



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

“Caracterización de morfotipos ectomicorrízicos asociados a brinzales de *Pinus montezumae* Lamb., en suelos volcánicos de diferente edad (1,000-100,000 años A. P.)”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A :**

**KARINA RAMÍREZ RAZO**

TUTOR DE TESIS: M. EN C. VÍCTOR MANUEL PEÑA RAMÍREZ

COTUTORA DE TESIS: DRA. FRÉDÉRIQUE REVERCHON





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## Hoja de Datos del Jurado

1. Datos de la alumna

Ramírez  
Razo  
Karina  
56 02 74 29  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
302005859

2. Datos del asesor

M en C  
Víctor Manuel  
Peña  
Ramírez

3. Datos de la cotutora

Dra  
Frédérique  
Reverchon

4. Datos del sinodal 1

Dr  
Joaquín  
Cifuentes  
Blanco

5. Datos del sinodal 2

Dr  
Jesús  
Pérez  
Moreno

6. Datos del sinodal 3

Dr  
Héctor Mario  
Benavides  
Meza

7. Datos del trabajo escrito

Caracterización de morfotipos ectomicorrízicos asociados a  
brinzales de *Pinus montezumae* Lamb., en suelos volcánicos  
de diferente edad (1,000-100,000 años A. P.)  
74 p  
2011



## AGRADECIMIENTOS



*A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), la máxima Casa de Estudios de nuestro país, quien me albergó en la Escuela Nacional Preparatoria 8 "Miguel E. Schulz" y en la Facultad de Ciencias, en donde logré forjarme académicamente y como persona para obtener mis propias creencias e ideologías.*

*A mi tutor el M. en C. Víctor Manuel Peña Ramírez y a mi cotutora la Dra. Frédérique Reverchon por haberme apoyado en todo este tiempo, en verdad les agradezco su orientación y paciencia que tuvieron a lo largo de la escritura de esta tesis.*

*A mis sinodales: el Dr. Joaquín Cifuentes Blanco, el Dr. Jesús Pérez Moreno y el Dr. Héctor Mario Benavides Meza por haber formado parte de mi Comité de Jurado y por todas sus atenciones y observaciones que me dieron en la realización de la tesis.*

*Al Dr. Jesús Pérez Moreno por haberme dado la oportunidad de tomar su curso de Micorrizas en el Colegio de Postgraduados y darme la orientación necesaria para el diseño del proyecto de tesis.*

*A la Coordinación de la Unidad de Enseñanza de Biología y a la Dra. Rosaura Ruiz Gutiérrez (Directora de la Facultad de Ciencias) por agilizarme la firma del voto aprobatorio de la Dra. Frédérique Reverchon.*

*A la Dra. Pilar Ortega Larrocca, a la M. en C. Mónica Rangel y a la M. en C. Kumiko Shimada del Instituto de Geología por facilitarme el préstamo de los microscopios y los equipos de los laboratorios.*

*Al laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias por ayudarme a tomar fotos en su microscopio óptico.*

*Al Dr. Daniel Piñeros del Instituto de Ecología por aclararme algunas dudas de la especie Pinus montezumae Lamb..*

*A la Dra. Patricia Ramos Morales de la Facultad de Ciencias, una gran maestra y amiga, quien me ha apoyado desde que entré a su laboratorio de Genética con el Programa de Jóvenes hacia la Investigación, fue mi maestra de Bioestadística y mi tutora en el Programa Nacional de Becas para la Educación Superior (PRONABES).*

*Al Biól. José Asael Nájera Carpio por ayudarme a realizar el mapa y orientarme en la escritura de la tesis.*

*A mi familia, en especial a mi mamá María Concepción Razo Zamora y a mi hermana Elizabeth Enriqueta Ramírez Razo por todo su amor y apoyo que me han dado en todo este tiempo.*

*También quiero agradecer a mi abuelito Juan Razo Prieto por enseñarme a vivir y a luchar por todos mis sueños. A mis tías, a mis prima(o)s, a mis sobrinas. A Marisol Montiel Razo por ser una gran prima y asesorarme en algunos programas de computación.*

*A Gilberto Cervantes Razo y fam. por su apoyo.*

*A Arelly Alvarado Cuevas y Gabriela Santana, mis amigas de la secundaria y de la preparatoria, por todos sus valiosos consejos y por impulsarme siempre a ser una mejor persona.*

*A Agripina Cuevas por ser como mi segunda mamá.*

*A mis amiga(o)s de la facultad: Aline Rojas, Armando Aguilar, Blanca Urbina, Irchel Chávez, Manuel Gallardo, Mara Guzmán, Ricardo Contreras y Samanta Jaime.*

*A mis amiga(o)s del laboratorio de Microcosmos Bioedáfico: Jesús, Lilitiana y Sandra Manjarrez por hacerme más ameno el trabajo.*

*A mis amiga(o)s de los museos: Alejandra Márquez, Anabel Martíz, Andrea Valtierra, Brenda Vizcaya, Carmina de la Luz, Edith Vázquez, Eligio, Gisel Solano, Graciela Sánchez, Griselda García, Guadalupe Romero, Guadalupe Salcedo, José Asael Nájera, José Luis Tenango, Jocelín Chacón, María Guadalupe Guzmán, Marcela Monroy, Maritza, Miguel, Mike, Néstor, Romano, Ulises Cano y Yoali Hernández.*

*A la familia Rosaliano del Carmen por haberme apoyado durante mis estudios de mi carrera profesional.*

*Esta tesis se la dedico a mi mamá con todo mi amor y afecto.*

# ÍNDICE

I	RESUMEN	1
II	INTRODUCCIÓN	3
III	OBJETIVOS	5
IV	HIPÓTESIS	5
V	ANTECEDENTES	6
	5.1. Importancia de las micorrizas	6
	5.2. Clasificación de micorrizas	6
	5.3. Ectomicorrizas (ECM)	8
	5.3.1. Formación de las ectomicorrizas	9
	5.4. Influencia de nutrimentos y propiedades edáficas en las ectomicorrizas	10
	5.5. Hongos ectomicorrízicos asociados a <i>Pinus montezumae</i> Lamb. en México	13
	5.6. <i>Pinus montezumae</i> -Lambert	13
VI	SITIO DE ESTUDIO	15
VII	MÉTODOS	19
	7.1. Recolecta y procesamiento de los brinzales de <i>P. montezumae</i> Lamb.	19
	7.2. Análisis de los ápices ectomicorrízicos	19
	7.2.1. Análisis de datos en los morfotipos ectomicorrízicos	21
	7.3. Análisis estadístico	22
VIII	RESULTADOS	22
	8.1. Análisis de los ápices ectomicorrízicos	22
	8.1.1. Porcentaje de micorrización	22
	8.1.2. Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos	24
	8.1.3. Riqueza	33
	8.1.4. Abundancia absoluta y relativa	34
	8.1.5. Diversidad	39
	8.1.6. Similitud de los morfotipos ECM entre los sitios de estudio	39
IX	DISCUSION	40
X	CONCLUSIONES	43

XI	REFERENCIAS	45
XII	ANEXOS	
12.1.	Anexo 1. Porcentaje de C, N, P Bray, Ca, Mg, K y dCC en los sitios Popocatépetl, Pelado y La Catedral	
	Anexo 1. Cantidad (unidades de masa sobre volumen) de C, N, P Bray, Ca, Mg, K y dCC en los sitios Popocatépetl, Pelado y La Catedral	56
12.2.	Anexo 2. Tipos de mantos en ectomicorrizas	58
12.3.	Anexo 3. Número de raíces no micorrizadas y micorrizadas, porcentaje de micorrización y riqueza ECM de los brinzales de <i>Pinus montezumae</i> en los tres sitios de estudio	60
12.4.	Anexo 4. Medidas de los ápices en los morfotipos ECM asociados a los brinzales de <i>Pinus montezumae</i> , en los tres sitios de estudio	63



## I. RESUMEN

En este estudio se caracterizaron los morfotipos ectomicorrízicos asociados a brinzales de *Pinus montezumae* Lamb. en la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana, se seleccionaron tres sitios con las siguientes características: altitud de 3100 msnm, clima templado con lluvias en verano (C(w2)(w)(b)), pendientes no mayores a 8 grados, bosques con *Pinus montezumae* como especie dominante y con suelos originados a partir de cenizas volcánicas. Los suelos presentan propiedades físicas y químicas contrastantes dependiendo de su edad y grado de desarrollo, se localizan sobre los derrames lávicos de los siguientes conos volcánicos: Popocatepetl (Andosol Víttrico Mólico; 1,000 años A. P.), Pelado (Andosol Silándico Mólico; 10,000 años A. P.) y La Catedral (Andosol Silándico; ~100,000 años A. P.). En cada sitio se extrajeron del suelo 18 brinzales de *P. montezumae* tratando de maltratar lo menos posible las raíces. En el laboratorio se limpiaron las raíces para determinar el porcentaje de micorrización, la descripción de los morfotipos ECM según Agerer (1987-2002 y 2006) y Ludwig-Maximilians (2011), así como la riqueza y la abundancia de morfotipos ectomicorrízicos (ECM). También fueron calculados los valores de la diversidad con el índice de Shannon (Shannon y Weaver, 1949) y los valores de similitud entre sitios con el índice de Sørensen (1948). Al parecer la diversidad de morfotipos ECM está influenciada por las características edáficas de los sitios de estudio. Los valores más altos de riqueza y abundancia ectomicorrízicas se presentaron en el sitio Popocatepetl, que es el más joven y menos fértil de la cronosecuencia. En los tres sitios de estudio la riqueza de los morfotipos ECM asociados a *P. montezumae* fue de ocho, de los cuales 6 morfotipos se encontraron en el sitio Popocatepetl, 5 en el sitio Pelado y 5 en el sitio La Catedral. Morfológicamente únicamente se logró determinar a nivel especie el morfotipo 7, que corresponde a *Cenococcum geophilum* Fr. Es probable que el morfotipo 2 sea afín al género *Lactarius* y el morfotipo 6 sea afín a la familia Sebacinaceae. Cuatro morfotipos solamente se localizaron en un sitio, los morfotipos 5 y 6 fueron exclusivos del sitio Popocatepetl, el morfotipo 7 del sitio Pelado (*C. geophilum*) y el morfotipo 8 de La Catedral. En cuanto a riqueza de morfotipos ECM los sitios más similares entre sí son: el Pelado y La Catedral. Los morfotipos ECM 1 y 2 fueron los más abundantes y se localizaron en los tres sitios de la cronosecuencia a pesar de sus diferencias edáficas, por ello tienen potencial para ser empleados como inóculos en brinzales de *P. montezumae* en la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana. La inoculación con morfotipos ectomicorrízicos nativos, podría contribuir a mejorar la supervivencia de las plantaciones forestales y de esta forma mitigar la deforestación que existe en esta región.

**Palabras clave:** morfotipos ectomicorrízicos, porcentaje de micorrización, riqueza ectomicorrízica, abundancia de ectomicorrizas, brinzales de *Pinus montezumae* Lamb., suelos volcánicos.

## II. INTRODUCCIÓN

Los bosques que rodean la Cuenca de México tienen un importante potencial forestal debido a que en ellos se desarrollan naturalmente especies de pino, oyamel y encino. Sin embargo, actividades antropogénicas como el pastoreo del ganado, la agricultura, los incendios, la tala clandestina de árboles y los asentamientos irregulares han ocasionado un aumento en la tasa de deforestación (Romero y Velázquez-Montes, 1999). En el 2002 la tasa de deforestación en la región se estimó en 402 hectáreas al año (SMA-GDF, 2002).

Para revertir la deforestación cada año se plantan cerca de 2.5 millones de árboles en la zona conurbada de la Ciudad de México (SMA-GDF, 2010), no obstante existe una alta tasa de mortalidad en el campo. Después de un año de trasplantar brinzales de pino, la sobrevivencia de éstos fue de 62.93% (SEMARNAT, CONAFOR y UANL, 2009). Los estándares internacionales señalan que la sobrevivencia debe ser superior al 90% para plantas que reúnen características mínimas de calidad y cuando se reforesta al inicio de la época de lluvias (Mexal y Cuevas, 1999).

Las reforestaciones no son exitosas debido a diversos factores como la selección inadecuada de las especies, la baja calidad de las plantas propagadas en vivero, el momento en el que se realiza la plantación, el escaso conocimiento que se tiene de las asociaciones micorrízicas con especies arbóreas nativas, la escasa disponibilidad de propágulos ectomicorrízicos, la micorrización inadecuada y la baja sobrevivencia de los simbiontes fúngicos en campo (Varela y Estrada-Torres, 1997). Frecuentemente, la calidad de las plantas se mejora en los viveros forestales inoculando las raíces con hongos ectomicorrízicos (ECM) que se venden de manera comercial, desafortunadamente éstos provienen de otras partes del mundo y al ser introducidos en ecosistemas naturales pueden afectar las poblaciones de microorganismos nativos. El uso de estos inóculos es consecuencia del enorme desconocimiento que hay de las especies ectomicorrízicas nativas y de su eficiencia funcional al asociarse con especies forestales (Varela y Estrada-Torres, 1997; Menkis *et al.*, 2007; Leski *et al.*, 2010).

Otro aspecto que no se toma en cuenta en las reforestaciones es la calidad del suelo, la cual repercute no solo en la supervivencia y crecimiento de los árboles (Kernaghan, 2005), sino que también está asociada a las etapas sucesionales por las que pasan las poblaciones de hongos ectomicorrízicos (Baar, 1996). En un estudio realizado en la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana (Eje Neovolcánico Transversal) se analizó la evolución de la calidad de sitio en suelos de diferente edad (cronosecuencia edáfica) y su relación con la concentración foliar de nutrimentos en *Pinus montezumae*. (Peña-Ramírez *et al.*, 2009). Los

resultados de este estudio indican que las propiedades físicas y químicas de los suelos volcánicos cambian drásticamente con la edad. La concentración de N es baja en los suelos jóvenes y muy desarrollados, mientras que en las etapas intermedias los suelos alcanzan su mayor concentración de este nutrimento (Peña-Ramírez *et al.*, 2009). El P solamente está disponible cuando los suelos comienzan a intemperizarse. La fertilidad cambia conforme los suelos se desarrollan, sin embargo, estos cambios no se reflejan en la concentración foliar de nutrimentos (N, P, K, Ca y Mg) de *P. montezumae* a lo largo de la cronosecuencia. Los pinos son microtrofos obligatorios que se asocian con las ectomicorrizas (ECM) para mejorar la absorción de nutrimentos y agua (Godbold *et al.*, 1998; García-Rodríguez *et al.*, 2006), lo cual incrementa su supervivencia. Las ectomicorrizas son indispensables para que los pinos puedan establecerse en suelos con diferentes gradientes de fertilidad.

Se conoce que la cantidad, calidad y heterogeneidad de la materia orgánica, así como otras características edáficas, influyen en la estructura de las comunidades micorrízicas y su diversidad (Baar, 1996; Taylor y Bruns, 1999; Munkrold *et al.*, 2004; Kernaghan, 2005; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Twieg *et al.*, 2009). Conocer qué especies de hongos micorrízicos nativos se pueden utilizar como inóculos en las plántulas, puede mejorar la supervivencia de las plantaciones forestales de un 25 a un 100% (Isla-Bauer, 2004). Con la finalidad de caracterizar las comunidades de morfotipos ectomicorrízicos asociadas a brinzales de *P. montezumae*, se seleccionaron los sitios Popocatépetl, en la Sierra Nevada (Andosol Vitríco Mólico; 1,000 años A. P.), Pelado, en la Sierra del Chichinautzin (Andosol Silándico Mólico; 10,000 años A. P.) y La Catedral, en la Sierra de Monte Alto y Monte Bajo (Andosol Silándico; ~100,000 años A. P.). Esta caracterización permitirá conocer los morfotipos ECM más abundantes y ampliamente distribuidos, el desempeño de éstos puede evaluarse posteriormente en proyectos de reforestación o restauración en los bosques de esta región.

### III. OBJETIVOS

Objetivo general:

1) Caracterizar los morfotipos ectomicorrízicos asociados a brinzales de *Pinus montezumae* Lamb. en tres suelos con propiedades contrastantes.

Objetivos específicos:

1) Determinar el porcentaje de micorrización en brinzales de *Pinus montezumae*.

2) Caracterizar los morfotipos ECM asociados a *P. montezumae*, así como determinar su riqueza y abundancia.

3) Relacionar la riqueza de los morfotipos ECM de *P. montezumae* con la diferente fertilidad y disponibilidad de agua de los tres suelos volcánicos.

### IV. HIPÓTESIS

1) Los brinzales con mayor porcentaje de micorrización se localizarán en el sitio menos fértil.

2) Los morfotipos ECM serán distintos a lo largo de la cronosecuencia edáfica.

3) La riqueza de los morfotipos ECM será mayor en el sitio menos fértil y con menor disponibilidad de agua.

## V. ANTECEDENTES

### 5.1. Importancia de las micorrizas

Las asociaciones micorrízicas son cosmopolitas por su presencia en la mayoría de los hábitats naturales terrestres, ya que existe un amplio número de familias de plantas susceptibles de ser micorrizadas. Su presencia en las plantas es considerada un carácter ancestral, debido a que las evidencias fósiles señalan que fueron determinantes para que éstas colonizaran el medio terrestre, al proveer ventajas para resolver la desecación y los sustratos escasos de nutrimentos. Los datos señalan la presencia de hifas y esporas fósiles en rocas del Ordovícico (460 MA), muy semejantes a los ejemplares actuales del género *Glomus* que forman micorrizas arbusculares (Hernández-Cuevas *et al.*, 2003).

Las micorrizas son simbiosis que se establecen entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas (Brundrett *et al.*, 1996). Los hongos incrementan el área de absorción de nutrimentos y de agua en la planta (Hernández-Cuevas, *et al.*, 2003; Bogeat-Triboulot *et al.*, 2004; Menkis *et al.*, 2007; Plamboeck *et al.*, 2007). También aumentan la producción de fitohormonas (auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno), calidad foliar y protección contra patógenos como hongos del suelo o nematodos (Rincón *et al.*, 2001). Las plantas micorrizadas toleran mejor las situaciones extremas, como los suelos con un pH muy ácido o muy básico y la contaminación por metales pesados (Falandysz y Chwir, 1997; Smith y Read, 1997; Kim *et al.*, 2003). Las plantas a cambio proporcionan entre el 10 y el 20% de los fotosintatos netos (productos químicos de la fotosíntesis), carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, nucleótidos, aldehídos, fenoles, esterres y terpenoides producidos para la formación, mantenimiento y función de las estructuras micorrízicas (Smith y Read, 1997; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Kernaghan, 2005).

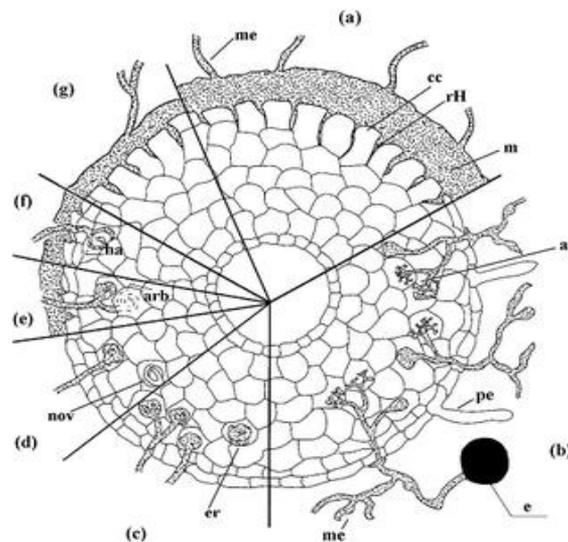
### 5.2. Clasificación de las micorrizas

De acuerdo con el grado de penetración del hongo en la raíz del hospedero, Harley y Smith (1983) y Smith y Read (1997) dividieron a las micorrizas en tres grupos: endomicorriza (arbuscular, ericoide y orquideoide), ectomicorriza y ectendomicorriza (arbutoide, monotropoide y ectendomicorriza) (Cuadro 1, Figuras 1 y 2). Las características principales de cada tipo de micorriza son descritas a continuación (Cuadro 1):

**Cuadro 1. Características principales de los diferentes tipos de micorrizas (Smith y Read, 1997).**

	Tipo de micorriza						
	Arbuscular	Ectomicorriza	Ectendomicorriza	Arbutoide	Monotropoide	Ericoide	Orquideoide
<b>Hongo septado</b>	-	+	+	+	+	+	+
<b>Hongo aseptado</b>	+	-	-	-	-	-	-
<b>Colonización intracelular</b>	+	-	+	+	+	+	+
<b>Manto fúngico</b>	-	+	+ ó -	+ ó -	+	-	-
<b>Red de Hartig</b>	-	+	+	+	+	-	-
<b>Vesículas</b>	+ ó -	-	-	-	-	-	-
<b>Aclorofilia</b>	- (?+)	-	-	-	+	-	-*
<b>Taxa fungico</b>	Zygomycota	Basidiomycota Ascomycota (Zygomycota)	Basidiomycota Ascomycota	Basidiomycota	Basidiomycota	Ascomycota	Basidiomycota
<b>Taxa en plantas</b>	Briophyta Pteridophyta Gimnosperma Angiosperma	Gimnosperma Angiosperma	Gimnosperma Angiosperma	Ericales	Monotropaceae	Ericales Briophyta	Orchidaceae

\*Todas las orquídeas son aclorofílicas en las primeras etapas de plántulas. La mayoría de las especies de orquídeas son verdes como adultas. Los caracteres estructurales dados para el estado maduro, no se desarrollan en estados senescentes. Los paréntesis indican que se puede dar en condiciones raras (Smith y Read, 1997).



**Figura 1. Tipos de micorrizas: a) ectomicorrizas, b) arbusculares, c) ericoides, d) orquideoides, e) arbutoides, f) monotropoides y g) ectendomicorrizas. Estructuras de las micorrizas: arbuscúlo (ar), “arbutoides” (arb), célula cortical (cc), espora (e), enrollamientos (er), haustorios (ha), manto (m), micelio extraradicular (me), novelos (nov) y red de Hartig (rH) (Fuente: University of Coimbra, 2009).**

La especie objeto de estudio es *Pinus montezumae*, que al igual que todas las Pináceas, es un micotrofo obligado que necesita de los hongos para sobrevivir (Godbold *et al.*, 1998; García-Rodríguez *et al.*, 2006). A pesar de que existen reportes de la presencia de micorrizas arbusculares y hongos endofíticos septados en las raíces de algunas especies de la familia Pinaceae (Horton *et al.*, 1998; Wagg *et al.*, 2008), en esta tesis sólo nos enfocaremos en las ectomicorrizas.

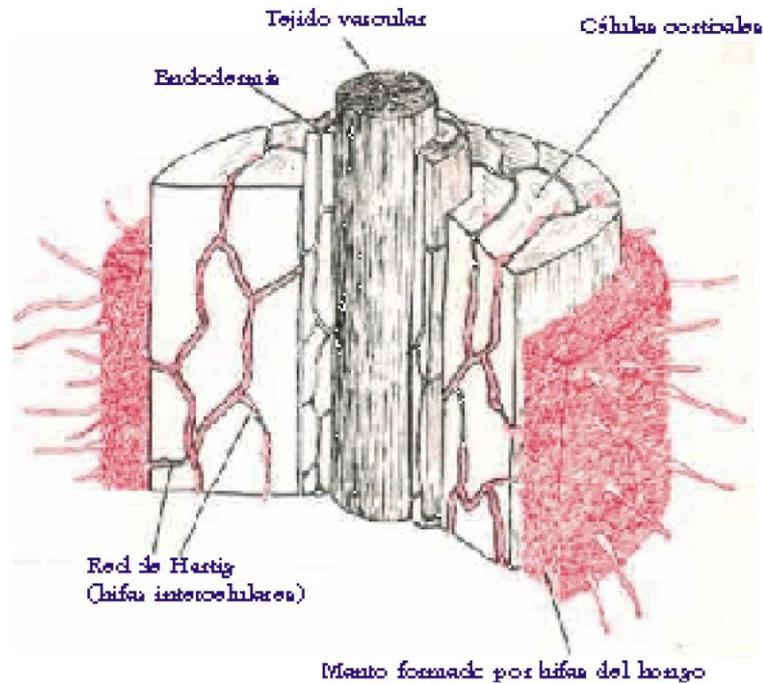
### **5.3. Ectomicorriza (ECM)**

-*Ectomicorrizas*: son la asociación simbiótica entre las raíces de plantas gimnospermas y angiospermas (de las familias Aceraceae, Caesalpinioideae, Cupressaceae, Papilionoideae, Pinaceae, Platanaceae, Rosaceae, entre otras) con hongos basidiomicetos, ascomicetos y zigomicetos (Figuras 1 y 2). Actualmente se estima que alrededor de 3,000 especies de plantas y 5,000 especies de hongos pueden establecer este tipo de simbiosis (Smith y Read, 1997; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003).

La raíz ectomicorrízica se caracteriza por la presencia de tres componentes estructurales: a) el manto de tejido fúngico, el cual cubre a la raíz; b) un laberinto de hifas en el interior, entre las células epidérmicas y corticales, nombrada red de Hartig y c) un sistema externo de elementos hifales (micelio). La penetración intracelular en forma de haustorios puede ser observada en raíces ectomicorrízicas.

En esta simbiosis los hongos pueden producir grandes cantidades de hifas extra e intrarradicales que tienen la capacidad de liberar nutrimentos del suelo por la producción de enzimas involucradas en la mineralización de la materia orgánica (Smith y Read, 1997; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003). Las hifas extrarradicales pueden extenderse por más de 2 m de la superficie de la raíz para penetrar por microfracturas (Egerton-Warburton *et al.*, 2003). Además los nutrimentos pueden ser transferidos de una planta hospedera a otra (Simard *et al.*, 1997). Los nutrimentos que le proporciona el hongo a la planta son P, N (en forma de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) y K.

Generalmente este tipo de micorriza se encuentra a altas latitudes y altitudes, en suelos moderadamente ácidos, ricos en materia orgánica, en regiones templadas, en bosques de coníferas y de algunas angiospermas leñosas, éstas últimas principalmente en zonas tropicales y subtropicales (Allen, 1991; Read, 1991). En México se han registrado más de 550 especies de hongos potencialmente ectomicorrízicos, que pueden representar hasta el 44% de las especies de hongos macroscópicos presentes en los bosques templados del país (Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003).



**Figura 2. Estructura de la ectomicorriza** (Fuente: Regés, 2002).

### 5.3.1. Formación de las ectomicorrizas

La diversificación de las especies de ectomicorrizas comenzó hace 25-60 millones de años y posiblemente se desarrollaron al mismo tiempo que la familia Pinaceae (Le Page *et al.*, 1997; Bruns *et al.*, 1998; Agerer, 2006), a continuación se explica cómo surge esta simbiosis.

Los hongos ectomicorrízicos no requieren de plantas hospederas específicas, sin embargo, éstas sí expresan preferencias por ciertas especies fúngicas (Cavender-Bares *et al.*, 2009; Karst *et al.*, 2009; Twieg *et al.*, 2009; Leski *et al.*, 2010). En la formación de ectomicorrizas, los flavonoides de las plantas y las axinas de los hongos tienen que tener un señalamiento específico (Kernaghan, 2005). En primer lugar, las hifas tienen que establecer contacto con la superficie de la raíz y desarrollar un mucílago que participará en un segundo evento, el cual comprende la agregación de las hifas para producir el manto. Una vez concluida esta etapa las hifas realizarán su desarrollo hacia la región apoplástica, alrededor de las células epidérmicas al asociarse con angiospermas, y células corticales en el caso de las gimnospermas, formando así la red de Hartig (Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003).

En las plántulas y árboles juveniles de coníferas, las paredes de las células corticales son más susceptibles a la penetración del hongo (Smith y Read, 1997). Las plántulas pueden ser colonizadas por las redes miceliales de hongos micorrízicos de los árboles adultos, encontrados a sus alrededores (Nara, 2006; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Obase *et al.*, 2009).

#### **5.4. Influencia de nutrientes y propiedades edáficas en las ectomicorrizas**

Los hongos ectomicorrízicos obtienen nutrientes de los minerales y de la materia orgánica que existen en los suelos. Los minerales pueden solubilizarse cuando las hifas de los hongos reducen el pH de la rizosfera ó exudan ácidos orgánicos (oxálico, cítrico y fórmico) para formar compuestos con los metales y disolverlos (Cromack *et al.*, 1979; Lapeyrie, 1988; Cumming y Weinstein, 1990; Ochs *et al.*, 1993). Wallander (2000 a y b) menciona que los hongos pueden establecer una relación de simbiosis con algunas bacterias que se encuentran en la rizosfera para adquirir nutrientes de los minerales y, posteriormente, transferirlos a la planta.

Los hongos ectomicorrízicos son capaces de utilizar los compuestos orgánicos de los nutrientes del suelo debido a que producen enzimas extracelulares. Es por ello que la cantidad, calidad y heterogeneidad de la materia orgánica, así como otras características edáficas, influyen en la estructura de las comunidades micorrízicas y su diversidad (Bending y Read, 1995; Baar, 1996; Taylor y Bruns, 1999; Munkrold *et al.*, 2004; Kernaghan, 2005; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Twieg *et al.*, 2009).

#### **Carbono**

En los bosques el mantillo (hojarasca y fragmentos de plantas en diferentes niveles de degradación) optimizan la retención de materia orgánica, que contiene C y N, lo cual favorece el crecimiento de las plantas (Vitousek *et al.*, 1995; Conn y Dighton, 2000). Sin embargo, cuando la vegetación es escasa el mantillo no se forma y las micorrizas desempeñan un papel importante al transportar C (encontrado de forma mineral) hacia las plantas (Twieg *et al.*, 2009). No obstante, las plantas también pueden obtener el C a través de la fotosíntesis (Horton y Bruns, 2001). Los cálculos basados en datos colectados en experimentos de campo y de laboratorio, indican que entre el 10% y 20% de C que asimilan las plantas puede ser destinado para mantener el micelio vegetativo y cuerpos fructíferos del heterótrofo (Smith y Read, 1997; Johnson *et al.*, 2005). Los hongos requieren en mayor proporción C, en comparación con otros nutrientes, porque éste forma los carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, nucleótidos, aldehídos, fenoles, ésteres y terpenoides que necesitan para subsistir (Smith y Read, 1997; Kim *et al.*, 2003; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Kernaghan, 2005).

#### **Nitrógeno**

En suelos poco desarrollados el N constituye un factor limitante para el crecimiento de los árboles, debido a que es un componente esencial de aminoácidos, enzimas, proteínas y ácidos

nucleicos (Trudell y Edmonds, 2004). Por esta razón, las plantas se asocian a los hongos micorrízicos y así obtienen este nutrimento. No obstante, Paul *et al.* (2007) reportaron que el N que fijan las bacterias *Paenibacillus pabuli*, *P. amylolyticus* y *Methylobacterium mesophilicum* es tomado por el hongo ectomicorrízico *Suillus tomentosus* y, por último, por *Pinus contorta* var. *latifolia*.

Por otro lado, Lilleskov *et al.* (2001 y 2002 a y b) comprobaron que la depositación de altas tasas de N atmosférico (NH<sub>3</sub>) es un factor causal en el declive de los esporocarpos y en la abundancia de los ápices ectomicorrízicos, ya que aumenta el N foliar y disminuye el P, Mg y K foliar, acidificando el suelo e incrementando el crecimiento del árbol pero inhibiendo el de los hongos ectomicorrízicos. De esta forma también la riqueza y la diversidad de micorrizas pueden decrecer (Baar, 1996; Baar y Braak, 1996; Vitousek *et al.*, 1997; Avis *et al.*, 2008; Kranabetter *et al.*, 2009).

La distribución de las especies ectomicorrízicas depende del papel que desempeñan, es decir, algunas especies se encuentran preferentemente en suelos poco desarrollados y con bajas concentraciones de N (especies “mineralizadoras”: *Russula* spp., *Hebeloma* spp., *Lactarius* spp.), o únicamente se establecen en suelos desarrollados con horizontes orgánicos profundos y concentraciones altas de N (especies “nitrófilas”: *Lactarius theiogalus*, *Laccaria* spp.). Solamente algunas de ellas pueden establecerse en ambos tipos de suelos (Lilleskov *et al.*, 2002 a).

### **Fósforo**

Los hongos ECM pueden incrementar la solubilidad de complejos inorgánicos que contienen P debido a que excretan ácidos oxálico y cítrico (Cromack-Jr. *et al.*, 1979; Fox *et al.*, 1990; Entry *et al.*, 1992; Griffiths *et al.*, 1994; Wallander *et al.*, 2002) y tienen relación con bacterias que se encuentran en la rizosfera (Wallander, 2000 a). A cambio, la planta le otorga a las micorrizas una proporción de P que tiene funciones en la síntesis de ATP, en la activación de intermediarios metabólicos y como un elemento estructural en ácidos nucleicos y fosfolípidos (Smith y Read, 1997; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Kernaghan, 2005; Bucher, 2007).

Wallander (2000 a) comprobó que el ácido oxálico fue detectado abundantemente en el suelo cercano a las raíces de las plántulas de *Pinus sylvestris*, las cuales se encontraban colonizadas por *Suillus variegatus*. La concentración de ácido oxálico fue correlacionada a la concentración de fosfato en la solución del suelo en donde estaban las raíces, indicando que dicho ácido influye en la disolución de apatita.

## **Potasio**

El potasio es un elemento importante para la planta porque interviene en la fotosíntesis, en la regulación de los estomas, en la formación de prótidos, en el aprovechamiento del agua para mantener la turgencia celular (disminuye la transpiración cuando el agua escasea), incrementa la resistencia al frío y a la salinidad. Una deficiencia en las plantas provoca una disminución de la síntesis de proteínas y ápices muertos o plantas enanas (Marschner 1995; Ruano, 2003). Sin embargo, la insuficiencia de K en las plántulas puede compensarse con el Mg (Wallander y Wickman, 1999).

El hongo micorrízico puede obtener el K que se encuentra a una mayor distancia y de forma mineral al producir ácido cítrico, para después transferirlo a la planta (Wallander y Wickman, 1999; Wallander, 2000 b).

## **Calcio**

El calcio es necesario en el metabolismo fisiológico, es componente de la pared celular y regula la actividad de la membrana y sus transportadores, está correlacionado con la diferenciación de la endodermis (Zöttl *et al.*, 1971; Kirkby y Pilbeam, 1984; Evans *et al.*, 1991; Kuhn *et al.*, 2000). Meléndez y Molina (2002) enfatizan que la deficiencia de Ca ocasiona la disminución del crecimiento de la planta y del sistema radical, debilitando los tejidos foliares (clorosis) y haciéndolos más susceptibles al ataque de patógenos.

Cuando la planta se asocia con los hongos ectomicorrízicos se beneficia en la obtención de Ca, ya que las hifas de éstos al producir ácido oxálico y oxalato son capaces de liberar dicho elemento (Cromack *et al.*, 1979; Wallander *et al.*, 2002; Arvieu *et al.*, 2003).

## **Magnesio**

El magnesio es importante en la regulación de diversas funciones en la planta. Se ha comprobado que del total de Mg que se deposita en la planta sólo del 15 al 20% es utilizado en la clorofila, el resto de este elemento se utiliza como cofactor de enzimas en procesos tales como la fosforilación de ADP para formar ATP, regula la actividad de la membrana, los estomas y la osmoregulación. La escasez de magnesio en la planta suele dar lugar a un amarillamiento de las hojas, seguido de la aparición de manchas pardas (Marschner 1995; Kuhn *et al.*, 2000). Los hongos incrementan con sus hifas el área de adsorción de magnesio en el suelo (Kuhn *et al.*, 2000).

### 5.5. Hongos ectomicorrízicos asociados a *Pinus montezumae* Lamb. en México

Los brinzales de *Pinus montezumae* se relacionan en México con los siguientes géneros de hongos ectomicorrízicos: *Cenococcum*, *Clavulina*, *Cortinarius*, *Inocybe*, *Laccaria*, *Oidiodendron*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Scleroderma*, *Suillus* y *Tomentella* (Santiago-Martínez *et al.*, 1993; Navarro, 2000; Xochitiotzin, 2000; Santiago-Martínez, 2002; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Montoya *et al.*, 2004; Reverchon, 2010 y Reverchon *et al.*, 2010). Sin embargo, la mayor parte de estos autores han enfocado sus investigaciones a la inoculación con hongos en plántulas de este pino, sin analizar su comportamiento fuera del invernadero. Reverchon (2010) es la única que menciona las especies de hongos ectomicorrízicos asociadas a las plántulas en el campo (*in situ*), además de analizar cuál es su comportamiento en relación a diferentes nutrimentos contenidos en los suelos. En esta tesis se pretende aportar información relacionada con la caracterización y la distribución de los morfotipos ectomicorrízicos que se encuentran en los brinzales de *P. montezumae*, situados en tres suelos volcánicos con diferente nivel de fertilidad.

### 5.6. *Pinus montezumae* Lambert

**Sinonimia:** *Pinus ocampii* Roetzl, *Pinus rinzii* Roetzl, *Pinus lindleyana* Loud. ex Lind et Gordon, *Pinus montezumae* forma *macrocarpa* Martínez, *Pinus montezumae* var. *mezambranus* Carvajal (Figura 3) (Perry, 1991; García-Arévalo y González-Elizondo, 1998).

**Nombres comunes:** chalmaite blanco (Veracruz), pino, pino blanco, pino montezuma, pino real, ocote, ocote macho, yutnu-santu (Oaxaca) (Perry, 1991; García-Arévalo y González-Elizondo, 1998).

**Descripción.** Los árboles llegan a alcanzar entre 20 y 40 m de altura y de 50-100 cm de diámetro. La corteza en los árboles maduros es gruesa, color café grisáceo oscuro. Las ramas son gruesas, rígidas, escamosas y corrugadas, de color café rojizo; las bases de las brácteas de las hojas son prominentes y decurrentes. Las hojas se encuentran en fascículos de 4-6, son denticuladas y miden de 15-30 cm por 1-1.5 mm, color azul-verde; estomas presentes en la parte dorsal y ventral; de 2-6 canales resiníferos; pared exterior del endodermo grueso; 2 haces vasculares. Los conos masculinos son ovoides-cónicos, las escamas gruesas y llevan una espina. Los conos femeninos se encuentran en formas alargada-ovoide u ovoide-cónica, con escamas muy gruesas y duras, color café claro y miden de 6-15 cm por 3-4 cm; nacen en grupos de 2 y 3; la apófisis tiene forma subpiramidal, transversalmente aquillada, el umbo

dorsal ligeramente elevado, de color café grisáceo, llevando una pequeña espina que generalmente es decidua. Las semillas miden de 6-7 mm, de color café oscuro, ala articulada de 20 mm por 7 mm, con 6-8 cotiledones. La madera de verano es de color amarillo-blanco, la madera de invierno es ligeramente café, dura y resinosa (Perry, 1991).

**Distribución.** Se encuentra en México y Guatemala entre los 2,000 y 3,200 msnm. La precipitación también suele variar de 800 a 1,000 mm o más anualmente, la mayor parte de la lluvia cae de junio a septiembre. En México se presenta sobre la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre del Sur, la Sierra Madre de Chiapas y en la Faja Volcánica Transmexicana. Se ha reportado en los estados de Chiapas, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Rzedowsky, 1978; Perry, 1991; García-Arévalo y González-Elizondo, 1998).

**Asociación vegetal.** *P. montezumae* puede desarrollarse en bosques puros, aunque también se puede mezclar con otras especies de pino como *P. herrerae*, *P. leiophylla*, *P. oocarpa*, *P. pseudostrobus* y *P. rudis*, además de otras subcomunidades de *Abies*, *Alnus*, *Arbutus*, *Juniperus*, *Quercus* y *Salix*. El estrato arbustivo se caracteriza por la presencia de *Eupatorium*, *Senecio*, *Archibacharis*, *Bacharis*, *Stevia* y *Buddleia* principalmente. En el estrato herbáceo existe un marcado dominio de *Mullenbergia*, *Bromus* y *Stipa* (Rzedowski, 1978; Perry, 1991; García-Arévalo y González-Elizondo, 1998; Romero y Velázquez-Montes, 1999).

**Usos.** Su madera se utiliza para la fabricación de muebles, estructuras, celulosa, cajas de empaque, puntales para minas, durmientes, postes, duelas, cercas, construcciones pesadas y livianas, chapa, triplay y extracción de resina. La resina (trementina) se emplea en la fabricación de aguarrás y brea (Rzedowski, 1978; Perry, 1991; García-Arévalo y González-Elizondo, 1998).

*P. montezumae* se encuentra sujeto a la tala y ocoteo clandestino, así como incendios provocados para acelerar el follaje nuevo. (Correa-Vela *et al.*, 2007).



**Figura 3.** *Pinus montezumae* en estados de brinzal y árbol adulto.

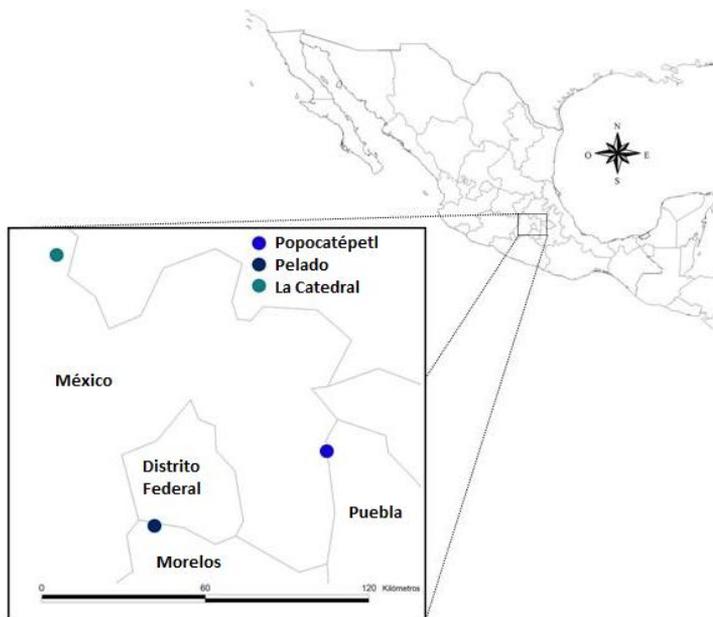
## **VI. SITIO DE ESTUDIO**

En la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana se seleccionaron tres sitios con suelos desarrollados sobre los derrames lávicos de conos volcánicos con diferentes edades: Popocatepetl en la Sierra Nevada (1,000 años A. P.; Heine, 1975; Miehlich, 1984; Siebe *et al.*, 1996; Panfil *et al.*, 1999), Pelado en la Sierra del Chichinautzin (10,000 años A. P.; Siebe *et al.*, 2004; Peña-Ramírez *et al.*, 2009) y La Catedral en la Sierra de Monte Alto y Monte Bajo (~100,000 años A. P.; García-Palomo *et al.*, 2008) (Figura 4 y Cuadro 2). Los dos primeros sitios fueron datados por medio de  $^{14}\text{C}$ , los valores corresponden al promedio redondeado de las dataciones realizadas por los autores.

Los sitios son similares en cuanto a altitud, se localizan a 3,100 msnm; orientación de la ladera, los sitios Popocatepetl y La Catedral están orientados hacia el oriente y el sitio Pelado hacia el sur; pendiente, oscila entre 8 y 10 grados; clima, templado subhúmedo, con lluvias de verano (C(w2)(w)(b)), con temperatura media anual de 13.2° C y precipitación media anual de 1092 mm; y tipo de vegetación, bosques templados con *Pinus montezumae* como especie dominante. Además, se seleccionaron sitios lo menos perturbados posible, sin embargo, los tres sitios tenían evidencias de haber sido afectados por lo menos alguna vez por incendios forestales.

Existen diversos géneros de plantas que comparten los tres sitios de estudio. En el estrato arbóreo se encuentran géneros como *Abies*, *Alnus*, *Arbutus*, *Pinus*, *Quercus* y *Salix*. El estrato arbustivo se caracteriza por la presencia de géneros como *Archibaccharis*, *Arctostaphylos*, *Buddleia*, *Eupatorium*, *Festuca*, *Ribes* y *Senecio*. Finalmente, el estrato

herbáceo presenta géneros como *Agrostis*, *Bacharis*, *Bromus*, *Castilleja*, *Lupinus*, *Muhlenbergia*, *Penstemon*, *Poa*, *Stevia* y *Stipa* (Velázquez, 1994; INIFED-GEM, 2005; CONANP, 2009 a y b).



**Figura 4. Localización de los sitios de estudio.**

**Cuadro 2. Ubicación y características abióticas de los sitios de estudio.**

Sitio de estudio	Sistema montañoso	Coordenadas UTM	Altitud (msnm)	Clima	Tipo de suelo	Edad (años A.P.) <sup>1</sup>
<b>Popocatépetl</b>	Sierra Nevada	X: 475922 Y: 2114796	3,100	C(w2) (w)b	Andosol Víttrico Mólico	855 ± 155 a 1,265 ± 55α (1,000) <sup>2</sup>
<b>Pelado</b>	Sierra del Chichinautzin	X: 475544 Y: 2114369	3,100	C(w2) (w)b	Andosol Silándico Mólico	9,620 ± 160 a 10,900 ± 280β (10,000) <sup>2</sup>
<b>La Catedral</b>	Sierra de Monte Alto y Monte Bajo	X: 450104 Y: 2168173	3,100	C(w2) (w)b	Andosol Silándico	~100,000γ

(γ)= Heine, 1975; Miehllich, 1984; Siebe *et. al.*, 1996; Panfil *et. al.*, 1999.

(β)= Siebe *et. al.*, 2004.

(α)= García Romero, 1998.

<sup>1</sup>=Años antes del Presente.

<sup>2</sup>= Las fechas corresponden a las dataciones obtenidas con <sup>14</sup>C (datos no calibrados) entre paréntesis se muestra el promedio redondeado de las dataciones.

### Dinámica de las propiedades edáficas en los sitios de estudio

Las descripciones y los análisis edáficos de los sitios Popocatépetl, Pelado y La Catedral fueron realizados previamente por Peña-Ramírez (2009). El material parental que dio origen a los suelos son cenizas volcánicas similares en cuanto a su composición química, pero diferentes

en cuanto a su edad (Siebe *et al.*, 2004; Siebe y Macías, 2006 y Peña-Ramírez *et al.*, 2009). La fertilidad del suelo se evaluó a través de la cantidad ( $\text{kg m}^{-2}$ , unidades de masa sobre volumen) de C, N, P Bray (fósforo disponible), K, Ca y Mg, así como de la disponibilidad de agua a capacidad de campo ( $\text{L m}^{-2}$ ) (Anexo 1). Los nutrientes fueron calculados a la profundidad fisiológica, que es la profundidad a la que pueden penetrar potencialmente las raíces de los árboles (Anexo 1).

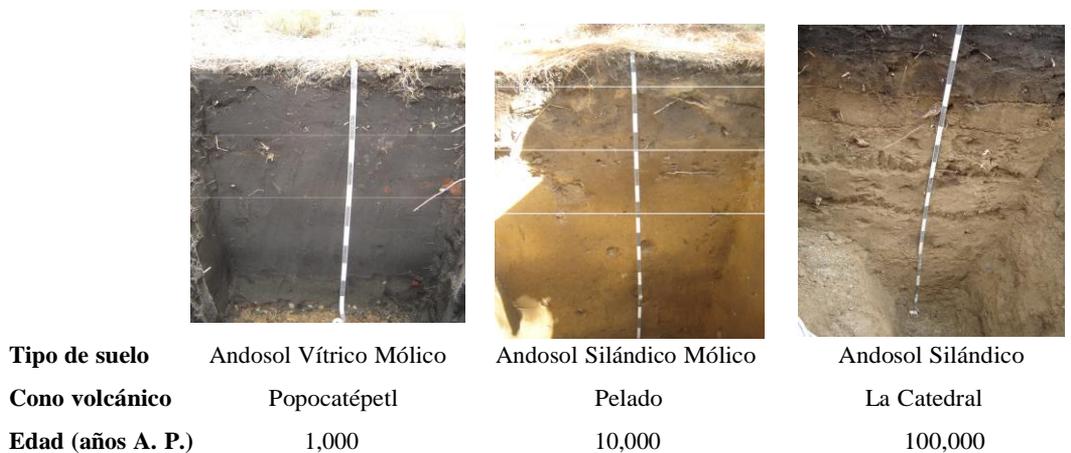
Los suelos fueron clasificados como Andosoles (WRB, 2006), sin embargo existen claras diferencias entre ellos (Figura 5 y Anexo 1). El suelo del sitio Popocatepetl se originó a partir de cenizas volcánicas de tipo andesítico-basálticas y tienen una edad de 1,000 años A. P. (promedio redondeado), fue clasificado como un Andosol Vitrítico Mólico. Este tipo de suelos carecen de horizontes Bw debido a que el proceso de intemperización es incipiente y presentan varias limitantes para el crecimiento de los árboles. Su textura gruesa ocasiona que la porosidad y la capacidad de aireación sean excesivas, mientras que el agua disponible a capacidad de campo es baja, esto genera un aumento en el estrés hídrico de los árboles, por lo que hay una reducción en la tasa fotosintética y división celular, lo cual repercute directamente en el crecimiento de los árboles (Wagner y Dreyer, 1997). La reserva de nitrógeno también es insuficiente debido a que la cubierta vegetal es escasa y aporta poca biomasa para la formación del mantillo del suelo. El nitrógeno es el nutriente que más requieren los árboles para su crecimiento (Havlin *et al.*, 1999), por lo que la baja concentración de este elemento limita el crecimiento de los árboles. El fósforo aprovechable para las plantas (P Bray) fue evaluado alto en este suelo de cenizas volcánicas recientes (Peña *et al.*, 2009). Asimismo, las bases intercambiables (Ca, Mg y K) son abundantes en un principio (Crews *et al.*, 1995), dado que las cenizas volcánicas poseen vidrio y otros minerales (piroxenos, hornblendas y plagioclasas) que al hidratarse se intemperizan rápidamente, liberando estos elementos esenciales para el crecimiento de las plantas.

El suelo del sitio Pelado se originó a partir de cenizas volcánicas de tipo andesítico-basálticas y tienen una edad de 10,000 años A. P. (promedio redondeado), fue clasificado como un Andosol Silándico Mólico. Este tipo de suelos presentan horizontes Bw, lo cual indica un mayor desarrollo pedogenético que en los Andosoles Vitríticos. El intemperismo genera un aumento en la fracción fina y la formación de alofano (arcilla mineral de bajo orden estructural), la profundidad fisiológica y el agua disponible a capacidad de campo aumentan también, permitiendo el desarrollo de una vegetación más densa y favoreciendo la producción de biomasa. La degradación de hojas, tallos y raíces aumenta la cantidad de materia orgánica y la profundidad de los horizontes orgánicos, por lo que el abastecimiento de nitrógeno también

mejora. La cantidad de agua disponible es alta, sin embargo una vez que deja de llover el almacén es insuficiente para los cinco meses de sequía que prevalecen en la zona, por lo que los árboles comienzan a estresarse por la escasez de agua y disminuyen su crecimiento.

El pH ligeramente ácido de los Andosoles ocasiona que el alofano tenga carga neta positiva (Shoji *et al.*, 1993), por lo que adsorbe iones de carga negativa como los fosfatos. La disponibilidad de P es una limitante para los árboles (Sánchez, 1976; Theng, 1980; Uehara y Gillman, 1981; Shoji *et al.*, 1993). Las bases intercambiables en esta etapa son muy abundantes, ya que se encuentran adsorbidas a los múltiples sitios de intercambio iónico de la materia orgánica humificada, y a los sitios con carga negativa de las arcillas minerales.

El suelo del sitio La Catedral se originó a partir de cenizas volcánicas de tipo dacítico y tienen una edad de ~100,000 años A. P., fue clasificado como un Andosol Silándico. Este suelo es similar al del sitio Pelado, la arcilla dominante continua siendo el alofano y la retención de P es alta, sin embargo en este suelo también se desarrollan arcillas laminares del tipo de la haloisita, la cual tiene menos capacidad de intercambio catiónico que el alofano. El agua disponible a capacidad de campo es baja en comparación con el sitio Pelado, sin embargo es el único sitio en el que el agua no es un factor limitante para el crecimiento de los árboles. Debajo del suelo existe un derrame lávico de dacitas que son menos permeables que la piedra pómez del sitio Popocatépetl y la lava basáltica del sitio Pelado, lo que evita que el drenaje sea excesivo y aunque el almacén de agua no sea tan profundo hay un aporte continuo de agua a los árboles. Esto permite que se formen arroyos y flujos de agua subsuperficiales que se mantienen incluso en la época de sequía.



**Figura 5. Perfiles de los suelos en los sitios de estudio.**

## VII. MÉTODOS

### 7.1. Recolecta y procesamiento de los brinzales de *Pinus montezumae*

En cada sitio de estudio se seleccionaron 18 brinzales de *P. montezumae*, reclutados de manera natural (54 en total para los tres sitios). En este caso se consideró como brinzal a individuos con una altura que fluctuó entre 35 y 50 cm, y un diámetro menor a 5 cm. Con ayuda de una pala se hizo un cepellón de 40 cm de ancho x 40 cm de largo x 50 cm de profundidad, tratando de extraer la mayor parte del sistema radical y de afectar lo menos posible los ápices. Los brinzales ya habían pasado su estado cespitoso, tenían un tallo bien definido y una abundante producción de hojas. Tenían una edad aproximada de 4 a 6 años, la cual fue determinada por los anillos de crecimiento anuales que se observaron al cortar el tallo. Seleccionamos plantas vigorosas, sin evidencias de plagas y con hojas que no mostraran evidencias de deficiencias nutrimentales. Éstas fueron trasladadas en una hielera al laboratorio de Microcosmos Bioedáfico del Instituto de Geología de la UNAM para su procesamiento.

En el laboratorio los brinzales se mantuvieron en refrigeración hasta que se limpiaron todas las raíces con agua, y se removieron los agregados del suelo, teniendo cuidado de no maltratar los meristemos radicales. Las raíces frescas se colocaron en recipientes de plástico con agua y fueron mantenidas en refrigeración hasta que los ápices fueron analizados.

### 7.2. Análisis de los ápices ectomicorrízicos

Todas las raíces finas de cada brinzal fueron revisadas con una lupa para determinar si estaban o no micorrizadas. Las que se encontraban micorrizadas fueron seleccionadas y se desprendieron del resto de la raíz, por medio de unas pinzas de disección. El porcentaje de micorrización fue calculado como los ápices ectomicorrízicos activos de la raíz (turgentes) entre el total de ápices y multiplicados por 100 (Münzenberger *et al.*, 2004).

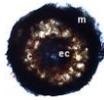
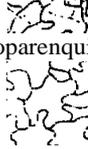
En un microscopio estereoscópico LEICA, los ápices micorrízicos fueron limpiados con un pincel y agua para eliminar los agregados del suelo y poder llevar a cabo la caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos. Éstos se determinaron y describieron a través de los métodos propuestos por Agerer (1987-2002 y 2006), los cuales se basan en variables como color, tipo de ramificación, forma, textura y dimensiones. Este método junto con la clave propuesta por Ludwig-Maximilians (2011), fueron empleados para revisar los ápices micorrízicos en los microscopios estereoscópicos y óptico, y realizar el registro de las variables (Cuadro 3 y Anexo 2).

A través del microscopio estereoscópico BX51 y del programa Photoshop, se tomaron fotos a los diferentes morfotipos ectomicorrízicos. Con el programa de análisis de imágenes digitales Image Pro-Plus 5.0 se calcularon la longitud y el diámetro de los morfotipos, fue necesario registrar el objetivo del microscopio estereoscópico con el que se tomó cada foto para conocer la escala y así calcular las medidas. El programa proporciona las medidas en micras y fueron convertidas a milímetros (Cuadro 3).

En los cinco morfotipos ectomicorrízicos más abundantes de los tres sitios de estudio se realizaron cortes transversales, con ayuda de un microscopio estereoscópico Olympus S2 y una hoja de afeitar ultrafina Gillete, mismos que fueron montados en alcohol polivinílico (PVLG, medio semipermanente) y Azul de Tripán y fueron observados en el microscopio óptico Olympus BX51 (a aumentos de 4.0x, 10.0x, 40.0x) para distinguir la red de Hartig, las hifas, los haces vasculares, la epidermis y el manto. Al mismo tiempo, con el programa Image Pro-Plus 5.0 se tomaron fotos y medidas de las estructuras para facilitar la caracterización de los morfotipos (Cuadro 3).

Para caracterizar el manto se seleccionaron quince ápices de cada uno de los cinco morfotipos ectomicorrízicos más abundantes. Éstos fueron colocados en una caja de Petri con poca agua, en donde se observaron bajo un microscopio estereoscópico Olympus S2. Con un bisturí se extrajeron, de forma longitudinal, los tejidos del manto para montarlos en ácido láctico (medio que intensifica el contraste, aunque puede disolver el pigmento epimembranoso y diferentes cristales (Agerer, 1987-2002). En un Fotomicroscopio óptico Olympus provis-Ax70, se aplicó la técnica contraste de fases para observar preparaciones a 100.0x con distinto enfoque y se tomaron fotos con el programa Capture-Pro, para caracterizar las capas del manto según Agerer (1987-2002 y 2006) (Cuadro 3 y Anexo 2).

**Cuadro 3. Características empleadas en la descripción de morfotipos ECM, modificado a partir de Agerer (1987-2002 y 2006) y de la clave propuesta por Ludwig-Maximilians (2011).**

Tipo de ramificación	Forma del ápice ECM	Textura	Dimensiones	Tipo de manto (Agerer, 2006)
Dicotómica 	Recta 	Lisa 	Longitud en la parte final de los ápices ECM no ramificados (mm) 	Plectenquimatoso 
Tuberculada 	En forma de cuerda 	Granosa 	Diámetro en la parte final de los ápices ECM no ramificados (mm)	Plectenquimatoso / Pseudoparenquimatoso
Irregular 	Tortuosa 	Fieltro 	Diámetro de los haces vasculares (mm) 	Pseudoparenquimatoso 
No ramificada 	Inclinada 	Aterciopelada 	Diámetro de las células del cortex (mm) 	
Coraloide 		Lanosa 	Diámetro del manto (mm) 	

Una vez que se caracterizaron los morfotipos ectomicorrízicos, se colocaron en frascos (con una solución de 30% formol, 30% alcohol y 30% agua) para su conservación y se mantuvieron en refrigeración.

### 7.2.1. Análisis de datos en los morfotipos ectomicorrízicos

Los ápices ectomicorrízicos fueron agrupados conforme sus características físicas para saber el número de morfotipos (riqueza) existentes en los tres sitios de estudio. Posteriormente, se registraron sus abundancias absoluta y relativa de cada brinjal en los sitios de muestreo. La abundancia absoluta es la cantidad de ápices micorrízicos de un morfotipo, con respecto al total de la población censada en cada sitio de estudio. La abundancia relativa se refiere a la cantidad proporcional y calculada de los ápices micorrízicos de un morfotipo, con respecto al porcentaje observado de la población por sitio.

Con la riqueza de morfotipos ectomicorrízicos y su abundancia relativa, se calculó la diversidad en cada sitio. Existen varios índices que ayudan a calcular la diversidad, en este caso se utilizó el índice de Shannon porque es el que se cita frecuentemente en los estudios de

micorrizas (Teste *et al.*, 2004; Durall *et al.*, 2006). Se calcula con la siguiente fórmula  $H' = - \sum Pi * \ln Pi$ , en donde  $H'$  = índice de Shannon,  $Pi$  = abundancia relativa y  $\ln$  = logaritmo natural (Shannon y Weaver, 1949).

A través del índice de similitud de Sørensen (1948) se describió el grado de semejanza entre nuestros sitios de estudio, de acuerdo con la composición de los morfotipos ectomicorrízicos (presencia/ausencia). Se calcula de la siguiente manera  $IS = 2C / A + B * 100$ , en donde  $IS$  = índice de Sørensen,  $A$  = número de especies encontradas en la comunidad A,  $B$  = número de especies en la comunidad B,  $C$  = número de especies comunes en ambas localidades (Sørensen, 1948). Este índice de similitud también es uno de los más empleados en las investigaciones de micorrizas (Izzo *et al.*, 2005; Durall *et al.*, 2006; Iwański y Rudawska, 2007).

### **7.3. Análisis estadístico**

El promedio y error estándar de las distintas características de los morfotipos ectomicorrízicos (longitud y diámetro del ápice, diámetro del manto, las células del cortex y de los haces vasculares) fueron calculadas con ayuda del programa SYSTAT 13.

Con este mismo programa se realizaron los análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar e interpretar el comportamiento de variables como el porcentaje de micorrización, la riqueza y la abundancia ectomicorrízicas de los brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio. En cada ANOVA se especifica la fuente de variación, los grados de libertad, la varianza correspondiente, el valor de F y la probabilidad de error tipo 1 o nivel de significancia (P). Para conocer entre que sitios existen diferencias estadísticamente significativas, en cada ANOVA se adicionó una prueba de Tukey. Los resultados fueron graficados con el programa SigmaPlot 11.

Para determinar si el número de morfotipos ECM encontrados en los brinzales de *P. montezumae* fue representativo en cada sitio de estudio, se realizaron curvas de acumulación con el programa Excel 2010.

## **VIII. RESULTADOS**

### **8.1. Análisis de los ápices ectomicorrízicos**

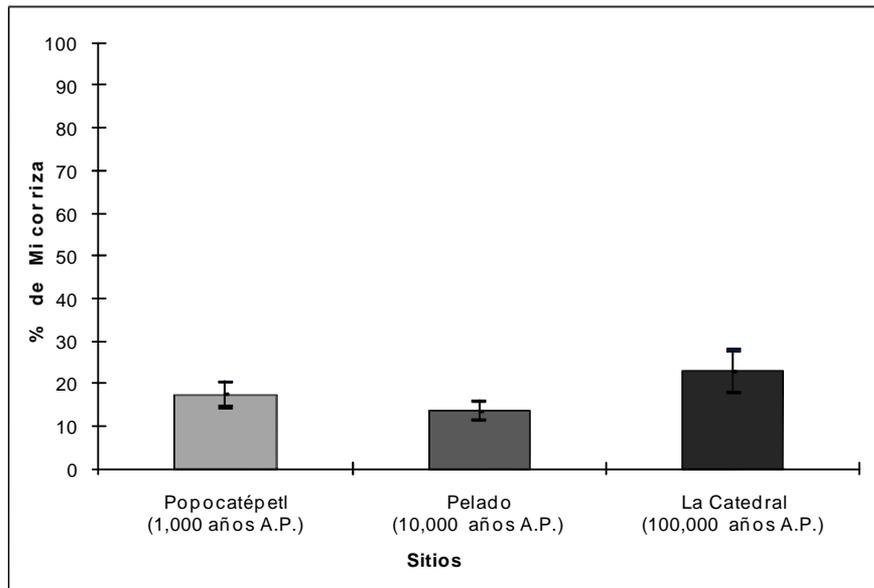
#### **8.1.1. Porcentaje de micorrización**

En los tres sitios de estudio el porcentaje de micorrización de los brinzales de *Pinus montezumae* fluctuó entre 14 y 23 por ciento. Al realizar los análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey se comprobó que no se encontraron diferencias significativas entre los sitios. Sin

embargo, la micorrización más alta se presentó en los brinzales del sitio La Catedral con un promedio de 23%. Esta cantidad es 39 y 26 por ciento más alta que la de los sitios Popocatépetl y Pelado, respectivamente (Cuadro 4, Figura 6 y Anexo 3).

**Cuadro 4. Resultados de los análisis de varianza y de la prueba de Tukey, con respecto al porcentaje de micorrización de los brinzales de *P. montezumae* en los tres sitios de estudio.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F	P
Sitio	31598	2	765.55	1.608	0.210
Error		53	12616.37		
Fuente (Sitio)	Promedio	Error estándar	N		
Popocatépetl	17.3	3.0	19		
Pelado	13.8	2.2	18		
La Catedral	22.8	4.8	19		
Prueba de Tukey	Popocatépetl	Pelado	La Catedral		
Popocatépetl	1.000				
Pelado	0.766	1.000			
La Catedral	0.522	0.188	1.000		



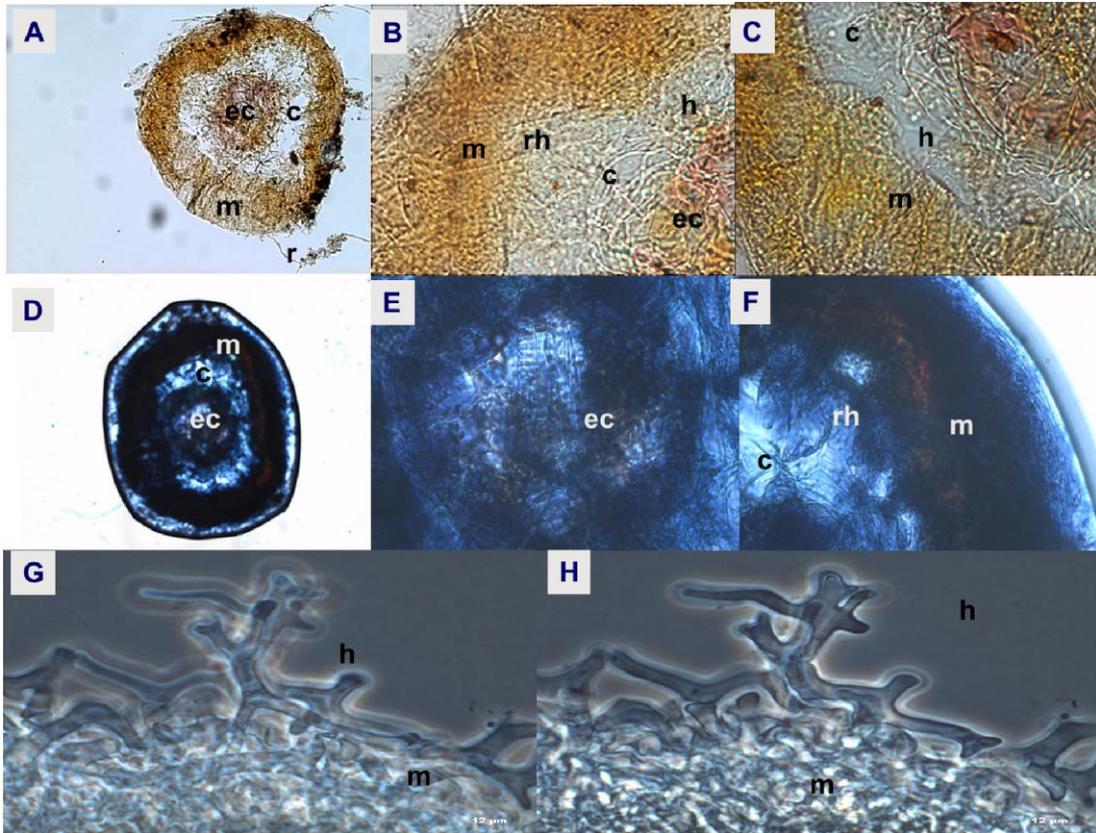
**Figura 6. Promedio del porcentaje de micorrización de los brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

### 8.1.2. Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos

En total se caracterizaron 8 morfotipos ectomicorrízicos para las tres localidades (Cuadros 5, 6 y 7, Figuras 7, 8, 9, 10 y 11). El morfotipo 7 fue determinado taxonómicamente por sus características morfológicas y corresponde a la especie *Cenococcum geophilum* (Agerer y Gronbach, 1988) (Cuadro 6). Es probable que el morfotipo ECM 2 sea afín al género *Lactarius* (Agerer, 1987; Ludwig-Maximilians, 2011) y el morfotipo 6 afín a la familia Sebacinaceae (Reverchon, 2010). Los morfotipos 1, 3, 4, 5 y 8 no pudieron determinarse taxonómicamente por medio de sus características morfológicas, para ello es necesario hacer pruebas moleculares con el ADN de los ápices micorrízicos (Bonello *et al.*, 1998; Horton y Bruns, 2001) (Cuadros 5 y 6).

Los morfotipos presentaron ramificaciones tuberculada, dicotómica y coraloide, éstos modelos son típicos de las raíces micorrizadas por *Pinus* spp. (Wurzburger *et al.*, 2001; Paul *et al.*, 2007). Los cinco morfotipos ECM más abundantes fueron el 1, 2, 3, 4 y 5, en éstos se realizaron cortes para determinar el tipo de tejido del manto y las medidas de los haces vasculares, las células del cortex y el manto. En los 5 morfotipos el tejido de las capas del manto fue de tipo plectenquimatoso (Figuras 7, 8, 9, 10 y 11). El morfotipo 3 presentó las estructuras más grandes en los haces vasculares, las células del cortex y el manto (Cuadro 7).

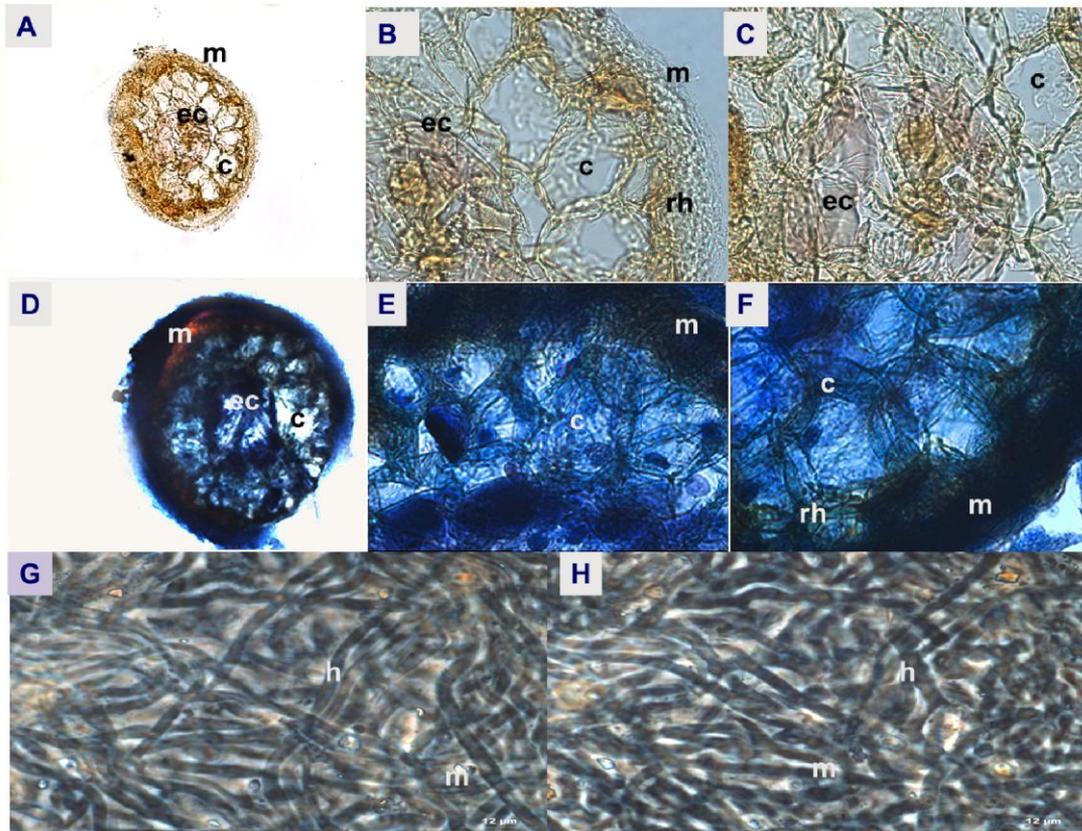
**Morfotipo ECM 1.** Se caracteriza por su color amarillo, ramificación dicotómica, forma recta, textura lisa y las dimensiones del ápice fueron  $1.0 \pm 0.03$  mm en su longitud y  $0.4 \pm 0.008$  mm en su diámetro. Al realizar 10 cortes longitudinales sobre los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso tipo B, el cual presentó hifas arregladas irregularmente, que crecen en direcciones longitudinales con respecto a la raíz. Se realizaron 11 cortes transversales sobre los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y del manto, éstos fueron de  $106 \pm 7.2$   $\mu\text{m}$ ,  $66.6 \pm 3.4$   $\mu\text{m}$  y  $67.4 \pm 4.6$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfotipo se encontró en 1351 ápices de los brinzales de *Pinus montezumae* en los tres sitios; en el sitio Popocatépetl se presentaron 925, en el sitio Pelado 209 y en el sitio La Catedral 217 (Cuadros 5, 7 y 8, Figuras 7 y 13 y Anexo 4).



**Figura 7.** Morfotipo ECM 1. (A-C) Cortes transversales del morfotipo en alcohol polivinílico, Haces vasculares (ec), células del cortex (c), manto (m), red de Hartig (rh) y rizomorfo (r) (A, 10x), (B y C, 40x); (D-F) Cortes transversales del morfotipo en azul de tripán, D: Haces vasculares, células del cortex y manto (10x), E: Haces vasculares (40x), F: Células del cortex, manto y red de Hartig (40x), G y H: Manto con tejido plectenquimatoso tipo B e hifas (100x) en las capas interna (G) y externa (H).

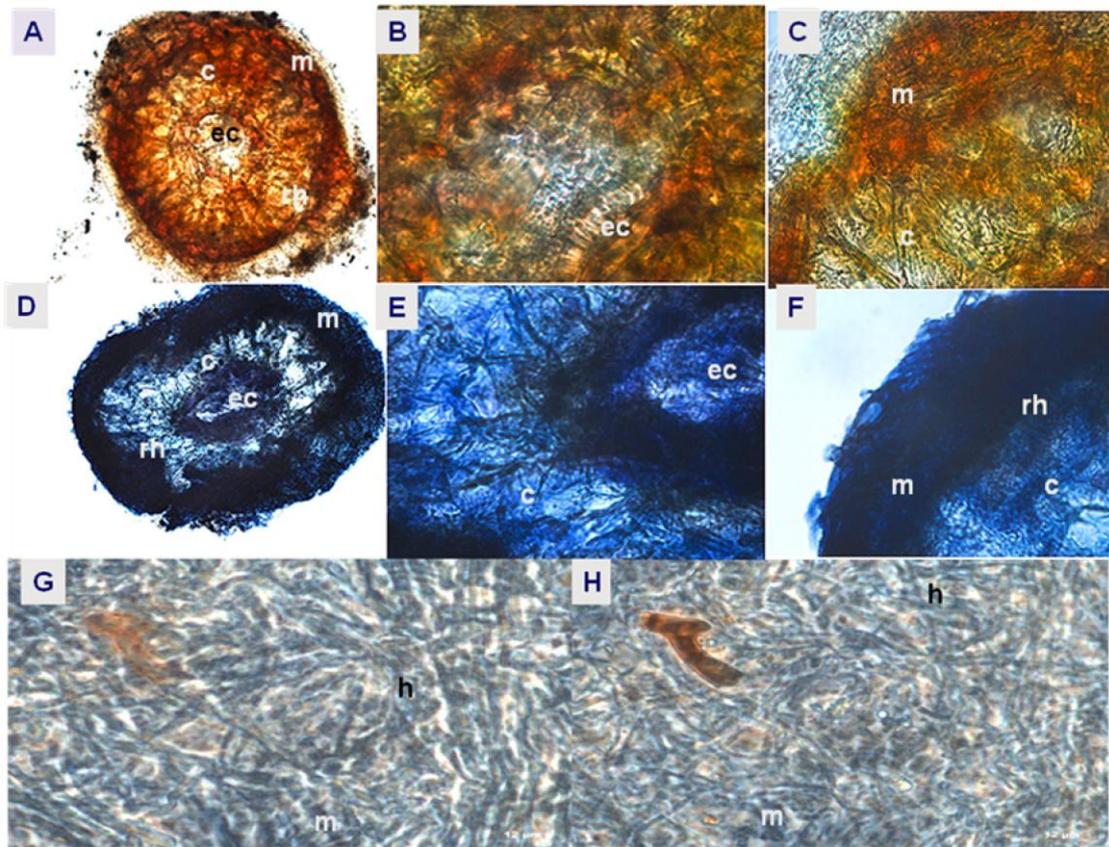
**Morfotipo ECM 2.** Se caracteriza por su color anaranjado con terminación amarilla, ramificación dicotómica, forma inclinada, textura granosa y las dimensiones del ápice fueron  $0.8 \pm 0.04$  mm en su longitud y  $0.4 \pm 0.01$  mm en su diámetro. En 10 cortes longitudinales de los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso tipo A, el cual presentó arreglos de bultos hifales en forma de anillo. Se realizaron 15 cortes transversales sobre los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y del manto, siendo éstos de  $132.9 \pm 8.9$   $\mu\text{m}$ ,  $61.8 \pm 2.9$   $\mu\text{m}$  y  $49.4 \pm 3.8$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfotipo se encontró en 884 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en los tres sitios; en el sitio Popocatepetl se presentaron 321, en el sitio Pelado 265 y en el sitio La Catedral 298. El morfotipo ECM 2 es afín al morfotipo ECM 11 que encontró Reverchon (2010) relacionado a las plántulas de *P. montezumae* en los sitios Chichinautzin, Guespalapa y Pelado de la Sierra del Chichinautzin. Es probable que el morfotipo ECM 2 podría ser afín al género *Lactarius* (Agerer, 1987; Ludwig-Maximilians, 2011) pero se tienen que realizar pruebas de ADN para

confirmarlo (Cuadros 5, 7 y 8, Figuras 8 y 13 y Anexo 4).



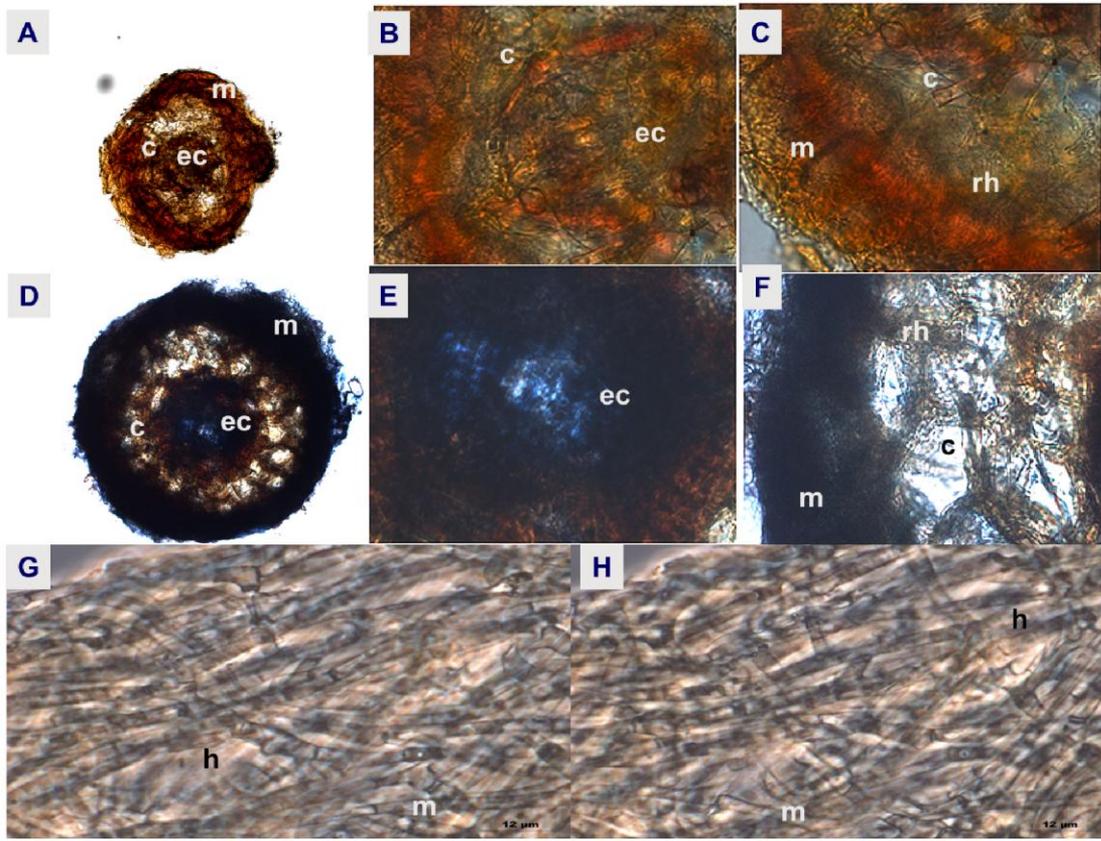
**Figura 8.** Morfotipo ECM 2. (A-C) Cortes transversales del morfotipo en alcohol polivinílico, Haces vasculares (ec), células del cortex (c), manto (m) y red de Hartig (rh) (A, 4x), (B y C, 40x); (D-F) Cortes transversales del morfotipo en azul de tripán, D: Haces vasculares, células del cortex y manto (10x), E: Células del cortex y manto (40x), F: Células del cortex, manto y red de Hartig (40x), G y H: Manto con tejido plectenquimatoso tipo A e hifas (h) (100x) en las capas interna (G) y externa (H).

**Morfotipo ECM 3.** Se caracteriza por su color anaranjado, ramificación coraloide, forma recta, textura granosa y las dimensiones del ápice fueron  $0.6 \pm 0.05$  mm en su longitud y  $0.3 \pm 0.01$  mm en su diámetro. Al realizar 10 cortes longitudinales sobre los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso tipo A, el cual presentó arreglos de bultos hifales en forma de anillo. Se realizaron 15 cortes transversales sobre los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y manto, siendo éstos de  $139.1 \pm 5.3$   $\mu\text{m}$ ,  $81 \pm 4.1$   $\mu\text{m}$  y  $73.3 \pm 6.4$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfotipo se encontró en 419 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en los tres sitios; en el sitio Popocatépetl se presentaron 263, en el sitio Pelado 66 y en el sitio La Catedral 90 (Cuadros 5, 7 y 8, Figuras y 13 y Anexo 4).



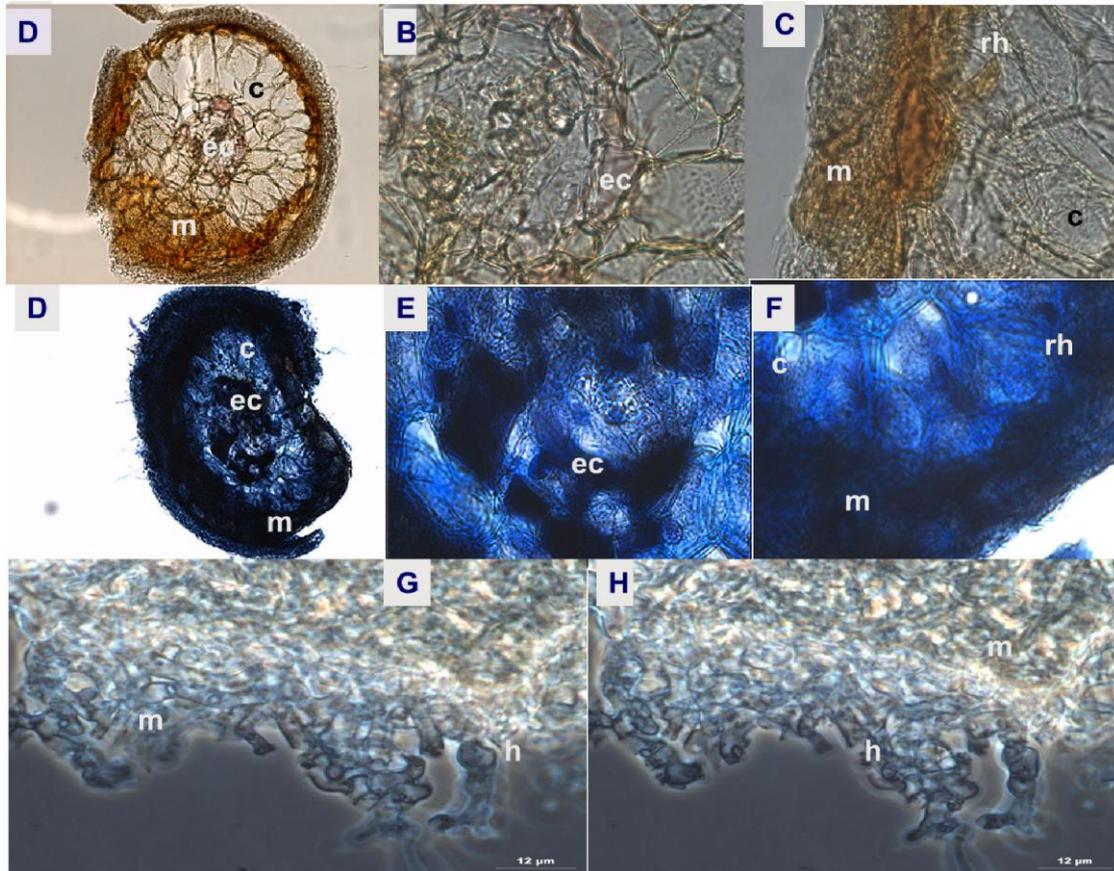
**Figura 9.** Morfortipo ECM 3. (A-C) Cortes transversales del morfortipo en alcohol polivinílico, Haces vasculares (ec), células del cortex (c), manto (m) y red de Hartig (rh) (A, 10x), (B y C, 40x); (D -F) Cortes transversales del morfortipo en azul de tripán, D: Haces vasculares, células del cortex y manto (10x), E: Haces vasculares y células del cortex (40x), F: Células del cortex, manto y red de Hartig (40x), G y H: Manto con tejido plectenquimatoso tipo A e hifas (h) (100x) en las capas interna (G) y externa (H).

**Morfortipo ECM 4.** Se caracteriza por su color café, ramificación dicotómica, forma recta, textura aterciopelada y las dimensiones del ápice fueron  $0.9 \pm 0.2$  mm en su longitud y  $0.4 \pm 0.02$  mm en su diámetro. En 10 cortes longitudinales sobre los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso tipo B, el cual presentó hifas arregladas irregularmente, que crecen en direcciones longitudinales con respecto a la raíz. Además se realizaron 26 cortes transversales sobre los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y del manto, siendo éstos de  $117.8 \pm 6.1$   $\mu\text{m}$ ,  $66.5 \pm 4.1$   $\mu\text{m}$  y  $53.9 \pm 3.9$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfortipo se encontró en 214 ápices de los brinzales de *P montezumae* en los tres sitios; en el sitio Popocatepetl se presentaron 188, en el sitio Pelado 22 y en el sitio La Catedral 4 (Cuadros 5, 7 y 8, Figuras 10 y 13 y Anexo 4).



**Figura 10.** Morfortipo ECM 4. (A-C) Cortes transversales del morfortipo en alcohol polivinílico, Haces vasculares (ec), células del cortex (c), manto (m) y red de Hartig (rh) (A, 4x), (B y C, 40x); (D-F) Cortes transversales del morfortipo en azul de tripán, D: Haces vasculares, células del cortex y manto (10x), E: Haces vasculares (40x), F: Células del cortex, manto y red de Hartig (40x), G y H: Manto con tejido plectenquimatoso tipo B e hifas (h) (100x) en las capas interna (G) y externa (H).

**Morfortipo ECM 5.** Se caracteriza por su color beige, ramificación tuberculada, forma recta, textura lisa y las dimensiones del ápice fueron  $0.7 \pm 0.03$  mm en su longitud y  $0.5 \pm 0.02$  mm en su diámetro. Al realizar 10 cortes longitudinales sobre los ápices, se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso tipo B, el cual presentó hifas arregladas irregularmente, que crecen en direcciones longitudinales con respecto a la raíz. Se realizaron 20 cortes transversales sobre los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y manto, siendo éstos de  $126.4 \pm 4.7$   $\mu\text{m}$ ,  $80.5 \pm 2.8$   $\mu\text{m}$  y  $56.5 \pm 2.3$   $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfortipo se encontró en 209 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en el sitio Popocatépetl (Cuadros 6, 7 y 8, Figuras 11 y 13 y Anexo 4).



**Figura 11.** Morfotipo ECM 5. (A-C) Cortes transversales del morfotipo en alcohol polivinílico, Haces vasculares (ec), células del cortex (c), manto (m) y red de Hartig (rh) (A, 10x), (B y C, 40x); (D-F) Cortes transversales del morfotipo en azul de tripán, D: Haces vasculares, células del cortex y manto (10x), E: Haces vasculares (40x), F: Células del cortex, manto y red de Hartig (40x), G y H: Manto con tejido plectenquimatoso tipo B e hifas (h) (100x) en las capas interna (G) y externa (H).

**Morfotipo ECM 6.** Se caracteriza por su color anaranjado claro, ramificación dicotómica, forma recta, textura aterciopelada y las dimensiones del ápice fueron  $0.8 \pm 0.09$  mm en su longitud y  $0.5 \pm 0.05$  mm en su diámetro. Este morfotipo se encontró en 81 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en el sitio Popocatepetl (Cuadros 6 y 8, Figura 13 y Anexo 4). El morfotipo ECM 6 podría ser afín al morfotipo ECM 36 que encontró Reverchon (2010) asociado a las plántulas de *P. montezumae* en los sitios Chichinautzin y Pelado de la Sierra del Chichinautzin. Este morfotipo fue identificado molecularmente por Reverchon (2010) y pertenece a la familia Sebacinaceae.

**Morfotipo ECM 7.** Se caracteriza por su color negro, ramificación tuberculada, forma recta, textura lanosa y las dimensiones del ápice fueron  $0.6\pm 0.07$  mm en su longitud y  $0.4\pm 0.03$  mm en su diámetro. Este morfotipo se encontró en 31 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en el sitio Pelado. El morfotipo ECM 7 es afín al morfotipo ECM 1 que encontró Reverchon (2010) relacionado con plántulas de *P. montezumae* en los sitios Chichinautzin, Guespalapa y Pelado de la Sierra del Chichinautzin. El morfotipo 7 se determinó taxonómicamente por sus características morfológicas y pertenece a la especie *Cenococcum geophilum* Fr. (Agerer y Gronbach, 1988; Ludwig-Maximilians, 2011) (Cuadros 6 y 8, Figura 13 y Anexo 4).

**Morfotipo ECM 8.** Se caracteriza por su color anaranjado claro con terminación amarilla, ramificación tuberculada, forma recta, textura lisa y las dimensiones del ápice fueron  $1.9\pm 1.1$  mm en su longitud y  $0.62\pm 0.2$  mm en su diámetro. Este morfotipo se encontró en 5 ápices de los brinzales de *P. montezumae* en el sitio La Catedral (Cuadros 6 y 8, Figura 13 y Anexo 4).

Los morfotipos ectomicorrízicos 1, 2, 3 y 4 se encontraron en los tres sitios de estudio, éstos presentaron en su mayoría una ramificación dicotómica y una forma recta. El morfotipo 1 fue el que presentó las medidas más altas de la longitud y el diámetro de sus ápices (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Características morfológicas de los ápices ectomicorrízicos que se encuentran en los tres sitios de estudio.**

Morfotipo ectomicorrízico	Color	Ramificación	Forma	Textura	N	Longitud promedio del ápice (mm)	Diámetro promedio del ápice (mm)
<p><b>Morfotipo 1</b></p> 	Amarillo	Dicotómica	Recta	Lisa	160	1.0±0.03	0.4±0.008
<p><b>Morfotipo 2- afín al género <i>Lactarius</i></b></p> 	Anaranjado con terminación amarilla	Dicotómica	Inclinada	Granosa	94	0.8±0.04	0.4±0.01
<p><b>Morfotipo 3</b></p> 	Anaranjado	Coraloide	Recta	Granosa	52	0.6±0.05	0.3±0.01
<p><b>Morfotipo 4</b></p> 	Café	Dicotómica	Recta	Aterciope-lada	15	0.9±0.2	0.4±0.02

Los morfotipos ectomicorrízicos 5, 6, 7 y 8 se localizaron solamente en un sitio de estudio, los morfotipos 5 y 6 en el sitio Popocatépetl, el morfotipo 7 en el sitio Pelado y el morfotipo 8 en el sitio La Catedral. Estos morfotipos presentaron en su mayoría una ramificación tuberculada y una forma recta. El morfotipo 8 fue el que presentó las medidas más altas de la longitud y el diámetro de sus ápices (Cuadro 6).

**Cuadro 6. Características morfológicas de los ápices ectomicorrízicos que son exclusivos de un sitio de estudio.**

Morfotipo ectomicorrízico	Color	Ramificación	Forma	Textura	N	Longitud promedio del ápice (mm)	Diámetro promedio del ápice (mm)
<b>Morfotipo 5</b>							
<b>(Popocatépetl)</b>							
	Beige	Tuberculada	Recta	Lisa	27	0.7±0.03	0.5±0.02
<b>Morfotipo 6-afín a la familia Sebacinaceae</b>							
<b>(Popocatépetl)</b>							
	Anaranjado claro	Dicotómica	Recta	Aterciope-lada	11	0.8±0.09	0.5±0.05
<b>Morfotipo 7-<i>Cenococcum geophilum</i> (Pelado)</b>							
	Negro	Tuberculada	Recta	Lanosa	17	0.6±0.07	0.4±0.03
<b>Morfotipo 8</b>							
<b>(La Catedral)</b>							
	Anaranjado claro con terminación amarilla	Tuberculada	Recta	Lisa	2	1.9±1.1	0.62±0.2

De los cinco morfotipos más abundantes (morfotipos 1, 2, 3, 4 y 5), el morfotipo 3 fue el que presentó las estructuras más grandes, los haces vasculares alcanzaron a medir 139 µm, las células del cortex 81 µm y el manto 73 µm. Las medidas de los haces vasculares del morfotipo 3 son 24 por ciento más altas que las del morfotipo 1. Las medidas de las células del cortex y del manto en el morfotipo 3 son 23 y 33 por ciento más altas que las del morfotipo 2, respectivamente (Cuadro 7).

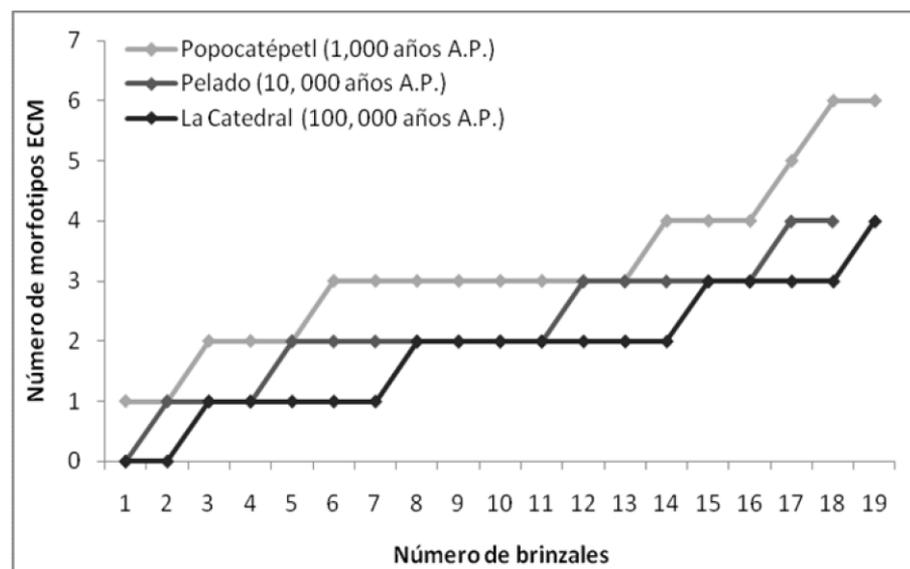
**Cuadro 7. Promedios y errores estándares de las estructuras que conforman los morfotipos ECM 1, 2, 3, 4 y 5, en los brinzales de *P. montezumae*.**

Morfotipo ECM	N	Haces vasculares ( $\mu\text{m}$ )	Células del cortex ( $\mu\text{m}$ )	Manto ( $\mu\text{m}$ )
1	11	106 $\pm$ 7.2	66.6 $\pm$ 3.4	67.4 $\pm$ 4.6
2- afin al género <i>Lactarius</i>	15	132.9 $\pm$ 8.9	61.8 $\pm$ 2.9	49.4 $\pm$ 3.8
3	15	139.1 $\pm$ 5.3	81 $\pm$ 4.1	73.3 $\pm$ 6.4
4	26	117.8 $\pm$ 6.1	66.5 $\pm$ 4.1	53.9 $\pm$ 3.9
5	20	126.4 $\pm$ 4.7	80.5 $\pm$ 2.8	56.5 $\pm$ 2.3

### 8.1.3. Riqueza

En total se registraron 8 morfotipos ECM asociados a los brinzales de *Pinus montezumae*, de los cuales 6 se localizaron en el sitio Popocatépetl (morfotipos ECM 1, 2, 3, 4, 5 y 6), 5 en el sitio Pelado (morfotipos ECM 1, 2, 3, 4 y 7) y 5 en el sitio La Catedral (morfotipos ECM 1, 2, 3, 4 y 8) (Figura 12). Los morfotipos ECM 1, 2, 3 y 4 se distribuyeron en los tres sitios (Cuadro 5, Figuras 7, 8, 9 y 10). En el sitio de menor edad, Popocatépetl, se distribuyen únicamente los morfotipos 5 y 6 (Cuadro 6, Figura 11). En el sitio Pelado se localiza solamente el morfotipo 7 (Cuadro 6). El morfotipo 8 se ubica exclusivamente en el sitio La Catedral, cuyo suelo es el de mayor edad (Cuadro 6).

Al realizar los análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey se comprobó que no existen diferencias significativas entre los sitios Pelado y La Catedral, sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre estos dos sitios y el sitio Popocatépetl (Cuadro 8).



**Figura 12. Riqueza del número de morfotipos ectomicorrízicos asociados a los brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

**Cuadro 8. Análisis de varianza y prueba de Tukey de la riqueza ectomicorrízica (número de morfotipos) asociada a brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

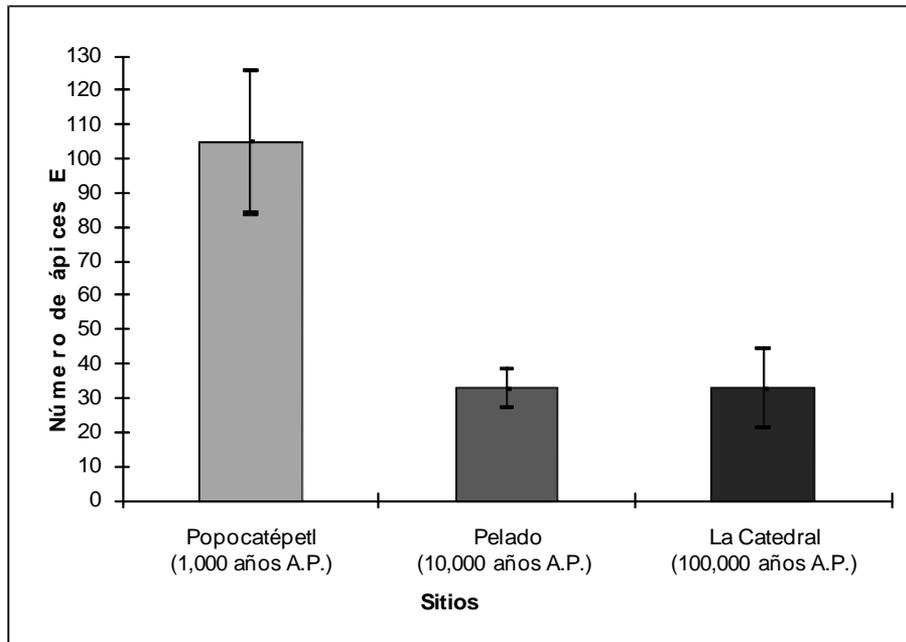
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F	P
Sitio	424	2	20.52	6.686	0.003
Error		53	81.32		
<b>Fuente (Sitio)</b>	<b>Promedio</b>		<b>Error estándar</b>		<b>N</b>
Popocatépetl	3		0.3		19
Pelado	2		0.3		18
La Catedral	2		0.3		19
<b>Prueba de Tukey</b>	<b>Popocatépetl</b>		<b>Pelado</b>		<b>La Catedral</b>
Popocatépetl	1.000				
Pelado	0.036		1.000		
La Catedral	0.002		0.622		1.000

#### 8.1.4. Abundancia absoluta y relativa

La mayor abundancia de morfotipos ectomicorrízicos se registró en los brinzales del sitio Popocatépetl con un promedio de 105, esta cantidad es significativamente diferente a la encontrada en las plantas de los sitios Pelado y La Catedral. En estos últimos dos sitios el promedio de la abundancia de los morfotipos en los brinzales fue de 33, y no se encontraron diferencias significativas entre éstos al realizar el análisis de varianza (ANOVA) (Cuadro 9 y Figura 13).

**Cuadro 9. Análisis de varianza y prueba de Tukey de la Abundancia ectomicorrízica (número de ápices) registrada en brinzales de *Pinus montezumae* de los tres sitios de estudio.**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F	P
Sitio	453200	2	64513.33	8.324	0.001
Error		53	205372.10		
<b>Fuente (Sitio)</b>	<b>Promedio</b>		<b>Error estándar</b>		<b>N</b>
Popocatépetl	105		21		19
Pelado	33		5.6		18
La Catedral	33		11.6		19
<b>Prueba de Tukey</b>	<b>Popocatépetl</b>		<b>Pelado</b>		<b>La Catedral</b>
Popocatépetl	1.000				
Pelado	0.003		1.000		
La Catedral	0.002		1.000		1.000



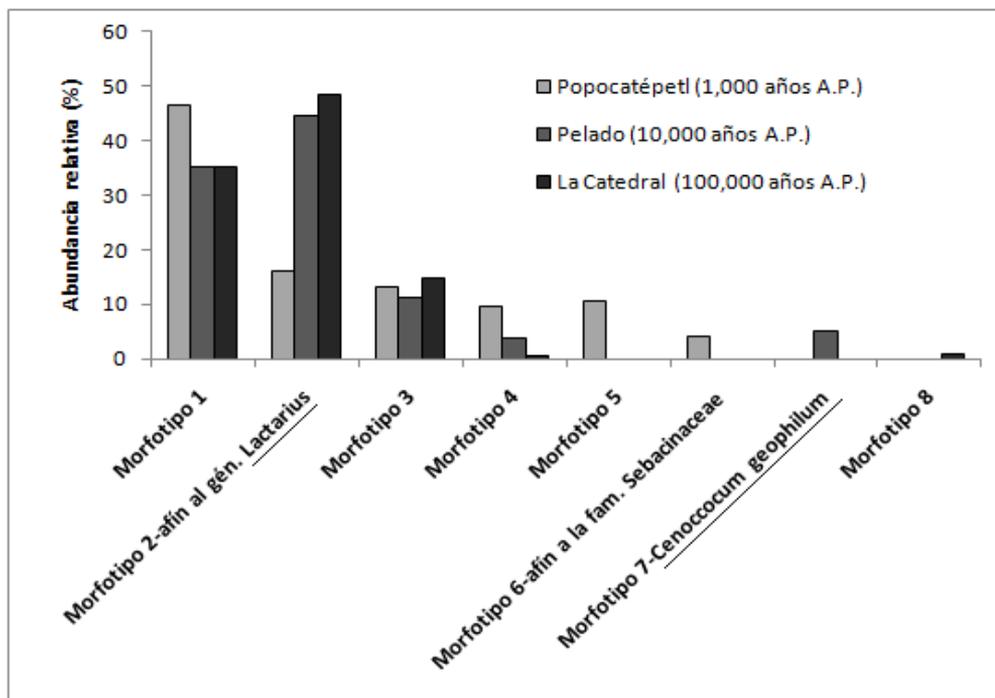
**Figura 13. Promedios y errores estándar de la Abundancia de morfotipos ECM en brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

Los morfotipos ectomicorrízicos 1 y 2 son los más abundantes y se localizan en los tres sitios de muestreo con promedios de 450 y 295 ápices, respectivamente. Los morfotipos 3 y 4 también se encuentran en los tres sitios, solamente que en menor proporción, con promedios de 140 y 71 ápices, respectivamente. Los morfotipos 5, 6, 7 y 8 son los menos abundantes y se ubican únicamente en un sitio de estudio con 209, 81, 31 y 4 ápices, respectivamente (Cuadro 10, Figura 14).

El morfotipo ectomicorrízico que presenta la mayor abundancia es el 1 con 1351 ápices, que representa el 42% del total de ápices encontrados en los tres sitios. El morfotipo 8 es el menos abundante con 4 ápices, que representa el 0.1% de la abundancia total (Cuadro 10, Figura 14).

**Cuadro 10. Abundancia de morfotipos ECM asociados a brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

Sitio	Morfotipo ECM	Abundancia absoluta (número de ápices)	Abundancia relativa (%)
<b>Popocatépetl</b>	1	925	46.5
	2- afín al género <i>Lactarius</i>	321	16.1
	3	263	13.2
	4	188	9.5
	5	209	10.5
	6- afín a la familia Sebacinaceae	81	4.0
	<b>Total</b>	<b>1987</b>	<b>62.2</b>
<b>Pelado</b>	1	209	35.2
	2- afín al género <i>Lactarius</i>	265	44.7
	3	66	11.1
	4	22	4.0
	7- <i>Cenococcum geophilum</i>	31	5.2
	<b>Total</b>	<b>593</b>	<b>18.6</b>
<b>La Catedral</b>	1	217	35.3
	2- afín al género <i>Lactarius</i>	298	48.5
	3	90	14.6
	4	4	0.6
	8	5	0.8
	<b>Total</b>	<b>614</b>	<b>19.2</b>
<b>Los tres sitios</b>	1	1351	42.3
	2- afín al género <i>Lactarius</i>	884	27.7
	3	419	13.1
	4	214	6.8
	5	209	6.5
	6- afín a la familia Sebacinaceae	81	2.5
	7- <i>Cenococcum geophilum</i>	31	1.0
	8	4	0.1
	<b>Total</b>	<b>3193</b>	<b>100</b>



**Figura 14.** Abundancia relativa de los morfotipos ECM asociados a brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.

Al comparar la frecuencia de cada morfotipo ectomicorrízico entre los tres sitios de estudio, se observa que el morfotipo 2 está presente en un 75% de los brinzales. Le sigue el morfotipo 1 que se localiza en el 70% de las plantas de los tres sitios. Los morfotipos 4, 6, 7 y 8 son los que se encuentran en menor proporción en los brinzales con 12, 11, 9 y 3 por ciento, respectivamente (Cuadro 11).

**Cuadro 11. Frecuencia de cada morfotipo ECM asociado a brinzales de *P. montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

Sitio	Brinzal	Morfotipo ECM 1	Morfotipo ECM 2	Morfotipo ECM 3	Morfotipo ECM 4	Morfotipo ECM 5	Morfotipo ECM 6	Morfotipo ECM 7	Morfotipo ECM 8	Morfotipos totales
<b>Popocatepetl</b>	1	+	+	+	+	+	+	-	-	6
	2	-	+	+	-	-	+	-	-	3
	3	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	4	+	-	+	-	+	-	-	-	3
	5	+	+	+	+	+	+	-	-	6
	6	+	+	+	+	+	+	-	-	4
	7	+	-	+	-	+	-	-	-	3
	8	+	+	-	-	-	+	-	-	3
	9	+	+	+	+	+	-	-	-	5
	10	+	-	+	-	+	+	-	-	4
	11	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	12	-	+	-	-	+	-	-	-	2
	13	+	+	-	+	+	+	-	-	4
	14	-	-	-	-	+	-	-	-	1
	15	+	-	+	-	+	-	-	-	3
	16	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	17	+	+	-	-	+	-	-	-	3
	18	+	+	-	-	+	-	-	-	3
	19	+	+	-	-	+	-	-	-	3
		<b>% Total por sitio</b>	84	68	47	21	68	32	-	-
<b>Pelado</b>	1	-	+	+	-	-	-	-	-	2
	2	+	+	+	-	-	-	+	-	4
	3	+	-	+	-	-	-	-	-	2
	4	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	5	+	-	+	-	-	-	+	-	3
	6	+	+	+	-	-	-	+	-	4
	7	+	+	-	-	-	-	+	-	3
	8	+	+	-	-	-	-	+	-	3
	9	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	10	+	+	+	-	-	-	-	-	3
	11	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	12	-	-	+	-	-	-	-	-	1
	13	+	+	-	+	-	-	-	-	3
	14	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	15	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	16	+	-	+	-	-	-	-	-	2
	17	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	18	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	<b>% Total por sitio</b>	72	72	44	5	-	-	28	-	5
<b>La Catedral</b>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	2	+	+	+	-	-	-	-	+	4
	3	-	+	+	-	-	-	-	-	2
	4	+	+	+	-	-	-	-	-	3
	5	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	6	+	+	+	-	-	-	-	-	3
	7	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	8	+	+	+	-	-	-	-	-	3
	9	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	10	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	11	+	+	-	-	-	-	-	+	3
	12	+	-	-	-	-	-	-	-	1
	13	-	+	-	+	-	-	-	-	2
	14	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	15	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	16	-	+	-	+	-	-	-	-	2
	17	+	+	-	-	-	-	-	-	2
	18	-	+	-	-	-	-	-	-	1
	19	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	<b>% Total por sitio</b>	53	84	26	10	-	-	-	10	5
	<b>% Total en los sitios</b>	70	75	39	12	23	11	9	3	8

(+) Está presente en el sitio.

(-) No está presente en el sitio.

### 8.1.5. Diversidad

La diversidad ectomicorrízica, calculada con el índice de Shannon, disminuye conforme el suelo se vuelve más antiguo. El sitio con mayor diversidad fue el Popocatépetl con un valor de 1.5, en este sitio la riqueza ectomicorrízica y su abundancia relativa son más altas que en los sitios Pelado y La Catedral en un 68.6 por ciento. El sitio La Catedral fue el de menor diversidad con un índice de 1.1 y éste es 29 por ciento más bajo que el que se encuentra en el Popocatépetl (Cuadro 12).

**Cuadro 12. Índices de Shannon en los tres sitios de muestreo.**

Localidad	Índice de Shannon
Popocatépetl (1,000 años A. P.)	1.5
Pelado (10,000 años A. P.)	1.2
La Catedral (100,000 años A. P.)	1.1

### 8.1.6. Similitud de los morfotipos ECM entre los sitios de estudio

Los valores de similitud calculados con el índice de Sørensen fueron muy altos. El sitio Popocatépetl es similar a los sitios Pelado y La Catedral en un 73% porque presentan cuatro morfotipos ectomicorrízicos en común pero difieren en cuatro. Los sitios más similares entre sí son Pelado y La Catedral con un 80%, ambos presentan cuatro morfotipos en común y dos diferentes (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Índices de Sørensen en los tres sitios de muestreo.**

	Popocatépetl	Pelado	La Catedral
Popocatépetl	-----	73	73
Pelado	73	-----	80
La Catedral	73	80	-----

## IX. DISCUSION

En suelos poco fértiles las raíces tienen que explorar más superficie para poder nutrirse y obtener agua (Baar, 1996; Menkis *et al.*, 2007; Twieg *et al.*, 2009). La asociación micorrízica facilita ambas funciones al aumentar la superficie de absorción y es sensible a variables edáficas como la materia orgánica, los nutrimentos y diferentes niveles de pH (Taylor y Bruns, 1999). Los suelos de los sitios Popocatepetl, Pelado y La Catedral, contienen cantidades (unidades de masa sobre volumen,  $\text{kg m}^{-2}$ ) contrastantes de N, C y P, así como de agua disponible a capacidad de campo (Figura 6, Anexo 1). El N, el C y el agua son particularmente escasos en el sitio Popocatepetl, por lo que en mi primera hipótesis postulé que el mayor porcentaje de micorrización se localizaría en este sitio. No obstante, en los brinzales de *Pinus montezumae* los porcentajes de micorrización no fueron estadísticamente diferentes en los tres sitios de estudio (Popocatepetl 17%, Pelado 14% y La Catedral 23%), y son bajos en comparación con otros trabajos en los que se han alcanzado porcentajes de micorrización de 44 (*ex situ*) y 78% (*in situ*) en la misma especie de pino (Reverchon, 2010). Los bajos porcentajes de micorrización y la semejanza entre los porcentajes de micorrización de los sitios, puede deberse a que los brinzales fueron recolectados y analizados al término de la temporada de lluvias. Durall *et al.* (2006) mencionan que al haber mayor humedad en el suelo se incrementa el porcentaje de micorrización. Probablemente, si los brinzales se hubieran colectado a la mitad de la época de lluvias el porcentaje de micorrización sería mayor. Resulta difícil comparar el presente estudio con otros trabajos porque el porcentaje de micorrización es calculado con mayor frecuencia en plántulas inoculadas artificialmente y bajo condiciones ambientales controladas (Wallander y Wickman, 1999; Wallander, 2000; Xochitiotzin, 2000; Rincón *et al.*, 2001; Santiago-Martínez, 2002; Liu *et al.*, 2004; Teste *et al.*, 2004; Menkis *et al.*, 2007; Karst *et al.*, 2009).

En los tres sitios de estudio se caracterizaron ocho morfotipos ECM, de los cuales tres corresponden a morfotipos anteriormente descritos y analizados molecularmente por Reverchon (2010) en su estudio sobre hongos ECM asociados a *P. montezumae* en la Sierra del Chichinautzin. El morfotipo ECM 2 es afín al morfotipo que Reverchon (2010) determinó molecularmente como perteneciente al género *Lactarius* por su coloración anaranjada con terminación amarilla, ramificación dicotómica y por su tejido plectenquimatoso del manto. Éste es un género se asocia generalmente con especies de la familia Pinaceae (Agerer, 1987; Ludwig-Maximilians, 2011). El morfotipo ECM 6 es afín al morfotipo que Reverchon (2010) determinó por medio del análisis del ADN como perteneciente a la familia Sebacinaceae. Son

similares en cuanto a su coloración anaranjada, ramificación dicotómica, forma recta y medidas del ápice. El morfotipo ECM 7 es afín al morfotipo que Reverchon (2010) caracterizó como correspondiente a la especie *Cenococcum geophilum*. Ambos comparten su coloración negra, ramificación tuberculada, forma recta, y medidas del ápice. Esta micorriza se asocia frecuentemente con especies de la familia Pinaceae (Agerer y Gronbach, 1988; Ludwig-Maximilians, 2011) y es de hongo importante porque proporciona a su hospedero tolerancia a la sequía (Wurzburger *et al.*, 2001; Izzo *et al.*, 2005; Wu *et al.*, 2005; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Obase *et al.*, 2009; Rineau y Garbaye, 2009; Reverchon, 2010).

En lo que respecta a las especies ectomicorrízicas, se sabe que es difícil su determinación tomando en cuenta únicamente las características morfológicas de los ápices (Horton y Bruns, 2001; Kennedy, 2010). Para tener una mejor aproximación de las especies a las cuales corresponden los 8 morfotipos ECM registrados, es necesario realizar análisis anatómicos y moleculares que permitirían segregar algunos taxones que no fueron separados por la caracterización morfológica (Gardes y Bruns 1993; Bonello *et al.*, 1998; Horton y Bruns, 2001).

Los morfotipos ECM asociados a brinzales de *P. montezumae* fueron distintos a lo largo de la cronosecuencia edáfica, los morfotipos ECM 5, 6, 7 y 8 exclusivamente se distribuyeron en un sitio. A pesar de que no se obtuvo una relación estadística entre las variables de los morfotipos y las variables edáficas, es probable que estos 4 morfotipos sean sensibles a las variaciones en las características físicas y químicas de los suelos. Los morfotipos 5 y 6 únicamente se registraron en el sitio Popocatépetl, en donde el suelo se caracteriza por su baja disponibilidad de N y agua, y relativamente abundante P Bray. El morfotipo 7 (*C. geophilum*) sólo se localizó en el sitio Pelado, al contrario que el sitio anterior el N y el agua disponible para las plantas son abundantes y el P es un factor limitante. No obstante, a pesar de que el suelo de este sitio puede almacenar una cantidad importante de agua, ésta es insuficiente para las plantas durante la época de secas. La parte central del Faja Volcánica Transmexicana atraviesa por un periodo de sequía bien marcada (de noviembre a mayo) que aumenta el estrés hídrico en las plantas, probablemente la asociación que establece este hongo ECM con las raíces de los brinzales de *P. montezumae* en el sitio Pelado esté influyendo en su supervivencia. Estos resultados refuerzan otros estudios que han indicado que esta especie de hongo ECM tolera niveles altos de estrés hídrico. También, es probable que con un muestreo más intenso esta especie pueda localizarse en el sitio Popocatépetl, en donde las condiciones de excesivo drenaje en el suelo incrementan el estrés ocasionado por la sequía. El morfotipo 8 solamente se encontró en el sitio La Catedral, en donde el N es relativamente

abundante, el P es poco disponible y el drenaje deficiente favorece la presencia de flujos superficiales de agua todo el año (Cuadro 6, Anexo 1). Comportamientos similares se han reportado en otros trabajos con micorrizas (Baar, 1996; Taylor y Bruns, 1999; Munkrold *et al.*, 2004; Kernaghan, 2005; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Twieg *et al.*, 2009; Reverchon, 2010).

No obstante lo mencionado en el párrafo anterior, los morfotipos 1, 2, 3 y 4 se encontraron en los tres sitios de la cronosecuencia edáfica. Los índices de similitud entre los sitios fueron muy altos, siendo parecidos al menos en un 73% en cuanto a la riqueza de morfotipos ECM asociados a brinzales de *P. montezumae* (Cuadro 13). Esto puede deberse a que los morfotipos se encuentran hospedados en brinzales de una misma especie de pino, con una edad similar (4-6 años), que crecieron bajo condiciones similares en cuanto a clima, altitud, orientación de la ladera, pendiente y tipo de vegetación (Cuadro 2).

Como se esperaba, la riqueza, la abundancia y la diversidad ECM fueron mayores en el sitio Popocatépetl, que es el más joven y menos fértil de la cronosecuencia. En este sitio, la cantidad (unidades de masa sobre volumen) de C y N en el suelo se encuentran en proporciones bajas y el P Bray es relativamente abundante. Esta misma tendencia se ha registrado en algunos estudios de sucesión ecológica con ectomicorrizas, en los cuales se menciona que la riqueza, la abundancia y la diversidad de especies están positivamente relacionadas con el P disponible y con bajas concentraciones de N en el suelo (Baar, 1996; Twieg *et al.*, 2009). Sin embargo, las comparaciones con otros estudios se dificultan dado que la mayoría de estos trabajos consideran los aumentos del N en el suelo provocados por la contaminación del hombre (Peter *et al.*, 2001; Lilleskov *et al.*, 2002 a; Avis *et al.*, 2008), por lo cual las cantidades de nitrógeno que se manejan en estos reportes son mayores a las encontradas a lo largo de esta cronosecuencia.

Visser (1995) y Horton y Bruns (2001) mencionan que la riqueza ectomicorrízica es baja en plántulas y pocas especies de hongos son las que dominan el espacio o recurso disponible, lo que podría explicar la riqueza relativamente baja encontrada en este trabajo. Sin embargo, es probable que la diversidad real de los morfotipos ectomicorrízicos se haya subestimado por las siguientes razones: a) los brinzales fueron seleccionados a finales de la época de lluvias, b) únicamente se muestreó en un cuadrante por sitio, c) el método de extracción de los sistemas radiculares probablemente provocó que se rompieran algunas raíces y no se lograron rescatar porque no usamos tamices y d) el método por el cual se caracterizaron los morfotipos ECM fue básicamente morfológico, otras caracterizaciones como la anatómica o la molecular pueden discernir una mayor diversidad. A pesar de estas limitantes implícitas este acercamiento inicial es enormemente valioso para conocer primariamente la diversidad

micorrízica que se encuentra en los sitios de estudio.

Los morfotipos ECM 1 y 2 fueron los más abundantes con 42 y 28% respectivamente (Cuadro 10), y se localizaron en los tres sitios de la cronosecuencia edáfica, por lo que al parecer toleran diferentes niveles de fertilidad y estrés hídrico. Para conocer a qué especies pertenecen los morfotipos ECM 1 y 2 es necesario analizarlos por medio de técnicas moleculares de ADN. Su desempeño debe probarse inoculando brinzales de *P. montezumae* en suelos estériles. Si los resultados son favorables, estos morfotipos podrían emplearse en proyectos de restauración en los bosques de la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana.

En el Distrito Federal cada año se reforesta parte de la Cuenca de México, sin embargo existe una alta tasa de mortalidad de plantas en el campo que se podría atribuir entre otras cosas a la baja calidad de las plantas propagadas en el vivero y la falta de inoculantes micorrízicos nativos (Varela y Estrada-Torres, 1997). Las reforestaciones con brinzales de *P. montezumae* podrían ser más exitosas si en los viveros se emplearan los morfotipos ectomicorrízicos 1 y 2, que son nativos de los bosques de la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana.

## X. CONCLUSIONES

El porcentaje de micorrización de los brinzales de *Pinus montezumae* fue bajo en los tres sitios de estudio, y no se encontraron diferencias significativas entre ellos. La cantidad de morfotipos ECM asociada a *P. montezumae* en los tres sitios de estudio fue de ocho, de los cuales 6 morfotipos se encontraron en el sitio Popocatepetl, 5 en el Pelado y 5 en La Catedral. Únicamente se logró determinar a nivel de especie el morfotipo 7, por sus características morfológicas éste corresponde a *Cenococcum geophilum*. Es probable que el morfotipo 2 sea afín al género *Lactarius* y el morfotipo 6 a la familia Sebacinaceae. Para conocer a que especie pertenece cada morfotipo es necesario analizarlos con técnicas moleculares de ADN.

Hubo morfotipos exclusivos para cada sitio, dos en el sitio Popocatepetl (morfotipos 5 y 6), uno en el sitio Pelado (*C. geophilum*) y uno en el sitio La Catedral (morfotipo 8). Los sitios de estudio son parecidos al menos en un 73% en cuanto a la riqueza de morfotipos ECM. Las localidades que se parecen más entre sí son los sitios Pelado y La Catedral.

No resultó estadísticamente significativa la relación entre las variables de los morfotipos ECM y las cantidades de C, N, P y agua disponible a capacidad de campo. Sin embargo, la riqueza, la abundancia y la diversidad ectomicorrízicas más altas se presentaron en el sitio Popocatepetl, en donde el suelo es poco fértil y la disponibilidad de C, N y agua es poca.

Los morfotipos ECM 1 y 2 fueron los más abundantes y se localizaron en toda la cronosecuencia edáfica. Ambos morfotipos podrían tener potencial para emplearse como inóculos en brinzales de *Pinus montezumae* para reforestar los bosques de la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana.

Este trabajo es relevante debido a que existen pocas investigaciones que se enfoquen en las comunidades de hongos ECM asociadas a los brinzales de pino y a las propiedades edáficas. Profundizar en estos estudios puede ser útil para conocer qué especies nativas de hongos ECM se pueden implementar en programas de reforestación con pinos y que éstos sean más exitosos.

## XI. REFERENCIAS

- Agerer, R. 1987-2002. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, Alemania, 1i-13i pp.
- Agerer, R. 1987. *Lactarius deterrimus*. In: Agerer, R. (ed.). Colour Atlas of Ectomycorrhizae, plate 3. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, plate 3 p.
- Agerer, R. y E. Gronbach. 1988. *Cenococcum geophilum*. In: Agerer, R. (ed.). Colour Atlas of Ectomycorrhizae, plate 11. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd, plate 11 p.
- Agerer, R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological Progress* 5: 67-107.
- Allen, M. F. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. Cambridge University Press, Cambridge, 11 p.
- Arvieu, J. C., F. Leprince y C. Plassard. 2003. Release of oxalate and protons by ectomycorrhizal fungi in response to P-deficiency and calcium carbonate in nutrient solution. *Annals of Forest Science* 60: 815-821.
- Avis, P. G., G. M. Mueller y J. Lussenhop. 2008. Ectomycorrhizal fungal communities in two North American oak forests respond to nitrogen addition. *New Phytologist* 179: 472-483.
- Baar, J. 1996. The ectomycorrhizal flora of primary and secondary stands of *Pinus sylvestris* in relation to soil conditions and ectomycorrhizal succession. *Journal of Vegetation Science* 7: 497-504.
- Baar, J. y C. J. F. ter Braak. 1996. Ectomycorrhizal sporocarp occurrence as affected by manipulation of litter and humus layers in Scots pine stands of different age. *Applied Soil Ecology* 4: 61-73.
- Bending, G. D. y D. J. Read. 1995. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. V. Foraging behaviour and translocation of nutrients from exploited litter. *New Phytologist* 130: 401-409.
- Bogeat-Triboulot, M. B., F. Bartoli, J. Garbaye, R. Marmeisse y D. Tagu. 2004. Fungal ectomycorrhizal community and drought affect root hydraulic properties and soil adherence to roots of *Pinus pinaster* seedlings. *Plant and Soil* 267: 213-223.
- Bonello, P., T. D. Bruns y Gardes, M. 1998. Genetic structure of a natural population of the

- ectomycorrhizal fungus *Suillus pungens*. *New Phytologist* 138: 533-542.
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove y N. Malajczuc. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research. Australia, 1 p.
- Bruns, T. D., T. M. Szaro, M. Gardes, K. W. Cullings, J. J. Pan, D. L. Taylor, T. R. Horton, A. Kretzer, M. Garbelotto e Y. Li. 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Molecular Ecology* 7: 257- 272.
- Bucher, M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist* 173: 11-26.
- Cavender-Bares, J., A. Izzo, R. Robinson y C. E. Lovelock. 2009. Changes in ectomycorrhizal community structure on two containerized oak hosts across an experimental hydrologic gradient. *Mycorrhiza* 19:133-142.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2009a. Dirección del Corredor Biológico Chichinautzin. (en línea) <http://www.chichinautzin.conanp.gob.mx>. Fecha de consulta: 21 de diciembre de 2009.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2009b. Dirección del Parque Nacional Iztaccihuatl-Popocatepetl. (en línea) <http://www.iztapopo.conanp.gob.mx>. Fecha de consulta: 21 de diciembre de 2009.
- Conn, C. y J. Dighton. 2000. Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 489-496.
- Correa-Vela, G., B. E. Vázquez-Martínez, M. L. Rodríguez-Gamiño y I. V. Domínguez- Rubio. 2007. Caracterización edáfica de sitios con regeneración natural de *Pinus montezumae* Lamb. en el volcán La Malinche, México. *Agrociencia* 41: 371-383.
- Crews, T. E., K. Kitayama, J. H. Fownes, R. H. Riley, D. A. Herbert, D. Mueller-Dombois y P. M. Vitousek. 1995. Changes in soil phosphorus fractions and ecosystem dynamics across a long chronosequence in Hawaii. *Ecology* 76: 1407-1424.
- Cromack-Jr., K., P. Sollins, W. C. Graustein, K. Speidel, A. W. Todd, G. Psycher, C. Y. Li y R. L. Todd. 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. *Soil Biology and Biochemistry* 11: 463-468.
- Cumming, J. R. y L. H. Weinstein. 1990. Utilization of  $AlPO_4$  as a phosphorous source by

- ectomycorrhizal *Pinus rigida* seedlings. *New Phytologist* 116: 99-106.
- Durall, D. M., S. Gamiet, S. W. Simard, L. Kudrna y S. M. Sakakibara. 2006. Effects of clearcut logging and tree species composition on the diversity and community composition of epigeous fruit bodies formed by ectomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany* 84: 966-980.
- Egerton-Warbuton, L. M, R. C. Graham y K. R. Hubbert. 2003. Spatial variability in mycorrhizal hyphae and nutrient and water availability in a soil-weathered bedrock profile. *Plant and Soil* 249: 331-342.
- Entry, J., C. Rose y K. Cromack. 1992. Microbial biomass and nutrient concentrations in hyphal mats of the ectomycorrhizal fungus *Hysterangium setchelli* in a coniferous forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 447-453.
- Estrada-Torres, A. y M. G. Santiago-Martínez. 2003. Avances en el estudio de la ectomicorriza en el estado de Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Ixtacuixtla, Tlaxcala, México, 3, 4, 6, 7, 23-30 y 56-64 pp.
- Evans, D. E., S. A. Briars y L. E. Williams. 1991. Active calcium transport by plant cell membranes. *Journal of Experimental Botany* 42: 285-303.
- Falandysz, J. y A. Chwir. 1997. The concentrations and bioconcentration factors of mercury in mushrooms from the Mierzeja Wiślana sand-bar, Northern Poland. *The Science of The Total Environment* 203: 221-228.
- Fox, T. R., N. B. Comerford y W. W. Mc Fee. 1990. Kinetics of phosphorus release from spodosols: effects of oxalate and formate. *Soil Science Society of America Journal* 54: 1441-1447.
- García-Arévalo, A. y M. S. González-Elizondo. 1998. Pináceas de Durango. Instituto de Ecología, México, 106 p.
- García-Romero, A. 1998. Geocología del paisaje vegetal en el occidente de la ciudad de México.
- García-Rodríguez, J. L., J. Pérez-Moreno, A. Aldrete, V. M. Cetina-Alcalá y H. Vaquera-Huerta. 2006. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia* 40: 665-676.
- García-Palomo, A., J. J. Zamorano, C. López-Miguel, A. Galván-García, V. C. Valerio, R. Ortega y J. L. Macías. 2008. El arreglo morfoestructural de la Sierra de las Cruces, México Central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas, UNAM* 25: 158-178.
- Gardes, M. y T. D. Bruns. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes:

- application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
- Godbold, D. L., G. Jentschke, S. Winter y P. Marschner. 1998. Ectomycorrhizas and amelioration of metal stress in forest trees. *Chemosphere* 36: 757-762.
- Griffiths, R. P., J. E. Baham y B. A. Caldwell. 1994. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil. *Soil Biology Biochemistry* 26: 331-337.
- Harley, J. L. y S. E. Smith. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London.
- Havlin, J. L., J. D. Beaton, S. L. Tisdale y W. L. Nelson. 1999. *Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management*. Prentice-Hall. New Jersey, E.U.A.
- Heine, K. 1975. *Studien zur jungquartären Glazialmorphologie mexikanischer Vulkane – mit einem Ausblick auf die Klimaentwicklung: Weisbaden, Franz Steiner Verlag, Das Mexiko-Projekt der Deutschen Forschungsgemeinschaft*.
- Hernández-Cuevas, L., S. Castillo-Argüero, P. Guadarrama-Chávez, Y. Martínez-Orea, M. A. Romero-Romero y I. Sánchez-Gallén. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del Pedregal de San Ángel. Facultad de Ciencias, UNAM. Las prensas de ciencias. México, pp. 13-16.
- Horton, T., E. Cázares y T. Bruns. 1998. Ectomycorrhiza, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire. *Mycorrhiza* 8: 11-18.
- Horton, T. R. y T. D. Bruns. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 10: 1855-1871.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED), Gobierno del Estado de México (GEM). 2005. Enciclopedia de los Municipios de México (en línea), <http://www.municipio.gob.mx/work/templates/enciclo/mexico/medi.htm>. Fecha de consulta: 21 de diciembre de 2009.
- Isla-Bauer, M. L. 2004. Temas ambientales del siglo XXI. H. Ayuntamiento de Texcoco y del Colegio de Postgraduados. México, pp. 12-14.
- Iwański, M. y M. Rudawska. 2007. Ectomycorrhizal colonization of naturally regenerating *Pinus sylvestris* L. seedlings growing in different micro-habitats in boreal forest. *Mycorrhiza* 17: 461-467.
- Izzo, A., J. Agbowo y T. D. Bruns. 2005. Detection of plot-level changes in ectomycorrhizal communities across years in an old-growth mixed-conifer forest. *New Phytologist* 166: 619-630.
- Johnson, D., M. IJdo, D. R. Genney, I. C. Anderson e I. J. Alexander. 2005. How do plants

- regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi?. *Journal of Experimental Botany* 56: 1751-1760.
- Karst, J., M. D. Jones y R. Turkington. 2009. Ectomycorrhizal colonization and intraspecific variation in growth responses of lodgepole pine. *Plant Ecology* 200: 161-165.
- Kennedy, P. 2010. Ectomycorrhizal fungi and interspecific competition: species interactions, community structure, coexistence mechanisms, and future research directions. *New Phytologist* 187: 895-910.
- Kernaghan, G. 2005. Mycorrhizal diversity: Cause and effect?. *Pedobiología* 49: 511-520. Kim, C. G., S. A. Power y J. N. Bell. 2003. Effects of cadmium on growth and glucose utilisation of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Mycorrhiza* 13: 223-226.
- Kirkby, E. A. y D. J. Pilbeam. 1984. Calcium as a plant nutrient. *Plant, Cell and Environment* 7: 397-405.
- Kranabetter, J. M., D. M. Durall y W. H. MacKenzie. 2009. Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest. *Mycorrhiza* 19: 99-111.
- Kuhn, A. J., W. H. Schröder y J. Bauch. 2000. The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce roots. *Plant* 210: 488-496.
- Lapeyrie, F. 1988. Oxalate synthesis from soil bicarbonate by the mycorrhizal fungus *Paxillus-involutus*. *Plant Soil* 110: 3-8.
- Le Page, B. A., R. S. Currah, R. A. Stockey y G. W. Rothwell. 1997. Fossil ectomycorrhizae from the middle Eocene. *American Journal of Botany* 84: 410-412.
- Leski, T., A. Aucina, A. Skridaila, M. Pietras, E. Riepsas y M. Rudawska. 2010. Ectomycorrhizal community structure of different genotypes of Scots pine under forest nursery conditions. *Mycorrhiza*. En prensa.
- Lilleskov, E. A. y T. D. Bruns. 2001. Nitrogen and ectomycorrhizal fungal communities: what we know, what we need to know. *New Phytologist* 149: 154-158.
- Lilleskov, E. A., T. J. Fahey y G. M. Lovett 2001. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecological Applications* 11: 397-410.
- Lilleskov, E. A., T. J. Fahey, T. R. Horton y G. M. Lovett. 2002a. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology* 83: 104-115.
- Lilleskov, E. A., E. A. Hobbie y T. J. Fahey. 2002b. Ectomycorrhizal fungal taxa differing in response to nitrogen deposition also differ in pure culture organic nitrogen use and

- natural abundance of nitrogen isotopes. *New Phytologist* 154: 219-231.
- Liu, Q., P. Loganathan, M. J. Hedley y M. F. Skinner. 2004. The mobilisation and fate of soil and rock phosphate in the rhizosphere of ectomycorrhizal *Pinus radiata* seedlings in an Allophanic soil. *Plant and Soil* 264: 219-229.
- Ludwig-Maximilians. 2011. An Information System for Characterization and DEtermination of EctoMYcorrhizae (DEEMY) (en línea), Universidad München, Dept. Biologie I – Systematische Mykologie. <http://www.deemy.de/>. Fecha de consulta: junio de 2008 a enero de 2011.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2ed. Academic Press. London, pp. 209, 281 y 304.
- Meléndez, G. y E. Molina. 2002. Fertilización foliar: Principios y aplicaciones. Memoria. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, 84 p.
- Menkis, A., R., Vasiliauskas, A. F. S. Taylor, J. Stenlid y R. Finlay. 2007. Afforestation of abandoned farmland with conifer seedlings inoculated with three ectomycorrhizal fungi- impact on plant performance and ectomycorrhizal community. *Mycorrhiza* 17: 337-348.
- Mexal, J. G. y R. A. Cuevas. 1999. Reforestation success in Mexico: Factors determinig survival and early growth in the forest of Mexico. Report Submitted to US Forest Service. New Mexico State University. Las Cruces, NM, USA, 2 p.
- Miehlich, G. 1984. Chronosequenzen und Anthropogene Veränderungen Andesitischer Vulkanische Böden in drei Klimastufen eines Rantropischen Gebirges (Sierra Nevada de México). Habilitation Thesis, Fachbereich Geowissenschaften. Universität Hamburg. Hamburg, Deutschland.
- Montoya, A., A. Kong, A. Estrada-Torres, J. Cifuentes y J. Caballero. 2004. Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity* 17: 115-143.
- Munkrold, L., R. Kjoller, M. Vestberg, S. Rosendahl y I. Jakobsen. 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 164: 357-364.
- Münzenberger, B., J. Golldack, A. Ullrich, B. Schmincke y R. F. Hütthi. 2004. Abundance, diversity and vitality of mycorrhizae of Scots pine (*Pinus silvestris* L.) in lignite recultivation sites. *Mycorrhiza* 14: 193-202.
- Nara, K. 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist* 169: 169-178.
- Navarro, L. L. 2000. Inoculación Miceliar de Dos Cepas de Hongos Ectomicorrízogenos (*Suillus glandulosipes* y *Rhizopogon* sp.) en *Pinus montezumae* en Condiciones de Vivero. Tesis de Licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla.

- Obase, K., J. Y. Cha, J. K. Lee, S. Y. Lee, J. H. Lee, y K. W. Chun. 2009. Ectomycorrhizal fungal communities associated with *Pinus thunbergii* in the Eastern coastal pine forests of Korea. *Mycorrhiza* 20: 39-49.
- Ochs, M., I. Brunner, W. Stumm y Cosovic, B. 1993. Effects of root exudates and humic substances on weathering kinetics. *Water Air Soil Pollut* 68: 213-229.
- Panfil, M. S., T. W. Gardner y K. G. Hirth. 1999. Late Holocene stratigraphy of the Tetimpa archaeological sites, northeast flank of Popocatepetl volcano, central Mexico. *Geological Society of America Bulletin* 111: 204-218.
- Paul, L. R, B. K. Chapman y C. P. Chanway. 2007. Nitrogen Fixation Associated with *Suillus tomentosus* Tuberculate Ectomycorrhizae on *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Annals of Botany* 99: 1101-1109.
- Peña-Ramírez, V. M., L. Vázquez-Selem y C. Siebe, 2009. Soil organic carbon stocks and forest productivity in volcanic ash soils of different age (1835-30500 years B.P.) in Mexico. *Geoderma* 149: 224-234.
- Perry, J. P. 1991. The pines of México and Central America. Timber Press. Universidad de Texas, pp. 112-118.
- Peter, M., F. Ayer, S. Egli. 2001. Nitrogen addition in a Norway spruce stand altered macromycete sporocarp production and below-ground ectomycorrhizal species composition. *New Phytologist* 149: 311-325.
- Plamboeck, A. H., T. E. Dawson, L. M. Egerton-Warburton, M. North, T. D. Bruns y J. I. Querejeta. 2007. Water transfer via ectomycorrhizal fungal hyphae to conifer seedlings. *Mycorrhiza* 17: 439-447.
- Read, D. J. 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-391.
- Regés, R. 2002. Micorrizas (en línea) Centro de Estudios Ecológicos Argentino. <http://www.cdeea.galeon.com/MICORRIZAS7.htm>. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2009.
- Reverchon, F. 2010. Cambios en las comunidades de hongos ectomicorrízicos asociadas a *Pinus montezumae* a lo largo de una cronosecuencia volcánica, Sierra del Chichinautzin, Morelos. Tesis Doctorado. Instituto de Geología UNAM, México, D.F., 87-120 pp.
- Reverchon, F., M. P. Ortega-Larrocea, J. Pérez-Moreno, V. M. Peña-Ramírez y C. Siebe.

2010. Changes in community structure of ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus montezumae* across a volcanic soil chronosequence at Sierra Chichinautzin, Mexico. *Canadian Journal of Forest Research* 40: 1165-1174.
- Rincón, A., I. F. Álvarez y J. Pera. 2001. Inoculation of containerized *Pinus pinea* L. seedlings with seven ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 11: 265-271.
- Rineau, F. y J. Garbaye. 2009. Effects of liming of ectomycorrhizal community structure in relation to soil horizons and tree hosts. *Fungal Ecology* 2: 103-109.
- Romero, F. J. y A. Velázquez-Montes. 1999. La región de montaña del sur de la cuenca de México: una revisión de su importancia biológica. En Velázquez-Montes A. y F. J. Romero (eds) Biodiversidad de la región de la montaña del sur de la cuenca de México: bases para el ordenamiento ecológico: UAM-Xochimilco-Semarnap, 80 y 230 pp.
- Ruano, M., J., R. 2003. Viveros forestales: manual de cultivo y proyectos. Madrid: Mundi prensa, 281 p.
- Rzedowsky, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México, 124 p.
- Sánchez, A.P. 1976. Properties and management of soils in the tropics. John Wiley and Sons.
- Santiago-Martínez, G., L. Varela y A. Estrada-Torres. 1993. Síntesis *in vitro* de la micorriza de *Pisolithus thinctorius* y *Pinus montezumae*. *Revista Mexicana de Micología* 9: 77-83.
- Santiago-Martínez, G. 2002. Pruebas de crecimiento, descripción e identificación de cultivos de hongos ectomicorizógenos e inoculación controlada de plántulas, con esporas. Tesis Doctorado, Facultad de Ciencias UNAM, México, D.F.
- Secretaría del Medio Ambiente (SMA) - Gobierno del Distrito Federal (GDF). 2002. Transformación de la cobertura del suelo de conservación (en línea). Comisión de Recursos Naturales y Desarrollo Rural. [http://www.sma.df.gob.mx/snidrus/med\\_amb/corena/ind\\_deforest.html](http://www.sma.df.gob.mx/snidrus/med_amb/corena/ind_deforest.html). Fecha de consulta: 9 de septiembre de 2010.
- Secretaría del Medio Ambiente (SMA) - Gobierno del Distrito Federal (GDF). 2010. Plan Verde (en línea). <http://www.sma.df.gob.mx/planverde/index.php?opcion=4&opcionsubmenus=2>. Fecha de consulta: 9 de septiembre de 2010.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). 2009. Reforestación, Evaluación Externa, Ejercicio Fiscal 2008. Informe de Entidades Federativas. Resultados, Aciertos y Áreas de Oportunidad. México, 109 p.
- Shannon, C. E. y W. Weaver. 1949. The Mathematical Theory of Communication. University

- of Illinois Press, Urbana.
- Shoji, S., M. Nanzyo y R. A. Dahlgren. 1993. Volcanic ash soils: genesis, properties and utilization. Elsevier. New York, E.U.A.
- Siebe, C., M. Abrams, J. L. Macias y J. Obenholzner, 1996. Repeated volcanic disasters in Prehispanic time at Popocatepetl, central Mexico; past key to the future?: *Geology* 24: 399-402.
- Siebe, C., V. Rodríguez-Lara, P. Schaaf y M. Abrams. 2004. Geochemistry Sr-Nd isotope composition, and tectonic setting of Holocene Pelado, Guespalapa and Chichinautzin scoria cones, south of Mexico City. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 130: 197-226.
- Siebe, C. y J. L. Macías. 2006. Volcanic hazards in the Mexico City metropolitan area from eruptions at Popocatépetl, Nevado de Toluca, and Jocotitlán stratovolcanoes and monogenetic scoria cones in the Sierra Chichinautzin Volcanic Field. *Geological Society of America Special Papers* 402: 253-329.
- Simard, S. W., D. A. Perry, M. D. Jones, D. D. Myrold, D.M. Durall y R. Molina. 1997. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* 388: 579-582.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 1997. Mycorrhizal simbiosis. Segunda edición, Academic Press, New York, 4, 5, 163-181 pp.
- Sørensen, T., 1948. A method of establishing group of equal amplitude in plant sociology based on similarity in species content and application to analyses of the vegetation on danish commons. *Danske Vidensk Selsk* 5: 1-34.
- Taylor, D. L. y T. D. Bruns. 1999. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Molecular Ecology* 8: 1837-1850.
- Theng, B. K. G. 1980. Soils with variable charge. New Zealand Society of Soil Science. Nueva Zelanda.
- Teste, F. P., M. G. Schmidt, S. M. Berch, C. E. Bulmer y K. N. Egger. 2004. Effects of ectomycorrhizal inoculants on survival and growth of interior Douglas-fir seedlings on reforestation sites and partially rehabilitated landings. *Canadian Journal of Forest Research* 34: 2074-2088.
- Trudell, S. A. y R. L. Edmonds. 2004. Macrofungus communities correlate with moisture and nitrogen abundance in two old-growth conifer forests, Olympic National Park, Washington, USA. *Canadian Journal of Botany* 82: 781-800.

- Twieg, B. D., D. M. Durall, S. W. Simard y M. D. Jones. 2009. Influence of soil nutrients on ectomycorrhizal communities in a chronosequence of mixed temperate forests. *Mycorrhiza* 19: 305-316.
- Uehara, G. y G. Gillman. 1981. The mineralogy, chemistry and physics of tropical soils with variable charge clays. Westview Press, Boulder, Colorado.
- University of Coimbra. 2009. Portugal/WEST GMT S132 (en línea), [http://www.uc.pt/ciuc/grasses/Divers\\_fungica/tipos\\_de\\_micorrizas](http://www.uc.pt/ciuc/grasses/Divers_fungica/tipos_de_micorrizas). Fecha de consulta: 25 de abril de 2010.
- Varela, L. y A. Estrada-Torres. 1997. Diversity and Potential Use of Mycorrhizae for Sustainable Development in Mexico. *In*: Palm M. E. y I. H. Chapela (Eds.) *Mycology in Sustainable Development: Expanding Concepts, Vanishing Borders*. Parway, North Carolina, 160-182 pp.
- Velázquez, A. 1994. Multivariate analysis of the vegetation of the volcanoes Tláloc and Pelado, Mexico. *Journal of Vegetation Science* 5: 263-270.
- Visser, S. 1995. Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytologist* 129: 389-401.
- Vitousek, P. M., D. R. Turner y K. Kitayama. 1995. Foliar nutrients during long-term soil development in Hawaiian montane rain forest. *Ecology* 76: 712-720.
- Vitousek, P. M., J. D. Aber, R. W. Howarth, G. E. Likens, P. A. Matson, D. W. Schindler, W. H. Schlesinger y D. G. Tilman. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Source and consequences. *Ecological Applications* 7: 737-750.
- Wagg, C., M. Pautler, H. B. Massicotte y L. R. Peterson. 2008. The co-occurrence of ectomycorrhizal, arbuscular mycorrhizal and dark septate fungi in seedlings of four members of the Pinaceae. *Mycorrhiza* 18: 103-110.
- Wagner, P. A. y E. Dreyer. 1997. Interactive effects of waterlogging and irradiance on the photosynthetic performance of seedlings from three oak species displaying different sensitivities (*Quercus robur*, *Q. petraea* and *Q. rubra*). *Annals of Forest Science* 54: 409-429.
- Wallander, H. y T. Wickman. 1999. Biotite and microcline as potassium sources in ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Mycorrhiza* 9: 25-32.
- Wallander, H. 2000a. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonised by different ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 218: 249-256.
- Wallander, H. 2000b. Use of strontium isotopes and foliar K content to estimate weathering of biotite induced by pine seedlings colonised by ectomycorrhizal fungi from two different

- soils. *Plant and Soil* 222: 215-229.
- Wallander, H., L. Johansson y J. Pallon. 2002. PIXE analysis to estimate the elemental composition of ectomycorrhizal rhizomorphs grown in contact with different minerals in forest soil. *Microbiology Ecology* 39: 147-156.
- WRB. 2006. World reference base for soil resources 2006. 2nd edition. World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Wu, B., K. Nara y T. Hogetsu. 2005. Genetic structure of *Cenococcum geophilum* populations in primary successional volcanic deserts on Mount Fuji as revealed by microsatellite markers. *New Phytologist* 165: 285-293.
- Wurzburger, N., M. I. Bidartondo y C. S. Bledsoe. 2001. Characterization of *Pinus* ectomycorrhizas from mixed conifer and pygmy forests using morphotyping and molecular methods. *Canadian Journal of Botany* 79: 1211-1216.
- Xochitiotzin, H. M. 2000. Inoculación esporal de *Pinus montezumae* con *Suillus tomentosus* e *Inocybe griseovelata*, en tres sustratos bajo condiciones de vivero. Tesis de Licenciatura, Departamento de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala.
- Zöttl, H. W; H. Tschinkel y G. Speidel, 1971. Nutrición y fertilización forestal. Centro de publicaciones de la Universidad Nacional de Colombia, 116 p.

## XII. ANEXOS

### 12.1. Anexo 1. Porcentaje de C, N, P Bray, Ca, Mg, K y dCC en los sitios Popocatepetl, Pelado y La Catedral.

	Horiz.	Prof.	Pedreg.	D. A.	pH (agua)	pH (KCl)	Fij. P	C	N	P Bray	Ca	Mg	K	dCC
	(dm)	(%)	(g cm <sup>-3</sup> )							(%)				
<b>Popocatepetl</b>	Ah1	0.9	0	0.9	5.48	4.8	37.5	6.4	0.47	0.01198	0.3	6.0	0.8	31.8
	AC	1.4	0	1.1	5.67	4.8	35.3	3.6	0.24	0.00096	0.1	3.6	0.4	18.8
	2C	1.85	0	1.1	5.8	4.8	33.4	2.3	0.16	0.00068	0.1	2.7	0.3	14.7
	3C	1.75	0	1.2	6.16	5.1	21.5	0.8	0.04	0.00118	0.0	1.2	0.1	14.1
	4AC	0.8	0	1.2	6.37	5.1	22.8	0.9	0.04	0.00139	0.0	1.8	0.2	9.7
	4C	1.8	0	1.3	6.49	5.4	16.5	0.4	0.02	0.00214	0.0	0.8	0.1	10.9
	5AC	1.2	0	1.2	6.53	5.4	27.5	1.2	0.06	0.00145	0.0	2.7	0.2	12.1
	6C	1.7	0	1.4	6.54	5.5	26.5	0.3	0.02	0.00188	0.0	0.5	0.1	11.6
<b>Pelado</b>	Ah1	1.05	0	0.4	5.67	4.6	90.6	14.5	0.8	0.00051	0.7	15.9	5.1	79.9
	Ah2	3.25	0	0.6	6.01	5	93.9	6.5	0.45	0.00019	0.4	10.1	2.2	67.0
	AB	3.2	0	0.7	6.42	5.1	91.3	3.6	0.28	0.00011	0.3	6.7	1.0	50.1
	Bw1	5.1	0	0.7	6.66	5.5	92.8	1.8	0.15	0.00003	0.1	4.9	1.4	33.1
	Bw2	4.2	0	0.9	7.11	5.5	70.0	0.9	0.07	0.00004	1.5	8.8	2.6	13.4
	2BC	1.1	2	1.0	7.18	5.5	53.0	0.3	0.03	0.00020	1.8	6.3	2.0	15.6
	C		2	1.1	7.35	5.3	31.6	0.1	0.01	0.00074	0.6	4.1	1.5	16.3
	<b>La Catedral</b>	Ah	0.9	0	0.5	5.24	4.7	92.7	13.2	0.93	0.00009	0.6	14.8	2.2
	2AB1	0.9	1	0.6	5.37	4.7	94.2	8.5	0.63	0.00001	0.7	7.6	1.0	55.3
	2AB2	1.9	1	0.6	5.62	4.9	95.0	5.6	0.4	0.00002	0.4	3.9	0.7	40.3
	3Bw1	1.4	1	0.8	5.71	5.5	78.7	1.4	0.12	0.00012	0.2	2.1	0.7	13.0
	3Bw2	2.5	1	1.0	5.6	4.33	68.9	0.8	0.07	0.00013	0.3	2.5	1.3	11.9
	4Bw	3.65	1	1.0	5.8	4.47	74.4	0.7	0.06	0.00011	0.2	1.0	0.8	13.8
	5Bw	2.25	0	1.0	4.52	80.4	0.7	0.06	0.00031	0.2	1.4	1.3	9.9	
	6Cw1		3	1.1	6.2	4.47	71.2	0.5	0.04	0.00005	0.1	1.5	1.2	6.1
	6Cw2		5	1.0	6.1	4.43	79.3	0.9	0.06	0.00005	0.3	2.1	1.3	9.1
	6Cw3			1.0	6.0	4.22	68.0	0.7	0.05	0.00030	0.3	2.2	1.6	12.7

Horiz.= Horizonte, Prof.= Profundidad, Pedreg.= Pedregosidad, D.A.= Densidad aparente, C= Carbono, N= Nitrógeno, P= Fósforo, K= Potasio, Ca= Calcio, Mg= Magnesio y dCC= Agua disponible a capacidad de campo.

Análisis realizados por Peña-Ramírez (com. pers., 2009).

**12.1. Anexo 1. Cantidad (unidades de masa sobre volumen) de C, N, P Bray, Ca, Mg, K y dCC en los sitios Popocatepetl, Pelado y La Catedral.**

	Horiz.	C (kg m <sup>-2</sup> )	N	P Bray (g m <sup>-2</sup> )	Ca	Mg (cmol m <sup>-2</sup> )	K	dCC (L m <sup>-2</sup> )
<b>Popocatepetl</b>	Ah1	4.9	0.4	9.189	4.6	0.6	0.2	28.7
	AC	5.7	0.4	1.535	5.8	0.6	0.1	26.3
	2C	1.8	0.1	0.531	2.09	0.2	0.1	27.1
	3C	1.6	0.1	2.488	2.6	0.3	0.0	24.6
	4AC	0.9	0.0	1.331	1.8	0.2	0.0	7.8
	4C	0.9	0.0	4.818	1.7	0.2	0.1	19.7
	5AC	1.7	0.1	2.094	3.8	0.3	0.0	14.5
	6C	0.6	0.0	4.446	1.3	0.2	0.1	19.8
<b>Pelado</b>	Ah1	6.8	0.4	0.239	7.5	2.4	0.3	83.9
	Ah2	7.4	0.5	0.217	11.7	2.5	0.5	217.7
	AB	7.4	0.6	0.233	14.0	2.2	0.6	160.5
	Bw1	6.8	0.6	0.095	18.4	5.2	0.4	168.7
	Bw2	3.1	0.3	0.155	31.9	9.5	5.3	56.3
	2BC	0.4	0.0	0.208	6.7	2.2	1.9	16.8
	C							5.6
<b>La Catedral</b>	Ah	6.2	0.4	0.041	6.9	1.0	0.3	48.7
	2AB1	4.3	0.3	0.004	3.9	0.5	0.3	49.3
	2AB2	4.2	0.3	0.015	2.9	0.5	0.3	75.7
	3Bw1	1.5	0.1	0.130	2.3	0.8	0.2	18.1
	3Bw2	1.9	0.2	0.306	6.1	3.1	0.7	29.4
	4Bw	2.4	0.2	0.402	3.7	2.8	0.6	49.9
	5Bw	1.5	0.1	0.668	3.0	2.8	0.4	22.2
	6Cw1							6.6
	6Cw2							23.3
	6Cw3							20.4

Horiz.= Horizonte, C= Carbono, N= Nitrógeno, P= Fósforo, K= Potasio, Ca= Calcio, Mg= Magnesio y dCC= Agua disponible a capacidad de campo.

Análisis realizados por Peña-Ramírez (com. pers., 2009).

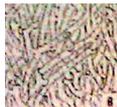
## 12.2. Anexo 2. Tipos de mantos en ectomicorrizas

El tejido de las capas interna, media y externa del manto ECM se puede clasificar en plectenquimatoso (A–G, I), plectenquimatoso/pseudoparenquimatoso (H) y pseudoparenquimatoso (K–Q). El tejido plectenquimatoso tiene hifas individuales y agrupadas en vainas. Mientras que el pseudoparenquimatoso forma hifas con células cortas, infladas y compactamente pegadas, pareciendo una verdadera parénquima. Los mantos pseudoparenquimatosos aparecen en una estructura y evolución más avanzadas que las vainas plectenquimatosas (Agerer, 2006).

El tejido de las capas del manto se clasifican en:



A) **Plectenquimatoso**, con arreglos de bultos hifales como de anillo.



B) **Plectenquimatoso**, hifas arregladas irregularmente, no como un modelo especial discernible, pero las hifas frecuentemente crecen en direcciones longitudinales respecto a la orientación de la raíz.



C) **Plectenquimatoso**, con la matriz gelatinosa entre la hifa.



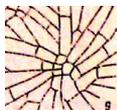
D) **Plectenquimatoso**, con arreglos de hifas como de red, con una prominente cistidia.



E) **Plectenquimatoso**, arreglo de hifas como de red repetidamente y ramificado cuadradamente.



F) **Plectenquimatoso**, con ocasionales (parches) células redondeadas tendidas en un manto plectenquimatoso.



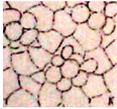
G) **Plectenquimatoso**, arreglo de hifas como de estrellas y apretadamente pegadas.



H) Tipo transicional entre **plectenquimatoso** y **pseudoparenquimatoso**, hifas irregulares forman una vasta red.



I) **Plectenquimatoso**, mantos himeniformes, aproximadamente sobresalen perpendicularmente, corpulentos y frecuentemente las células finales de las hifas son curvadas escasamente, las cuales son llenadas con gotitas aceitosas.



K) **Pseudoparenquimatoso**, compuesto de células angulares, portando montículos de células redondeadas.



L) **Pseudoparenquimatoso**, mantos con células angulares.



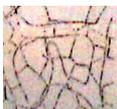
M) **Pseudoparenquimatoso**, mantos con células epidermoides.



N) **Pseudoparenquimatoso**, mantos con varias células conteniendo gotitas, manchadas en sulfo-vanillina, la forma de las células es variable.



O) **Pseudoparenquimatoso**, mantos con células angulares y montículos de células achatadas.



P) **Pseudoparenquimatoso**, mantos con células angulares portando una delicada red hifal.



Q) **Pseudoparenquimatoso**, con células epidermoides portando una delicada red hifal (Agerer, 1987-2002).

**12.3. Anexo 3. Número de raíces no micorrizadas y micorrizadas, porcentaje de micorrización y riqueza ECM de los brinzales de *Pinus montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

**Popocatépetl.**

<b>Brinzal</b>	<b>Número de Raíces</b>	<b>Raíces no micorrizadas</b>	<b>Raíces micorrizadas</b>	<b>Porcentaje de micorrización</b>	<b>Riqueza ECM (núm. de morfotipos)</b>
<b>1</b>	280	150	130	46	6
<b>2</b>	1215	1185	30	2	3
<b>3</b>	541	517	24	4	2
<b>4</b>	480	439	41	8	3
<b>5</b>	620	494	126	20	6
<b>6</b>	698	566	132	19	4
<b>7</b>	547	472	75	14	3
<b>8</b>	471	431	40	8	3
<b>9</b>	956	615	341	36	5
<b>10</b>	299	217	82	27	4
<b>11</b>	871	674	197	23	1
<b>12</b>	332	299	33	10	2
<b>13</b>	404	388	16	4	4
<b>14</b>	456	446	10	2	1
<b>15</b>	391	318	73	19	3
<b>16</b>	1502	1329	173	11	2
<b>17</b>	736	462	274	37	3
<b>18</b>	472	326	146	31	3
<b>19</b>	538	494	44	8	3
<b>Promedio</b>	621	517	105	23	3

**Pelado.**

<b>Brinjal</b>	<b>Número de Raíces</b>	<b>Raíces no micorrizadas</b>	<b>Raíces micorrizadas</b>	<b>Porcentaje de micorrización</b>	<b>Riqueza ECM (núm. de morfotipos)</b>
<b>1</b>	185	177	8	4	2
<b>2</b>	374	305	69	18	4
<b>3</b>	277	255	22	8	2
<b>4</b>	120	91	29	24	2
<b>5</b>	109	105	4	4	3
<b>6</b>	299	251	48	16	4
<b>7</b>	503	434	69	14	3
<b>8</b>	216	169	47	22	3
<b>9</b>	119	117	2	2	1
<b>10</b>	239	203	36	15	3
<b>11</b>	243	206	37	15	2
<b>12</b>	279	239	40	14	1
<b>13</b>	301	263	38	13	3
<b>14</b>	147	99	48	33	2
<b>15</b>	177	172	5	3	1
<b>16</b>	162	143	19	12	2
<b>17</b>	105	105	0	0	0
<b>18</b>	235	163	72	31	2
<b>Promedio</b>	227	194	33	14	2

### La Catedral.

<b>Brinzal</b>	<b>Número de Raíces</b>	<b>Raíces no micorrizadas</b>	<b>Raíces micorrizadas</b>	<b>Porcentaje de micorrización</b>	<b>Riqueza ECM (núm. de morfotipos)</b>
<b>1</b>	114	114	0	0	0
<b>2</b>	340	128	212	62	4
<b>3</b>	118	84	34	29	2
<b>4</b>	143	69	74	52	3
<b>5</b>	93	85	8	9	1
<b>6</b>	79	50	29	34	3
<b>7</b>	129	120	9	7	1
<b>8</b>	152	63	89	59	3
<b>9</b>	65	54	11	17	2
<b>10</b>	61	56	5	8	2
<b>11</b>	65	49	16	25	3
<b>12</b>	92	90	2	2	1
<b>13</b>	70	51	19	27	2
<b>14</b>	123	118	5	4	1
<b>15</b>	125	91	34	27	2
<b>16</b>	87	78	9	10	2
<b>17</b>	115	50	65	56	2
<b>18</b>	64	61	3	5	1
<b>19</b>	97	97	0	0	0
<b>Promedio</b>	112	79	33	17	2

**12.4. Anexo 4. Medidas de los ápices en los morfotipos ECM asociados a los brinzales de *Pinus montezumae*, en los tres sitios de estudio.**

**Morfotipo ECM 1.**

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
0.70	0.37	111.12	82.53	67.18
0.68	0.43	109.33	51.93	56.89
0.49	0.47	131.91	62.53	71.25
0.55	0.53	78.22	62.85	92.61
0.67	0.55	151.11	78.31	89.95
0.73	0.52	104.24	71.75	70.23
0.28	0.27	103.37	69.14	70.05
0.30	0.27	106.72	64.90	71.99
0.45	0.44	82.67	54.44	31.11
0.54	0.40	120.16		55.69
0.85	0.36	67.44		63.17
0.53	0.43			68.43
0.24	0.22			
0.27	0.19			
0.54	0.35			
0.29	0.22			
0.41	0.37			
0.36	0.34			
0.62	0.53			
0.47	0.24			
0.50	0.46			
0.43	0.43			
0.52	0.36			
0.36	0.24			
0.65	0.45			
0.36	0.31			
0.41	0.37			
0.45	0.31			
0.31	0.29			
0.54	0.47			
0.90	0.35			
0.26	0.24			
0.34	0.28			

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares ( $\mu\text{m}$ )	Células del cortex ( $\mu\text{m}$ )	Manto ( $\mu\text{m}$ )
0.29	0.23			
0.31	0.19			
0.27	0.25			
0.64	0.47			
0.60	0.56			
0.50	0.43			
0.32	0.25			
0.21	0.20			
0.48	0.42			
0.59	0.42			
0.45	0.34			
0.42	0.36			
0.65	0.33			
0.31	0.28			
0.77	0.29			
0.66	0.36			
0.24	0.18			
0.36	0.20			
0.35	0.24			
0.72	0.40			
0.67	0.38			
0.58	0.43			
1.05	0.43			
2.05	0.65			
1.95	0.47			
1.26	0.48			
1.35	0.43			
1.70	0.40			
1.31	0.46			
1.85	0.54			
0.61	0.45			
1.33	0.45			
0.66	0.43			
1.07	0.42			
0.72	0.49			
0.60	0.40			
0.53	0.39			

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares ( $\mu\text{m}$ )	Células del cortex ( $\mu\text{m}$ )	Manto ( $\mu\text{m}$ )
0.79	0.43			
0.97	0.41			
0.97	0.47			
1.18	0.44			
0.92	0.48			
0.62	0.37			
0.35	0.32			
0.53	0.33			
0.56	0.41			
0.31	0.18			
1.03	0.52			
0.74	0.52			
1.26	0.67			
0.53	0.42			
0.33	0.19			
0.60	0.39			
1.85	0.58			
0.50	0.40			
0.49	0.46			
0.50	0.41			
0.76	0.70			
0.56	0.35			
0.54	0.39			
0.65	0.47			
0.32	0.25			
1.07	0.50			
0.65	0.47			
1.05	0.44			
1.03	0.39			
0.75	0.38			
1.89	0.51			
0.49	0.38			
0.55	0.38			
0.52	0.42			
0.57	0.50			
0.53	0.42			
0.37	0.33			

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares ( $\mu\text{m}$ )	Células del cortex ( $\mu\text{m}$ )	Manto ( $\mu\text{m}$ )
0.87	0.43			
1.05	0.47			
0.88	0.40			
1.32	0.41			
1.43	0.38			
0.75	0.36			
3.33	0.48			
2.93	0.44			
0.78	0.42			
1.13	0.53			
0.95	0.44			
0.76	0.46			
1.14	0.46			
1.18	0.52			
1.59	0.46			
1.12	0.35			
1.02	0.54			
1.57	0.48			
1.35	0.38			
0.84	0.37			
2.19	0.47			
2.24	0.42			
1.55	0.48			
0.63	0.31			
1.27	0.41			
0.39	0.31			
0.71	0.36			
0.49	0.38			
0.72	0.34			
0.51	0.31			
1.22	0.48			
0.49	0.35			
0.85	0.45			
0.56	0.35			
0.57	0.39			
1.75	0.42			
1.27	0.44			

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares (μm)	Células del cortex (μm)	Manto (μm)
0.44	0.33			
0.85	0.38			
0.54	0.31			
1.50	0.42			
0.87	0.45			
0.89	0.37			
0.94	0.43			
1.22	0.38			
0.47	0.30			
0.88	0.37			
0.96	0.39			
0.58	0.28			
0.70	0.37			
1.75	0.49			
1.23	0.53			
0.94	0.43			

**Morfotipo ECM 2- afín al gén. *Lactarius*.**

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares (μm)	Células del cortex (μm)	Manto (μm)
0.71	0.33	158.22	78.51	68.45
0.37	0.20	141.79	63.37	36.80
0.44	0.34	96.03	67.18	68.60
0.64	0.39	131.12	61.36	76.62
0.44	0.33	204.37	59.37	73.78
0.27	0.22	158.55	44.01	46.00
0.94	0.40	95.11	44.49	42.15
0.29	0.28	95.63	63.56	29.28
0.30	0.26	115.24	68.47	46.53
0.74	0.40	99.11	76.86	42.47
0.80	0.34	152.88	64.00	43.78
0.78	0.38	124.69	43.40	55.78
1.30	0.47	118.49	52.79	33.36
0.71	0.33	112.46	68.90	36.93
1.37	0.41	190.57	71.31	53.48
1.29	0.45			37.04

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares ( $\mu\text{m}$ )	Células del cortex ( $\mu\text{m}$ )	Manto ( $\mu\text{m}$ )
1.00	0.40			
0.62	0.35			
0.93	0.38			
0.39	0.28			
0.19	0.18			
1.60	0.53			
0.56	0.44			
1.21	0.47			
0.84	0.23			
0.28	0.23			
0.32	0.26			
0.21	0.18			
0.19	0.13			
0.65	0.36			
0.50	0.48			
0.67	0.43			
0.62	0.48			
0.73	0.62			
0.58	0.46			
0.44	0.43			
0.47	0.33			
0.81	0.41			
0.61	0.48			
0.80	0.39			
0.79	0.48			
1.56	0.52			
0.29	0.25			
0.44	0.35			
0.31	0.18			
1.25	0.50			
1.11	0.37			
0.49	0.23			
0.57	0.36			
0.16	0.12			
0.95	0.55			
0.68	0.42			
0.64	0.45			

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
0.53	0.39			
0.35	0.27			
0.83	0.47			
0.46	0.43			
0.86	0.32			
0.74	0.41			
0.76	0.36			
0.75	0.32			
0.73	0.39			
0.88	0.33			
1.12	0.41			
0.59	0.28			
3.18	0.38			
0.38	0.25			
0.48	0.26			
0.58	0.22			
0.89	0.37			
0.42	0.32			
0.58	0.31			
0.31	0.23			
0.61	0.34			
0.73	0.34			
0.78	0.30			
2.08	0.62			
0.70	0.38			
1.14	0.62			
0.80	0.57			
0.78	0.21			
0.85	0.30			
1.24	0.38			
0.45	0.37			
0.46	0.36			
0.72	0.41			
0.76	0.37			
1.82	0.39			
1.09	0.42			
0.54	0.33			

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares (μm)	Células del cortex (μm)	Manto (μm)
1.26	0.44			
0.48	0.22			
0.55	0.23			
0.64	0.25			

### Morfotipo ECM 3.

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares (μm)	Células del cortex (μm)	Manto (μm)
0.68	0.45	153.09	95.01	82.17
0.58	0.50	124.46	89.91	70.94
0.59	0.23	111.06	104.00	134.69
0.79	0.42	180.61	67.00	81.71
0.36	0.29	138.90	76.80	66.14
0.91	0.39	134.22	63.39	77.74
0.44	0.30	163.75	98.86	58.45
0.46	0.46	124.69	91.71	145.03
0.33	0.20	129.80	50.91	78.65
0.53	0.50	123.42	78.40	58.01
0.37	0.32	116.47	106.24	79.67
0.39	0.37	148.71	92.70	78.96
0.64	0.45	136.68	67.88	72.97
0.50	0.44	172.44	74.03	95.41
0.94	0.37	128.13	76.20	49.75
0.55	0.44		62.45	81.29
0.39	0.31			33.82
0.25	0.23			42.34
0.22	0.18			46.78
0.26	0.23			30.93
0.58	0.30			
0.40	0.29			
0.37	0.29			
0.66	0.30			
0.42	0.38			
1.58	0.50			
0.86	0.32			
0.25	0.23			

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
1.33	0.45			
1.43	0.42			
1.55	0.44			
1.54	0.43			
0.57	0.33			
0.52	0.36			
0.53	0.28			
0.20	0.20			
0.72	0.32			
1.19	0.35			
1.22	0.36			
1.43	0.37			
0.70	0.37			
0.54	0.27			
0.50	0.26			
1.16	0.31			
1.48	0.31			
0.77	0.31			
0.80	0.33			
0.50	0.40			
0.20	0.18			
0.42	0.21			
0.50	0.22			
0.29	0.24			

#### **Morfotipo ECM 4.**

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
0.34	0.32	174.41	39.48	47.74
0.41	0.31	154.57	31.96	48.40
0.42	0.38	97.03	44.21	50.53
0.49	0.31	83.81	34.06	57.86
0.29	0.16	144.27	77.18	33.40
0.35	0.30	141.34	50.02	27.86
0.49	0.37	119.19	71.25	53.69
1.44	0.56	112.42	39.83	63.74

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
1.46	0.50	127.12	62.38	64.37
0.55	0.41	103.55	46.21	62.69
0.83	0.45	179.55	95.25	85.37
3.29	0.48	142.91	90.54	53.67
0.69	0.39	113.48	86.29	82.45
0.81	0.36	116.89	109.15	108.66
0.72	0.43	82.67	58.69	33.79
		75.25	85.57	36.67
		90.06	86.62	44.52
		90.93	80.49	32.79
		71.20	82.32	55.72
		74.04	59.07	47.54
		121.83	59.56	56.48
		139.13	50.68	39.60
		164.44	66.70	51.93
		136.31	103.78	
		105.87	74.38	
		100.27	54.07	
			54.58	

### Morfotipo ECM 5.

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>	<b>Haces vasculares (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Células del cortex (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Manto (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
0.76	0.54	139.22	99.65	58.23
0.64	0.50	153.02	99.78	49.47
0.74	0.50	102.62	77.35	53.36
0.61	0.46	121.95	68.14	61.14
0.45	0.41	114.66	84.02	83.69
0.73	0.59	122.58	82.36	36.05
0.89	0.51	150.54	67.30	62.61
0.69	0.64	145.37	76.50	53.35
0.68	0.46	153.01	73.21	63.38
0.71	0.53	142.91	93.84	51.72
0.65	0.42	121.00	60.09	46.64
0.70	0.44	118.05	76.01	51.58
0.93	0.69	149.34	82.20	45.26

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)	Haces vasculares (µm)	Células del cortex (µm)	Manto (µm)
0.85	0.47	129.83	77.41	52.56
0.75	0.45	80.93	56.27	50.94
0.45	0.44	86.23	93.84	67.89
0.37	0.29	114.19	89.28	66.00
0.38	0.35	109.84	87.31	46.81
0.32	0.27	142.22	84.16	64.42
0.23	0.15	129.60		64.30
0.63	0.44			
0.88	0.46			
0.89	0.43			
0.88	0.48			
0.62	0.44			
0.73	0.52			
0.53	0.52			

**Morfotipo ECM 6- afin a la familia Sebacinaceae.**

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)
0.45	0.39
0.51	0.42
0.73	0.48
0.56	0.50
1.36	0.50
1.07	0.36
0.74	0.47
0.25	0.22
1.09	0.63
0.89	0.84
0.94	0.44

**Morfotipo ECM 7- *Cenococcum geophilum***

Longitud del ápice (mm)	Diámetro del ápice (mm)
0.42	0.29
0.61	0.43
0.85	0.67

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>
0.59	0.32
0.61	0.43
0.35	0.25
0.39	0.39
0.44	0.43
0.43	0.29
0.85	0.53
0.47	0.45
0.44	0.44
0.58	0.31
0.41	0.30
1.35	0.46
1.42	0.57
0.60	0.41

**Morfotipo ECM 8.**

<b>Longitud del ápice (mm)</b>	<b>Diámetro del ápice (mm)</b>
3.00	0.80
0.73	0.44