores de biomasa obtenidos en los demás grupos; siguiéndole el ING (52.3 mg), el BAF (50.4 mg), el PDA (33.3 mg) y el EMA (19.9 mg). Para la cepa TLAX 2 sólo se presentó crecimiento en el SAB con 75.1 mg de biomasa. La cepa TLAX 4 produjo la mayor cantidad de biomasa en el SAB (213.1 mg), seguido por el valor alcanzado en BAF (133.1 mg) presentándose diferencias significativas entre estos datos. En los medios de MNM, PDA, ING, EMA y HG la producción de biomasa fue muy escasa (15.3 - 29.4 mm).

El medio de cultivo donde se obtuvo mayor cantidad de biomasa para la cepa de *Rhizopogon* (TLAX 3) (Tabla 6 y Gráfica 12) fue el BAF (91.5 mg) seguido por el PDA (78.5 mg) y el SAB (76.0 mg), existiendo diferencias significativas entre estos grupos, las biomásas más pobres se obtuvieron en los medios de ING (35.6 mg) y MNM (28.6 mg) presentando diferencias significativas con los demás medios.

La cepa TLAX 5 de *Suillus* (Tabla 6 y Gráfica 13) produjo mayor biomasa en el SAB (196.5 mg) siguiéndole el BAF (152.9 mg) y el PDA (179.2 mg) no encontrándose diferencias significativas entre las biomásas producidas entre estos medios, el BAF y el PDA son similares con el ING (118 mg), sin embargo, éste último presentó diferencias significativas con el SAB. Los medios menos favorables para el crecimiento de la misma cepa fueron EMA (41.1 mg), HG (21.5 mg) y MNM (14.6 mg) siendo significativamente diferentes con los demás grupos. Para la cepa TLAX 9 el medio donde creció mejor fue el SAB (329.8 mg) presentando diferencias significativas con los demás grupos, siguiéndole el BAF (251.6 mg) que también presentó diferencias significativas con todos los demás medios. En PDA (153.1 mg) e ING (111.0 mg) se obtuvieron cantidades similares de micelio. La menor cantidad de biomasa se produjo en el MNM (57.8 mg) HG (27.8 mg) y EMA (15.2 mg). La cepa TLAX 10 presentó la mayor biomasa en el SAB (232.0 mg), siguiéndole el BAF (172.2 mg) y PDA (140.0 mg) que presentaron diferencias significativas con el primer valor de biomasa. Los medios menos favorables para la producción de biomasa fueron el ING (85.2 mg), MNM (52.0 mmg), EMA (21.0 mg) y HG (20.7 mg).

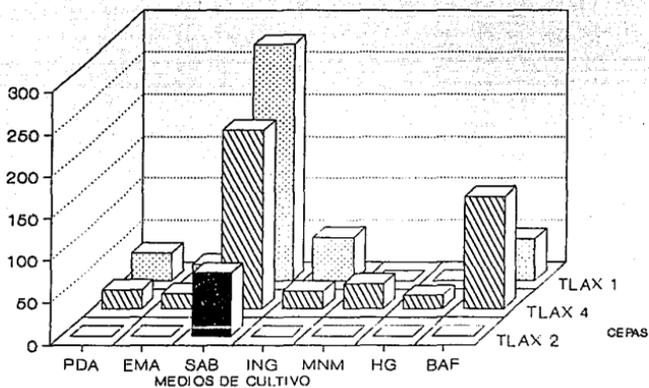
El análisis de varianza bifactorial indicó que el medio donde se produjo mayor biomasa de las cepas de *Suillus* fue el SAB (252.7 mg). Las biomásas producidas en el BAF (192.2 mg), PDA (157.4 mg) e ING (104.7 mg) presentaron diferencias significativas con los demás grupos. En los medios de MNM (41.5 mg), EMA (25.7 mg) y HG (23.2 mg) la producción de biomasa fue más pobre.

TABLA 6. BIOMASA (mg) DE LAS CEPAS CRECIDAS EN DIFERENTES MEDIOS NUTRITIVOS

CEPA	PDA	EMA	SAB	IMG	PMN	HG	BAF
*TLAX 1	33.3 $\sigma=15.1$ (b)	19.9 $\sigma=3.1$ (b)	281.4 $\sigma=32.4$ (a)	52.3 $\sigma=34.9$ (b)	§	§	59.4 $\sigma=8.5$ (b)
*TLAX 2	§	§	75.1 $\sigma=16.13$	§	§	§	§
*TLAX 4	22.1 $\sigma=8.7$ (c)	17.7 $\sigma=7.6$ (c)	213.1 $\sigma=56.9$ (a)	20.3 $\sigma=7.5$ (c)	29.4 $\sigma=22.6$ (c)	15.3 $\sigma=1.7$ (c)	133.1 $\sigma=30.6$ (b)
Promedio de las cepas ANAUBIF	§	§	§	§	§	§	§
*TLAX 3	78.5 $\sigma=16.7$ (b)	43.3 $\sigma=8.7$ (c)	76.0 $\sigma=21.2$ (b)	35.6 $\sigma=15.2$ (c)	28.6 $\sigma=8.3$ (c)	47.2 $\sigma=6.3$ (c)	91.5 $\sigma=28.1$ (a)
*TLAX 5	179.2 $\sigma=45.4$ (ab)	41.1 $\sigma=9.0$ (c)	196.5 $\sigma=31.9$ (a)	118.0 $\sigma=19.2$ (b)	14.6 $\sigma=9.3$ (c)	21.5 $\sigma=9.3$ (c)	152.9 $\sigma=79.3$ (ab)
*TLAX 9	153.1 $\sigma=33.89$ (c)	15.2 $\sigma=6.98$ (d)	329.8 $\sigma=35.47$ (a)	111.0 $\sigma=29.06$ (c)	57.8 $\sigma=22.02$ (c)	27.0 $\sigma=1.22$ (d)	251.6 $\sigma=14.72$ (b)
*TLAX 10	140.0 $\sigma=23.6$ (b)	21.0 $\sigma=8.2$ (c)	232.0 $\sigma=46.9$ (a)	85.2 $\sigma=12.8$ (c)	52.0 $\sigma=3.2$ (c)	20.7 $\sigma=6.1$ (c)	172.2 $\sigma=24.2$ (b)
Promedio de las cepas ANAUBIF	157.4 $\sigma=20.0$ (b)	25.7 $\sigma=13.6$ (c)	252.7 $\sigma=72.4$ (a)	104.7 $\sigma=21.2$ (b)	41.5 $\sigma=19.6$ (c)	23.2 $\sigma=66.1$ (c)	192.2 $\sigma=43.2$ (b)
*TLAX 11	193.0 $\sigma=17.1$ (b)	14.2 $\sigma=2.1$ (c)	438.1 $\sigma=51.9$ (a)	69.3 $\sigma=13.3$ (c)	30.8 $\sigma=14.4$ (c)	31.3 $\sigma=7.2$ (c)	---
*TLAX 12	199.4 $\sigma=10.8$ (a)	51.1 $\sigma=27.6$ (c)	200.7 $\sigma=55.5$ (a)	109.5 $\sigma=10.5$ (b)	81.5 $\sigma=35.7$ (bc)	43.4 $\sigma=16.8$ (c)	---
*TLAX 13	267.2 $\sigma=24.3$ (a)	56.3 $\sigma=17.2$ (c)	328.8 $\sigma=67.6$ (a)	144.3 $\sigma=11.9$ (b)	§	§	---
Promedio de las cepas ANAUBIF	219.9 $\sigma=41.1$ (a)	40.5 $\sigma=22.9$ (c)	319.9 $\sigma=118.7$ (a)	107.7 $\sigma=37.5$ (b)	§	§	§

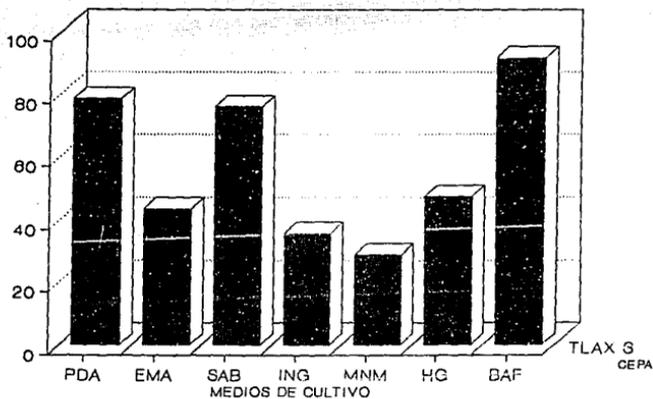
- x Promedio de 3 repeticiones
- y Promedio de 5 repeticiones
- § No se obtuvo crecimiento
- § No se efectuó ANAUBIF
- Entre cepas del mismo género no hay diferencias significativas (P=0.01)
- Letras iguales no hay diferencias significativas (P=0.01), de acuerdo a la Prueba de Tukey
- σ Desviación estándar

BIOMASA (mg) DE LAS CEPAS DE
Amanita
Gráfico 11



BIOMASA (mg) DE LA CEPA DE
Rhizopogon

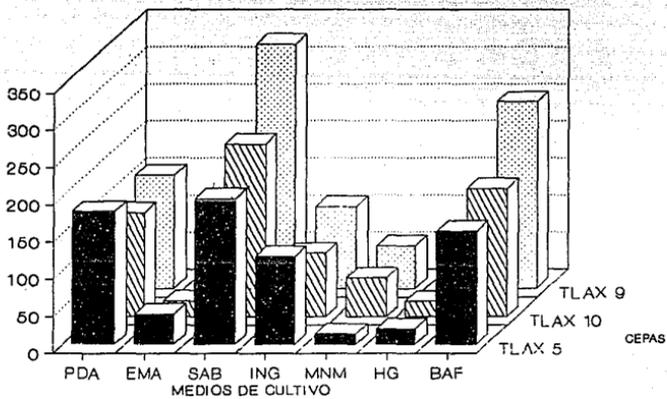
Gráfico 12



BIOMASA (mg) DE LAS CEPAS DE

Suillus

Gráfico 19

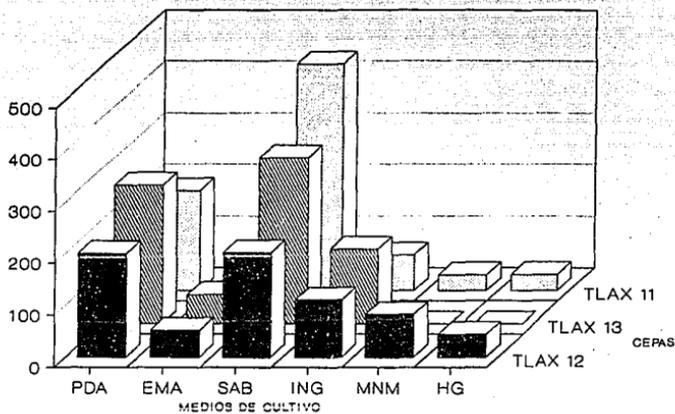


Para *Pisolithus tinctorius* (Tabla 6 y Gráfica 14), la cepa TLAX 11 tuvo el valor más alto de biomasa en el SAB (438.1 mg), presentando diferencias significativas con los demás pesos secos, siguiéndole el PDA (193.0 mg) que también presentó diferencias significativas. En el ING (69.3 mg), HG (31.3 mg), MNM (30.8 mg) y EMA (14.2 mg) se produjo escasa biomasa y presentándose diferencias significativas con los grupos antes mencionados. El SAB (200.7 mg) y el PDA (199.4 mg) fueron los medios en donde el desarrollo micelial fue más grande en la cepa TLAX 12 presentándose diferencias significativas con los otros medios; siguiéndole el ING (109.5 mg) y MNM (81.5 mg). Las biomásas más pobres se presentaron en el EMA (51.1 mg) y HG (43.4 mg) siendo significativamente diferentes. La cepa TLAX 13 no creció en los medios de cultivo de MNM y HG y los crecimientos en SAB (320.8 mg) y PDA (267.3 mg) alcanzaron la biomasa más grande; el ING (144.3 mg) presentó diferencias significativas con los demás grupos, en tanto el EMA (40.5 mg) es el medio que proporcionó la más baja producción micelial. El ensayo duró 30 días.

El análisis bifactorial solo se aplicó para la producción de biomasa en los medios PDA, EMA, SAB e ING, no presentándose diferencias significativas en la cantidad de biomasa producida por cada cepa de *Pisolithus tinctorius*. No obstante, los crecimientos obtenidos en el SAB (319.9 mg) y el PDA (219.9 mg) fueron estadísticamente diferentes de los que se obtuvieron en ING (107.7 mg) y EMA (40.5 mg).

BIOMASA (mg) DE LAS CEPAS DE
Pisolithus tinctorius

Gráfica 14



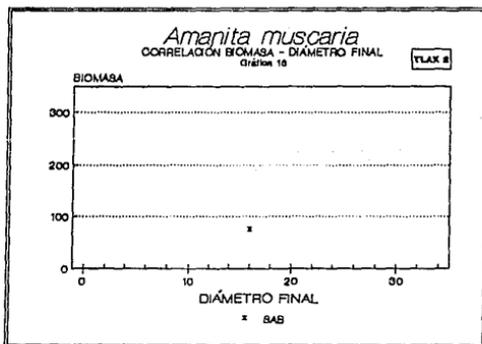
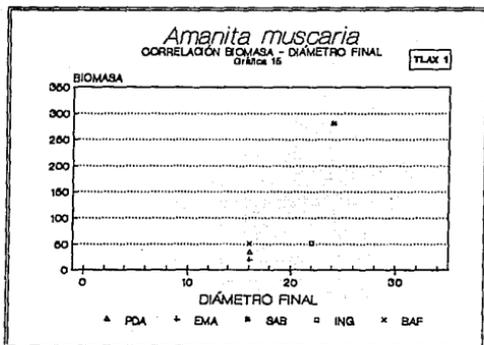
CORRELACIÓN BIOMASA - DIÁMETRO FINAL

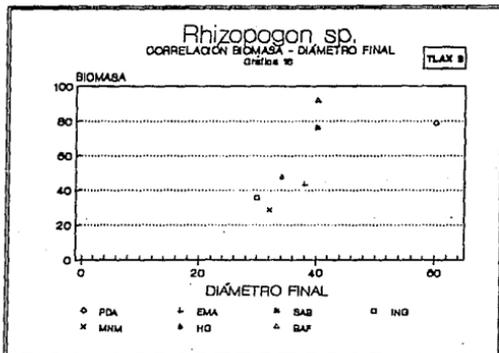
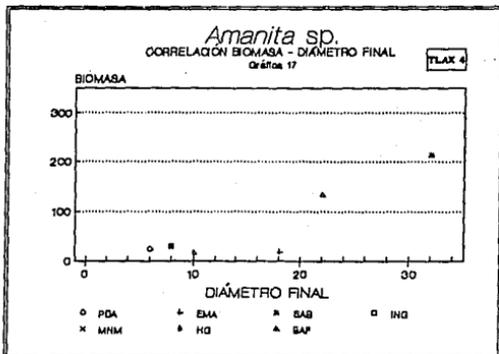
En las gráficas 15 a 24 se muestra la dispersión de los datos que existe al correlacionar los valores del peso seco y del diámetro final de las colonias de las cepas estudiadas. En las cepas de *Amanita* se observa que no existe correlación entre estos parámetros, haciéndose más evidente para la cepa TLAX 1 (Gráfica 15) en los medios de ING y SAB en los cuales se presentan diámetros coloniales similares pero con una marcada diferencia en la producción de biomasa; por otro lado, ING y BAF tuvieron diferentes diámetros pero similar cantidad de biomasa. En la cepa TLAX 4 (Gráfica 17) el EMA y HG presentaron un crecimiento radial diferente pero similar producción de biomasa.

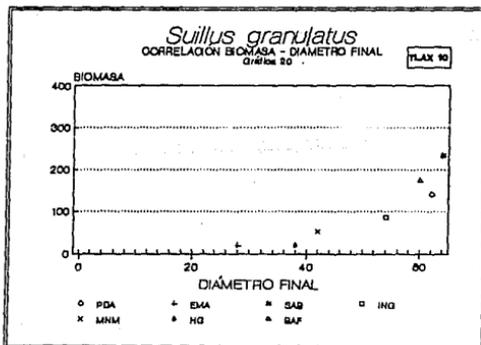
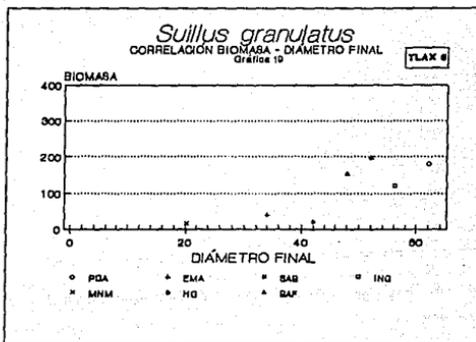
En los medios de SAB y BAF la cepa de *Rhizopogon* (Gráfica 18) presentó crecimiento radial similar, pero mayor biomasa en el BAF; en los medios de PDA y SAB se produjo similar cantidad de biomasa, pero el crecimiento radial se desarrollo más en el PDA.

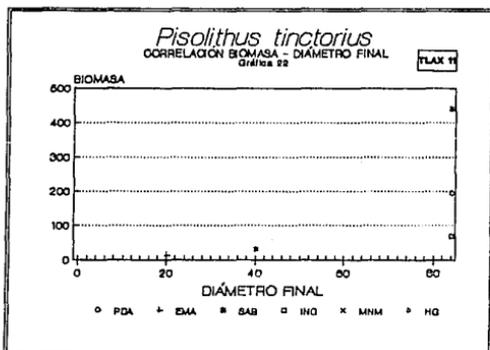
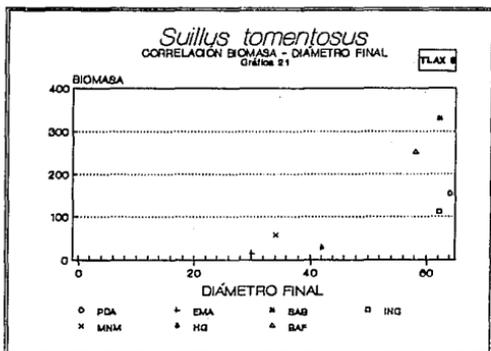
En los aislamientos de *Suillus granulatus* la cepa TLAX 5 (Gráfica 19) tuvo una producción de biomasa similar en los medios MNM y HG pero el diámetro final fue diferente; un comportamiento similar se observó en la cepa TLAX 10 (Gráfica 20) con EMA y HG, mientras que con SAB y PDA se presentaron diámetros similares pero diferente producción de biomasa. En *S. tomentosus* (Gráfica 21) los medios de EMA y HG presentaron similitud en la cantidad de biomasa producida pero diferentes diámetros, sin embargo, en ING y SAB el comportamiento fue a la inversa.

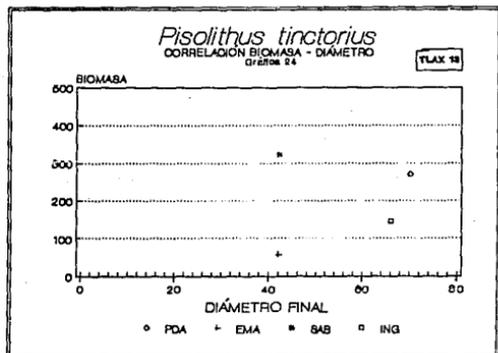
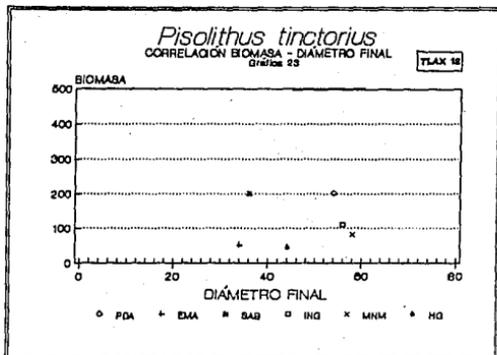
Para el caso de *Pisolithus tinctorius*, la cepa TLAX 11 (Gráfica 22) produjo biomasa similar en los medios de EMA, MNM y HG pero el diámetro colonial fue diferente. En ING y SAB se presentaron diámetros similares, pero la biomasa producida en SAB fue mayor; la cepa TLAX 12 (Gráfica 23) tuvo un diámetro similar en los medios SAB y EMA, pero mayor biomasa en SAB, en tanto que el EMA, ING y MNM produjeron biomasa similares pero los diámetros fueron menores en EMA. En la cepa TLAX 13 (Gráfica 24) los medios de EMA y SAB dieron un diámetro similar pero la biomasa fue mayor en SAB.











PRODUCCIÓN DE BIOMASA A DIFERENTES PH

Al concluir los ensayos de crecimiento en diferentes medios de cultivo, se seleccionó el SAB líquido para llevar a cabo algunas pruebas de crecimiento en diferentes pH, pero el crecimiento que se produjo impedía romper las colonias formándose conglomerados de micelio, por lo que se decidió cambiar el medio empleado para estas pruebas, utilizando finalmente el BAF líquido que también ofreció buenas condiciones para el crecimiento de los micelios. Este medio se preparó a los siguientes pH: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 y 6.0.

Los aislamientos de *Amanita* (Tabla 7) crecieron con muchas variaciones en su peso seco, la producción de biomasa de las cepas TLAX 1 y 2 no presentó diferencias significativas entre los diferentes pH probados, pero los resultados presentaron una alta desviación estándar. La cepa TLAX 4 presentó mayor biomasa a pH de 6.0 (331.2 mg), presentando diferencias significativas con los demás tratamientos. El peso seco más bajo se obtuvo en el pH de 5.0 (33.6 mg), quedando los valores intermedios en los pH de 4.5, 5.0 y 5.5 (Gráfica 25).

En el análisis de varianza bifactorial no se encontraron diferencias significativas entre los pesos secos producidos por cada cepa de *Amanita* y entre la biomasa producida a los diferentes pH.

La cepa de *Rhizopogon* (TLAX 3) produjo mayor biomasa a pH de 5.0 (431.2 mg), presentando diferencias significativas con todos los demás pH, siguiéndole los de 4.5 (225.2 mg) y 5.5 (131.6 mg) que presentaron diferencias significativas con respecto a los otros grupos. En los pH de 6.0 (78.7 mg) y 4.0 (69.7 mg) la cantidad de biomasa fue escasa (Tabla 7 y Gráfica 26).

Para las cepas de *Suillus* no existieron diferencias significativas (Tabla 7) en el comportamiento de las 3 cepas, no influyendo los pH en su producción de biomasa (Gráfica 27).

En el análisis de varianza bifactorial de *Suillus* no existieron diferencias significativas en la producción de biomasa entre las cepas ni entre los pH (Tabla 7).

Los aislamientos de *Pisolithus tinctorius* produjeron gran cantidad de biomasa en los pH probados, no encontrándose diferencias significativas entre los valores de los diferentes tratamientos (Tabla 7).

En el análisis bifactorial no se obtuvieron diferencias significativas entre las cepas, ni entre los tratamientos.

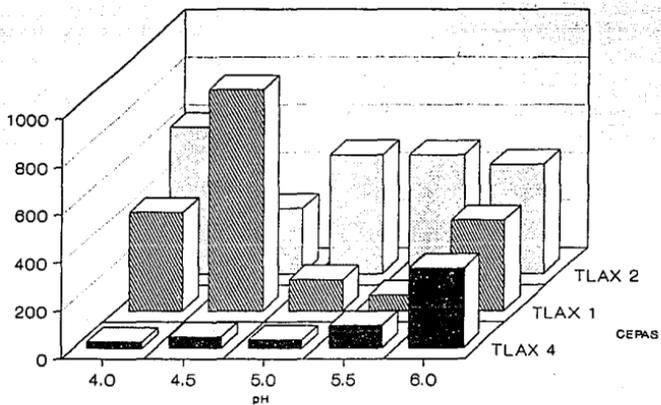
TABLA 7. BIOMASA (mg) DE LAS CEPAS CECIDAS EN BAF
A DIFERENTES pH

CEPA	4.8	4.5	5.8	5.5	6.8
TLAX 1*	412.4 σ=566.1	926.2 σ=1378.3	129.9 σ=202.8	65.5 σ=28.2	379.1 σ=539.1
TLAX 2*	619.4 σ=182.4	279.3 σ=188.7	497.7 σ=368.6	497.8 σ=153.5	458.1 σ=271.5
TLAX 4	25.7 σ=14.9 (c)	45.8 σ=27.1 (b)	33.6 σ=18.8 (b)	93.1 σ=82.6 (b)	331.2 σ=363.1 (a)
Promedio* de las cepas ANAOBIF	356.5 σ=386.7	414.8 σ=437.3	220.4 σ=244.9	218.5 σ=241.5	389.5 σ=64.7
TLAX 3	69.7 σ=76.8 (c)	225.2 σ=265.8 (b)	431.2 σ=349.8 (a)	131.6 σ=141.8 (b)	78.7 σ=59.1 (c)
TLAX 5*	479.8 σ=337.7	193.3 σ=92.8	279.8 σ=162.8	211.6 σ=78.1	448.4 σ=420.5
TLAX 9*	358.5 σ=177.3	343.3 σ=51.5	385.5 σ=132.3	295.2 σ=189.8	251.5 σ=51.8
TLAX 10*	339.7 σ=343.6	485.4 σ=298.5	264.8 σ=231.8	384.4 σ=261.7	668.4 σ=336.5
Promedio* de las cepas ANAOBIF	392.1 σ=75.8	316.2 σ=185.4	283.1 σ=28.7	298.1 σ=87.9	453.4 σ=288.7
TLAX 11*	463.1 σ=229.8	423.9 σ=215.8	543.7 σ=258.8	547.7 σ=154.3	468.8 σ=89.8
TLAX 12*	556.2 σ=198.8	485.4 σ=67.5	501.4 σ=93.4	475.4 σ=54.7	694.5 σ=262.7
TLAX 13*	617.1 σ=42.7	985.8 σ=767.6	657.8 σ=522.3	668.8 σ=226.8	1847.3 σ=981.8
Promedio* de las cepas ANAOBIF	546.1 σ=76.5	604.9 σ=262.8	567.4 σ=80.4	561.3 σ=93.4	737.6 σ=291.9

- Promedio de 5 repeticiones
- 99 % de confiabilidad
- Letras iguales no hay diferencias significativas (P=0.01)
- * No hay diferencias significativas entre tratamientos (P=0.01) de acuerdo a la Prueba de Tukey
- σ Desviación estándar

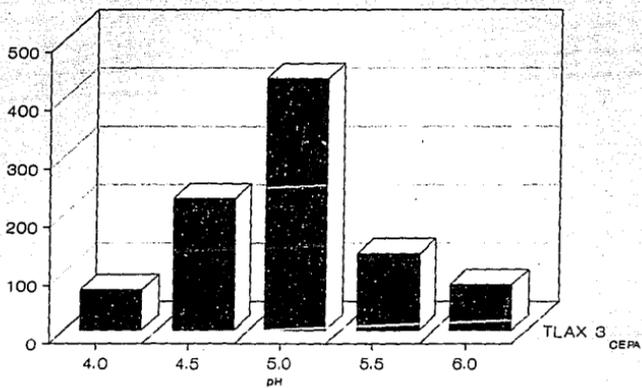
BIOMASA (mg) A DIFERENTES pH DE
Amanita

Gráfico 26



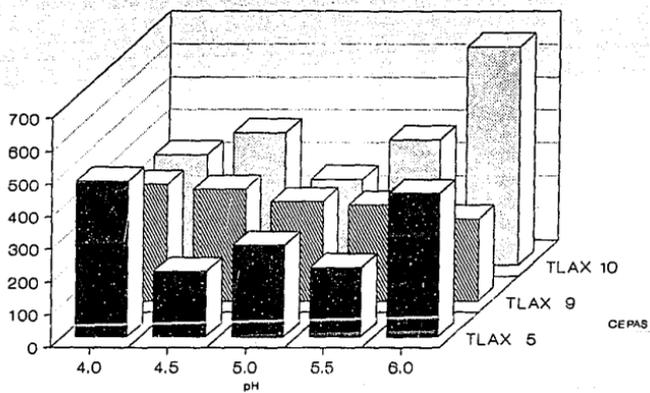
BIOMASA (mg) A DIFERENTES pH DE
Rhizopogon

Gráfica 28



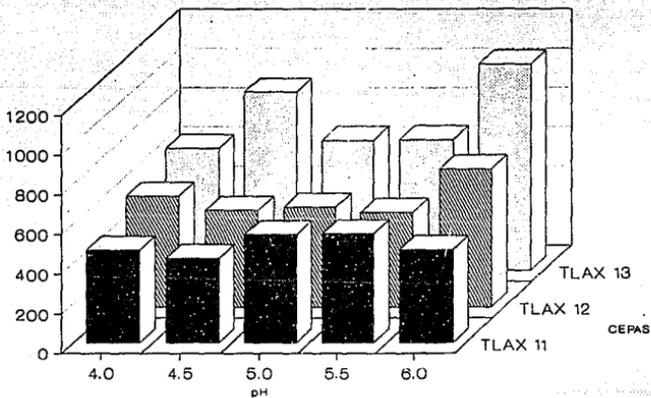
BIOMASA (mg) A DIFERENTES pH DE
Sullus

Gráfico 27



BIOMASA (mg) A DIFERENTES pH DE
Pisolithus tinctorius

Gráfico 28



SÍNTESIS IN VITRO

A continuación se enlistan aquellas combinaciones planta-hongo que se encontraron en los diferentes dispositivos en las cuales las plantas lograron sobrevivir hasta el momento en que las raíces fueron analizadas:

Frasco lechero con vermiculita y medio nutritivo de MNM.

- Pinus montezumae - Amanita sp. Sección Vaginatae (TLAX 4)
- P. montezumae - Rhizopogon sp. (TLAX 3)
- P. montezumae - Suillus granulatus (TLAX 5)
- P. montezumae - S. granulatus (TLAX 10)
- P. montezumae - S. tomentosus (TLAX 9)
- P. gregii - Amanita muscaria (TLAX 1)
- P. gregii - Amanita sp. Sección Vaginatae (TLAX 4)
- P. gregii - Rhizopogon (TLAX 3)
- P. gregii - Suillus granulatus (TLAX 10)
- P. gregii - S. tomentosus (TLAX 9)

Bolsa de crecimiento con medio nutritivo de BAF.

- Pinus montezumae - Pisolithus tinctorius (TLAX 13)
- P. montezumae - Suillus granulatus (TLAX 10)

Tubo de ensaye con medio nutritivo de Ingestad.

- Pinus montezumae - Pisolithus tinctorius (TLAX 13)

CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS

En esta sección se describen las raíces secundarias en las que se observó alguna modificación morfológica potencialmente causada por la presencia del hongo.

Pinus montezumae - *Amanita* sp. Sección *Vaginatae* (TLAX 4)

Ramificación monopodial a dicotómica (Foto 1) y en ocasiones dicotómica irregular, de 0.62 a 2.02 mm de largo, puntas no ramificadas de 0.30 a 0.98 mm de largo, diámetro de los ejes de 0.32 a 0.50 mm, las puntas con superficie lisa, en ocasiones llegando a ser moniliformes, superficie de la raíz desde granulosa hasta reticulada, de color café (7E8) en las puntas no ramificadas, naranja café (7C6) en el ápice, a color café oscuro (7F8) en el eje, rizomorfos conectados a la raíz en puntos restringidos (Foto 2), de color café oscuro (7F8), 0.22 a 0.32 mm de diámetro, en forma de filamentos interconectados (Foto 3). con hifas emanantes escasas.

Microscópicamente en algunos cortes se observan hifas, sin embargo la raíz no presenta penetración del hongo. Capa de células taniníferas muy engrosada, amarilla (Foto 4); rizomorfos con hifas de (2.0-) 3.0-3.5 (-4.0) μ m de diámetro, la mayor parte de pared delgada pero entremezcladas con algunas de pared gruesa, septadas, de color amarillo café (Foto 5).

Pinus montezumae - *Rhizopogon* sp. (TLAX 3)

Ramificación dicotómica a coraloide, de 1.44 a 2.64 mm de largo, puntas no ramificadas de 0.49 a 1.14 mm de largo, X 0.26 a 0.34 mm de diámetro, ejes de 0.38 a 0.42 mm de diámetro, con superficie lisa, en ocasiones llegando a ser moniliformes, color de las puntas ramificadas y ápices color café (7E8), ejes de color café oscuro (7F8) (Foto 6).

Microscópicamente presenta una capa de células taniníferas muy gruesa, sin indicios de penetración, no se presenta ni manto, ni red de Hartig (Foto 7).

Pinus montezumae - *Suillus granulatus* (TLAX 5)

Ramificación de monopodial a dicotómica de 0.60 - 2.26 mm de largo, puntas de 0.42 mm de largo X 0.48 - 0.82 mm de diámetro, ejes de 0.24 mm de diámetro, con la puntas redondeadas, superficie lisa a granulosa, no se observan las células corticales, superficie del manto lanosa a algodonosa, laxo, completamente café oscuro (6F5 a 7F8), rizomorfos escasos que se conectan al manto en un punto, de color café oscuro (6F5 a 7F8). Con abundantes hifas emanantes que dan la apariencia de algodón.

La raíz monopodial se observa más grande que la dicotómica.

Microscópicamente, los cortes de la raíz dicotomizada presentan una capa de taninos muy gruesa (Foto 8), acentuándose esta característica en algunas partes; en los cortes de la raíz monopodial se observó el manto que cubre a la raíz de manera irregular, midiendo desde 78.4 hasta 196.0 μm de grosor, prosenquimatoso, afelpado, margen demasiado laxo hasta prosenquimatoso en forma de red (Foto 9), con hifas de 2.9 - 3.4 (-3.9) μm de diámetro, tortuosas, de pared delgada y lisa (Foto 10), las hifas más externas están ornamentadas con pústulas. En otros cortes se observó una masa amorfa alrededor de la raíz, como si se estuviera desintegrando. La red de Hartig penetró de manera irregular una capa de células de la corteza.

Pinus montezumae - Suillus tomentosus (TLAX 9)

Ramificación monopodial de 0.6 a 1.3 mm de largo, puntas de 0.52 a 0.76 mm de diámetro, ejes de 0.42 a 0.48 mm de diámetro, con las puntas más anchas en el ápice, lisas, poco brillantes, superficie poco granulosa, color naranja grisáceo (5B4), con el ápice blanco naranja (5A2), eje color café oscuro (6F8). Algunas ocasiones se observaron hifas emanantes.

Microscópicamente, en algunos cortes se presentó una capa de taninos muy gruesa, sin micelio alrededor; en otros cortes se observó un manto de 19.6 a 93.1 μm de grosor (Foto 12), el margen del manto se encuentra formado por un prosénquima afelpado con abundantes células alargadas; la superficie del manto forma un prosénquima en forma de red con células alargadas y laxas, las hifas de (2.0-) 2.9 - 4.9 μm de diámetro, con pústulas escasas en las hifas emanantes más externas; la parte media e interior del manto esta formada por un sinénquima en forma de malla con células alargadas. En otros cortes se observó la capa de células de la corteza muy delgada y el cilindro central muy grande. La red de Hartig penetró de manera irregular de 1 a 3 células de la corteza (Foto 13).

Pinus montezumae - Suillus granulatus (TLAX 10)

Ramificación de monopodial, dicotómica (Foto 14) hasta coraloides (Foto 15), de 0.82 a 2.26 mm de largo, puntas de 0.42 a 0.94 mm de largo X 0.22 a 0.82 mm de diámetro, ejes de 0.24 a 0.58 mm de diámetro, superficie poco granulosa y algodonosa, color naranja grisáceo (6B5) a café grisáceo (6F3), puntas de color blanco naranja (6A2), ejes color café oscuro (6F3), con rizomorfos escasos que se unen al manto en un punto, color café oscuro (6F5), 0.1 mm de diámetro, con abundantes hifas emanantes.

Microscópicamente presenta un manto de 32.3 a 34.3 μm de ancho, con la orilla muy laxa (Foto 16), formado por hifas emanantes de 2.5 a 3.9 μm de diámetro, finamente verrucosas; las hifas de la superficie forman un prosénquima afelpado; el manto interior forma un sinénquima irregular con hifas de 2.5 a 3.0 μm de diámetro, que presentan paredes generalmente redondeadas y entrelazadas. La red de Hartig penetró de 2 a 3 células, dichas células se encuentran separadas por 2 a 3 células hifales (Foto 17), en algunas células del córtex se observó micelio intracelular (Foto 18), y en algunos cortes se encontró micelio rodeando las células del cilindro (Foto 19). En otras muestras obtenidas se presentó un manto muy laxo de 58.0 μm de grosor, y la red de Hartig no penetró homogéneamente a todas las células del córtex, sino que sólo se introdujo entre algunas de ellas (Foto 20).

Pinus montezumae - Pisolithus tinctorius (TLAX 13)

Tubo de ensaye con medio nutritivo de Ingestad

Ramificación desde dicotómica hasta coraloide (Foto 21), de 0.9 hasta 11.9 mm de largo, puntas de 0.5 a 0.7 mm de largo, ejes de 0.2 a 0.7 mm de diámetro; las puntas son rectas, color café dorado metálico (6D7), fibrosa, con rizomorfos color café dorado (6D7), conectados con el manto en un punto, de 0.1 mm de diámetro, con hifas emanantes abundantes.

Microscópicamente presenta un manto de 40.8 μm de ancho, grueso y denso, la orilla con abundantes hifas emanantes anastomosadas de 3.5 a 4.5 μm de diámetro, septadas, con fíbulas, con pared delgada; la superficie formada con un prosénquima afelpado que con el tiempo forma bandas paralelas y un sinénquima con células tortuosas (Foto 22), siendo las hifas de ambas partes lisas y con paredes delgadas. La red de Hartig penetró de 2 a 3 células corticales (Foto 23). Los rizomorfos están formados por hifas filamentosas, algunas incrustadas y otras con pared delgada y lisa, de 2.5 a 6.0 μm de diámetro, color amarillo claro (4A3) (Foto 24).

Bolsa de crecimiento con medio nutritivo BAF.

Ramificación de dicotómica a coraloide (Foto 25), 0.64 a 1.82 mm de largo, puntas no ramificadas de 0.44 a 0.74 mm de largo X 0.22 a 0.42 mm de diámetro, ejes 0.20 a 0.26 mm de diámetro, puntas redondeadas, color café (6D7) brillante en las puntas no ramificadas, ápices de las puntas color blanco naranja (5A2), ejes color café oscuro a café (7F8 y 6D7), micorrizas viejas color café oscuro (7F8). No se observaron rizomorfos ni hifas emanantes.

Microscópicamente, se observaron cortes de varias raíces dicotomizadas; sin embargo, en ninguno se observó ni manto ni red de Hartig pero sí una capa de células taníferas muy gruesa (Foto 26). En algunos cortes se observaron algunas hifas emanantes dispersas, sin que exista evidencia de penetración al córtex.

***Pinus gregii* - *Amanita muscaria* (TLAX 1)**

Crecimiento monopodial 1.8 mm de largo X 0.45 mm de diámetro, color amarillo café (5C7).

Microscópicamente no hay presencia de manto ni de red de Hartig pero sí de una capa de células taníferas muy gruesa y rugosa.

***Pinus gregii* - *Amanita* sp. Sección *Vaginatae* (TLAX 4)**

Crecimiento monopodial de 2.72 mm de largo X 0.52 mm de diámetro; con escaso micelio rodeando la raíz, color café oscuro (7F6); brillo escaso y superficie lisa.

Microscópicamente no presenta manto ni red de Hartig, pero en su lugar existe una capa de células taníferas gruesa.

***Pinus gregii* - *Rhizopogon* sp. (TLAX 3)**

Ramificación monopodial de 1.2 a 1.62 mm de largo X 0.3 a 0.6 mm de diámetro, superficie del manto poco visible, las células corticales no se observan, superficie lisa, color café-amarillo-oscuro brillante (6E8).

Microscópicamente, en algunos cortes se observa un manto de 47.8 μ m de ancho, que cubre a la raíz de manera irregular (Foto 28), micelio afelpado formado de células alargadas y tortuosas, de (2.0-) 2.9-3.4 (-4.9) μ m de diámetro, ramificadas, septadas, con gran contenido globular en el citoplasma; formando un prosénquima en forma de una malla muy laxa.

***Pinus gregii* - *Suillus tomentosus* (TLAX 9)**

Ramificación monopodial (Foto 29), de 1.2 a 3.6 mm de largo X 0.5 a 0.6 mm de diámetro, la punta redondeada a ligeramente ensanchada en el ápice; superficie del manto visible, de algodonosa a lanosa, color café oscuro opaco (6F7), con tonos grisáceos; con abundantes células emanantes.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Microscópicamente el margen del manto está formado por micelio laxo, con abundantes hifas emanantes (Foto 30) de (2.5-) 2.9 - 3.9 (-4.9) μm de ancho, pared delgada y lisa, algunas de las hifas más externas presentan pústulas (Foto 31). El manto de 10.3 hasta 73.5 μm de ancho, formado por hifas filamentosas que se intercalan constituyendo una red. El interior del manto formado por un sinénquima con células tortuosas poco alargadas (Foto 32).

En algunos cortes de la micorriza se observa que la red de Hartig penetró en la corteza de manera irregular de 2 a 3 células llegándose a romper con la presencia del hongo; en unos cortes no se observa red de Hartig pero si una capa de células taníferas gruesa (Foto 33).

***Pinus gregii* - *Suillus granulatus* (TLAX 10)**

Crecimiento monopodial de 1.4 mm de largo X 0.4 mm de diámetro (Foto 34), con las puntas redondeadas y en ocasiones volviéndose moniliforme; la superficie del manto no es visible, y las células corticales se pueden observar fácilmente; superficie granulosa y poco fibrosa, color café oscuro (6F8).

Microscópicamente el manto tiene de 29.4 a 73.5 μm de ancho, cubre la raíz de manera discontinua, muy laxo (Foto 35); hifas de 2.0 - 3.9 μm de diámetro, con pared delgada y lisa, las hifas más externas presentan pústulas escasas. Se observó la red de Hartig penetrando de manera discontinua (Foto 36). Los cortes de la raíz que presentaron forma moniliforme no presentaron ni manto ni red de Hartig; en cambio se observó la capa de células taníferas muy gruesa.

RELACIÓN DE FOTOGRAFÍAS

Pinus montezumae - Amanita sp. Sección *Vaginatae* (TLAX 4). Fotos 1 - 5. (1) Raíz dicotomizada 25 X. (2) Raíz dicotomizada con rizomorfos conectados al manto en un punto restringido (R) 32 X. (3) Rizomorfos en forma de filamentos interconectados (R) 25 X. (4) Capa de células taniníferas gruesa (T) 250 X. (5) Rizomorfo 250 X.

Pinus montezumae - Rhizopogon sp. (TLAX 3). Fotos 6 - 7. (6) Raíz coraloide 20 X. (7) Córtex con células taniníferas (T) 250 X.

Pinus montezumae - Suillus granulatus (TLAX 5). Fotos 8 - 11. (8) Córtex con células taniníferas (T) 500 X. (9) Manto grueso y laxo (M) 50 X. (10) Manto (M) con hifas emanantes (HE) 250 X. (11) Red de Hartig (H) penetrando de manera irregular a la corteza 500 X.

Pinus montezumae - Suillus tomentosus (TLAX 9). Fotos 12 - 13. (12) Red de Hartig (H) y manto (M) 250 X. (13) Red de Hartig (H) cubriendo 1 célula cortical 500 X.

Pinus montezumae - Suillus granulatus (TLAX 10). Fotos 14 - 20. (14) Raíz dicotómica 25 X. (15) Raíz coraloide 25 X. (16) Manto (M) y Red de Hartig (H) 250 X. (17) Red de Hartig (H) 500 X. (18) Hifa penetrando la célula cortical (HI) 500 X. (19) Hifas penetrando en el córtex (H) 500 X. (20) Hifas penetrando al cilindro vascular de manera irregular (CV) 250 X.

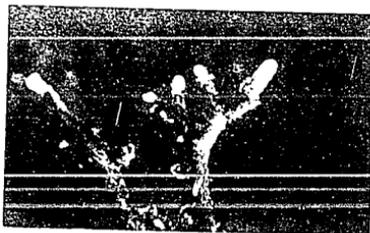
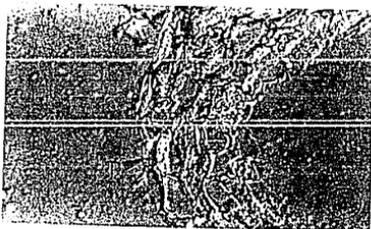
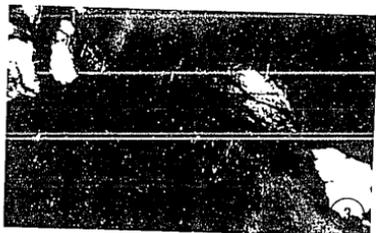
Pinus montezumae - Pisolithus tinctorius (TLAX 13). Fotos 20 - 26. (21) Ramificación dicotómica 25 X. (22) Manto (M) con algunas células tortuosas (CT) 1250 X. (23) Red de Hartig (H) 500 X. (24) Hifas de los rizomorfos con incrustaciones y fibulas 1250 X. (25) Raíz dicotomizada 25 X. (26) Pared de las células corticales con capa de células taniníferas muy gruesa (T) 250 X.

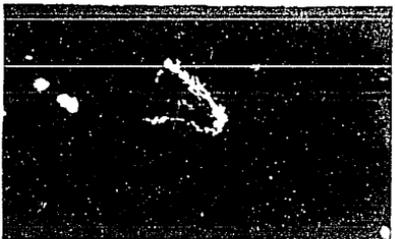
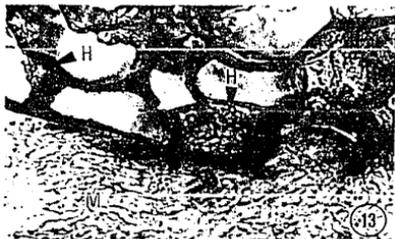
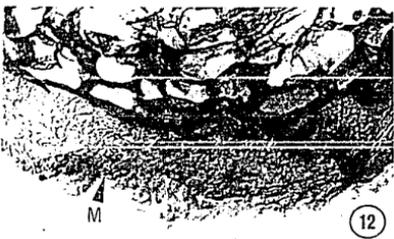
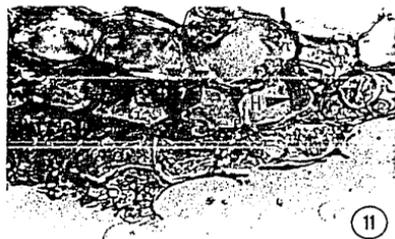
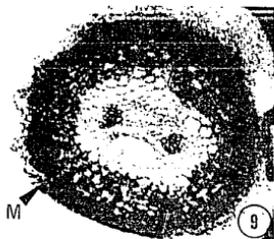
Pinus gregii - Amanita muscaria (TLAX 1). Foto 27. Raíz monopodial 25 X.

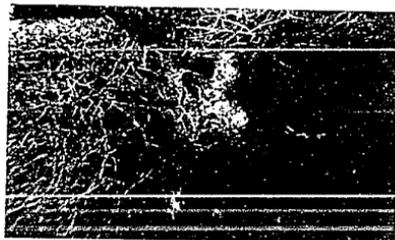
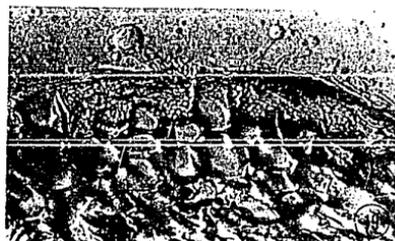
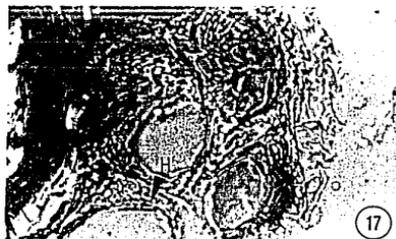
Pinus gregii - Rhizopogon sp. (TLAX 3) Foto 28. Manto laxo e irregular (M) 250 X.

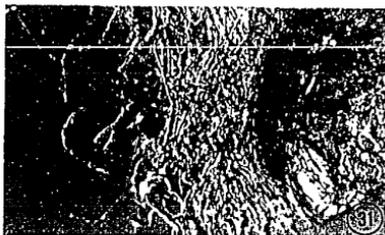
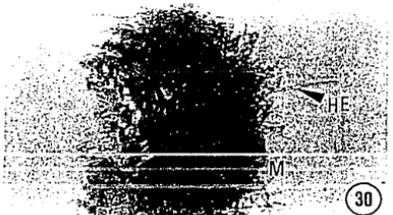
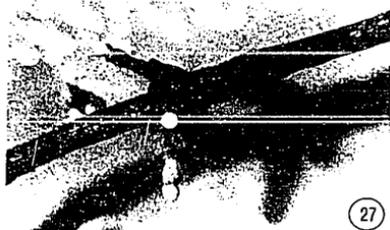
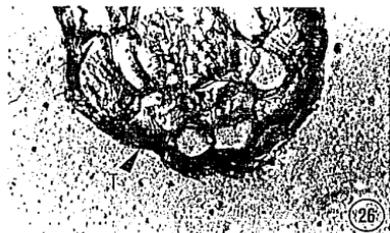
Pinus gregii - Suillus tomentosus (TLAX 9) Fotos 29 - 33. (29) Raíz monopodial 20 X. (30) Manto grueso (M) con abundantes hifas emanantes (HE) 125 X. (31) Manto muy laxo (M), algunas hifas externas con pústulas (HE) 500 X. (32) Manto (M) y red de Hartig (H) 500 X. (33) Células corticales y células taniníferas (T) 500 X.

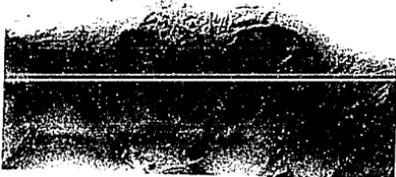
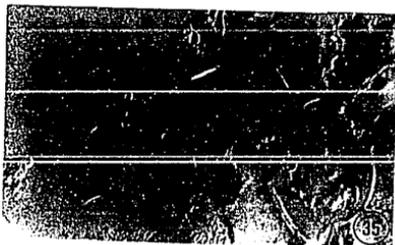
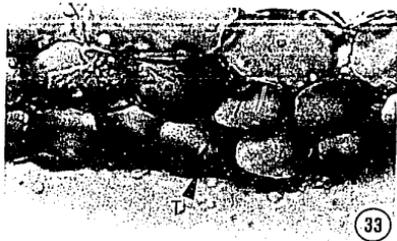
Pinus gregii - Suillus granulatus (TLAX 10) Fotos 34 - 36. (34) Raíz monopodial 25 X. (35) Manto laxo y discontinuo (M) 500 X. (36) Red de Hartig (H) penetrando de manera discontinua 500 X.











DISCUSIÓN

AISLAMIENTOS

Para asegurar la obtención de las cepas es recomendable realizar varias repeticiones de los aislamientos de cada ejemplar, tomando en cuenta por un lado que existen especies de hongos cuyo crecimiento es difícil en medios axénicos y por otro lado que existen problemas de contaminación (Molina y Palmer, 1982).

Dada la diversidad fisiológica y requerimientos nutricionales de cada hongo (Molina y Trappe, 1982 b; 1984) es conveniente realizar los aislamientos en varios medios de cultivo como son el PDA, el BAF u otros, con la finalidad de obtener una gama de condiciones que permita en determinado momento favorecer el desarrollo del hongo.

Al realizar los aislamientos de 41 taxa diferentes fue posible denotar variaciones en cuanto a su comportamiento, ya que de 110 intentos sólo se obtuvieron 21 cepas, algunas de las cuales se perdieron en las resiembras, como en los casos de *Laccaria bicolor* y *Suillus* sp.; otras cepas presentaron un crecimiento muy escaso como *Boletus* sp., mientras que otras más mostraron un patrón de crecimiento inestable, es decir, que al resemebrarse algunas veces crecen y otras no.

En el caso de las especies en las que no se ha logrado su crecimiento vegetativo en condiciones axénicas es recomendable intentar su aislamiento con otros medios.

PRUEBAS DE CRECIMIENTO

Con la finalidad de conocer el desarrollo de los hongos con diferentes fuentes nutricionales, se realizaron observaciones de su crecimiento con los medios de cultivo que se utilizan cotidianamente en la manipulación de cepas de hongos ectomicorrízicos como son PDA, ING, MNN, HG y BAF, y medios de cultivo que se usan para crecer una gran variedad de hongos como son EMA y SAB.

Los medios de cultivo utilizados se clasifican dentro de los semisintéticos, por su proceso de elaboración estandarizado; de esta manera se tiene mayor control que con los medios naturales en cuanto a la composición química, sin embargo no se pueden reproducir exactamente como en el caso de los sintéticos (Cooke, 1968). A pesar de este problema estos medios nos pueden servir como referencia para la elaboración de variantes, cambiando los compuestos utilizados en dicho medio.

Los crecimientos de los micelios respondieron a la cantidad de dextrosa utilizada en cada medio nutritivo, los medios en donde crecieron mejor fueron el SAB, BAF y PDA cuya composición lleva 40, 30 y 20 g de este azúcar respectivamente. A pesar de ser medios utilizados específicamente para hongos ectomicorrizógenos, en MNM y HG hubo menor crecimiento que en los medios señalados antes y esto puede deberse a sus contenidos menores de dextrosa (10 y 5 g respectivamente). El EMA y el ING tienen el mismo contenido de azúcar que el MNM. En el primero, se obtuvieron valores similares que en el último, pero en el ING el desarrollo de las hongos fue más vigoroso siendo comparable en ocasiones con los crecimientos obtenidos en medios con mayores contenidos del carbohidrato, por lo que es posible que exista una interacción entre el pH, el contenido de dextrosa y los otros componentes de los medios. Estos resultados concuerdan con los datos de Oort (1981), quien al comparar medios con diferente concentración de dextrosa (BAF y medio de Modest) encontró que los crecimientos de *Lactarius* sección *Dapetes* se desarrollaban mejor en el medio con mayor contenido de azúcar. Asimismo, al variar la concentración de dextrosa del medio, se observó que algunos aislamientos incrementaban su crecimiento al aumentar el contenido del carbohidrato. No obstante, la concentración de otros elementos como las fuentes de nitrógeno pueden influir en el efecto que tiene la concentración de dextrosa.

Los medios nutritivos donde crecieron mejor las cepas presentaron pH desde 5.6 (PDA, SAB), 6.0 (BAF) hasta 6.5 (ING). En contraste, en los pH de 4.6 (EMA), 4.7 (HG) y 5.6 (MNM) tanto el crecimiento radial como el peso seco fueron más pobres.

Duponnois y Garbaye (1990) propusieron una alternativa para la estimulación del crecimiento de los hongos ectomicorrizicos, utilizando bacterias para hacerlas crecer, pero esto todavía está sujeto a estudios posteriores.

CARACTERIZACIÓN COLONIAL

De los aislamientos estudiados, se encontraron diferentes patrones de crecimiento en los distintos medios nutritivos para cada cepa. Además, se observó que existen diferencias morfológicas a nivel genérico, lo cual concuerda con los estudios de Pandidou (1962) quien mencionó que los caracteres morfológicos pueden ayudar a reconocer aislamientos de diferentes especies. No obstante, para garantizar que dichas características son constantes a nivel específico deben de evaluarse con un número mayor de cepas.

Amanita

Las cepas de **Amanita** se caracterizan por su coloración blanquecina y crecimiento irregular desarrollando una membrana que se arrisca formando cavernas, llegando a ser cerebriforme; presenta una fase de adaptación al medio nuevo desde 5 hasta 10 días, su rapidez varía de 0.097 a 0.750 mm/día y no sobrepasa los 35 mm en el SAB a los 42 días. La mayor biomasa se obtuvo en los medios de SAB y BAF. No todas las cepas tiñeron de color rosa el medio de PDA, ni con la misma intensidad.

Los resultados obtenidos coinciden con los datos de Ávila (1988) y Cruz-Ulloa (1990) en la morfología y comportamiento de las cepas al tener un crecimiento lento, una colonia irregular y en la coloración rosada que en ocasiones toma el PDA. Sin embargo, no existe una correlación entre la producción de pigmento de las cepas y su estatus taxonómico o procedencia.

Rhizopogon

La cepa de

Rhizopogon se caracteriza por presentar crecimiento postrado y colonias planas, de color café oscuro, con escasos micelios aéreos blanquecinos; comienza su crecimiento en el medio nuevo a los 18 días, encontrándose que esta cepa fue quien presentó mayor tiempo de adaptación. Su desarrollo es lento, con una rapidez desde 0.436 a 0.953 mm/día sin sobrepasar los 61.2 mm a los 58 días de crecimiento. La producción de biomasa es escasa.

Al realizar estudios con varias cepas de este género, Zak (1971) encontró que el micelio procedente de diferentes aislamientos varía mucho en textura, color y diámetro final, por lo que es incierto hacer comparaciones entre los aislamientos pertenecientes a este género.

Suillus

Se observó que en **Suillus** la morfología colonial de las 3 cepas cambia de medio a medio, sin embargo, ésta no es muy variable entre las 3 cepas que crecen sobre el mismo medio. Solamente hubo ligeras variaciones en textura y color, siendo la cepa TLAX 9 más algodonosa y oscura en medios como el ING y BAF. Aún cuando la morfología colonial parece ser muy constante como para reconocer aislamientos de este género, la diferencia a nivel específico parece ser más problemática ya que las cepas TLAX 5 y 10 presentan pequeñas diferencias en sus características coloniales aún perteneciendo a la misma especie. No obstante, estas colonias presentaron zonas concéntricas marcadas cuando se encontraba creciendo sobre PDA, en tanto que en la cepa de **S. tomentosus** dichas zonas se observaron difusamente definidas.

Cruz-Ulloa (1990) describió a *Suillus granulatus* como una especie de crecimiento lento de 30 a 40 mm en 30 días, igual que Pantidou y Groves (1966), los cuales reportan un diámetro de 20 a 30 mm en un mes, característica que se observó en las cepas probadas (30 a 60 mm en 46 días).

Cruz-Ulloa (op. cit.) ha descrito el desarrollo de *Suillus tomentosus* como de crecimiento importante (de 70 mm en 30 días), en cambio Pantidou y Groves (op. cit.) lo citan como de crecimiento rápido (de 80 mm en 2 ó 3 semanas), lo cual coincide con el crecimiento de la cepa TLAX 9.

Pisolithus tinctorius

Las cepas de *Pisolithus tinctorius* se caracterizan por su coloración café olivácea, colonia algodonosa, una fase de adaptación corta, tardando 2 días en comenzar a invadir el medio nuevo y cubriendo las cajas de 28 a 30 días. La mayor rapidez de crecimiento que se obtuvo fue de 3.145 mm/día en SAB.

Molina y Palmer (1982) describieron a esta especie como de crecimiento rápido, característica que comparten las cepas estudiadas. Sin embargo, Cruz-Ulloa (1990) describió una cepa de esta especie como de crecimiento lento (55 mm en 30 días).

CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

Para confirmar que los aislamientos realizados son los correspondientes a los hongos aislados, es recomendable revisar microscópicamente el crecimiento micelial para tener la certeza de que la cepa aislada es la deseada, pues la presencia de conidios *in vitro* se debe a la confusión con contaminantes o especies saprobias (Hutchison, 1989).

Al revisar microscópicamente los aislamientos, se observó que las cepas de *Amanita* presentan hifas de pared delgada y lisa, septada, poco ramificadas y con escasas fíbulas, con hifas de pared gruesa entremezcladas y algunas células moniliformes agrupadas, globosas o elipsoides que en ocasiones forman cadenas, características que coinciden con las descritas por Avila (1988) y Cruz-Ulloa (1990).

Rhizopogon presentó hifas de pared delgada con pústulas de tamaño irregular, con escasos septos y fíbulas, el micelio sumergido en el agar con hifas tortuosas, con abundantes células moniliformes con la punta adelgazada y algunas vesículas intercalares y terminales coincidiendo en estas características con las descripciones de *Rhizopogon luteolus* hechas por Cruz-Ulloa (1990).

Suillus presentó hifas con pared delgada con ornamentaciones en forma de pústulas o verrugas, hifas de color café amarillento, algunas veces sinuosas, en ocasiones se presentó gran cantidad de terminaciones ensanchadas y algunas veces se encontraron grandes vesículas terminales e intercalares, características que coinciden con las descritas por Pantidou y Groves (1966) y Cruz-Ulloa (1990).

En el género *Suillus* se ha tenido dificultad para separar una especie de otra basándose en las características morfológicas del cuerpo fructífero que pueden confundir, por lo que se ha dado mayor atención al estudio de sus cultivos, pensando que ciertas características de estos pueden indicar presencia o ausencia de afinidad entre especies (Pantidou y Groves 1966). Además, se ha encontrado que todas las especies pertenecientes a este género tienen en común que son papiladas, presentan hifas dendríticas y muchas especies con hifas sumergidas presentan células hinchadas intercalares o terminales. La presencia o ausencia de fíbulas son de gran interés taxonómico, asumiéndose que están presentes en los cultivos de igual forma que en algunos cuerpos fructíferos de algunas especies (Pantidou y Groves op. cit.)

Pisolithus tinctorius se caracteriza por presentar hifas desde hialinas hasta de color amarillo café en KOH, ramificaciones en ángulo recto o divaricadas, con abundantes fíbulas, las hifas sumergidas son de la misma forma y tamaño que las aéreas, pero más apretadas y sinuosas, estas características coinciden con las descritas por Cruz-Ulloa (1990), sin embargo, no se observó algún otro tipo de células, como las descritas por la misma autora.

DIÁMETRO FINAL

Con base en los análisis de varianza simple y bifactorial y la prueba de rango múltiple se puede decir que los mejores medios para la mayoría de las cepas fueron: SAB, PDA, ING y BAF, excepto para la cepa TLAX 12 cuyo mayor diámetro se obtuvo en el MNM. Los medios donde las cepas alcanzaron el menor diámetro fueron EMA, MNM y HG.

El medio de SAB proporcionó buenas condiciones nutricionales para el crecimiento de las cepas de *Amanita*. La cepa TLAX 2 únicamente creció en este medio, lo cual hace pensar que posiblemente esta cepa podría tener requerimientos muy específicos para crecer. La cepa TLAX 4 creció en todos los medios, siendo el SAB el medio donde alcanzó su mayor diámetro y presentó diferencias significativas con los crecimientos en los otros medios; los medios donde se presentó menor diámetro fueron PDA, HG, ING y MNM. No se pudo comparar el crecimiento entre las cepas con el análisis de varianza bifactorial, debido a que no todas las cepas crecieron en todos los medios.

Para la cepa de *Rhizopogon* el medio donde se obtuvo el mayor diámetro fue el PDA (61.2 mm) presentando diferencias significativas con los demás grupos, los medios donde se obtuvo un diámetro intermedio fueron BAF, SAB y EMA y donde tuvieron escaso crecimiento fueron HG, MNM e ING.

En los crecimientos de *Suillus* el mayor diámetro de la cepa TLAX 5 se obtuvo en el PDA (62.6 mm) y los menores con EMA y MNM quedando los demás valores de crecimientos intermedios presentando diferencias significativas con los demás grupos; para la cepa TLAX 9 sus mayores diámetros se obtuvieron en PDA (63.2 mm), ING, SAB y BAF presentando similitud entre sus diámetros y diferencias significativas con los demás grupos; los medios donde se presentó menor diámetro fueron MNM y EMA. En la cepa TLAX 10 los medios de SAB (64.2 mm), BAF y PDA fueron en los que se produjo mayor crecimiento, presentándose diferencias significativas con los demás grupos; el medio donde creció menos fue el EMA.

En el análisis de varianza bifactorial no se encontraron diferencias significativas entre los crecimientos de las 3 cepas de *Suillus*, mientras que entre los medios, los que mayor diámetro final presentaron fueron PDA, SAB, ING y BAF y los diámetros menores se encontraron en los medios de MNM y EMA, presentándose diferencias significativas entre estos últimos y los que produjeron mayor diámetro.

Los aislamientos de *Suillus* presentaron un periodo de adaptación a los medios cuando fueron transferidos a cajas nuevas. Para la cepa TLAX 5 este tiempo puede variar entre 8 y 26 días dependiendo del medio utilizado (Gráfica 5), siendo el MNM en donde dicho periodo es más largo, la cepa TLAX 10 tardó de 4 a 6 días (Gráfica 6), en cambio la TLAX 9 inicia su desarrollo casi desde los primeros días en que es sembrada (Gráfica 7). No obstante, una vez que los micelios comienzan a invadir los medios, las cepas que presentan periodos de adaptación más largos que alcanzan el crecimiento de la cepa TLAX 9, por lo que al final del ensayo los diámetros coloniales y las biomásas producidas son similares en varios de los medios ensayados.

Para los crecimientos de *Pisolithus* se encontró que la cepa TLAX 11 alcanzó sus mayores diámetros en el ING (84 mm), PDA y SAB presentando similitud entre ellas y diferencias significativas con los demás grupos, el menor diámetro se obtuvo en EMA; para el caso de la cepa TLAX 12 su mayor diámetro se alcanzó en el MNM (58.0 mm) en tanto que los diámetros en los medios ING y PDA fueron muy similares y todos estos presentaron diferencias significativas con los grupos restantes, los medios de EMA y SAB fueron los que presentaron diámetros finales menores. La cepa TLAX 13 no creció en los medios de MNM y HG, en el PDA y SAB creció muy bien aunque en ING y EMA creció escasamente. El análisis de varianza bifactorial indicó que los medios donde crecieron mejor las cepas fueron PDA, SAB e ING y donde se presentó el crecimiento más escaso fue en EMA.

El MNM y el HG no fueron incluidos en el análisis bifactorial debido a que, como ya se mencionó, la cepa TLAX 13 no se desarrolló sobre ellos.

Ávila (1988) recomendó el medio de papa-dextrosa-agar como el más favorable para la mayoría de las especies de *Amanita* que estudió, ya que estimula el crecimiento y la diferenciación celular, sin embargo, sólo comparó con EMA, no utilizando otros medios para comparar la tasa de crecimiento de sus cepas.

RAPIDEZ DE CRECIMIENTO

Al obtener el valor de r en los modelos de crecimiento lineal, exponencial y logístico, gran parte de las curvas se ajustaron al exponencial, lo cual sugiere que si hubieran continuado las mediciones del diámetro por más tiempo, sus crecimientos se ajustarían al modelo logístico de Roberts, pues la mayoría de las gráficas presentaron: un periodo donde el hongo creció escasamente (1.- fase de preparación del individuo, donde se adapta al medio en que ha sido colocado) y otro periodo donde hubo un buen crecimiento (2.- fase de crecimiento, donde el organismo encuentra todos los recursos disponibles de manera rápida para su reproducción); faltando únicamente la última fase (3.- donde la población llega a su punto máximo de crecimiento y éste se estabiliza) (Franco et al., 1985).

La mayoría de las curvas de crecimiento se ajustan al modelo exponencial, pues éste se caracteriza por presentar pendientes diferentes conforme transcurre el tiempo. No obstante, este modelo presupone un crecimiento infinito, lo cual no es factible ni en la naturaleza ni en las condiciones experimentales ensayadas, debido a que existe la limitación del espacio disponible.

En los casos en los que las curvas se ajustaron al modelo lineal, las fases lag fueron muy cortas y las tasas de crecimiento son más o menos constantes a través del tiempo. Debido a que en todos los casos se obtuvo un buen ajuste al modelo lineal, las pendientes de las curvas ajustadas a este modelo fueron consideradas como la rapidez media de crecimiento.

Se efectuaron análisis de varianza simple para los valores de rapidez de las cepas de *Amanita* porque las cepas no crecieron en todos los medios y en *Rhizopogon* porque solo se probó una cepa. En *Suillus* y *Pisolithus* se aplicaron análisis de varianza tanto simple como bifactorial para comparar la rapidez de crecimiento de cada cepa en cada uno de los medios.

En las cepas de *Amanita* (TLAX 1 y 4) se obtuvo la mayor rapidez en el medio de SAB siendo diferentes significativamente con los demás valores de rapidez; los resultados de menor rapidez para la cepa TLAX 1 se encontraron en los medios de BAF y PDA y en la TLAX 4 PDA, ING, MNM y HG.

En *Rhizopogon* el valor de rapidez más alto se obtuvo en el medio de PDA presentando diferencias significativas con los otros grupos, los resultados de las pruebas estadísticas aplicadas a los datos de la rapidez coincidieron con los resultados del análisis del diámetro final.

En el análisis de varianza simple realizado en los aislamientos de *Suillus*, las 3 cepas estudiadas presentaron mayor rapidez en los medios de PDA, SAB y BAF, en el ING crecieron bien únicamente las cepas TLAX 5 y 9 siendo significativamente diferentes con los demás crecimientos; los medios en los que se obtuvo una rapidez media menor fueron EMA, MNM y HG.

Al comparar los análisis de varianza bifactorial del diámetro final y la rapidez media de crecimiento de las cepas de *Suillus* se observó que coincidieron los resultados de los 2, presentándose los valores más altos en los medios de PDA, SAB, ING, y BAF.

Para las cepas de *Pisolithus tinctorius* se encontró que para la cepa TLAX 11 los medios donde se detectó mayor rapidez media fueron PDA y SAB presentando diferencias significativas con los demás crecimientos y el medio donde presentó la rapidez más baja fue el EMA; en la cepa de Estados Unidos (TLAX 12) se observó que la mayor rapidez se detectó en el MNM presentando diferencias significativas con los demás resultados, los crecimientos con menor rapidez se observaron en los medios de EMA e ING; la cepa TLAX 13 presentó su mayor rapidez en los medios de ING y PDA detectándose diferencias significativas con los medios de EMA y SAB que tuvieron una rapidez menor.

En el análisis de varianza bifactorial realizado con los datos de las cepas de *Pisolithus* no se encontraron diferencias significativas entre las cepas, ni entre los tratamientos analizados, posiblemente esto se deba a las altas desviaciones estándar que se presentaron en algunos valores de rapidez, como en el caso del crecimiento en el SAB.

Con base en este parámetro, las cepas de los diferentes taxa se pueden agrupar desde las más rápidas (*Pisolithus tinctorius* y *Suillus tomentosus*), las de rapidez de crecimiento intermedio (*Suillus granulatus* y *Rhizopogon*), hasta las más lentas (*Amanita muscaria* y *Amanita* sp. Sección *Vaginatae*).

PRODUCCIÓN DE BIOMASA

Los resultados en los ensayos de producción de biomasa analizadas con las pruebas de rango multiple mostraron que el medio de cultivo donde se obtuvo mayor peso seco de las colonias fue el SAB para la mayoría de las pruebas, excepto en la cepa de *Rhizopogon* TLAX 3 que produjo mayor biomasa en el medio de BAF. La cepa TLAX 5 (*Suillus granulatus*) en los medios de PDA y BAF y las cepas de *Pisolithus tinctorius* (TLAX 12 y 13) que produjeron gran cantidad de biomasa en el medio de PDA de tal manera que no se presentaron diferencias significativas con el SAB. Los medios donde se obtuvo la biomasa más pobre fueron el EMA, MNM y HG.

CORRELACIÓN BIOMASA - DIÁMETRO FINAL

El diámetro final de las colonias es un parámetro ampliamente utilizado para evaluar el efecto que tienen diferentes medios sobre el desarrollo de los hongos (Acosta-Urdapilleta et al., 1988; Cuaxilo, 1991; Mata, 1987; Mata y Guzmán, 1989 y Salmones et al., 1990). No obstante, en algunos casos se ha observado que las diferencias no se hacen evidentes solamente a nivel del diámetro colonial, sino en la densidad del micelio o en el desarrollo de hifas aéreas o incrustadas en el medio, razón por la cual, en algunos casos se han asignado categorías arbitrarias para diferenciar colonias con diferente densidad de crecimiento pero con diámetros coloniales similares (Martínez-Carrera et al., 1986 a; 1986 b; Mata, 1990; y Salmones et al., 1990).

El empleo del diámetro colonial como el único parámetro indicador del crecimiento podría conducir a una inadecuada selección del medio de cultivo, pero la caracterización de las colonias podría ayudar a una mejor selección. No obstante, este último criterio es subjetivo y depende meramente de la apreciación del observador.

La producción de biomasa es otro parámetro que se ha utilizado para la evaluación del crecimiento de las colonias (Oort, 1981), ya que este parámetro es más objetivo. En el presente trabajo se decidió medir la biomasa producida al final del periodo de observación, además del diámetro colonial obtenido cada tercer día pero para confirmar el valor del diámetro colonial final en la selección de los medios de cultivo se decidió llevar a cabo una correlación entre los 2 parámetros determinados.

Reyes (1985) indicó que la elaboración de diagramas de dispersión es útil para evidenciar si existe correlación entre 2 parámetros. Así, en este caso se elaboraron gráficas de los valores de biomasa contra diámetro final, lográndose observar que no existe un patrón definido al respecto, es decir, los crecimientos radiales mayores no siempre corresponden a la mayor cantidad de biomasa

producida. Lo anterior puede observarse en el caso de la cepa TLAX 11 (*Pisolithus tinctorius*) en la cual se obtuvieron diámetros coloniales similares en ING y SAB pero la biomasa producida en el último medio supera en aproximadamente 6 veces a la obtenida en ING (Gráfica 22). En el caso contrario, valores de biomasa de la cepa TLAX 5 (*Suillus granulatus*) son similares en MNM y HG, pero el diámetro final obtenido en HG dobla el valor del obtenido en MNM (Gráfica 19), encontrándose incluso diferencias estadísticas significativas entre los mismos. Si sólo se considerara el diámetro colonial en la selección de los medios de los ejemplos anteriores, en el primer caso hubiera sido indistinta la selección de ING y SAB a pesar de la diferencia en los valores de biomasa, en tanto que en el segundo caso se hubiera seleccionado el HG sobre el MNM, no obstante que su producción de biomasa micelial es básicamente la misma.

PRODUCCIÓN DE BIOMASA A DIFERENTES PH

El uso de cultivo en medio líquido para evaluar el crecimiento en diferentes pH proporcionó resultados altamente variables, con una gran desviación estándar y que en algunos casos no presentaron diferencias significativas cuando se aplicaron los análisis estadísticos. Oort (1981) encontró variaciones moderadas a grandes en la producción de biomasa cuando estaba analizando el crecimiento de 6 cepas de *Lactarius* argumentando que en este tipo de ensayos existen pequeñas variaciones en la composición del medio, en la fuente del inóculo o en las condiciones ambientales que podrían tener un efecto pronunciado sobre todo en las últimas etapas de desarrollo. En nuestro caso, las variaciones en estos mismos factores podrían estar reflejando en los resultados obtenidos en el ensayo de pH, siendo más importante su control cuando se utiliza medio líquido, ya que las diferencias en aireación (agitación), edad y cantidad de inóculo inicial introducido, seguramente promueven un desarrollo desigual en los diferentes matraces.

Otros factores que pueden afectar las pruebas de crecimiento en diferentes pH son la duración del crecimiento, las fuentes de nitrógeno y si las sales de hierro son adicionadas antes o después de esterilizar el medio de cultivo (Hung y Trappe, 1983), por lo que la interpretación de los resultados siempre debe hacerse con precaución.

Respecto al género *Amanita*, el análisis de varianza bifactorial no detectó diferencias significativas entre las cepas ni entre los medios, los análisis de varianza simple no evidenciaron diferencias entre el crecimiento de las cepas TLAX 1 y 2 en los distintos pH. La cepa TLAX 4 creció mejor en el pH de 6.0 y su desarrollo fue más pobre en el pH más ácido (4.0), quedando como intermedios los pH de 4.5 a 5.5.

Al comparar el crecimiento de la cepa TLAX 4 en medio de SAB sólido y líquido es posible detectar resultados contradictorios, ya que solo creció escasamente en el primero, mientras que en medio líquido hubo buen desarrollo.

La cepa *Rhizopogon* tuvo su mayor crecimiento en pH de 5.0 disminuyendo en los pH de 4.5 y 5.5 y obteniéndose el desarrollo más pobre en los valores extremos de pH usados en este ensayo (Gráfica 26). En este caso si se detectaron diferencias significativas de la biomasa obtenida en pH 5.0 con respecto a los valores encontrados en los otros pH.

En el caso de *Suillus*, los análisis estadísticos no reflejaron diferencias significativas entre las cepas estudiadas ni entre los pH evaluados por lo que se puede concluir que las variaciones de pH ensayados no influyen en el crecimiento de los aislamientos de este género. Este resultado puede estar influenciado por la alta variabilidad de algunos de los datos.

Las biomásas de las cepas de *Pisolithus tinctorius* producidas en diferentes pH tampoco presentaron diferencias significativas y aparentemente produjeron gran cantidad de biomasa en todos los tratamientos.

Hung y Trappe (1983) propusieron que existen diferentes respuestas de crecimiento al colocar el hongo en varias unidades de pH, describiendo 5 grupos: (1) crece bien solamente a un pH determinado; (2) el crecimiento aumenta al incrementar el pH; (3) crece bien a 3 unidades de pH; (4) crece bien a 4 unidades de pH; y (5) crece bien a 5 unidades de pH. De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo y en forma similar a la clasificación propuesta por Hung y Trappe (op. cit.) las cepas estudiadas se pueden agrupar de la siguiente forma: (a) cepas que solo crecen bien en un valor de pH, es decir que solo se desarrollan en un intervalo muy pequeño de pH, siendo este el caso de las cepas de *Rhizopogon* (TLAX 3) y *Amanita* sp. Sección *Vaginatae* (TLAX 4); y (b) cepas que se desarrollan en forma similar en todos los valores de pH probados, es decir que crecen en un amplio margen de pH; encontrándose en este caso las 2 cepas de *Amanita muscaria* (TLAX 1 y 2), las 3 cepas de *Pisolithus tinctorius* (TLAX 11, 12 y 13) y las 3 de *Suillus* (TLAX 5, 9 y 10).

Para las pruebas de pH se decidió utilizar el medio de BAF líquido debido a que en el SAB líquido el micelio presentaba un crecimiento reacio al fraccionamiento, con el cual era difícil obtener una distribución homogénea de las hifas en el matraz. Debido a la necesidad de obtener la mayor cantidad de biomasa distribuida homogéneamente en el recipiente de crecimiento para inocular las botellas de propagación o los contenedores donde se producirán plantas, se recomienda para este fin la utilización del BAF sobre otros medios.

Por otro lado, es necesario señalar la necesidad de retomar los ensayos de pH realizados con estas cepas controlando en forma más estricta los factores que puedan influenciar los valores de los resultados.

SÍNTESIS IN VITRO

Es importante tener en cuenta que las plantas ectomicorrizógenas presentan un periodo en el que pueden sobrevivir sin el hongo simbiote. Este periodo es llamado de independencia micorrizica (Oria de Rueda, 1991) y es parámetro variable dependiendo de la especie forestal que es muy importante considerar en las pruebas de síntesis *in vitro*, ya que si este periodo es muy prolongado el hongo podría morir si es inoculado antes de que la planta sea capaz de ser receptiva a la infección del hongo.

Wilcox (1982) mencionó que la ectomicorriza aparece en muchas plántulas desde el primero hasta los 3 meses después de la germinación. Sin embargo, aunque las raíces primarias pueden ser invadidas por el hongo no se forman micorrizas hasta la aparición de las raíces laterales. Hay que considerar además que la conservación de plántulas de especies forestales en medios axénicos es difícil, por el tiempo que debe transcurrir desde la germinación hasta el desarrollo de las raíces secundarias, momento en el que debe efectuarse la inoculación del hongo. Debido a esto, frecuentemente la plántula muere por falta de humedad, exceso de calor, o problemas de contaminación, razón por la cual no se logró la obtención axénica de la micorriza en muchos de los intentos realizados. Se ha recomendado hacer la inoculación de las plantas directamente con los cuadros de micelio crecido en agar (Fortin y Piché, 1979; Gay, 1990; y Mason, 1980), sin embargo Miller *et al.* (1986) sugirieron crecer el hongo en medio líquido, con agitación cada tercer día para fragmentar el micelio, corroborando con resultados comprobados que de esta manera la inoculación es más fácil y presenta menor riesgo de contaminación. No obstante, al momento de inocularse se presentaron problemas de contaminación del medio, pues en ocasiones los contaminantes crecen más rápido que el hongo a probar. Además de esta problemática en cada dispositivo utilizado se presentaron situaciones particulares.

En las botellas, se tiene la ventaja de que se simulan más las condiciones que tienen las plantas en el campo y debido a que la humedad se conserva por más tiempo se corre menos riesgo de contaminación por adición de agua (Hacskeylo, 1953). Por otro lado, existen varias dificultades como son el manejo de la planta, la inoculación de la misma, el hecho de que no se puede observar el desarrollo de las raíces y al extraer las plántulas pocas raíces pueden estar micorrizadas. Además, este dispositivo ocupa mayor espacio y más tiempo en la obtención de la micorriza. Trappe (1967)

mencionó que la síntesis puede durar de 3 a 4 meses, sin embargo, fue necesario esperar hasta 8 meses debido a que las plantas usadas tardan mucho tiempo en desarrollar sus raíces secundarias. En este dispositivo se observaron modificaciones en las raíces secundarias de 10 combinaciones planta-hongo, siendo la técnica que permitió la recuperación de mayor número de plántulas. No obstante, sólo en la mitad de los sistemas radicales estudiados se encontraron evidencias de la formación de ectomicorizas.

Con la prueba en tubo de ensaye con medio nutritivo en agar, se obtuvo mayor cantidad de raíces micorrizadas, pero se requiere estar adicionando humedad constantemente, pudiendo de esta manera favorecer la contaminación, pues el agar se deseca muy rápido y la plántula requiere estar por lo menos 8 meses en el dispositivo. Además, la planta está sometida a una fuerte tensión por contar con poco espacio y estar expuesta a la luz. Mason (1975) mencionó que la técnica de tubo de ensaye es más conveniente porque tiene menor demanda de espacio, además de que se puede observar bien el desarrollo de la micorriza desde las primeras fases. Mason (1980) recomendó este método, porque las micorizas se forman fácilmente sobre el medio de agar, sin embargo, cuando los hongos producen escaso micelio y micorizas sobre el agar es necesario utilizar como soporte una mezcla de vermiculita-turba. En nuestro caso, este dispositivo solo arrojó resultados en una combinación planta-hongo y aún cuando se obtuvieron varias micorizas perfectamente formadas, el dispositivo no fue funcional por el bajo porcentaje de éxito obtenido al usarlo.

Brunner *et al.* (1990) recomendaron la técnica de bolsa de crecimiento como ideal para probar las posibles asociaciones ectomicorrízicas, pues presenta facilidad para observar el desarrollo de la asociación, se obtiene más rápido que en los otros métodos y se requiere de poco espacio. Sin embargo, como es un dispositivo semiaxénico expuesto al ambiente, se favorece la rápida contaminación, aún cuando el material y el medio de cultivo utilizados se desinfecten y esterilicen. En varias ocasiones crecieron más rápido los contaminantes que el hongo simbionte por lo que no se obtuvo la micorriza, muriendo tanto la planta como el hongo inoculado. En este dispositivo sólo se lograron observar modificaciones a la raíz en dos de las combinaciones planta-hongo que se sometieron a confrontación, pero sólo en un caso se logró obtener micorizas bien definidas, aunque en una proporción muy baja.

La síntesis obtenida en tubo de ensaye fue la que mejores condiciones ofreció para la obtención de la micorriza de *Pisolithus tinctorius*, ofreciendo al mismo tiempo la ventaja de que se pudo observar su formación. Al confrontar a estas mismas especies con la técnica de bolsa de crecimiento, aparentemente se presentó ramificación dicotómica en la raíz, pero al hacer cortes de ésta no se presentó manto, ni red de Hartig, sino una capa de taninos gruesa, la cual pudo estimularse debido a las condiciones estresantes en las que se encontraba la planta.

Es importante no reproducir por completo las técnicas descritas, porque algunas de ellas son muy sofisticadas y de alto costo, por lo que es indispensable adaptarlas a los recursos de cada institución.

Ya que las plantas y los hongos nativos presentan fisiología diferente que los organismos de otras latitudes es necesario adaptar las técnicas a los recursos de cada zona antes de seguir intentando la obtención de micorrizas sintetizadas *in vitro*. De esta forma sería importante determinar los periodos de independencia micorrízica en las plantas mexicanas y buscar los mecanismos para que las plantas desarrollen raíces secundarias en periodos más cortos.

CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS

La caracterización de las micorrizas obtenidas *in vitro* y su comparación con las características de las micorrizas procedentes del campo son herramientas útiles que han permitido encontrar y detallar los caracteres que son importantes para la identificación de los micobiontes (Palm y Stewart, 1984), lo cual permitirá en el futuro su identificación en estudios de inoculación en vivero o campo.

En el caso de los aislamientos del género *Amanita*, las únicas modificaciones que se lograron observar en las plántulas de *Pinus montezumae* fueron algunas dicotomizaciones. Microscópicamente, aunque el hongo formó rizomorfos y creció sobre las raíces, no se observó ninguna evidencia de la formación de manto ni de la red de Hartig, pero sí una capa de células taníferas muy gruesa. La bifurcación de las raíces secundarias pudo deberse a la respuesta de la presencia de exudados del hongo tal como lo ha demostrado Slankis (1973).

Amanita muscaria coloniza una amplia gama de hospederos, encontrándose asociada con 12 géneros de plantas (Trappe, 1962; Malajczuk et al., 1982; Molina y Trappe, 1982 b). En síntesis *in vitro* forma una micorriza abundante y bien desarrollada con varias especies de *Pinus* (Trappe, 1962; Riffle, 1973), *Larix decidua*, *Picea abies*, *Pseudotsuga menziesii*, *Betula pendula*, *Arbutus menziesii*, *Arctostaphylos uva-ursi* y algunas especies de *Eucalyptus* (Molina y Trappe, 1982 c).

Rhizopogon modificó la morfología de las raíces secundarias de *Pinus montezumae* a dicotómicas o coraloides, pero al observarse microscópicamente, éstas no presentaron ni manto ni red de Hartig y en cambio se encontró una capa de taninos bastante gruesa, deduciéndose que el cambio de morfología de la raíz se debe a la presencia de los exudados del hongo y la capa gruesa de taninos como respuesta a la infección. Al confrontarse con *Pinus greggii* se presentó una morfología monopodial simple, formándose un manto muy laxo que cubrió a la raíz de forma irregular, no existiendo

formación de la red de Hartig. Lo anterior hace suponer, que si el dispositivo se hubiera conservado más tiempo probablemente se habría observado una ramificación dicotómica, un manto más compacto y formación de la red de Hartig.

Las características de la micorriza de las especies de *Rhizopogon* que se han descrito en la literatura son muy variables, ya que las raíces obtenidas en el campo tienen una ramificación desde bifurcada hasta coraloides muy compacta; en algunos casos *Rhizopogon occidentalis* llega a presentar una micorriza monopodial con *Picea sitchensis* y *R. vinicolor* forma micorrizas monopodiales y pinadas con *Pseudotsuga menziesii*. En algunas pruebas de síntesis *in vitro* con *Tsuga heterophylla* y *Larix occidentalis* se ha reportado que este taxón coloniza pocas raíces y éstas presentan una morfología monopodial, con manto poco desarrollado y una red que penetra de 2 a 3 células corticales (Molina y Trappe, 1982 c). Zak (1971) observó solamente estructuras pinadas comparadas con las ectomicorrizas tuberculadas naturales, sugiriendo que tal vez la cubierta de la micorriza sintetizada no tiene el mismo tiempo de desarrollo que la micorriza obtenida en campo. La estructura monopodial simple, el manto laxo y la ausencia de red de Hartig observados en *Pinus greggii* coinciden con los resultados de Molina y Trappe (1982 c) y sugieren que la formación de este tipo de micorrizas requiere de tiempos más prolongados.

Al confrontar *Suillus granulatus* con *Pinus montezumae* se obtuvieron estructuras desde monopodiales o bifurcadas, hasta coraloides; en las ramificaciones bifurcadas no se encontró infección, suponiéndose que la modificación se debió a la presencia de exudados del hongo; en la ramificación monopodial se presentó un manto muy laxo que cubrió a la raíz de manera discontinua. También se observó que la infección por el hongo es muy agresiva, pues en algunos cortes se detectó penetración en las células corticales, llegando en ocasiones hasta el cilindro vascular.

Con *Pinus greggii* se observó una morfología monopodial, con un manto muy laxo que cubrió a la raíz de manera discontinua y no se observó red de Hartig.

Suillus granulatus ha sido ampliamente estudiado: se ha encontrado en plantaciones asociado con *Pinus strobus* (Smith y Thiers, 1964, 1971), Snell y Dick (1970) y Palm y Stewart (1984) lo reportaron asociado con *P. strobus*, *P. resinosa*, *P. rigida*, *P. banksiana*, *Picea* sp. y *Tsuga* sp.. Además sus micorrizas se han obtenido en síntesis *in vitro* con *Pinus ponderosa* (Cline y Reid, 1982; Riffle, 1973), *P. strobus* (Doak, 1934; Fortin et al., 1980; Hatch y Hatch, 1933; Piché y Fortin, 1982) y *P. resinosa* (Moser, 1959; Sutherland y Fortin, 1968).

Al observar algunos cortes de las raíces de *Pinus montezumae* inoculado con *Suillus tomentosus* se observó un micelio muy laxo rodeando la raíz y una capa de células taníferas muy gruesa; en

otros cortes la capa de la corteza fue muy delgada y el cilindro central muy grueso; mientras que en el resto la red de Hartig penetró de manera irregular de 1 a 3 células.

Con *Pinus greggii* se presentó una morfología monopodial, con un manto laxo y la red de Hartig penetrando de 2 a 3 células de manera discontinua. En algunas ocasiones no se observó red de Hartig pero sí una capa de células taníferas muy gruesa que en ocasiones abarcaba varios niveles de células del córtex, indicando que en algunos casos las plántulas respondieron más intensamente a la infección del hongo. En la bibliografía revisada no se lograron encontrar datos de las micorrizas producidas por esta especie.

En el caso de *Pisolithus tinctorius* solamente se obtuvo micorriza al confrontarlo con *Pinus montezumae* dando una morfología de dicotómica a coraloide con su típico color café dorado. Microscópicamente, presentó un manto bien formado, así como una red de Hartig bien desarrollada que penetró homogéneamente de 2 a 3 células corticales. Este hongo se considera cosmopólita, encontrándose asociado con varios hospederos; se ha reportado con 48 especies de árboles y se ha observado en síntesis *in vitro* con 23 especies adicionales (Marx, 1977 b) incluyendo varias especies de *Abies*, *Arbutus*, *Arctostaphylos*, *Betula*, *Carya*, *Eucalyptus*, *Larix*, *Pinus*, *Populus*, *Pseudotsuga*, *Quercus*, *Salix* y *Tsuga* (Molina y Trape 1982 c). La morfología de la micorriza de esta especie fue básicamente similar a la ya descrita para el género *Pinus* (Molina y Trape, 1982 c).

En los ensayos de confrontación utilizando bolsas de crecimiento se observó ramificación de la raíz, pero no formación de manto ni de red de Hartig, suponiendo que estos cambios se deben a la presencia de exudados de los hongos los cuales murieron antes de invadir la raíz.

Duddridge (1986 a) en ensayos de síntesis *in vitro* con sin fuentes de carbono observó algunas interacciones hongo-planta, detectando incompatibilidades que se manifestaban como desarrollo anormal de la pared del hospedero, infección intracelular, ausencia o irregularidades en el manto y red de Hartig o formación de ácidos fenólicos. Duddridge (1986 b) mencionó que hay una respuesta de defensa del hospedero al incluir una fuente de carbono fácilmente asimilable en el medio de síntesis, incrementando la producción de fenoles y lignificación de la interfase hongo-hospedero, argumentando que esta respuesta se debe a una deficiencia de boro, porque el azúcar exógena forma complejos boratados haciendo a éste elemento menos aprovechable para el tejido de la raíz y explicando que estos síntomas son similares a la respuesta del hospedero cuando es atacado por patógenos.

No obstante, Brunner *et al.* (1990) opinan que la ausencia de manto y de red de Hartig se deben a que el hongo no es un fitobionte natural, o que se asocia con hospederos viejos y no con

plántulas, por lo que es conveniente repetir algunas pruebas de compatibilidad y evaluar en forma más precisa el tipo de interacción que se está llevando a cabo.

Se ha sugerido que algunas características de las micorrizas tales como la compactación y profundidad del manto y la formación de rizomorfos depende del estado de desarrollo de la simbiosis, de la edad del hospedero, método de cultivo ó condiciones nutricionales que se proporcionan (Brunner et al. 1991). Así, algunas de las micorrizas obtenidas como las de *Rhizopogon - Pinus gregii* y *Suillus tomentosus - Pinus montezumae* podrían ser atípicas debido a la influencia de algunos de los factores antes mencionados.

Por otro lado, es posible que en algunos casos los hongos utilizados no formen micorriza porque los fitobiontes no se asocien con ellos naturalmente (Brunner et al., 1990). Siendo probablemente el caso de confrontaciones de los aislamientos de *Pisolithus tinctorius* con *Pinus gregii*, ya que estos hongos fueron aislados de plantaciones de nogal y aún cuando ya se ha reportado la asociación de este taxón con algunas especies de pino (Molina y Trappe, 1982 c), también se ha señalado que los aislamientos de un lugar son incapaces de infectar a las plantas de otro sitio (Molina y Trappe, 1982 b).

Se ha observado también que existe una sucesión de especies de hongos en las raíces de los hospederos, existiendo hongos que sólo colonizan las raíces durante los primeros años de vida de la planta y hongos que sólo son capaces de formar micorriza con las raíces de plantas maduras (Mason et al., 1990) Aún cuando en la literatura existan reportes de la síntesis in vitro de micorrizas de *Amanita muscaria* (Mason et al., 1977; Miller et al., 1986 y Molina y Trappe 1982 c), esta especie frecuentemente se ha considerado como un hongo típico de árboles maduros (Mason et al., 1990), por lo que es posible que el fracaso en la obtención de la micorriza de este hongo con *Pinus montezumae* y *P. gregii* sea debido a que este tipo de experimentos se realizan con plántulas y no con árboles maduros, decrementando con esto la probabilidad de tener éxito en la síntesis in vitro.

Es necesario señalar que los resultados experimentales no siempre reflejan las situaciones de campo y que el hecho de que un hongo no logró asociarse in vitro no significa que éste sea incapaz de establecer la relación con estos hospederos. De igual forma una micorriza típica puede estar dada por las condiciones experimentales o bien por el forzamiento que se está haciendo al confrontar una planta y un hongo que no se asocian en forma natural.

PERSPECTIVAS EN VIVERO O CAMPO

Para realizar la selección de un hongo que pueda servir de inoculante en los programas de reforestación, es muy importante conocer la afinidad y compatibilidad con la planta de interés forestal. Es necesario también tomar en cuenta que existen varios factores que pueden afectar esta relación, por ejemplo, en el vivero predominan hongos ectomicorrizógenos típicos que pueden ser ascomicetos, posiblemente de especies de *Geospora*, *Humaria*, *Sphaerosporella* o *Trichophaea* (Mason et al. 1990) que pueden competir y desplazar al hongo reproducido en laboratorio, aunque los hongos de vivero a los pocos años del trasplante desaparecen de la rizósfera, dejando desprotegida a la raíz.

Mason et al. (1990) mencionaron que en los bosques existe una sucesión de hongos que presenta 3 fases: (1) Un estrecho margen relativo a los hongos pioneros con buen desarrollo en estados jóvenes de la planta, por ejemplo los géneros: *Hebeloma*, *Laccaria*, *Inocybe* y *Thelephora*; (2) un incremento en la diversidad de especies en bosques maduros, encontrándose dominancia de especies de *Amanita*, *Lactarius* y *Russula*; (3) y la persistencia de uno o pocos hongos dominantes como *Amanita muscaria* y *Tricholoma columbetta*, en los bosques viejos, tratándose de hongos específicos al hospedero, bien adaptados al árbol simbiote y a las condiciones edáficas del sitio.

Considerando lo anterior, es conveniente realizar aislamientos principalmente de cuerpos fructíferos de las especies pioneras, pero también es importante obtener cepas de hongos que se asocian a árboles maduros, para poder observar su comportamiento en condiciones axénicas, al confrontarlo con varios hospederos y al reproducirlo e inocularlo en plantas de interés forestal, pudiendo tener de esta manera una alternativa no muy lejana de reproducir hongos simbiotes que además tengan importancia alimenticia.

Es importante trabajar con especies vegetales y de hongos originarias de las zonas aledañas, pues se ha mencionado que los hongos y árboles nativos que forman ectomicorriza están mejor adaptados a las condiciones que prevalecen en un sitio en particular y cuando existe competencia entre diferentes especies de árboles y de hongos, se llega a establecer un equilibrio, permaneciendo las especies que formen ectomicorriza que estén mejor adaptadas al sitio lográndose una estabilidad relativa (Meyer, 1973) por esta razón frecuentemente se llegan a tener problemas cuando las especies vegetales son cultivadas fuera de su zona natural.

En este sentido, las cepas de *Suillus* se considerarían las más

adecuadas para continuar en forma inmediata con ensayos de vivero o campo, ya que son fáciles de aislar a partir de basidiomas y su crecimiento es rápido en condiciones de laboratorio. No obstante no debe descartarse la continuación de los estudios con cepas de crecimiento lento y la obtención de cepas de especies reacias al cultivo axénico, pues algunas de éstas podrían proporcionar a las plantas mayores ventajas para crecer y sobrevivir en los sitios de transplante (Trappe, 1977).

CONCLUSIONES

Los hongos ectomicorizógenos poseen requerimientos nutricionales muy específicos por lo que muchos de ellos no logran desarrollarse bajo condiciones de laboratorio o su desarrollo es muy limitado.

Por lo anterior, es deseable llevar a cabo el mayor número de intentos de aislamientos con el objeto de tener mayores posibilidades de obtener micelios. Es necesario al mismo tiempo probar otros medios que aumenten la probabilidad de éxito de obtención de mayor número de aislamientos.

Algunos géneros como *Pisolithus*, *Suillus* y *Amanita* se logran aislar fácilmente en medios como PDA y BAF pero otros géneros como *Russula*, *Lactarius*, *Inocybe* y *Cortinarius* son muy reacios al crecimiento en condiciones de laboratorio y frecuentemente se pierden fácilmente durante las resiembras cuando algunas especies se logran aislar.

Las caracterizaciones de las colonias en cada medio nutritivo nos proporciona la información sobre la morfología que presenta el crecimiento de cada cepa.

Aislamientos de la misma especie o de especies relacionadas del mismo género presentan morfología similar en los medios en los que son sembrados. En este caso, la caracterización colonial nos puede servir de herramienta taxonómica, ayudándonos a agrupar especies que posean características similares, o bien, a separar taxa que representen diferentes caracteres culturales. Además, la morfología colonial nos puede dar indicio de la identidad de los hongos aislados a partir de la micorriza de campo.

De las cepas obtenidas, las de *Amanita* y *Rhizopogon* son las más lentas en crecer y parecen ser más selectivos con los medios presentando periodos de adaptación más largo a los nuevos medios sobre los que se colocan.

En nuestros ensayos de crecimiento se demostró que no siempre existe correlación entre la producción de biomasa y el crecimiento radial, ya que en ocasiones puede ser acelerado pero el micelio que se desarrolla puede ser laxo y/o postrado sobre el agar.

Es recomendable utilizar más de un parámetro de crecimiento para seleccionar el medio de cultivo que más favorezca el desarrollo del hongo, pues el utilizar únicamente el crecimiento radial para seleccionar las cepas que se desarrollan rápidamente, puede proporcionar datos erróneos, pues lo que más interesa es tener mayor potencial de inóculo y no sólo que la colonia invada rápidamente el medio nutritivo.

Las cepas más rápidas son *Pisolithus tinctorius* y *Suillus tomentosus*; las cepas con crecimiento rregular son *Suillus granulatus* y *Rhizopogon* sp.; las más lentas *Amanita muscaria* y *Amanita* sp.

Como las cepas de *Pisolithus tinctorius* y *Suillus* presentaron una rapidez de crecimiento mayor, es conveniente realizar con ellas ensayos de vivero y efectividad que nos muestren su utilidad en producción de plantas con fines de reforestación.

De acuerdo con los resultados de las pruebas de crecimiento en diferentes pH, las cepas aisladas se pueden agrupar en 2 categorías: a) cepas que sólo se desarrollan bien en un valor de pH (*Rhizopogon* sp. (TLAX 3) y *Amanita* sp. sección *Vaginatae* (TLAX 4); y b) cepas que que crecen en un amplio margen de pH (*Amanita muscaria* (TLAX 1 y 2), *Pisolithus tinctorius* (TLAX 11, 12 y 13) *Suillus* (TLAX 5, 9 y 10)).

Para inocular en el tiempo correcto y evitar que muera el hongo antes de establecerse la asociación, es importante tener en cuenta que el periodo de independencia micorrízica es variable para cada tipo de árbol.

En la pruebas de síntesis *in vitro* el método de tubo de ensaye con medio nutritivo de Ingestad agar proporcionó buenos resultados al permitir observar el desarrollo de la micorriza desde sus inicios. Sin embargo el agar se seca muy rápidamente y el éxito en la síntesis se logra sólo en un bajo porcentaje de los dispositivos montados.

El método de frascos con vermiculita turba y medio nutritivo conserva más la humedad, pero tarda más tiempo en obtenerse la micorriza, además de que no se puede observar su desarrollo, ésta es muy escasa y en ocasiones los exudados provocan ramificación sin que exista la invasión del hongo.

El método de bolsas de crecimiento es una técnica más rápida que las anteriores, sin embargo cuando la raíz de la plántula tarda en ramificar, el sistema se contamina fácilmente llegando a inhibirse el crecimiento de los hongos micorrízicos.

Al no existir diferencias significativas entre las 3 cepas de *Pisolithus tinctorius* en ninguno de los parámetros estudiados, se puede considerar que los aislamientos mexicanos son comparables a la cepa extranjera de esta especie en cuanto a sus características de crecimiento en laboratorio. No obstante, es posible que la respuesta a la presencia de plantas nativas o a las condiciones edáficas y climáticas regionales sea diferente, lo que se apoya en el hecho de no haberse logrado la síntesis *in vitro* entre la cepa procedente de Estados Unidos y las plantas mexicanas.

Es necesario trabajar con aislamientos de hongos nativos que se encuentren mejor adaptados a las condiciones edáficas, climáticas y vegetacionales de los bosques de México.

Es importante estudiar el comportamiento de aislamientos de hongos pioneros de bosques jóvenes, pero también el comportamiento de aislamientos de hongos encontrados en bosques maduros.

El conocimiento de la morfología y anatomía de la micorriza *in vitro*, es un importante auxiliar para la identificación de micorrizas de campo.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Urdapilleta, L., G. Bustos Zagal y D. Portugal, 1988. Aislamientos y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. *Rev. Mex. Mic.* 4:13-20.
- Agerer, R., 1986. Studies on ectomycorrhizae II. Introducing remarks on characterization and identification. *Mycotaxon* 26:473-492.
- Agerer, R., 1987 a. Colour atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag. Schwäbisch Gmünd.
- Agerer, R., 1987 b. Studies on ectomycorrhizae IX. Micorrhizae formed by *Tricholoma sulfureum* and *T. vaccinum* on Spruce. *Mycotaxon* 28:327-360.
- Agerer, R., 1987 c. Studies on ectomycorrhizae X. Mycorrhizae formed by *Cortinarius obtusus* and *C. venetus* on Spruce. *Mycologia* 79:524-539.
- Agerer, R., 1988. Studies on ectomycorrhizae XIV. Mycorrhizae formed by *Cortinarius hercynicus* and *C. varicolor* on *Picea abies*. *Can. J. Bot.* 66:2068-2078.
- Amaranthus, M. P., C. Y. Li, y D. A. Perry, 1987 a. Nitrogen fixation within mycorrhizae of Douglas-fir seedlings. In: Sylvia, D. M. Hung, L. L. y Graham, J. H. (eds.), *Mycorrhizae in the Next Decade: Practical Applications and Research Priorities*. Univ. of Florida, Gainesville. 29.
- Amaranthus, M. P., D. A. Perry y S. L. Borchers, 1987 b. Mycorrhizae improve seedling survival on a hot, dry site in southwest Oregon. In: Schenk, N. (ed.). *Proceedings, 7th North American Conference on Mycorrhizae*. Gainesville.
- Amaranthus, M. P., J. M. Trappe y R. J. Molina, 1988. Long-term forest productivity and the living soil. Paper 2265, Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. Department of Botany and Forest Science (courtesy), Oregon State University, Corvallis, OR 97331 y Forestry Sciences Laboratory, Pacific Northwest Research Station, U.S.D.A. Forest Service, 3200 Jefferson Way, Corvallis, OR 97330.
- Ávila, Z. H., 1988. Aislamiento, caracterización y confirmación de micelios de cuatro especies de *Amanita* (Agaricales) de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias U. N. A. M. México, D. F.

- Bjorkman, E., 1967. Microbiological restoration of degenerated soils for afforestation. *Svensk Naturvensk* 20:241-248.
- Bjorkman, E., 1970. Forest tree mycorrhizae. The conditions for its formation and the significance for tree growth and afforestation. *Plant Soil* 32:589-610.
- Brunner, I. L., F. Brunner, y O. K. Jr. Miller, 1990. Ectomycorrhizal synthesis with Alaskan *Alnus tenuifolia*. *Can. J. Bot.* 68:761-767.
- Brunner, I. L., R. Amiet y B. Schneider, 1991. Characterization of naturally grown and in vitro synthesized ectomycorrhizae of *Hebeloma crustuliniforme* y *Picea abies*. *Mycol. Res.* 95:12:1407-1413.
- Castillo, J., J. García y F. E. San Martín, 1979. Algunos datos sobre la distribución ecológica de los hongos, principalmente los macromicetos, en el estado de Nuevo León. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13:229-238.
- Chapman. W. K., S. M. Berch y T. M. Ballard, 1990. in vitro growth of ectomycorrhizal fungi on dilute agar. *Mycologia* 82:4:526-527.
- Chilvers, G. A., P. A. Douglas y F. F. Lapeyrie, 1986. A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. *New Phytol.* 103:397-402.
- Cifuentes, B. J., M. Villegas y L. Pérez-Ramírez, 1986. Hongos. In: Lot A. y F. Chiang, (comp.) *Manual de Herbario*. Consejo Nacional de la Flora de México, Inst. Biol., UNAM, México, D. F. 55-64.
- Cline, M. L., y C. P. P. Reid., 1982. Seed source and mycorrhizal fungus effects on growth of containerized *Pinus contorta* and *Pinus ponderosa* seedlings. *Forest Sci.* 28:237-250.
- Cooke, W. B., 1968. Carbon/Nitrogen relationships of fungus culture media. *Mycopathol. Myc. Appl.* 34:305-315.
- Cromer, D. A. 1935. The significance of the mycorrhiza of *Pinus radiata*. *Bull. For. Bur. Aust.* 16:19.
- Cruz Ulloa, B. S., 1990. Cultivo in vitro y caracterización de micelios de Basidiomicetos ectomicorrizógenos. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias UNAM, México, D. F.

- Cuaxilo, L. V., 1991. Desarrollo de tres cepas del hongo ectomicorrizico *Laccaria bicolor* (Maire) Orton aislada de los bosques de la Malintzin sobre medios de cultivo a base de espirulina. Tesis Profesional, Depto. de Ingeniería y Tecnología. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Cuevas Rangel, R. A., 1979. Pruebas de inoculación con el hongo micorrizico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch, en plántulas de *Pinus montezumae* Lamb. en suelos de vivero. *Ciencia Forestal* 4:19:46-62.
- Danielson, R. M., 1984. Ectomycorrhiza formation by the operculate discomycete *Sphaerosporella brunnea* (Pezizales). *Mycologia* 76:3:454-461.
- De la Bastide, P. Y. y B. Kendrick, 1990. The in vitro effects of benomyl on disease tolerance, ectomycorrhiza formation, and growth of white pine (*Pinus strobus*) seedlings. *Can. J. Bot.* 68:444-448.
- Dixon, R. K., H. E. Garret, J. A. Bixby, G. S. Cox y J. G. Tompson, 1981. Growth ectomycorrhizal development and root soluble carbohydrates of black oak seedlings fertilized by two methods. *Forest Sci.* 270:617-624.
- Doak, K. D., 1934. Fungi that produce ectotrophic mycorrhizae of coníferas. *Phytopathology* 24:7. (Abstr.)
- Duddridge, J. A., 1986 a. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal host in vitro in the absence of exogenous carbohydrate. *New Phytol.* 103:457-464.
- Duddridge, J. A., 1986 b. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. IV. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and a number of ectomycorrhizal hosts in vitro in the presence of exogenous carbohydrate. *New Phytol.* 103:465-471.
- Duddridge J. A. y D. J. Read, 1984 a. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. I. Ectomycorrhizal development in pine in the field. *New Phytol.* 96:565-573
- Duddridge J. A. y D. J. Read, 1984 b. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. II. Ectomycorrhizal development en pine in vitro. *New Phytol.* 96:575-582.
- Duponnois, R. y J. Garbaye, 1990. Some mechanism involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria. *Can. J. Bot.* 68:2148-2152.

- Estrada-Torres, A. y M. Valdés, 1986. El crecimiento y la micorrización de plántulas de pino inoculadas con *Pisolithus tinctorius* en el semillero o en el envase de transplante. *Biotica* 11:137-142.
- Ferrier, R. C. y I. J. Alexander, 1985. Persistence under field conditions of excised fine roots and mycorrhizas of Spruce. In: Fitter A. H. (ed.) *Ecological interactions in soil*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Fortin, J. A. y Y. Piché, 1979. Cultivation of *Pinus strobus* root hypocotyl explants for synthesis of ectomycorrhizae. *New Phytol.* 81:109-119.
- Fortin, J. A. Y. Piché, y M. Lalonde, 1980. Technique for the observation of early morphological changes during ectomycorrhiza formation. *Can. J. Bot.* 58:361-365.
- Fortin, J. A., I. Piché y C. Godbout., 1983. Methods for synthesizing ectomycorrhizas and their effect on mycorrhizal development. *Plant Soil* 71:275-284.
- Franco L. J., G. de la Cruz A., A. Cruz G., A. Rocha R., N. Navarrete S., G. Flores M., E. Kato M., S. Sánchez C., L. G. Abarca A., C. M. Bedia S. y I. Winfield A., 1985. *Manual de Ecología*. Ed. Trillas, México, D. F.
- Garza-Ocañas, F., 1986. Hongos ectomicorrízicos en el estado de Nuevo León. *Rev. Mex. Mic.* 2:197-206.
- Gay, G., 1990. Effect on the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma hiemale* on adventitious root formation in derrooted *Pinus halepensis* shoot hypocotyls. *Can. J. Bot.* 68:1265-1270.
- Godbout, C., y J. A. Fortin., 1985. Synthesized ectomycorrhizae of aspen: fungal genus level of structural characterization. *Can. J. Bot.* 63:252-262.
- Goss, R. W., 1960. Mycorrhiza of ponderosa pine in Nebraska grassland soil. *Univ. Nebraska Coll. of Agric. Res. Sta. Bull.* 192:47.
- Hacskaylo, E., 1953. Pure culture synthesis of pine mycorrhizae in terra-lite. *Mycologia* 45:971-975.
- Hacskaylo, E. 1973. Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae, In: Marks G. C. y T. T. Kozlowski (eds.). *Ectomycorrhizae their ecology and physiology*. Academic Press, Nueva York. 207-230.

- Hacsckaylo, E. y J. A. Vozzo, 1967. Inoculation of *Pinus caribaea* with pure cultures of mycorrhizae fungi in Puerto Rico. XVI IVFRO Cong. Munich, Sectio 24:139-148.
- Harley, J. L., 1940. A study of the root system of the beech in woodland soil with special reference to mycorrhizal infection. *J. Ecol.* 28:107-117.
- Hatch, A. B. y C. T. Hatch., 1933. Some hymenomycetes forming ectotrophic mycorrhizae with *Pinus strobus* L. *J. Arnold Arboretum* 14:324-334.
- Hung L. L. y J. M. Trappe, 1983. Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH in vitro. *Mycologia* 75:2:234-241.
- Hutchison, L. J., 1989. Absence of conidia as morphological character in ectomycorrhizal fungi. *Mycologia* 81:4:587-594.
- Hutchison, L. J., 1990. Studies on the systematics of ectomycorrhizal fungi in axenic culture. V. Linear growth response to standard extreme temperatures used as a taxonomic character. *Can. J. Bot.* 68:2179-2184.
- Ingleby, K., P. A. Mason, F. T. Last y L. V. Fleming, 1990. Identification of ectomycorrhizas. ITE Research publication No.5. Institute of Terrestrial Ecology, Londres.
- Jackson, R. M. y P. A. Mason, 1984. Mycorrhiza. Studies in Biology No. 159. Edward-Arnold. Londres.
- Kornerup, A. y J. H. Wanscher, 1978. *Methuen handbook of colour*. 3rd ed. Eyre Methuen Ltd., Londres.
- León, G. y G. Guzmán, 1980. Las especies de hongos micorrízicos conocidas en la región de Uxpanapa-Coatzacoalcos-Los Tuxtlas-Papaloapan-Xalapa. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 14:27-38.
- Le Tacon F., 1985. Las micorrizas, una cooperación entre plantas y hongos. *Mundo Científico* 49:5:776-784.
- López-Olivares C. R. y A. M. Fierros-González, 1990. Estudio morfológico de ectomicorizas en plantaciones de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* en la Sabana, Oaxaca, México. *Mic. Neotrop. Aplic.* 3:31-40.
- López-Olivarez C. R., F. J. Zamudio-Sánchez y A. M. Fierros-González, 1990. Evaluación micorrízica y su relación con el crecimiento en plantaciones de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* en la Sabana, Oaxaca, México. *Mic. Neotrop. Aplic.* 3:53-66.

- Malajczuc, N., R. Molina y J. M. Trappe, 1982. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. I. Pure culture synthesis, host specificity, and mycorrhizal compatibility with *Pinus radiata*. *New Phytol.* 91:
- Malloch, D. y B. Malloch, 1981. The mycorrhizal status of boreal plants: species from Northeastern Ontario. *Can. J. Bot.* 59:2167-2172.
- Marks G. C. y R. C. Foster, 1973. Structure, morphogenesis, and ultrastructure of ectomycorrhizae. In: Marks G. C. y T. T. Kozlowski (eds.). *Ectomycorrhizae. Their ecology and physiology*. Academic Press, Nueva York. 2-41.
- Martínez-Carrera, D., M. Quirarte, M. Sobal y G. Guzmán, 1986 a. Estudio comparativo entre cepas mexicanas de *Volvariella bakeri* y una extranjera de *Volvariella volvacea*. *Rev. Mex. Mic.* 2:145-155.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal y M. Quirarte, 1986 b. Obtención y caracterización de híbridos de cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic.* 2:227-238.
- Marx, D. H., 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* 59:153-163.
- Marx, D. H. 1972. Ectomycorrhiza as biological deterrents to pathogenic root infections. *Annual Rev. Phytopathol.* 10:429-454.
- Marx, D. H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases. In: Marks G. C. y T. T. Kozlowski (eds.). *Ectomycorrhizae. Their ecology and physiology*. Academic Press, Nueva York. 351-382.
- Marx, D. H., 1977 a. The role of mycorrhizae in forest production. *TAPPI Ciet. Papers. Annu. Meet.* Atlanta.
- Marx, D. H., 1977 b. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Can J. Microbiol.* 23:217-223.
- Marx, D. H. y W. C. Bryan, 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.* 21:245-254.
- Marx, D. H. y C. B. Davey, 1967. Ectotrophic mycorrhizae as deterrents to pathogenic root infection. *Nature* 213-1139.

- Marx, D. H., y C. B. Davey. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. III. Resistance of aseptically formed mycorrhizae to infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* 59:549-558.
- Mason, P. A., 1975. The genetics of mycorrhizal associations between *Amanita muscaria* and *Betula verrucosa*. In: Torrey, J. G. y D. T. Clarkson (eds.). *Development and function of roots*. Nueva York. 567-574.
- Mason, P. A., 1980. Aseptic synthesis of sheathing (ecto-) mycorrhizas. In: Ingram D. S. y J. P. Helgeson (eds.), *Tissue Culture Methods for Plant Pathologist*. Blackwell Scientific Publications, Londres. 173-178.
- Mason P. A., J. Pelham, y F. T. Last, 1977. Stem anatomy and sheathing mycorrhizae in the *Betula verrucosa-Amanita muscaria* relationship. *Nature* 265:334-335.
- Mason, P. A., F. T. Last, J. Wilson, J. W. Deacon, L. V. Fleming y F. M. Fox, 1990. Fruiting and successions of ectomycorrhizal fungi. In: Pegg, G. F. y P. G. Ayres (eds.). *Fungal Infection of plants*. Nueva York. 253-268.
- Massicotte, H. B., R. L. Peterson y A. E. Ashford, 1987. Ontogeny of *Eucalyptus-Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae. I. Light microscopy and scanning electron microscopy. *Can. J. Bot.* 65:1927-1939
- Mata, G., 1987. Comportamiento de una cepa extranjera de *Flammulina velutipes* en tres medios de cultivo. *Rev. Mex. Mic.* 3:39-46.
- Mata, G., 1990. Cultivo del hongo comestible *Lentinus boryanus* en el laboratorio y su comparación con el shiitake Japonés *Lentinus edodes*. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.
- Mata, G. y G. Guzmán, 1989. Caracterización de cepas mexicanas del hongo comestible *Lentinus boryanus* y determinación de su patrón de sexualidad. *Rev. Mex. Mic.* 5:81-95.
- Meyer, F. H., 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forest. In: Marks G. C. y T. T. Kozlowski (eds.). *Ectomycorrhizae. Their ecology and physiology*. Academic Press, Inc., Nueva York. 79-105.
- Miller, O. K. Jr. D. T. Jenkins, y P. Dery, 1986. Mycorrhizal synthesis of *Amanita muscaria* var. *persicina* with hard pines. *Mycotaxon* 26:165-172.

- Molina, R., 1979 b. Pure culture synthesis and host specificity of red alder mycorrhizae. *Can. J. Bot.* 57:1223-1228.
- Molina, R., 1981. Ectomycorrhizal specificity in the genus *Alnus*. *Can. J. Bot.* 59: 325-334.
- Molina, R. y J. G. Palmer, 1982. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. In: Schenk N. C. (ed.). *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathological Society, St. Paul. 115-129.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1982 a. Lack of mycorrhizae specificity by the ericaceous host *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi*. *New Phytol.* 90:495-509.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1982 b. Applied aspects of ectomycorrhizae. In: N. S. Subba Rao (eds.). *Advances in agricultural microbiology*. Oxford and IBH Publishing Co., Nueva Delhi. 305-324.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1982 c. Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among Pacific Northwest Conifers and fungi. *Forest Sci.* 28:3:423-458.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1984. Mycorrhiza management in bareroot nurseries. In: Duryea M. L. y T. D. Landis (eds.), *Forest Nursery Manual: Production of Bareroot Seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, La Haya. 211-223.
- Moser, M. 1959. Die kunstliche Mykorrhizaimpfung an Forstpflanzen III. Die Impfmethodik im Forstgarten. *Forstwiss. Centralbl.* 78:193-202.
- Nobles, M. K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting hymenomycetes. *Can J. Bot.* 43:1097-1139.
- Oort, a. J. P., 1981. Nutritional requirements of *Lactarius* species, and cultural characters in relation to taxonomy. North-Holland, Nueva York.
- Oria de Rueda S. J. A., 1991. Independencia y ecología ectomirricica en varias especies de los géneros *Quercus*, *Pinus* y *Eucalyptus*. *Acta Bot. Malac.* 16:1:105-113.
- Palm, M. E. y E. L. Stewart. 1984. *In vitro* synthesis of mycorrhizae between presumed specific and nonspecific *Pinus* + *Suillus* combinations. *Mycologia* 76:4:579-600.
- Pantidou, M. E., 1961. Cultural studies of Boletaceae. *Gyrodon merulioides* and four species of *Boletinus*. *Can. J. Bot.* 39:1149-1161.

- Pantidou, M. E., 1962. Cultural studies of Boletaceae. Carpophores of *Phlebopus lignicola* in culture. *Can. J. Bot.* 40:1313-1319.
- Pantidou, M. E. y Groves, 1966. Cultural studies of Boletaceae. Some species of *Suillus* and *Fuscoboletinus*. *Can. J. Bot.* 44:1371-1393.
- Peña-Cabriales, J. J. y M. Valdés, 1973. Antagonismo de la micorriza del oyamel (*Abies religiosa*) hacia algunos patógenos de especies forestales. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 15:107-111.
- Peña-Cabriales, J. J. y M. Valdés, 1974. Rhizosphere du sapin (*Abies religiosa*). II. Mycorrhizes: isolement et culture. *Can J. Microbiol.* 20:412-417.
- Perry, D. A., R. Molina, y M. P. Amaranthus, 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospheres and reforestation: Current knowledge and research needs. *Can. J. Forest Res.* 17:929-940.
- Person, H., 1982. Changes in the tree and dwarf shrub fineroots after clearcutting in a mature Scots pine stand. *Swed. Conf. For. Proj. Tech.* 31.
- Piché, Y. y J. A. Fortin, 1982. Development of mycorrhizae, extramatrical mycelium and sclerotia en *Pinus strobus* seedlings. *New Phytol.* 91:211-220.
- Pope, P. E., R. Chaney, J. D. Rhodes y S. H. Woodhead, 1983. The mycorrhizal dependency of four hard-wood tree species. *Can. J. Bot.* 61:412-417.
- Quintos, M. y M. Valdés, 1987. El desarrollo de micorriza y el crecimiento de plántulas de pino real (*Pinus engelmannii*) al inocularse con *Pisolithus tinctorius*. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 29:189-192.
- Quintos, M., L. Varela y M. Valdés, 1984. Contribución al estudio de los macromicetos, principalmente los ectomicorrízicos en el estado de Durango. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19:283-290.
- Reyes C. P., 1985. *Bioestadística aplicada*. Ed. Trillas, México, D. F.
- Richter D. L. y J. N. Bruhn., 1986. Pure culture Synthesis of *Pinus resinosa* ectomycorrhizal with *Scleroderma aurantium*. *Mycologia* 78:1:139-142.
- Riffle, J. W. 1973. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus ponderosa* with species of *Amanita*, *Suillus*, and *Lactarius*. *Forest Sci.* 19:242-250.

- Salmones, D., V. Álvarez, G. Mata y G. Guzmán. 1990. Estudio de una cepa mexicana de *Laetiporus sulphureus* (polyporaceae) bajo diferentes condiciones de cultivo en el laboratorio. *Rev. Mex. Mic.* 6:253-257.
- Slankis, V. 1973. Hormonal relationships in Mycorrhizal development. In: Marks G. C. y T.T. Kozlowki (eds.). *Ectomycorrhizae*. Academic Press, Nueva York. 323-298.
- Stein, A. y J. A. Fortin, 1990. Pattern of root initiation by an ectomycorrhizal fungus on hypocotyl cuttings of *Larix laricina*. *Can. J. Bot.* 68:492-498.
- Smith, A. H. y H. D. Thiers., 1964. A contribution toward a monograph of North American species of *Suillus*. Published by the authors, Ann. Arbor, Michigan.
- Smith, A. H. y H. D. Thiers., 1971. *The Boletes of Michigan*. Univ. Mich. Press, Ann Arbor.
- Snell, W. H., y E. A. Dick. 1970. *The Boleti of Northeastern North America*. J. Cramer, Lehre.
- Sohn, R. F., 1981. *Pisolithus tinctorius* forms long ectomycorrhizae and alters root development in seedlings of *Pinus resinosa*. *Can. J. Bot.* 59:2129-2134.
- Sutherland, J. R. y J. A. Fortin, 1968. Effect of the nematode *Aphelenchus avenae* on some ectotrophic, mycorrhizal fungi and on a red pine mycorrhizal relationship. *Phytopathology* 58:519-523.
- Trappe, J. M. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 38:538-606.
- Trappe, J. M. 1967. Pure culture synthesis of Douglas-fir mycorrhizae with species of *Hobaloma*, *Suillus*, *Rhizopogon* and *Astraeus*. *Forest Science* 13:2:121-130.
- Trappe, J. M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15:203-222.
- Trappe, J. M. 1984. Fungus associated of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 28:538-606.
- Uhl, M. 1988. Studies on ectomycorrhizae XV. Mycorrhizae formed by *Rhizopogon luteolus* on *Pinus silvestris*. *Persoonia* 13:4:449-458.
- Valdés, M. 1986. Survival and growth of pines with specific ectomycorrhizae after three years on a highly eroded site. *Can. J. Bot.* 64:885-888.

- Valdés, M. y R. Grada-Yautentzi, 1980. Mycorrhizal inoculation and the afforestation of the Valley of Mexico City. In: **Tropical Mycorrhizae Research**. 93-96.
- Valdés, M., F. Piña y R. Grada, 1983. Inoculación micorrízica y crecimiento de plántulas de pino en suelo erosionado. **Bol. Soc. Mex. Mic.** 18:65-70.
- Vogt, K. A., C. C. Grien, C. E. Merrier y R. L. Edmonds, 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in Western Washington. **Ecology** 63:370-380.
- Vozzo, J. A. y E. Hacskeylo., 1971. Inoculation of *Pinus caribea* whit ectomycorrhizal fungi in Puerto Rico. **Forest. Sci.** 17:239-145.
- Wong, K. K. Y. y J. A. Fortin, 1989. A Petri dish technique for the aseptic synthesis of ectomycorrhizae. **Can. J. Bot.** 67:1713-1716.
- Wilcox, H. E., 1982. Morphology and development of ecto- and ectendomycorrhizae. In: Schenk N. C. (ed.) **Methods and principles of mycorrhizal research** American Phytopathological Society, St. Paul. 103-113.
- Yang, C. S., y H. E. Wilcox, 1984. Technique for observation of mycorrhizal development under monoxenic conditions. **Can. J. Bot.** 62:251-254.
- Zak, B., 1964. Role of mycorrhizae in root disease. **Ann. Rev. Phytopath.** 2: 337-392.
- Zak, B., 1971. Characterization and classification of mycorrhizae of Douglas fir. II. *Pseudotsuga menziesii* + *Rhizopogon vinicolor*. **Can. J. Bot.** 49:1079-1084.
- Zak, B., 1973. Classification of Ectomycorrhizae. In: Marks G. C. y T. T. Kozlowski. (Eds.). **Ectomycorrhizae. Their ecology and Physiology**. Academic Press, Nueva York. 43-78.
- Zak, B. y D. H. Marx., 1964. Isolation of micorrhizal fungi from roots of individual slash pines. **Forest Sci.** 10:2:214-222.

APÉNDICE 1

MEDIO NUTRITIVO DE BAF

Dextrosa	30.0 g
Peptona	2.0 g
Extracto de levadura	0.2 g
KH_2PO_4	0.5 g
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.5 g
Fe Cl_3	10 mg
$\text{Zn SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1 mg
Mn SO_4	5 mg
$\text{Cl}_2 \text{ Ca}$	100 mg
Tiamina	100 μg
Biotina	10 μg
Acido fólico	100 μg
Inositol	50 mg

MEDIO NUTRITIVO DE HAGEM

Extracto de malta	5.0 g
Dextrosa	5.0 g
$\text{NH}_4 \text{ Cl}$	0.5 g
KH_2PO_4	0.5 g
$\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.5 g
Fe Cl_3 (sol. 1 %)	10 gotas
H_2O destilada	1 litro

MEDIO NUTRITIVO DE INGESTAD

Solución "A"

$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	106.2 g
KNO_3	37.2 g
$\text{K}_2 \text{SO}_4$	22.2 g
H_2O destilada	1 litro

Solución "B"

HNO_3	1.6 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	14.3 g
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	45.0 g
$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	2.094 g
$\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0.811 g
$\text{H}_3 \text{BO}_3$	0.570 g
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.041 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.054 g
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.008 g
H_2O destilada	1 litro

Solución "C"

$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	7.5 g/l
---------------------------	---------

Mezclar 4 ml de cada solución A+B+C
 Agregar 10 g de glucosa, 50 μg de
 Tiamina y 10 g de agar para 1 l de
 agua destilada

MEDIO NUTRITIVO DE MELIN Y NORKRANS MODIFICADO

Extracto de malta	3.0 g
Dextrosa	10.0 g
$(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$	0.25 g
$\text{KH}_2 \text{PO}_4$	0.5 g
$\text{Mg} \text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.15 g
$\text{Ca} \text{Cl}_2$	0.05 g
$\text{Fe} \text{Cl}_3$ (sol. 1 %)	1.2 ml
$\text{Na} \text{Cl}$	0.025 g
Tiamina	100 μg
H_2O destilada	1 litro

APÉNDICE 2

pH DE LOS MEDIOS NUTRITIVOS	
PDA	5.6
EMA	4.6
SAB	5.6
IMG	6.5
MMM	5.6
HG	4.7
BAP	6.0

A P É N D I C E 3

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

NOMBRE DE LA MICORRIZA _____ DESIGNACIÓN _____
 HOSPEDERO _____ NO. DE PELÍCULA _____
 HONGO _____ FECHA _____
 RECOLECTOR _____

FORMAS Y DIMENSIONES

Tipo de ramificación _____
 Largo del sistema ramificado _____
 Largo de las puntas no ramificadas _____
 Diámetro de las puntas no ramificadas _____
 Diámetro de los ejes _____
 Forma de las puntas no ramificadas _____
 Comentarios _____

CARACTERÍSTICAS DE LA SUPERFICIE (25 X)

Superficie distintiva del manto visible (o no) _____
 Células corticales visibles (o no) _____
 Caracteres distintivos: _____

Brillo _____ Metálico _____ Liso _____ otro _____
 (denso o laxo) Granuloso o verrucoso _____
 (denso o laxo) Lanoso _____
 (denso o laxo) Algodonoso _____
 (denso o laxo) Fibroso _____
 (denso o laxo) Espinoso (corto o largo) _____

COLOR (LUZ DE DÍA Y FONDO NEGRO)

Puntas no ramificadas _____
 Ápices de puntas _____
 Ejes _____
 Micorriza vieja o partes viejas _____
 Otros _____

RIZOMORFOS (25 X)

Frecuencia _____ Ocurrencia _____
 Conexión con el manto _____
 Color _____ Diámetro _____
 Modo de ramificación _____
 Forma en sección transversal _____ Forma _____

MICROSCOPÍA

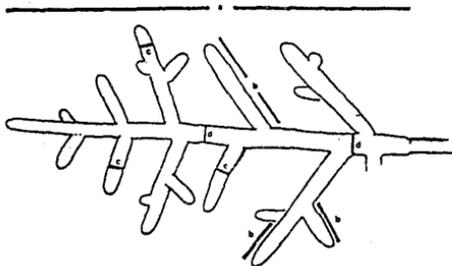
Color de hifas de rizomorfos _____
 Hifas emanantes _____ Manto _____ Puntas de ápice _____
 Cistidios _____ Granulaciones siderófilas _____

APÉNDICE 4

Dimensiones de la ectomicorriza

- a) largo del sistema
- b) largo de las terminaciones
- c) diámetro de las terminaciones
- d) diámetro del eje

(Tomado de Agerer, 1987a)



forma de las terminaciones

(Tomado de Agerer, 1987a)



recta



torcida



tortuosa



moniliforme

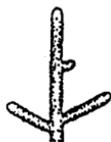
Características de la superficie
del manto
(Tomado de Agerer, 1987a)



lisa



reticulada



escamosa



lanosa



algodonosa



Fibrosa



con espinas cortas



con espinas largas

tipos de rizomorfos
(Tomado de Agerer, 1987a)



conectado por un punto



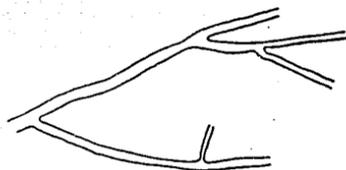
crecimiento en ángulos planos



forma de abanico



filamentos interconectados



márgenes lisos



peludo