



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN EDAFOLOGÍA**

**TRANSFERENCIA NUTRIMENTAL Y  
CRECIMIENTO DE *Abies religiosa* (Kunth)  
Schltdl et. Cham CON DOS INÓCULOS DE  
HONGOS ECTOMICORRÍZICOS, EN DOS  
SUSTRATOS**

**KARINA RAMÍREZ RAZO**

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

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2018**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

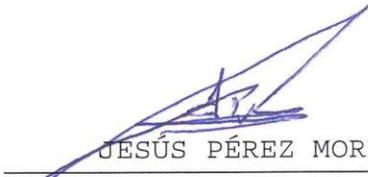
En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe KARINA RAMÍREZ RAZO, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor JESÚS PÉREZ MORENO, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis TRANSFERENCIA NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE Abies religiosa (Kunth) Schlttdl et. Cham CON DOS INÓCULOS DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS, EN DOS SUSTRATOS

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 25 de JULIO de 2018



Firma del  
Alumno (a)



JESÚS PÉREZ MORENO

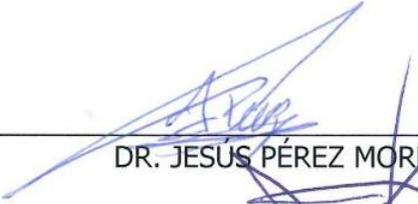
Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Transferencia nutrimental y crecimiento de *Abies religiosa* (Kunth) Schltl et. Cham con dos inóculos de hongos ectomicorrízicos**, en dos sustratos, realizada por la alumna: **Karina Ramírez Razo**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS  
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

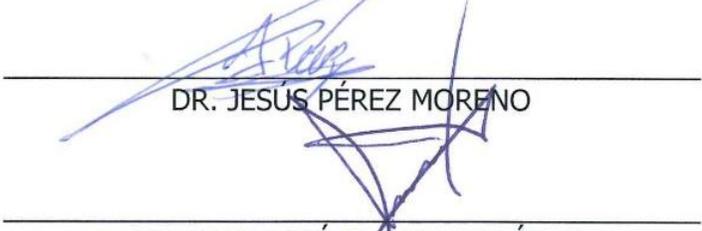
CONSEJERO (A)



---

DR. JESUS PÉREZ MORENO

ASESOR (A)



---

DR. JUAN JOSÉ ALMARAZ SUÁREZ

ASESOR (A)



---

DRA. MAGDALENA MARTÍNEZ REYES

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto de 2018

**TRANSFERENCIA NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE *Abies religiosa*  
(Kunth) Schltdl et. Cham CON DOS INÓCULOS DE HONGOS  
ECTOMICORRÍZICOS, EN DOS SUSTRATOS**

**Karina Ramírez Razo, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2018  
RESUMEN**

La ectomicorriza es una simbiosis mutualista que se establece entre 5000 especies de plantas con más de 20000 especies de hongos. La inoculación con hongos ectomicorrízicos constituye una herramienta fundamental en la producción de pináceas de importancia forestal. Sin embargo, diversas especies como *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl et. Cham. han recibido escaso interés. En el presente trabajo se evaluó el efecto de dos inóculos ectomicorrízicos [*Laccaria proxima* (Boud.) Pat. y suelo nativo de oyamel] y dos sustratos (aserrín y composta en relaciones de 8:2 y 9:1, respectivamente), en el crecimiento, contenido y movilización nutrimental de *A. religiosa*. Además, se incluyó un testigo sin inocular, se tuvieron entonces 6 tratamientos con 15 repeticiones cada uno, haciendo un total de 90 unidades experimentales, cada una constituida por un árbol. A los 550 días, se evaluaron las variables de crecimiento, contenido y movilización de nutrimentos en las plantas, así como el porcentaje de micorrización y se caracterizaron los morfotipos ectomicorrízicos. Las plantas inoculadas con *L. proxima*, desarrolladas en el sustrato con 20% de composta, presentaron un mejor crecimiento, mayores contenidos de macronutrientes y micronutrientes, así como mayor movilización nutrimental a los vástagos. La colonización micorrízica varió de 56.9 a 90.9% y el mayor porcentaje se registró en plantas inoculadas con *L. proxima* crecidas en el sustrato con 20% de composta. Se identificaron 3 morfotipos y se caracterizaron morfoanatómicamente. El presente trabajo demuestra que existen diferencias en los efectos benéficos a la planta por parte de los hongos ectomicorrízicos inoculados y los sustratos evaluados. Este trabajo demuestra el potencial de *L. proxima* en el sustrato de 20% composta y 80% aserrín para la producción de plantas de *Abies religiosa*. De esta forma, las plantaciones y las reforestaciones con esta especie podrían ser más exitosas. Con ello se contribuiría a la mejoría de los servicios ecosistémicos de los bosques de oyamel y de las 136 especies de hongos ectomicorrízicos que crecen en éstos, en donde 21 especies tienen uso alimenticio y 7 especies son empleadas en la medicina.

**Palabras clave:** *Laccaria proxima*, inóculo ectomicorrízico nativo, micorrización, caracterización de morfotipos ectomicorrízicos, contenido de nutrimentos.

**NUTRIENT TRANSFER AND GROWTH OF *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl et. Cham WITH TWO INOCULES OF ECTOMICORRHIZAL FUNGI, IN TWO SUBSTRATES**

**Karina Ramírez Razo, M. en C.  
Colegio de Postgraduados, 2018  
ABSTRACT**

The ectomycorrhiza is a mutualist symbiosis that is established among 5000 plant species with more than 20,000 species of fungi. The inoculation with ectomycorrhizal fungi constitutes a fundamental tool in the production of pinaceae of forest importance. However, various species such as *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl et. Cham. have received little attention. In the present work the effect of two ectomycorrhizal inocula [*Laccaria proxima* (Boud.) Pat. and native soil of *A. religiosa*] and two substrates (sawdust and compost in ratios of 8: 2 and 9: 1, respectively), in the growth, content and nutritional mobilization of *A. religiosa* was evaluated. Also a control without inoculation was included. There were then 6 treatments with 15 replicates each one producing a total of 90 experimental units, each one consisting of one tree. At 550 days, the variables of growth, content and mobilization of nutrients in the plants were evaluated, as well as the percentage of mycorrhization and the ectomycorrhizal morphotypes were characterized. The plants inoculated with *L. proxima*, grown on the substrate with 20% compost, showed better growth, higher levels of macronutrients and micronutrients, as well as greater nutrimental mobilization of the shoots. Mycorrhizal colonization varied from 56.9 to 90.9% and the highest percentage was recorded in plants inoculated with *L. proxima* grown on the substrate with 20% compost. Three morphotypes were identified and characterized morphoanatomically. The present work shows that there are differences in the beneficial effects to the plant by the inoculated ectomycorrhizal fungi and the evaluated substrates. This work then demonstrates the potential of *L. proxima* in the 20% compost and 80% sawdust substrate for the production of *Abies religiosa* plants. In this way, plantations and reforestations with this forest species could be more successful. With this, there would be a contribution to the ecosystem services of *A. religiosa* forests. This would contribute to the improvement of the ecosystem services of the oyamel forests and the 136 species of ectomycorrhizal fungi that grow in them, where 21 species have food use and 7 species are used in medicine.

**Keywords:** *Laccaria proxima*, native ectomycorrhizal inoculum, mycorrhization, morphotyping, nutrient content.

## AGRADECIMIENTOS

- A mi familia, en especial a mi mami Conchita, a mi hermana Liz y a mi cuñado Fernando, a mi abue Juan, a mi primo Gil y a su esposa Aurora, a mis sobrinas Fer y Citlali, y al pequeño y gran John, quienes siempre me han apoyado cuando los he necesitado.
- Al Dr. Jesús Pérez Moreno porque desde que lo conozco me ha enseñado e influido en mí, tanto en lo académico como en lo personal (la cosmovisión que tiene sobre la vida). Es admirable como teniendo un gran conocimiento en la micología, aún puede conservar su humildad y sencillez. Le agradezco todo lo que hecho por mí desde que fue mi sinodal en la licenciatura hasta en esta etapa de la maestría.
- Al Dr. Juan José Almaraz Suárez por ser mi profesor, por enseñarme y ayudarme en todas mis dudas con toda la gentileza que lo caracteriza.
- A la Dra. Magdalena Martínez Reyes por asesorarme en el postgrado y por brindarme su valioso apoyo cuando apenas estaba incorporándome en esta fase.
- A la Dra. Rosa María López Romero por ser mi sinodal y agilizarme la revisión de mi tesis, haciéndome observaciones importantes.
- Al Dr. Ronald Ferrera Cerrato, Dr. Alejandro Alarcón, Dr. Julián Delgadillo Martínez, M. en C. María Encarnación Lara Hernández, académicos del laboratorio de Microbiología, por facilitarme los conocimientos en sus respectivas áreas, así como el equipo y material del laboratorio.
- A quienes están siempre en nuestro soporte y auxilio para ayudarnos: Karla Medrano (en el laboratorio de Micorrizas), Chayito y Don Manuel (en el laboratorio de Microbiología), Remedios (en la Coordinación del Postgrado de Edafología).
- A Armando Lorenzana Fernández y al personal de la Comisión de Recursos Naturales, de la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México: Ing. Albino Noriega, Ing. Salvador Castro Zavala y Andrés, por facilitarme las semillas y plantas de oyamel, así como el sitio de la plantación en el Desierto de los Leones.
- A mis amig@s que me apoyaron en la plantación del Desierto de los Leones: July, Pao, Orlando, Ale, Aby, John y Caro.

- Al M. en C. Patricio Sánchez Guzmán y a sus colaboradores del laboratorio de Génesis Juan Zaragoza Espejel, Pedro Torres Flores, José Joel Arturo Jiménez Gallegos y, claro, a la pequeña Pao (de la Universidad de Guadalajara) porque gracias a ellos logré obtener las características físicas y químicas de los sustratos que utilicé en mi investigación. Con su ánimo y esfuerzo el trabajo se agilizaba.
- A la Dra Libia Iris Trejo Téllez y a su equipo por brindarme su apoyo en el análisis nutrimental de las plantas y sustratos que fueron parte de mi tesis.
- Al Dr. Javier Suárez Espinoza por su disposición y gran ayuda en el análisis de los datos con estadística. Siempre fue muy atento.
- A mis amig@s de vida: Arely, Gaby, Alin, Samanta, Jos, Juan Pablo, Humberto, Marú, Dey, Vivi, Ale y Ricardo, con quienes he aprendido tanto; hemos brindado, reído, llorado, bailado, cantado. Han sido parte de mi existir y siempre es grato compartir grandes instantes con ellos. Les agradezco por su amistad.
- A mis amig@s y compañer@s del laboratorio: Aby, Ale, Alex, Alice, Ángel, Ángeles, Aracely, Clau, Dey, Dulce, Faus, John, July, Marianita, Marilú, Marye, Oralía, Orlando, Paco, Pao, Patsy, Paty, Poncho, Sandra, Santos, Susy y Vivi.



**ESTE TRABAJO FORMÓ PARTE DEL PROYECTO CONACyT 246674  
“BIOTECNOLOGÍAS DE LOS HONGOS ECTOMICORRÍZICOS Y SU IMPACTO  
EN LA MITIGACIÓN DEL CAMBIO CLIMÁTICO Y DESARROLLO FORESTAL  
SUSTENTABLE”**

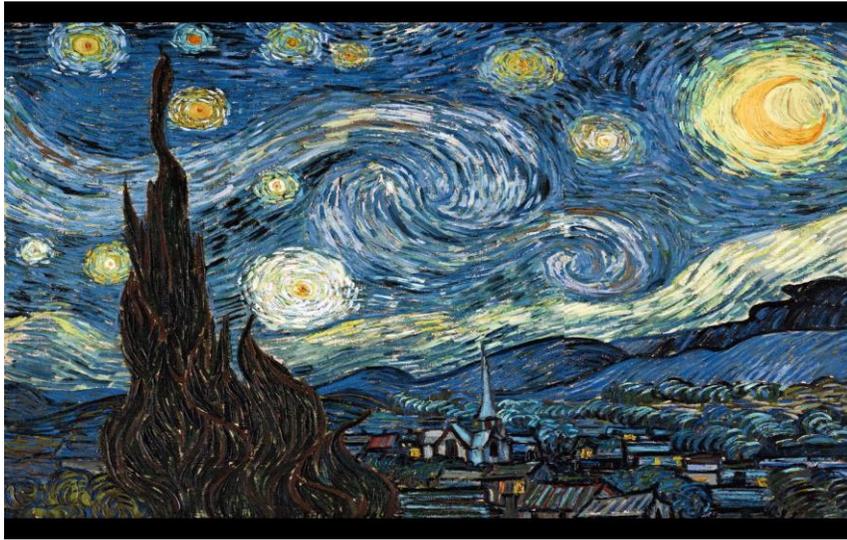


## DEDICATORIA

A mi mami y a mi hermanita porque siempre hemos sido las tres mosqueteras. Gracias a ellas por su amor, apoyo, comprensión y regaños soy esta personita.

A mi mami por ser parte de mi inspiración, porque siempre me ha demostrado que nada es un obstáculo cuando hay un motivo de por medio...

*...Y yo únicamente tejo mi sentir en el cielo, tan sólo un sueño en la realidad. Mi motivo es mi mami, esa luz que me guía en mi existir.*



A mi pequeña sobrina, quien me demuestra que cuando toma mi mano es ella quien me guía hacia mi alma de niña. Es entonces cuando con esa inocencia me hace remontarme a mi pasado y recuerdo mi infancia, pensando lo que en ella viví y lo que ha sucedido en el transcurso de este tiempo.



*"Somos polvo que con el viento danza y, en tan sólo un suspiro, el tiempo se detiene para coincidir". Tqm John. Gracias por todo tu apoyo.*

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iv
ABSTRACT .....	v
LISTA DE TABLAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
LITERATURA CITADA.....	3
OBJETIVOS E HIPÓTESIS .....	5
Objetivo General .....	5
Objetivos particulares .....	5
Hipótesis particulares.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA .....	6
Los hongos ectomicorrízicos como facilitadores de macronutrientes en las plantas.....	6
Hongos ectomicorrízicos asociados a especies de plantas forestales.....	9
Descripción de <i>Abies religiosa</i> (Kunth Schltl et. Cham.) .....	16
Hongos ectomicorrízicos asociados a <i>Abies religiosa</i> (Kunth) Schltl et. Cham.....	18
<i>Laccaria proxima</i> (Boud.) Pat. ....	22
LITERATURA CITADA.....	24
CAPÍTULO I. TRANSFERENCIA NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE <i>Abies religiosa</i> (Kunth) Schltl et. Cham CON DOS INÓCULOS DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS, EN DOS SUSTRATOS.....	36
1.1 RESUMEN .....	36
1.2 ABSTRACT .....	37
1.3 INTRODUCCIÓN .....	38
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	39
1.5 RESULTADOS .....	42
1.5.1 Crecimiento vegetal .....	42
1.5.2 Contenido de macronutrientes en plantas de oyamel.....	44
1.5.3 Contenido de micronutrientes en plantas de oyamel .....	47
1.5.4 Movilización nutrimental.....	50

1.5.5	Porcentaje de micorrización .....	51
1.5.6	Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos.....	52
1.6	DISCUSIÓN .....	53
1.6.1	Crecimiento vegetal .....	53
1.6.2	Contenido de macronutrientes .....	54
1.6.3	Contenido de micronutrientes .....	55
1.6.4	Movilización nutrimental.....	56
1.6.5	Porcentaje de micorrización .....	58
1.6.6	Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos.....	59
1.7	LITERATURA CITADA.....	61
	CONCLUSIONES GENERALES .....	67
	ANEXO I.....	68
	Anexo 1a. Contenido de macronutrientes y pH de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de <i>A. religiosa</i> , inoculadas con hongos ectomicorrízicos.....	68
	Anexo 1b. Contenido de micronutrientes, capacidad de intercambio catiónico y color de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de <i>A. religiosa</i> , inoculadas con hongos ectomicorrízicos .....	69
	Anexo 1c. Granulometría de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de <i>A. religiosa</i> , inoculadas con hongos ectomicorrízicos.....	69

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Importancia de los nutrimentos en los hongos micorrízicos y en las plantas con las que se asocia. ....	7
<b>Tabla 2.</b> Ejemplos de géneros y especies de hongos ectomicorrízicos comestibles y no comestibles asociados a plantas forestales. ....	10
<b>Tabla 3.</b> Ejemplos de géneros y especies de plantas forestales en las que se han desarrollado frecuentemente investigaciones con ectomicorrizas. ....	15
<b>Tabla 4.</b> Géneros y especies de hongos ectomicorrízicos medicinales, comestibles y no comestibles asociados a <i>A. religiosa</i> . ....	19
<b>Tabla 5.</b> Peso seco de la parte aérea y parte radical, altura y diámetro del tallo de plantas de <i>A. religiosa</i> , 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos. ....	43
<b>Tabla 6.</b> Contenido de macronutrientes de plantas de <i>A. religiosa</i> , 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos. ....	45
<b>Tabla 7.</b> Contenido de micronutrientes de plantas de <i>A. religiosa</i> , 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos. ....	48
<b>Tabla 8.</b> Relaciones parte aérea: raíz de macro y micronutrientes de <i>A. religiosa</i> , 550 días después de la siembra inoculado con hongos ectomicorrízicos, crecidas en dos sustratos. ....	50

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Abies religiosa*. A: Brinzal. B: Bosque de oyamel. .... 17
- Figura 2.** Esporoma de *Laccaria proxima* ..... 23
- Figura 3.** Plantas de *A. religiosa* y hongos ectomicorrízicos asociados. **A:** Plantas de *A. religiosa* crecidas en el sustrato con 20% de composta, del lado izquierdo se encuentran las que fueron inoculadas con *L. proxima* y del lado derecho las no inoculadas; **B:** Esporoma de *L. proxima*; **C:** Morfotipo de *L. proxima* con *A. religiosa* (4.5x); **D:** Corte transversal del morfotipo mostrado en (C), en azul de tripán, en donde se observa su manto (m), red de Hartig (rh) y micelio externo (me) (40x). ..... 42
- Figura 4.** Colonización micorrízica en plantas de *A. religiosa*, 550 días después de la siembra inoculadas con dos inóculos de hongos ectomicorrízicos, en dos sustratos. Sustrato 1 = 20% composta y 80% aserrín; Sustrato 2 = 10% composta y 90% aserrín. pni= plantas no inoculadas, piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. Para cada sustrato, las barras con una misma letra son iguales según Tukey ( $p=0.05$ ). ..... 51

## INTRODUCCIÓN GENERAL

En 1951, la población humana mundial era de 2 540 703 000 habitantes. En el 2016, se registraron 7 425 238 300 personas en el mundo (Country meters, 2016). En México, se contabilizaron 119 millones 530 mil 753 habitantes en el 2015 (INEGI, 2017). Según la ONU (2016), la población mundial crecerá en el 2050 a 9.700 billones de personas y para el 2100 se estima que será de 11.200 billones. A medida que la población humana ha ido aumentando de manera exponencial, también se ha incrementado la demanda por los espacios habitacionales y las necesidades de alimento y vestido, entre otras cosas. Las actividades antropogénicas han provocado una tasa de deforestación acelerada en los bosques. Según la FAO (2016), en 1990 los bosques en el mundo cubrían alrededor de 4,128 millones de hectáreas y, en el 2015, se redujeron a 3,999 millones. En el caso de la Cuenca de México, presentaba 131,906 ha arboladas en el año 2007 (INECC, 2015).

Como ya se mencionó, los bosques han disminuido y, con ellos, los servicios ecosistémicos que generan se encuentran en peligro latente. Los bosques brindan beneficios a la población humana al proporcionar servicios de generación de cultura, suministro y regulación. Los servicios culturales promueven la cosmovisión, la identidad, el bienestar estético, el ecoturismo y el trabajo. Los servicios de suministro pueden ser: alimentos, combustibles, medicinas, artesanías, madera, recursos potenciales y recursos genéticos. Existen otros servicios que regulan el clima (como captura de C, uso de C en fotosíntesis, reducción de albedo, reducción de temperatura), el agua (como aumento de infiltración y de evapotranspiración, así como su calidad de ésta), la erosión, los deslaves y las inundaciones (Balvanera, 2012).

En la actualidad, los servicios de regulación se están viendo afectados debido al aumento de la población humana y las actividades que ésta realiza. Por lo que, se ha acelerado el incremento de la temperatura global. Se pronostica que algunas especies de seres vivos podrán migrar y aclimatarse, y que otras desaparecerán. En México, *Abies religiosa* crece a una temperatura media de 7 a 15°C (CONAFOR, 2015) y es susceptible a reducir sus poblaciones hasta en 96.5% para el año 2090 por el aumento de temperatura (Sáenz-Romero *et al.*, 2012). Para revertir esta situación cada año se realizan reforestaciones en nuestro país, pero no siempre son exitosas. Existen los siguientes factores que influyen en esta carencia de éxito como: la baja calidad de las plantas propagadas en vivero, el momento en el que

se realiza la plantación (temporada en la que no llueve), 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. Las reforestaciones pueden ser más exitosas si se emplean inóculos de hongos micorrízicos nativos en las plantaciones forestales (Varela y Estrada-Torres, 1997; Isla-Bauer, 2004; Leski *et al.*, 2010). Existen pocos estudios que mencionan qué hongos micorrízicos pueden establecer una relación simbiótica con plántulas de *A. religiosa* (Flores-Rentería *et al.*, 2018; Lamus *et al.*, 2015). Sin embargo, en ellos no se describe qué efecto tienen las ectomicorrizas y el tipo de sustrato en la movilización de nutrimentos de las plantas. Por esta razón, se realizó la presente investigación en donde se evaluó el efecto de dos fuentes de inóculo ectomicorrízico y de dos sustratos con diferentes contenidos de materia orgánica, en el crecimiento, contenido y en la transferencia nutrimental de *A. religiosa*. Adicionalmente, se evaluó el porcentaje de micorrización y se caracterizaron los morfotipos ectomicorrízicos.

## LITERATURA CITADA

1. Balvanera, P. Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. *Ecosistemas* 2012; 21 (1-2): 136-147.
2. Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Ficha Técnica de *Abies religiosa* (página de internet), (citada 20 de septiembre de 2015. Disponible en <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/873Abies%20religiosa.pdf>.
3. Country meters. Reloj de la población mundial (página de internet). (actualizada y citada el 22 de abril de 2016. Disponible en <http://countrymeters.info/es/World>.
4. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura). La deforestación se ralentiza a nivel mundial, con más bosques mejor gestionados (página de internet) (citada el 7 de febrero de 2016. Disponible en <http://www.fao.org/news/story/es/item/327382/icode/>.
5. Flores-Rentería D, Barradas VL, Álvarez-Sánchez J. Ectomycorrhizal pre-inoculation of *Pinus hartwegii* and *Abies religiosa* is replaced by native fungi in a temperate forest of central Mexico. *Symbiosis* 2018; 74: 131-144.
6. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC). Situación ambiental de la Zona Metropolitana del Valle de México (página de internet) (citada 24 de septiembre de 2015). Disponible en <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/268/metro3.html#top>.
7. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Número de habitantes (página en internet) (citada 30 de junio de 2017). Disponible en <http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/habitantes.aspx?tema=P>.
8. Isla-Bauer ML. Temas ambientales del siglo XXI. H. Ayuntamiento de Texcoco y del Colegio de Postgraduados. México, 2004.
9. Lamus V, Franco S, Montoya L, Endara AR, Caballero LA, Bandala VM. Mycorrhizal synthesis of the edible mushroom *Turbinellus floccosus* with *Abies religiosa* from central Mexico. *Mycoscience* 2015; 56: 622-626.

10. Leski T, Aucina A, Skridaila A, Pietras M, Riepsas E y Rudawska M. Ectomycorrhizal community structure of different genotypes of Scots pine under forest nursery conditions. *Mycorrhiza*, 2010; 20 (7): 473-481.
11. ONU (Organización de las Naciones Unidas). Population Division (página en internet) (citada 23 de abril de 2016). Disponible en <http://esa.un.org/unpd/wpp/Graphs/DemographicProfiles/>.
12. Sáenz-Romero C, Rehfeldt GE, Duval P, Lindig-Cisneros RA. *Abies religiosa* hábitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 2012; 275: 98-106.
13. 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.

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### Objetivo General

- Contribuir al conocimiento biotecnológico de la inoculación con hongos ectomicorrízicos en el crecimiento y en la transferencia nutrimental de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl et. Cham. en distintos sustratos.

### Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de la inoculación con hongos ectomicorrízicos en el crecimiento y transferencia de nutrimentos en *A. religiosa*.
- Evaluar el efecto de dos sustratos, constituidos por 10% de composta y 90% de aserrín y 20% de composta y 80% de aserrín, en la micorrización de plantas de *A. religiosa*.
- Caracterizar los morfotipos ectomicorrízicos provenientes del inóculo de *Laccaria proxima* y del suelo de *A. religiosa* capaces de colonizar plantas jóvenes de oyamel.

### Hipótesis particulares

- La inoculación con hongos ectomicorrízicos origina un mayor crecimiento y transferencia de macronutrimentos y micronutrimentos en *A. religiosa* en comparación con plantas no inoculadas.
- El sustrato constituido por 10% de composta y 90% de aserrín origina una mayor ectomicorrización en plantas de oyamel, en comparación con el de 20% de composta y 80% de aserrín.
- Las plantas jóvenes de *A. religiosa* inoculadas con suelo nativo serán colonizadas por un número reducido de morfotipos ectomicorrízicos.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Los hongos ectomicorrízicos como facilitadores de macronutrientes en las plantas

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 nutrientes del suelo por la producción de enzimas involucradas en la mineralización de la materia orgánica (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Smith y Read, 2008) (Tabla 1). 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 nutrientes pueden ser transferidos de una planta hospedera a otra. Los nutrientes que le proporciona el hongo a la planta son P (en forma de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{HPO}_4^{2-}$ ), N (en  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) y K (en  $\text{K}^+$ ) (Simard *et al.*, 2008).

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), formando compuestos con los metales para disolverlos (Cumming y Weinstein, 1990; Kouassi *et al.*, 2016; Ochs *et al.*, 1993). Wallander (2000 a y b) mencionó 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.

**Tabla 1.** Importancia de los nutrimentos en los hongos micorrízicos y en las plantas con las que se asocia.

Nutrimento	Relación con hongos micorrízicos	Relación con las plantas micorrizadas
<b>Carbono</b>	Los hongos requieren en mayor proporción C para formar carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, nucleótidos, aldehídos, fenoles, ésteres y terpenoides que necesitan para subsistir.	Las plantas fijan el CO <sub>2</sub> a través de la fotosíntesis, con éste se favorece su crecimiento. Se conoce 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.
<b>Nitrógeno</b>	Algunas bacterias fijan N (como <i>Paenibacillus pabuli</i> ) y éste es tomado por el hongo para transferirlo a las plantas. 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. Las especies ectomicorrízicas se pueden encontrar en suelos poco desarrollados y con bajas concentraciones de N (especies “mineralizadoras”: <i>Russula</i> sp., <i>Hebeloma</i> spp., <i>Lactarius</i> sp.), o únicamente se establecen en suelos desarrollados con horizontes orgánicos profundos y concentraciones altas de N (especies “nitrófilas”: <i>Lactarius theiogalus</i> Fr., <i>Laccaria</i> sp.). Solamente algunas de ellas pueden establecerse en ambos tipos de suelos.	En las plantas, el nitrógeno es un componente esencial de aminoácidos, enzimas, proteínas y ácidos nucleicos. Las altas tasas de N atmosférico (NH <sub>3</sub> ) aumenta el N foliar y disminuye el P, Mg y K foliar, acidificando el suelo e incrementando el crecimiento del árbol.
<b>Fósforo</b>	Los hongos ectomicorrízicos pueden incrementar la solubilidad de complejos inorgánicos que contienen P debido a que excretan ácidos oxálico y cítrico, y tienen relación con bacterias que se encuentran en la rizosfera. El ácido oxálico fue detectado en <i>Suillus variegatus</i> (Fr.) O. Kunze para poder disolver la apatita y transportarle a las	La planta les 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.

plántulas de *Pinus sylvestris* L.

<b>Potasio</b>	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.	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.
<b>Calcio</b>	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.	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. 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.
<b>Magnesio</b>	Los hongos incrementan con sus hifas el área de absorción de magnesio en el suelo.	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 de 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, asimismo 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.

---

Fuentes: Alcántar-González *et al.* (2016); Arvieu *et al.* (2003); Avis *et al.* (2008); Baar (1996); Baar y Braak (1996); Bucher (2007); Conn y Dighton (2000); Entry *et al.* (1992); Estrada-Torres y Santiago-Martínez (2003); Evans *et al.* (1991); Griffiths *et al.* (1994); Horton y Bruns (2001); Johnson *et al.* (2005); Kernaghan (2005); Kim *et al.* (2003); Kranabetter *et al.* (2009); Kuhn *et al.* (2000); Lilleskov *et al.* (2001 y 2002 a y b); Marschner (1995); Meléndez y Molina (2002); Paul *et al.* (2007); Ruano (2003); Smith y Read (2008); Trudell y Edmonds (2004); Twieg *et al.* (2009); Vitousek *et al.* (1995 y 1997); Wallander, (2000 a y b); Wallander *et al.* (2002); Wallander y Wickman (1999).

Los hongos ectomicorrízicos son capaces de utilizar los nutrimentos de los compuestos orgánicos 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 (Baar, 1996; Bending y Read, 1995; Cavender-Bares *et al.*, 2009; Kernaghan, 2005; Munkrold *et al.*, 2004; Taylor y Bruns, 1999; Twieg *et al.*, 2009).

### **Hongos ectomicorrízicos asociados a especies de plantas forestales**

Existen diversos géneros de hongos comestibles o no comestibles que han sido frecuentemente estudiados por originar simbiosis ectomicorrízicas. Dentro de ellos se encuentran los que se mencionan en la Tabla 2. Se señalan 71 géneros con 251 especies de hongos ectomicorrízicos. Los géneros que tienen más especies con ectomicorrizas son *Inocybe* (con 22), *Russula* (con 22), *Lactarius* (con 14), *Amanita* (con 13), *Tuber* (con 13), *Tomentella* (con 11), *Boletus* (con 9), *Suillus* (con 9), *Cortinarius* (con 8), *Tricholoma* (con 8) y *Hebeloma* (con 7). Existen 76 especies que se tiene la seguridad de que son comestibles, los géneros que presentan más especies son *Amanita* (con 7), *Boletus* (con 6), *Morchella* (con 6), *Tuber* (con 7), *Laccaria* (con 5) y *Russula* (con 5). Dichas especies fúngicas han sido estudiadas por sus asociaciones con diversos géneros de angiospermas y gimnospermas de importancia forestal dentro de los que se incluyen miembros de *Abies*, *Alnus*, *Betula*, *Cupressus*, *Picea*, *Pinus*, *Populus*, *Pseudotsuga*, *Quercus*, *Salix* y *Tsuga* (Tabla 3).

**Tabla 2.** Ejemplos de géneros y especies de hongos ectomicorrízicos comestibles y no comestibles asociados a plantas forestales.

Género	Especies
<i>Amanita</i>	<i>Amanita caesarea</i> (Scop.) Pers., s. l., <i>A. calyptratoides</i> Peck, <i>A. cokeri</i> (E.-J. Gilbert & Kühner) E.-J. Gilbert, <i>A. crocea</i> (Quél.) Singer, <i>A. franchetti</i> (Boud.) Fayod, <i>A. fulva</i> (Shaef.) Fr., <i>A. muscaria</i> (L.) Lam., <i>A. pantherina</i> (DC.) Krombh, <i>A. rubescens</i> Pers., <i>A. sprete</i> (Peck) Sacc., <i>A. tecomate</i> (Bull.) Lam., <i>A. vaginata</i> (Bull.) Lam., <i>A. xylinivolve</i> Tulloss, Ovrebo & Halling
<i>Amphinema</i>	<i>Amphinema</i> sp. <i>Atheliaceae</i> sp.
<i>Bankera</i>	<i>Bankera fuligineo alba</i> (J.C. Schmidt) Coker & Beers ex Pouzar
<i>Boletus</i>	<i>Boletus bicolor</i> Masee, <i>B. clavipes</i> (Peck) Pilat & Dermet, <i>B. edulis</i> Bull, <i>Boletus aff. luridus</i> Shaeff., <i>B. erythropus</i> Pers., <i>B. pinophilus</i> Pilát & Dermek, <i>B. pulverulentus</i> Opat, <i>B. reticulatus</i> Schaeff., <i>B. subvelutipes</i> Peck.
<i>Cantharellus</i>	<i>Cantharellus cibarius</i> Fr., <i>C. platyphyllus</i> Heinem
<i>Cenococcum</i>	<i>Cenococcum</i> sp.
<i>Ceratobasidium</i>	<i>Ceratobasidium</i> sp.
<i>Chalciporus</i>	<i>Chalciporus piperatus</i> (Bull.) Bataille
<i>Chroogomphus</i>	<i>Chroogomphus rutilus</i> (Schaeff.) O. K. Mill. <i>Chroogomphus vinicolor</i> (Peck) O.K. Mill.
<i>Clavariadelphus</i>	<i>Clavariadelphus pistillaris</i> (L.) Donk
<i>Clavaria</i>	<i>Clavaria vermiculitis</i> Scop.
<i>Clavulina</i>	<i>Clavulina cinerea aff. cinerea</i> (Bull.) J. Schröt., <i>C. cristata</i> (Holmsk.) J. Schröt., <i>C. aff. rugosa</i> (Bull.) J. Schröt., <i>Clavulina</i> sp.
<i>Cortinarius</i>	<i>Cortinarius caperatus</i> (Pers.) Fr., <i>Cortinarius casimiri</i> (Velen.) Huijsman, <i>Cortinarius croceus</i> (Schaeff.) Bigeard & H. Guill., <i>Cortinarius cf. ignipes</i> M. M. Moser, <i>C. obtusus</i> (Fr.) Fr., <i>C. vernus</i> H. Lindstr. & Melot, <i>Cortinarius cf. vibratilis</i> (Fr.) Fr. Epicr., <i>Cortinarius</i> sp.
<i>Elaphomyces</i>	<i>Elaphomyces muricatus</i> Fr.
<i>Entoloma</i>	<i>Entoloma</i> sp.
<i>Fischerula</i>	<i>Fischerula macrospora</i> Mattir.
<i>Gautieria</i>	<i>Gautieria chilensis</i> Zeller & C. W. Dodge, <i>G. mexicana</i> (E. Fisch.) Zeller & C.W. Dodge

<b>Genabea</b>	<i>Genabea sphaerospora</i> Mattir.
<b>Genea</b>	<i>Genea</i> sp.
<b>Gyromitra</b>	<b><i>Gyromitra aff. infula</i> (Schaeff) Quél.</b>
<b>Hebeloma</b>	<i>Hebeloma albocolossum</i> M.M. Moser, <b><i>H. alpinum</i> (J. Favre) Bruchet</b> , <i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull.) Quél., <i>H. cylindrosporum</i> Romagn, <b><i>H. leucosarx</i> P. D. Orton</b> , <b><i>H. mesophaeum</i> (Pers.) Quél.</b> , <i>Hebeloma</i> sp.
<b>Helvella</b>	<b><i>Helvella elastica</i> Bull.</b> , <b><i>H. crispa</i> (Scop.) Fr.</b> , <b><i>H. lacunosa</i> Afzelius ex Fries</b>
<b>Humaria</b>	<i>Humaria cf. hemispaerica</i> (F.H. Wigg.) Fuckel <i>Hyaloscyphaceae</i> sp.
<b>Hydnellum</b>	<i>Hydnellum suaveolens</i> (Scop.) P. Karst.
<b>Hydnobolites</b>	<i>Hydnobolites</i> sp.
<b>Hydnotrya</b>	<i>Hydnotrya cerebriformis</i> (Tul. & C. Tul.) Harkn.
<b>Hydnum</b>	<i>Hydnum repandum</i> L., <i>Hydnum</i> sp.
<b>Hygrophorus</b>	<b><i>Hygrophorus agathosmus</i> (Fr.) Fr.</b> , <b><i>H. chrysodon</i> (Batsch) Fr.</b> , <i>H. hypothejus</i> (Fr.) Fr., <i>H. nigrescens</i> (Quél.) Quél.
<b>Ilyonectria</b>	<i>Ilyonectria rufa</i> A. Cabral & Crous
<b>Infundichalara</b>	<i>Infundichalara microchona</i> (W. Gams) Réblová & W. Gams
<b>Imleria</b>	<b><i>Imleria badia</i> (Fr.) Vizzini</b>
<b>Inocybe</b>	<i>Inocybe amblyspora</i> Kühner, <i>I. cf. flocculosa</i> Sacc., <i>I. geophylla</i> (Bull.), <i>I. glabrodisca</i> P.D. Orton, <i>I. griseovelata</i> Kühner, <i>I. inodora</i> Velen., <i>I. lanatodisca</i> Kauffman, <i>I. lilacina</i> (Peck) Kauffman, <i>I. mixtilis</i> (Britzelm.) Sacc., <i>I. praetervisa</i> Quél., <i>I. pseudoreducta</i> Stangl & Glowinski, <i>I. cf. reisneri</i> Fr., <i>I. rimosa</i> (Bull.) P. Kumm., <i>I. splendens</i> Heim. P. Kumm., <i>I. cf. tenebrosa</i> Quél., <i>I. umbratica</i> Quél., <i>Inocybe</i> sp. (6).
<b>Laccaria</b>	<i>Laccaria amethystina</i> Cooke, <b><i>L. bicolor</i> (Maire) P.D. Orton</b> , <b><i>L. laccata</i> (Scop.) Cooke</b> , <b><i>L. ochropurpurea</i> (Berk.) Peck</b> , <b><i>L. proxima</i> (Bound.)</b> , <b><i>L. trichodermophora</i> G. M. Muell.</b>
<b>Lactarius</b>	<i>Lactarius alnicola</i> Smith, <i>L. chrysorheus</i> L., <b><i>L. deliciosus</i> (L.) Gray</b> , <i>L. fennoscandicus</i> Verbeken & Vesterh., <i>L. luculentus</i> Michael Beug, <i>L. mexicanus</i> A. Kong & Estrada, <i>L. necator</i> (Fr.) Karst. M, <i>L. pseudomucidus</i> Hesler & A. H. Sm., <i>L. quietus</i> (Fr.) Fr., <i>L. rufus</i> (Scop.) Fr., <b><i>L. salmonicolor</i> R. Heim &amp; Leclair</b> , <b><i>L. subsericatus</i> Kühner &amp; Romagn.</b> , <i>L. tabidus</i> Fr., <i>L. uvidus</i> (Fr.) Fr.

<i>Leotia</i>	<i>Leotia lubrica</i> (Scop.) Pers.
<i>Lepista</i>	<b><i>Lepista nuda</i> (Bull.) Cooke</b>
<i>Lycoperdon</i>	<b><i>Lycoperdon perlatum</i> Pers.</b>
<i>Lyophyllum</i>	<i>Lyophyllum decastes</i> (Fr.) Singer
<i>Macowanites</i>	<i>Macowanites mexicanus</i> Guzmán
<i>Macropodia</i>	<b><i>Macropodia macropus</i> (Pers.) Fuckel</b>
<i>Melanogaster</i>	<b><i>Melanogaster ambiguus</i> (Vittad.) Tul. &amp; C. Tul.</b>
<i>Membranomyces</i>	<i>Membranomyces spurius</i> (Bourdot) Jülich, <i>M. delectabilis</i> (H.S. Jacks.) Kotir. & Saaren.
<i>Morchella</i>	<b><i>Morchella conica</i> Pers., <i>M. crassipes</i> (Vent.) Pers., <i>M. deliciosa</i> Fr., <i>M. distans</i> Fr., <i>M. elata</i> Fr., <i>M. esculenta</i> (Fr.) Boud.</b>
<i>Oidiodendron</i>	<i>Oidiodendron</i> sp.
<i>Paxillus</i>	<i>Paxillus involutus</i> (Batsch) Fr. Pezizales sp.
<i>Peziza</i>	<i>Peziza ostracoderma</i> Korf
<i>Phaeocollybia</i>	<i>Phaeocollybia sipei</i> A.H. Sm., <i>P. pseudofestiva</i> A.H. Sm., <i>P. spadicea</i> A.H. Sm.
<i>Piloderma</i>	<i>Piloderma croceum</i> J. Erikss. & Hjortstam, <i>Piloderma</i> sp.
<i>Pisolithus</i>	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker et Couch. <i>Pisolithus</i> sp.
<i>Pseudotomentella</i>	<i>Pseudotomentella griseopergamacea</i> M.J. Larsen, <i>P. tristis</i> (P. Karst.) M.J. Larsen, <i>Pseudotomentella</i> sp.
<i>Pulveroboletus</i>	<b><i>Pulveroboletus auriporus</i> (Peck) Singer</b>
<i>Ramaria</i>	<b><i>Ramaria botrytis</i> (Pers.) Ricken, <i>R. cystidiophora</i> (Kauffman) Corner, <i>R. flava</i> (Schaeff.) Quél., <i>R. pallida</i> (Schaeff.) Ricken, <i>R. aff. rubiginosa</i> Marr &amp; D. E. Stuntz</b>
<i>Rhizopogon</i>	<i>Rhizopogon luteolus</i> Fr., <i>R. olivaceoniger</i> A.H. Sm., <i>R. roseolus</i> (Corda) Th. M. Fr., <i>Rhizopogon</i> sp.
<i>Russula</i>	<i>Russula abietina</i> Peck, <i>R. acrifolia</i> Romagn, <i>R. americana</i> Singer, <i>R. alutacea</i> (Fr.) Fr., <b><i>R. atropurpurea</i> (Krombh.) Britzelm</b> , <i>R. betularum</i> Hora, <b><i>R. brevipes</i> Peck, <i>R. cf. chloroides</i> (Krombh.) Bres.</b> , <i>R. cyanoxantha</i> (Schaeff.) Fr., <b><i>R. delica</i> Fr.</b> , <i>R. emetica</i> (Schaeff.) Pers., <i>R. aff. formula</i> Jul. Schäff., <i>R. fragilis</i> Fr., <b><i>R. aff. mexicana</i> Burl.</b> , <i>R. ochroleuca</i> Pers., <i>R. olivacea</i> (Schaeff.), <i>R. puellaris</i> Fr., <i>R. vinacea</i> Burl., <i>R. xeramphelina</i> (Schff.: Secr.) Fr., <i>Russula</i> sp. (3)

<b>Sarcodon</b>	<i>Sarcodon imbricatus</i> (L.) P. Karst, <i>S. leucopus</i> (Pers.) Maas Geest. & Nannf., <i>S. scabrosus</i> (Fr.) P. Karst.
<b>Scleroderma</b>	<i>Scleroderma citrinum</i> Pers., <i>S. verrucosum</i> (Bull.) Pers., <i>Scleroderma</i> sp. <i>Sebacinaceae</i> sp.
<b>Sebacina</b>	<i>Sebacina dimitica</i> Oberw., <i>S. epigaea</i> (Berk. & Broome) Bourdot & Galzin Growing, <i>S. incrustans</i> (Pers.) Tul. & C. Tul., <i>Sebacina</i> sp. (4)
<b>Suillus</b>	<i>Suillus americanus</i> (Peck) Snell, <b><i>S. bovinus</i> (L.) Roussel</b> , <b><i>S. brevipes</i> (Peck) Kuntze</b> , <b><i>S. granulatus</i> (L.) Roussel</b> , <i>S. guzmanii</i> G. Moreno, Bandala & Montoya, <i>S. intermedius</i> A.H. Sm. & Thiers, <i>S. luteus</i> (L.), <b><i>S. pseudobrevipes</i> A.H. S.m. &amp; Thiers</b> , <b><i>S. variegatus</i> (Sw.) Kuntze</b>
<b>Tarzetta</b>	<i>Tarzetta</i> sp. (2) <i>Telephorales</i> sp. <i>Thelephoraceae</i> sp. (2)
<b>Thelephora</b>	<i>Thelephora terrestris</i> Ehrh.
<b>Tomentella</b>	<i>Tomentella botryoides</i> (Schwein.) Bourdot & Galzin, <i>Tomentella fuscocinerea</i> (Pers.) Donk, <i>T. lateritia</i> Pat., <i>T. pilosa</i> (Burt) Bourdot & Galzin, <i>T. sublilacina</i> (Ellis & Holw.) Wakef., <i>Tomentella</i> sp. (6)
<b>Tomentellopsis</b>	<i>Tomentellopsis submollis</i> (Svrcek) Hjortstam
<b>Tremellodendron</b>	<i>Tremellodendron</i> sp.
<b>Tremelloscypha</b>	<i>Tremelloscypha dichroa</i> (Lloyd) Oberw., Garnica & K. Riess
<b>Tricholoma</b>	<i>Tricholoma equestre</i> (L.) P. Kumm.; <i>T. imbricatum</i> (Fr.) P. Kumm., <i>T. magnivelare</i> (Peck) Redhead, <b><i>T. matsutake</i> (S. Ito &amp; S. Imai) Singer</b> , <i>T. terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm, <b><i>T. saponaceum</i> var. <i>saponaceum</i> (Fr.) P. Kumm.</b> , <b><i>T. aff. ustale</i> (Fr.) P. Kumm.</b> , <i>T. vaccinum</i> (Pers.: Fr.) Kummer
<b>Trichophaea</b>	<i>Trichophaea cf. hybrida</i> (Sowerby) T. Schumach.
<b>Tuber</b>	<b><i>Tuber aestivum</i> Vittad.</b> , <b><i>T. borchii</i> Vittad.</b> , <i>T. brumale</i> Vittad., <b><i>T. gibbosum</i> Harkn.</b> , <b><i>T. indicum</i> Cooke &amp; Masee</b> , <i>T. magnatum</i> Pico., <b><i>T. melanosporum</i> Vittad.</b> , <b><i>T. oregonense trappe</i></b> , Bonito & Rawlinson, <i>T. puberulum</i> Berk. & Broome, <i>T. rufum</i> Pollini, <i>Tuber cf. separans</i> Gilkey, <b><i>T. uncinatum</i> Chatin</b> , <i>Tuber</i> sp.
<b>Turbinellus</b>	<b><i>Turbinellus floccosus</i> (Schwein.)</b>

<i>Tylospora</i>	<i>Tylospora asterophora</i> (Bonord.) Donk
<i>Verticillium</i>	<i>Verticillium leptobactrum</i> W. Gams.
<i>Xerocomus</i>	<i>Xerocomus badius</i> (Fr.) Kühner, <i>X. leonis</i> (D. A. Reid) Bon, <i>Xerocomus</i> sp.

---

**Las especies escritas en negrita son hongos comestibles.** Fuentes: Adriaensen *et al.*, 2006; Ahangar *et al.*, 2012; Ahonen-Jonnarh *et al.* 2000; Andrade-Torres *et al.*, 2009; Argüelles-Moyoa *et al.*, 2017; Barragán-Soriano *et al.*, 2018; Bahram *et al.*, 2013; Baum *et al.*, 2000; Bodeker *et al.*, 2014; Bolchi *et al.*, 2011; Bücking y Heyser, 1994; Burrola-Aguilar *et al.*, 2013; Carrasco-Hernández *et al.* (2011 y 2015); Cejpková *et al.* 2016; Chávez *et al.*, 2014; Córdova-Chávez *et al.*, 2014; De Miguel *et al.*, 2014; Ekblad *et al.*, 2013; Endo *et al.*, 2015; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Fernández y Koide, 2012; Flores-Rentería *et al.*, 2018; Galindo-Flores *et al.*, 2011; García *et al.*, 2014; Gómez-Romero *et al.*, 2013; Heller *et al.*, 2012; Hryniewicz *et al.*, 2010; Kipfer *et al.*, 2011; Kouassi *et al.*, 2016; Lamus *et al.*, 2015; Langer *et al.*, 2012; Leonhardt *et al.*, 2014; López *et al.*, 2018; Martin *et al.*, 2003; Martínez-Reyes *et al.*, 2012; Melgarejo, 2014; Montoya *et al.*, 2004; Montoya *et al.*, 2014; Pérez-Moreno *et al.*, 2010; Ramos-Fernández, 2015; Rentería-Chávez *et al.*, 2017; Repáč, 2007; Reverchon, 2010 y Reverchon *et al.*, 2010; Reverchon *et al.*, 2012; Rincón *et al.*, 2005; Santiago-Martínez *et al.*, 1993; Navarro, 2000; Sácky *et al.* (2014 y 2016); Santiago-Martínez, 2002; Schlunk *et al.*, 2015; Trocha *et al.*, 2012; Turnau *et al.*, 2001; Van Tichelen *et al.* (1999 y 2001); Veselkin 2004; Wadud *et al.*, 2014; Walker *et al.*, 2004; Wen *et al.*, 2015. Xochitiotzin, 2000.

**Tabla 3.** Ejemplos de géneros y especies de plantas forestales en las que se han desarrollado frecuentemente investigaciones con ectomicorrizas.

<b>Género</b>	<b>Especie</b>
<b><i>Abies</i></b>	<i>Abies religiosa</i> (Kunth Schltldl et. Cham.), <i>A. sibirica</i> Ledeb, <i>A. veitchii</i> Lindl
<b><i>Alnus</i></b>	<i>Alnus alnobetula</i> (Ehrh.) K. Koch, <i>A. alnobetula ssp. suaveolens</i> (Req.) Lambinon & Kerguelen, <i>Alnus cordata</i> (Loisel.) Duby, <i>A. glutinosa</i> (L.) Gaertn., <i>A. incana</i> (L.) Moench, <i>A. jorullensis</i> Humboldt, Bonpland & Kunth
<b><i>Betula</i></b>	<i>Betula lenta</i> L.
<b><i>Cupressus</i></b>	<i>Cupressus benthamii</i> Endl.
<b><i>Picea</i></b>	<i>Picea abies</i> (L.) H. Karst.
<b><i>Pinus</i></b>	<i>Pinus edulis</i> Engelm, <i>P. greggii</i> Engelm. ex Parl., <i>P. hartwegii</i> Lindl., <i>P. montezumae</i> Lamb., <i>P. nigra</i> Arnold, <i>P. patula</i> Schiede ex Schltldl. & Cham., <i>P. pinaster</i> Ait, <i>Pinus pinea</i> L., <i>Pinus pringlei</i> Shaw., <i>P. resinosa</i> Aiton, <i>P. teocote</i> Schiede ex Schltldl., <i>P. sylvestris</i> L., <i>Pinus radiata</i> D. Don, <i>P. pseudostrobus</i> Lindl, <i>Pinus wallichiana</i> A. B. Jacks
<b><i>Populus</i></b>	<i>Populus tremula</i> L, <i>Populus trichocarpa</i> cv. Weser
<b><i>Pseudotsuga</i></b>	<i>Pseudotsuga sinensis</i> Dode, Bull.
<b><i>Quercus</i></b>	<i>Quercus coccinea</i> Münchh, <i>Q. crassifolia</i> Humb. & Bonpl., <i>Q. palustris</i> Muenchh, <i>Q. robur</i> L., <i>Q. rubra</i> L.
<b><i>Salix</i></b>	<i>Salix reinii</i> Franch.
<b><i>Tsuga</i></b>	<i>Tsuga diversifolia</i> (Maxim.) Mast.

Fuentes: Adriaensen *et al.*, 2006; Ahangar *et al.*, 2012; Ahonen-Jonnarth *et al.*, 2000; Bahram *et al.*, 2013; Barragán-Soriano *et al.*, 2018; Baum *et al.*, 2000; Bücking y Heyser, 1994; Carrasco-Hernández *et al.*, 2011; Chávez *et al.*, 2014; Córdova-Chávez *et al.*, 2014; Ekblad *et al.*, 2013; Endo *et al.*, 2015; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003; Flores-Rentería *et al.*, 2018; Galindo *et al.*, 2011; García *et al.*, 2014; Gómez-Romero *et al.*, 2013; Heller *et al.*, 2012; Kipfer *et al.*, 2011; Lamus *et al.*, 2015; Langer *et al.*, 2012; López *et al.*, 2018; Martin *et al.*, 2003; Martínez-Reyes *et al.*, 2012; Montoya *et al.*, 2004; Navarro, 2000; Rentería-Chávez *et al.*, 2017; Repáč, 2007; Reverchon, 2010 y Reverchon *et al.*, 2010; Rincón *et al.*, 2005; Roy *et al.*, 2013; Santiago-Martínez *et al.*, 1993; Santiago-Martínez, 2002; Trocha *et al.*, 2012; Turnau *et al.*, 2001; Van Tichelen *et al.* (1999 y 2001); Veselkin, 2004; Wadud *et al.*, 2014; Walker *et al.*, 2004; Wen *et al.*, 2015; Xochitiotzin, 2000.

En la presente investigación se estudió a *Abies religiosa*, la cual se describe a continuación.

### **Descripción de *Abies religiosa* (Kunth Schltdl et. Cham.)**

**Taxonomía. Sinonimia:** *Pinus religiosa* Kunt. *Abies religiosa* var. *emarginata* Look et Martínez. **Nombres comunes:** Abeto - Veracruz; acshoyatl - México; bansú (lengua otomí) – Hidalgo; ocopetla – Teotepec, Guerrero; oyamel – México, Hidalgo; pinabete – Michoacán y Jalisco; thúcum (lengua tarasca) – Michoacán; ueyomel – Ixcaltepec, Guerrero; xolócotl – México.

**Origen:** Árbol nativo de México. **Forma biológica:** Árbol monoico de 35 a 40 m de altura, en ocasiones hasta 60 m y diámetro normal hasta de 1.80 m. **Fenología:** las hojas son perennifolias, de color verde oscuro, alternas de 25.5 x 1.5 mm; las estructuras reproductivas masculinas y femeninas se presentan desde diciembre; los conos son cilíndricos, resinosos, moreno violáceos al madurar de 4-6 x 10-16 cm; la fructificación se presenta de noviembre a enero la dispersión de las semillas ocurre entre marzo y abril; la semilla es oblonga, color castaño brillante, de 9-10 mm de largo, su viabilidad de semilla es de 8 meses hasta 10 años (Figura 1) (CONAFOR, 2015; Secretaría de Desarrollo Agropecuario Protectora de Bosques, 2007).

**Distribución. Asociación vegetal:** bosque de coníferas, las masas puras formadas por esta especie son también conocidas como bosque de *Abies*, bosque de abetos o bosque de oyamel; además pueden asociarse con pinos. **Coordenadas geográficas:** entre los 17°30' a 20°00' de latitud norte y los 97°104' de longitud oeste. **Entidades en México:** Distrito Federal, Hidalgo, Puebla, Veracruz, Michoacán, Jalisco, Morelos, México, Guerrero y Tlaxcala. Esta especie también se llega a localizar **hasta Guatemala**. (Calderón de Rzedowski y Rzedowski, 2001; CONAFOR, 2015).

**Requerimientos ambientales. Altitud:** de 2,800 hasta 3,500 msnm. **Temperatura:** de 7-15°C, y la mínima es de -12°C. **Precipitación media anual:** es superior a los 1,000 mm. **Tipo de suelo:** Histosol, Inceptisol y Espodosol. **Características físicas y químicas:** suelos generalmente profundos, aunque también en suelos someros; la textura es limo-arenosa, arcillo-arenosa, arenosa; la pedregosidad es de ligera a moderada; la estructura es granular o en bloques; suelos bien drenados y húmedos la mayor parte del

año; el color de los suelos es café oscuro ó rojizo (los tonos de color equivalen a 10YR, de acuerdo a las Tablas de Munsell). Los suelos presentan un pH de 5-7 y son muy ricos en materia orgánica, hasta 70%, especialmente en horizontes superficiales.

**Usos:** como árbol de navidad; sus ramas se utilizan para hacer adornos en ceremonias religiosas; la pulpa de la madera se emplea para hacer papel; su madera aserrada se utiliza para la fabricación de cajas, puertas, marcos, techos interiores, postes, cercas, durmientes y palos de escoba. Su madera también se usa en la elaboración de empaques para alimentos, como pescado, azúcar, etc. La trementina denominada como “aceite de palo” y “aceite de abeto” tiene uso medicinal. Además, la corteza de los árboles viejos es empleada como carbón, y la madera en la construcción de casas (CONAFOR, 2015).



**Figura 1.** *Abies religiosa*. A: Brinzal. B: Bosque de oyamel.

Los bosques de *A. religiosa* son de gran importancia y generan servicios ecosistémicos de regulación ambiental. Dichos servicios promueven la cosmovisión, la identidad, el bienestar estético, el ecoturismo y fuentes de trabajo. Los servicios de suministro pueden ser: alimentos, combustibles, medicinas, artesanías, mascotas, madera, recursos potenciales y recursos genéticos. Existen otros servicios tales como regulación del clima (como captura de C, reducción de albedo, reducción de temperatura), del agua (como aumento de infiltración y de evapotranspiración, así como su calidad de ésta), disminución de la erosión, los deslaves y las inundaciones (Balvanera, 2012).

### **Hongos ectomicorrízicos asociados a *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl et. Cham.**

En la Tabla 4 se encuentran las especies de hongos ectomicorrízicos que se asocian con *A. religiosa*. Los géneros que tienen más especies son *Inocybe* (con 22), *Russula* (con 15), *Tomentella* (con 9), *Lactarius* (con 8) y *Sebacina* (con 7). Existen 21 especies comestibles, siendo *Russula* el género que presenta más especies. Además de ser hongos ectomicorrízicos, se encontraron 7 especies que poseen propiedades medicinales: antibacterial (1 especie); antifúngico (2 especies); antiinflamatorio (1 especie); antioxidante (4 especies); antitumoral (3 especies); cicatrizante (1 especie); diarrea, sangrado y cólicos (1 especie); dolor de cabeza (1 especie); hematoprotector (1 especie); mejora la vista (1 especie). Las especies que presentan más beneficios médicos son *Cantharellus cibarius* Fr., *Hydnum repandum* L. y *Lycoperdon perlatum* Pers. (Tabla 4)

**Tabla 4.** Géneros y especies de hongos ectomicorrízicos medicinales, comestibles y no comestibles asociados a *A. religiosa*.

Género	Especies
<i>Amanita</i>	<i>Amanita calypratoides</i> Peck, <i>A. muscaria</i> (L.) Lam., <i>A. pantherina</i> (DC.) Krombh, <b><i>A. rubescens</i> Pers.</b> , <i>A. xyliniivolva</i> Tulloss, Ovrebo & Halling <i>Atheliaceae</i> sp.
<i>Boletus</i>	<b><i>Boletus edulis</i> Bull<sup>4</sup></b> , <b><i>B. pinophilus</i> Pilát &amp; Dermek</b> , <i>B. pulverulentus</i> Opat
<i>Cantharellus</i>	<b><i>Cantharellus cibarius</i> Fr.</b> <sup>4, 5, 7, 10</sup>
<i>Chroogomphus</i>	<i>Chroogomphus vinicolor</i> (Peck) O.K. Mill.
<i>Clavulina</i>	<b><i>Clavulina cinerea</i> aff. <i>cinerea</i> (Bull.) J. Schröt.</b> , <i>C. aff. rugosa</i> (Bull.) J. Schröt., <i>Clavulina</i> sp.
<i>Cortinarius</i>	<i>Cortinarius</i> cf. <i>ignipes</i> M. M. Moser, <i>C. obtusus</i> (Fr.) Fr., <i>C. vernus</i> H. Lindstr. & Melot.
<i>Fischerula</i>	<i>Fischerula macrospora</i> Mattir.
<i>Genabea</i>	<i>Genabea sphaerospora</i> Mattir.
<i>Genea</i>	<i>Genea</i> sp. (2)
<i>Gyromitra</i>	<b><i>Gyromitra</i> aff. <i>infula</i> (Schaeff) Qué.</b>
<i>Hebeloma</i>	<i>Hebeloma albocolossum</i> M.M. Moser
<i>Helvella</i>	<b><i>Helvella crispa</i> (Scop.) Fr.</b> , <b><i>H. lacunosa</i> Afzelius ex Fries</b>
<i>Humaria</i>	<i>Humaria</i> cf. <i>hemispaerica</i> (F.H. Wigg.) Fuckel <i>Hyaloscyphaceae</i> sp.
<i>Hydnobolites</i>	<i>Hydnobolites</i> sp. (2)
<i>Hydnotrya</i>	<i>Hydnotrya cerebriformis</i> (Tul. & C. Tul.) Harkn.
<i>Hydnum</i>	<i>Hydnum repandum</i> L. <sup>1, 4, 5, 8</sup> , <i>Hydnum</i> sp.
<i>Hygrophorus</i>	<b><i>Hygrophorus chrysodon</i> (Batsch) Fr.</b> , <i>H. hypothejus</i> (Fr.) Fr., <i>H. nigrescens</i> (Qué.) Qué.
<i>Ilyonectria</i>	<i>Ilyonectria rufa</i> A. Cabral & Crous
<i>Infundichalara</i>	<i>Infundichalara microchona</i> (W. Gams) Réblová & W. Gams

- Inocybe** *Inocybe amblyspora* Kühner, *I. cf. flocculosa* Sacc., *I. geophylla* (Bull.), *I. glabrodisca* P.D. Orton, *I. griseovelata* Kühner, *I. inodora* Velen., *I. lanatodisca* Kauffman, *I. lilacina* (Peck) Kauffman, *I. mixtilis* (Britzelm.) Sacc., *I. praetervisa* Quél., *I. pseudoreducta* Stangl & Glowinski, *I. cf. reisneri* Fr., *I. rimosa* (Bull.) P. Kumm., *I. splendens* Heim. P. Kumm., *I. cf. tenebrosa* Quél., *I. umbratica* Quél., *Inocybe* sp. (6).
- Laccaria** ***Laccaria proxima* (Bound.), *L. trichodermophora* G. M. Muell.**
- Lactarius** *Lactarius alnicola* Smith, ***L. deliciosus* (L.) Gray**, *L. fennoscandicus* Verbeken & Vesterh., *L. luculentus* Michael Beug, *L. mexicanus* A. Kong & Estrada, *L. necator* (Fr.) Karst. M, *L. pseudomucidus* Hesler & A. H. Sm, *L. rufus* (Scop.) Fr., ***L. salmonicolor* R. Heim & Leclair**
- Leotia** *Leotia lubrica* (Scop.) Pers.
- Lycoperdon** ***Lycoperdon perlatum* Pers.**<sup>2, 4, 6</sup>
- Membranomyces** *Membranomyces spurius* (Bourdot) Jülich, *M. delectabilis* (H.S. Jacks.) Kotir. & Saaren.
- Morchella** ***Morchella esculenta* (Fr.) Boud.**<sup>3</sup>
- Peziza** *Peziza ostracoderma* Korf
- Phaeocollybia** *Phaeocollybia sipei* A.H. Sm., *P. pseudofestiva* A.H. Sm., *P. spadicea* A.H. Sm.
- Piloderma** *Piloderma* sp.
- Pisolithus** *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. *Pisolithus* sp.
- Pseudotomentella** *Pseudotomentella tristis* (P. Karst.) M.J. Larsen, *Pseudotomentella* sp.
- Ramaria** ***Ramaria botrytis* (Pers.) Ricken**<sup>9</sup>
- Russula** *Russula abietina* Peck, *R. acrifolia* Romagn, *R. americana* Singer, ***R. brevipes* Peck**, ***R. cf. chloroides* (Krombh.) Bres.**, ***R. delica* Fr.**, *R. emetica* (Schaeff.) Pers., *R. aff. formula* Jul. Schäff., *R. olivacea* (Schaeff.), *R. puellaris* Fr., *R. vinacea* Burl., *R. xeramphelina* (Schff.: Secr.) Fr., *Russula* sp. (3)
- Sarcodon** *Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst  
*Sebacinaceae* sp.
- Sebacina** *Sebacina dimitica* Oberw., *S. epigaea* (Berk. & Broome) Bourdot & Galzin Growing, *S. incrustans* (Pers.) Tul. & C. Tul.,

	<i>Sebacina</i> sp. (4)
<b><i>Suillus</i></b>	<i>Suillus americanus</i> (Peck) Snell, <b><i>S. brevipes</i> (Peck) Kuntze</b> , <b><i>S. granulatus</i> (L.) Roussel</b> , <i>S. guzmanii</i> G. Moreno, Bandala & Montoya,
<b><i>Tarzetta</i></b>	<i>Tarzetta</i> sp. (2) <i>Telephorales</i> sp. <i>Thelephoraceae</i> sp. (2)
<b><i>Thelephora</i></b>	<i>Thelephora terrestris</i> Ehrh.
<b><i>Tomentella</i></b>	<i>Tomentella fuscocinerea</i> (Pers.) Donk, <i>T. lateritia</i> Pat., <i>T. pilosa</i> (Burt) Bourdot & Galzin, <i>Tomentella</i> sp. (6)
<b><i>Tremelloscypha</i></b>	<i>Tremelloscypha dichroa</i> (Lloyd) Oberw., Garnica & K. Riess
<b><i>Tricholoma</i></b>	<i>Tricholoma imbricatum</i> (Fr.) P. Kumm., <i>T. terreum</i> (Schaeff.) P. Kumm., <i>T. vaccinum</i> (Pers.: Fr.) Kummer
<b><i>Trichophaea</i></b>	<i>Trichophaea cf. hybrida</i> (Sowerby) T. Schumach.
<b><i>Tuber</i></b>	<i>Tuber cf. separans</i> Gilkey, <b><i>T. uncinatum</i> Chatin</b> , <i>Tuber</i> sp.
<b><i>Turbinellus</i></b>	<b><i>Turbinellus floccosus</i> (Schwein.)</b> <sup>2, 5</sup>
<b><i>Verticillium</i></b>	<i>Verticillium leptobactrum</i> W. Gams.
<b><i>Xerocomus</i></b>	<i>Xerocomus</i> sp.

---

**Especies escritas en negrita son hongos comestibles.** Especies con propiedades medicinales: Antibacterial<sup>1</sup>, Antifúngico<sup>2</sup>, Antiinflamatorio<sup>3</sup>, Antioxidante<sup>4</sup>, Antitumoral<sup>5</sup>, Cicatrizante<sup>6</sup>, Diarrea, sangrado y cólicos<sup>7</sup>, Dolor de cabeza<sup>8</sup>, Hematoprotector<sup>9</sup> y Mejora la vista<sup>10</sup>. Fuentes: Alvarado-Castillo *et al.*, 2015; Andrade-Torres *et al.*, 2009; Argüelles-Moyoa *et al.*, 2017; Córdova-Chávez *et al.*, 2014; Flores-Rentería *et al.*, 2018; Galindo-Flores *et al.*, 2011; Guzmán, 2008; Jiménez-Ruíz *et al.*, 2013; Lamus *et al.*, 2015; Pérez-Moreno *et al.*, 2010; Ramos-Fernández, 2015; Sánchez *et al.*, 2015.

En el presente estudio se utilizó como inóculo ectomicorrízico a la especie comestible *Laccaria proxima*, la cual se describe a continuación.

***Laccaria proxima* (Boud.) Pat.**

*Laccaria proxima* pertenece a la familia Tricholomataceae. El hábitat del crecimiento de su esporoma es epigeo o pilado-lamilado (Figuras 2 y 3B) y su ubicación geográfica se encuentra en Norte América. La micorriza de *L. proxima* (caracterizada en *Pinus*) es usualmente blanca a beige cuando es joven, oscureciéndose con la edad en varias tonalidades de naranja o gris-café (Figura 3C). El sistema micorrízico mide de longitud de 0-8 mm; su ramificación es dicotómica; el diámetro del axis principal es de 0-0.6 mm; su tipo de exploración es delicada a una distancia media. Las terminaciones del sistema micorrízico no son ramificadas; la forma es torcida o sinuosa; la terminación distal es no inflada y cilíndrica (Galindo-Flores *et al.*, 2015; Ludwig-Maximilians, 2018). Todas las micorrizas retienen un opaco lustre lechoso-blanquecino; no presentan laticíferos; las hifas pueden ser libres, desordenadas, con frecuencia pueden ser cerrada a la superficie del manto (Ludwig- Maximilians, 2018).

En el manto no existe visibilidad de las células corticales; su superficie es brillante y es algodonosa liberadamente; su capa externa presenta organización plectenquimatosa, con arreglo irregular de la hifa y no hay un modelo discernible (tipo B), su célula cilíndrica no constricta en septos y su diámetro mide de 2.5–5  $\mu\text{m}$ , su superficie de la pared celular es lisa; su capa media del manto contiene un arreglo hifal plectenquimatoso; su capa interna del manto es de organización plectenquimatosa, su célula tiene un diámetro de 0-6  $\mu\text{m}$  y una longitud de 0-20  $\mu\text{m}$ ; el manto en la sección longitudinal tiene un espesor de 15-40  $\mu\text{m}$  (Galindo-Flores *et al.*, 2015; Ludwig-Maximilians, 2018).

Las hifas pueden ser emanentes con forma tortuosa; sus células presentan protuberancias y su diámetro es de 2.5-4  $\mu\text{m}$ . Hay septos que contienen una ramificación. No presentan esclerotios. Los rizomorfos son deficientes, solamente está presente en la hifa emanente (tipo G) (Ludwig- Maximilians, 2018).



**Figura 2.** Esporoma de *Laccaria proxima*

## LITERATURA CITADA

1. Adriaensen K, Vangronsveld J y Colpaert JV. Zinc-tolerant *Suillus bovinus* improves growth of Zn-exposed *Pinus sylvestris* seedlings. *Mycorrhiza* 2006; 16: 553-558.
2. Ahangar MA, Dar HG, Bhat ZA. Growth response and nutrient uptake of blue pine (*Pinus wallichiana*) seedlings inoculated with rhizosphere microorganisms under temperate nursery conditions. *Ann. For. Sci*: 2012; 55: 217-227.
3. Ahonen-Jonnarth U, Van-Hees PAW, Lundström US, y Finday RD. Organic acids produced by mycorrhizal *Pinus sylvestris* exposed to elevated aluminium and heavy metal concentrations. *The New Phytologist* 2000; 146: 557-567.
4. Alcántar-González G, Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC. Nutrición de cultivos. 2ª Edición. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México, 2016.
5. Alvarado-Castillo G, Mata G y Benítez-Badillo G. Importancia de la domesticación en la conservación de los hongos silvestres comestibles en México. *Bosque* 2015; 36: 151-161.
6. Andrade-Torres, A, Oros-Ortega I, Guzmán-Olmos RF, Rodríguez-Morelos VH, Sánchez-Velásquez LR, Solís-Ramos LY. La interacción entre abetos y hongos. *La Ciencia y El Hombre* 2009; 22 (2): 39-44.
7. Argüelles-Moyao A, Garibay-Orijel R, Márquez-Valdelamar LM, Arellano-Torres E. *Clavulina-Membranomyces* is the most important lineage within the highly diverse ectomycorrhizal fungal community of *Abies religiosa*. *Mycorrhiza* 2017; 27: 53-65.
8. Arvieu, JC, Leprince F, Plassard C. Release of oxalate and protons by ectomycorrhizal fungi in response to P-deficiency and calcium carbonate in nutrient solution. *Annals of Forest Science* 2003; 60: 815-821.
9. Avis PG, Mueller GM, Lussenhop J. Ectomycorrhizal fungal communities in two North American oak forests respond to nitrogen addition. *New Phytologist* 2008; 179: 472-483.

10. Baar J. The ectomycorrhizal flora of primary and secondary stands of *Pinus sylvestris* in relation to soil conditions and ectomycorrhizal succession. *Journal of Vegetation Science* 1996; 7: 497-504.
11. Baar J, F ter Braak CJ. Ectomycorrhizal sporocarp occurrence as affected by manipulation of litter and humus layers in Scots pine stands of different age. *Applied Soil Ecology* 1996; 4: 61-73.
12. Bahram M, Kõljalg U, Kohout P, Mirshahvaladi S, Tedersoo L. Ectomycorrhizal fungi of exotic pine plantations in relation to native host trees in Iran: evidence of host range expansion by local symbionts to distantly related host taxa. *Mycorrhiza* 2013; 23:11–19.
13. Balvanera, P. Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales. *Ecosistemas* 2012; 21 (1-2): 136-147.
14. Barragán-Soriano JL, Pérez-Moreno J, Almaraz-Suárez JJ, Carcaño-Montiel MG, Medrano-Ortiz KI. Inoculation with an edible ectomycorrhizal fungus and bacteria increases growth and improves the physiological quality of *Pinus montezumae* Lamb. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 2018; 24(1): 3-16.
15. Baum C, Schmid K, Makeschin F. Interactive effects of substrates and ectomycorrhizal colonization on growth of a poplar clone. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2000; 163: 221-226.
16. Bending GD, Read DJ. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. V. Foraging behaviour and translocation of nutrients from exploited litter. *New Phytologist* 1995; 130: 401-409.
17. Bodeker ITM, Clemmensen KE, De Boer W, Martin F, Olson A, Lindahl BD. Ectomycorrhizal *Cortinarius* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems. *New Phytologist* 2014; 203: 245–256.
18. Bolchi A, Ruotolo R, Marchini G, Vurro E, Di Toppi LS, Kohler A, Tisserant E, Martin F, Ottonello S. Genome-wide inventory of metal homeostasis-related gene

- a functional phytochelatin synthase in the hypogeous mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum*. Fungal Genetics and Biology 2011; 48: 573-584.
19. Bucher M. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. New Phytologist 2007; 173: 11-26.
  20. Bücking H, W Heyser. The effect of ectomycorrhizal fungi on Zn uptake and distribution in seedlings of *Pinus sylvestris* L. Plant and Soil 1994; 167: 203-212.
  21. Burrola-Aguilar C, Garibay-Orijel R, Argüelles-Moyao A. *Abies religiosa* forests harbor the highest species density and sporocarp productivity of wild edible mushrooms among five different vegetation types in a neotropical temperate forest region. Agroforest Syst 2013; 87: 1101-1115.
  22. Calderón de Rzedowski G, Rzedowski J. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª Edición. Instituto de Ecología A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México, 2001.
  23. Camargo-Ricalde S, Manuel-Montañón LN, De la Rosa-Mera CJ; Montañón-Arias SA. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. UNAM 2012; 13 (7): 1-19.
  24. Carrasco-Hernández V, Pérez-Moreno J, Espinoza-Hernández V, Almaraz-Suárez JJ, Quintero-Lizaola R, Torres-Aquino M. Nutrient contents and inoculation with edible ectomycorrhizal fungi on two neotropical pines. Revista Chilena de Historia Natural 2011; 84: 83-96.
  25. Carrasco-Hernández V, Pérez-Moreno J, Quintero-Lizaola R, Espinosa-Solares T, Lorenzana-Fernández A, y Espinosa-Hernández V. Edible species of the fungal genus *Hebeloma* and two neotropical pines. Pak. J. Bot. 2015; 47:319-326.
  26. Cavender-Bares J, Izzo A, Robinson R., Lovelock CE. Changes in ectomycorrhizal community structure on two containerized oak hosts across an experimental hydrologic gradient. Mycorrhiza 2009; 19:133-142.
  27. Cejpková, J, Gryndler M, Hrselova H, Kotrba P, Randa Z, Synkova I, Borovicka J. Bioaccumulation of heavy metals, metalloids, and chlorine in ectomycorrhizae from smelter-polluted area. Environmental Pollution 2016; 218: 176-185.

28. Chávez D, Pereira G, Machuca A. Estimulación del crecimiento en plántulas de *Pinus radiata* utilizando hongos ectomicorrícicos y saprobios como biofertilizantes. *Bosques* 2014; 35 (1): 57-63.
29. Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Ficha Técnica de *Abies religiosa* (página de internet), (citada 20 de septiembre de 2015. Disponible en <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/873Abies%20religiosa.pdf>
30. Conn C, Dighton J. Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 2000; 32: 489-496.
31. Córdova-Chávez O, Medel R, Mata G, Castillo R, Vázquez-Ramírez J. Evaluación de hongos ectomicorrícicos del grupo de los basidiomicetos en la zona del Cofre de Perote, Veracruz. *Madera y Bosques* 2014; 20 (1): 97-106.
32. Cumming JR, Weinstein LH. Utilization of  $AlPO_4$  as a phosphorous source by ectomycorrhizal *Pinus rigida* seedlings. *New Phytologist* 1990; 116: 99-106.
33. De Miguel AM, Águeda B, Sánchez S, Parladé J. Ectomycorrhizal fungus diversity and community structure with natural and cultivated truffle hosts: applying lessons learned to future truffle culture. *Mycorrhiza* 2014; 24 (Suppl 1): S5–S18.
34. Egerton-Warbuton LM, Graham RC, Hubbert K.R. Spatial variability in mycorrhizal hyphae and nutrient and water availability in a soil-weathered bedrock profile. *Plant and Soil* 2003; 249: 331-342.
35. Ekblad A, Wallander H, Godbold DL, Cruz C, Johnson D, Baldrian P, Björk RG, Epron D, Kieliszewska-Rokicka B, Kjølter R, Kraigher H, Matzner E, Neumann J, Plassard C. The production and turnover of extramatrical mycelium of ectomycorrhizal fungi in forest soils: role in carbon cycling. *Plant Soil* 2013; 366: 1–27.
36. Endo N, Dokmai P, Suwannasai N, Phosri C, Horimai Y, Hirai N, Fukuda M, Yamada A. Ectomycorrhization of *Tricholoma matsutake* with *Abies veitchii* and *Tsuga diversifolia* in the subalpine forests of Japan. *Mycoscience* 2015; 56: 402-

412.

37. Entry J, Rose C, Cromack K. Microbial biomass and nutrient concentrations in hyphal mats of the ectomycorrhizal fungus *Hysterangium setchelli* in a coniferous forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 1992; 24: 447-453.
38. Estrada-Torres A, Santiago-Martínez MG. Avances en el estudio de la ectomicorriza en el estado de Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Ixtacuixtla, Tlaxcala, México, 2003.
39. Evans DE, Briars SA, Williams LE. Active calcium transport by plant cell membranes. *Journal of Experimental Botany* 1991; 42: 285-303.
40. Fernández CW, Koide RT. The role of chitin in the decomposition of ectomycorrhizal fungal litter. *Ecology* 2012; 93(1): 24–28.
41. Flores-Rentería D, Barradas VL, Álvarez-Sánchez J. Ectomycorrhizal pre-inoculation of *Pinus hartwegii* and *Abies religiosa* is replaced by native fungi in a temperate forest of central Mexico. *Symbiosis* 2018; 74: 131-144.
42. Galindo-Flores G, Castillo-Guevara C, Campos-López A, Lara C. Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences* 2015; 93: 855-863.
43. García K, Delteil A, Conéjéro G, Becquer A, Plassard C, Sentenac H, Zimmermann S. Potassium nutrition of ectomycorrhizal *Pinus pinaster*: overexpression of the *Hebeloma cylindrosporum* HcTrk1 transporter affects the translocation of both K<sup>+</sup> and phosphorus in the host plant. *New Phytologist* 2014; 201: 951–960.
44. Gómez-Romero M, Villegas J, Sáenz-Romero C, Lindig-Cisneros R. Efecto de la micorrización en el establecimiento de *Pinus pseudostrobus* en cárcavas. *Madera y Bosques* 2013; 19 (3): 51-63.
45. Griffiths RP, Baham JE, Caldwell BA. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil. *Soil Biology Biochemistry* 1994; 26: 331-337.
46. Guzmán G. Diversity and Use of Traditional Mexican Medicinal Fungi. A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2008; 10: 209-217.

47. Heller G, Lundén K, Finlay RD, Asiegbu FO, Elfstrand M. Expression analysis of Clavata1-like and Nodulin21-like genes from *Pinus sylvestris* during ectomycorrhiza formation. *Mycorrhiza* 2012; 22:271–277.
48. Hryniewicz K, Ciesielska A, Haug I, Baum C. Ectomycorrhiza formation and willow growth promotion as affected by associated bacteria: role of microbial metabolites and use of C sources. *Biol Fertil Soils* 2010; 46: 139–150.
49. Horton TR, Bruns TD. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 2001; 10: 1855-1871.
50. Jiménez-Ruíz M, Pérez-Moreno J, Almaráz-Suárez JJ, Torres-Aquino M. Hongos silvestres con potencial nutricional, medicinal y biotecnológico comercializados en Valles Centrales, Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2013; 4: 199-213.
51. Johnson D, Ijdo M, Genney DR, Anderson IC, Alexander IJ. How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of Experimental Botany* 2005; 56: 1751-1760.
52. Kernaghan G. Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiología* 2005; 49: 511-520.
53. Kim CG, Power SA, Bell JN. Effects of cadmium on growth and glucose utilisation of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Mycorrhiza* 2003; 13: 223-226.
54. Kipfer T, Moser B, Egli S, Wohlgemuth T, Ghazoul J. Ectomycorrhiza succession patterns in *Pinus sylvestris* forests after stand-replacing fire in the Central Alps. *Oecologia* 2011; 167: 219–228.
55. Kouassi KA, Kouadio EJP, Konan KH, Due AE, Kouame LP. Phenolic compounds, organic acid and antioxidant activity of *Lactarius subsericatus*, *Cantharellus platyphyllus* and *Amanita rubescens*, three edible ectomycorrhizal mushrooms from center of Côte d'Ivoire. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry* 2016; 11: 127-139.
56. Kranabetter JM, Durall DM, MacKenzie WH. Diversity and species distribution of ectomycorrhizal fungi along productivity gradients of a southern boreal forest. *Mycorrhiza* 2009; 19: 99-111.

57. Kuhn AJ, Schröder WH, Bauch J. The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce roots. *Plant* 2000; 210: 488-496.
58. Lamus V, Franco S, Montoya L, Endara AR, Caballero LA, Bandala VM. Mycorrhizal synthesis of the edible mushroom *Turbinellus floccosus* with *Abies religiosa* from central Mexico. *Mycoscience* 2015; 56: 622-626.
59. Langer I, Santner J, Krpata D, Fitz WJ, Wenzel WW, Schweiger PF. Ectomycorrhizal impact on Zn accumulation of *Populus tremula* L. grown in metalliferous soil with increasing levels of Zn concentration. *Plant Soil* 2012; 355: 283-297.
60. Leonhardt T, Sácky J, Simek P, Santrucek J, Kotrba P. Metallothionein-like peptides involved in sequestration of Zn in the Zn-accumulating ectomycorrhizal fungus *Russula atropurpurea*. *Metallomics* 2014; 5: 1693-1701.
61. Lilleskov EA, Fahey TJ, Lovett GM. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecological Applications* 2001; 11: 397-410.
62. Lilleskov EA, Fahey TJ, Horton TR, Lovett GM. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology* 2002a; 83: 104-115.
63. Lilleskov EA, Hobbie EA, Fahey TJ. 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* 2002b; 154: 219-231.
64. López-Gutiérrez A, Pérez-Moreno J, Hernández-Santiago F, Uscanga-Mortera E, García-Esteva A, Cetina-Alcalá VM, Cardoso-Villanueva MR, Xoconostle-Cázares B. Nutrient mobilization, growth and field survival of *Pinus pringlei* inoculated with three ectomycorrhizal mushrooms. *Botanical Sciences* 2018; 96 (2): 286-304.
65. Ludwig-Maximilians. An Information System for Characterization and DEtermination of EctoMYcorrhizae (DEEMY) (página en internet). Universität München, Dept. Biologie I – Systematische Mykologie (actualizada 2004-2018; citada 23 de marzo de 2018). Disponible en <http://www.deemy.de/>.

66. Martín TP, Harris JR, Eaton GK, Miller OK. The Efficacy of Ectomycorrhizal Colonization of Pin and Scarlet Oak in Nursery Production. *J. Environ. Hort.* 2003; 21: 45-50.
67. Martínez-Reyes M, Pérez-Moreno J, Villarreal-Ruiz L, Ferrera-Cerrato R, Xoconostle-Cázares B, Vargas-Hernández JJ, Honrubia-García M. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con el hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente.* 2012; 18: 183-192.
68. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. 2ed. Academic Press. London, 1995.
69. Meléndez G, Molina E. Fertilización foliar: Principios y aplicaciones. Memoria. Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, 2002, 84 p.
70. Melgarejo E. Dos hongos silvestres comestibles de la localidad de Incachaca, Cochabamba (Yungas de Bolivia). *Acta Nova* 2014; 6 (4): 384-394.
71. Montoya A, Kong A, Estrada-Torres A, Cifuentes J, Caballero J. Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity* 2004; 17: 115-143.
72. Montoya L, Bandala VM, Baroni TJ, Horton TR. A new species of *Laccaria* in montane cloud forest from eastern Mexico. *Mycoscience* 2014; 56: 597-605.
73. Munkrold L, Kjoller R, Vestberg M, Rosendahl S, Jakobsen I. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 2004; 164: 357-364.
74. Navarro LL. 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. 2000.
75. Ochs M, Brunner I, Stumm W, Cosovic B. Effects of root exudates and humic substances on weathering kinetics. *Water Air Soil Pollut* 1993; 68: 213-229.
76. Paul LR, Chapman BK, Chanway CP. Nitrogen Fixation Associated with *Suillus tomentosus* Tuberculate Ectomycorrhizae on *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Annals of Botany* 2007; 99: 1101-1109.

77. Pérez-Moreno J, Lorenzana A, Carrasco-Hernández FV, Yescas-Pérez A. Los hongos comestibles silvestres del Parque Nacional Izta-Popo. Zoquiapan y Anexos. Colegio de Posgraduados, Semarnat, Conacyt. Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2010.
78. Ramos-Fernández A. Caracterización molecular de los hongos formadores de ectomicorrizas asociados con *Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et. Cham. Tesis de Doctorado. Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada. Universidad Veracruzana. Veracruz, 2015.
79. Rentería-Chávez MC, Pérez-Moreno J, Cetina-Alcalá VM, Ferrera-Cerrato R, Xoconostle-Cázares B. Transferencia de nutrientes y crecimiento de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con hongos comestibles ectomicorrízicos en dos sustratos. Rev. Argent. de Microbiol. 2017; 49: 93-104.
80. Repáč I. Ectomycorrhiza formation and growth of *Picea abies* seedlings inoculated with alginate-bead fungal inoculum in peat and bark compost substrates. Forestry 2007; 80: 517-530.
81. Reverchon F. 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., 2010.
82. Reverchon F, Ortega-Larrocea MP, Pérez-Moreno J, Peña-Ramírez VM, Siebe C. 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 2010; 40: 1165-1174.
83. Reverchon F, Ortega-Larrocea MP, Pérez-Moreno J. 2012. Soil factors influencing ectomycorrhizal sporome distribution in neotropical forest dominated by *Pinus montezumae*, Mexico. Mycoscience 53: 203-210.
84. Roy M, Rochet J, Manzi S, Jargeat P, Gryta H, Moreau PA, Gardes. M. What determines *Alnus*-associated ectomycorrhizal community diversity and specificity? A comparison of host and habitat effects at a regional scale. New Phytologist 2013; 198: 1228–1238.

85. Rincón A, Álvarez IF, Pera J. Effects of ectomycorrhizal inoculation and the type of substrate on mycorrhization, growth and nutrition of containerised *Pinus pinea* L. seedlings produced in a commercial nursery. *Ann. For. Sci.* 2005; 62: 817-822.
86. Ruano MJR. *Viveros forestales: manual de cultivo y proyectos*. Madrid: Mundi prensa, 2003.
87. Sácky J, Leonhardt T, Borovicka J, Gryndler M, Briksí A, Kotrba P. Intracellular sequestration of zinc, cadmium and silver in *Hebeloma mesophaeum* and characterization of its metallothionein genes. *Fungal Genetics and Biology* 2014; 67: 3–14.
88. Sácky J, Leonhardt T, Kotrba P. Functional analysis of two genes coding for distinct cation diffusion facilitators of the ectomycorrhizal Zn-accumulating fungus *Russula atropurpurea*. *Biometals* 2016; 29: 349363.
89. Sánchez JE, Jiménez-Pérez G, Liedo P. Can consumption of antioxidant rich mushrooms extend longevity?: antioxidant activity of *Pleurotus* spp. and its effects on Mexican fruit flies' (*Anastrepha ludens*) longevity. *AGE* 2015; 37: 107 (1-10).
90. Schlunk I, Krause K, Wirth S. A transporter for abiotic stress and plant metabolite resistance in the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma vaccinum*. *Environmental Science and pollution research* 2015; 22 (24): 19384-19393.
91. Santiago-Martínez G, Varela L, Estrada-Torres A. Síntesis *in vitro* de la micorriza de *Pisolithus thinctorius* y *Pinus montezumae*. *Revista Mexicana de Micología* 1993; 9: 77-83.
92. Santiago-Martínez G. Pruebas de crecimiento, descripción e identificación de cultivos de hongos ectomicorrizógenos e inoculación controlada de plántulas, con esporas. Tesis Doctorado, Facultad de Ciencias UNAM, México, D.F., 2002.
93. Secretaría de Desarrollo Agropecuario Protectora de Bosques, PROBOSQUE, *Manual de Producción de Planta Forestal Clima Templado*. Edo. de México. 2007.
94. Simard SW, Perry DA, Jones MD, Myrold DD, Durall DM, Molina R. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* 1997; 388: 579-582.

95. Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal symbiosis. Tercera edición, Academic Press, New York, 2008.
96. Taylor DL, Bruns TD. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Molecular Ecology* 1999; 8: 1837-1850.
97. Trocha LK, Kałucka I, Stasińska M, Nowak W, Dabert M, Leski T, Rudawska M, Oleksyn J. Ectomycorrhizal fungal communities of native and non-native *Pinus* and *Quercus* species in a common garden of 35-year-old trees. *Mycorrhiza*; 2012 22:121–134.
98. Trudell SA, Edmonds RL. Macrofungus communities correlate with moisture and nitrogen abundance in two old-growth conifer forests, Olympic National Park, Washington, USA. *Canadian Journal of Botany* 2004; 82: 781-800.
99. Turnau K, Przybyłowicz WJ, Mesjasz-Przybyłowicz J. Heavy metal distribution in *Suillus luteus* mycorrhizas as revealed by micro PIXE analysis. 2001.
100. Twieg BD, Durall DM, Simard SW, Jones MD. Influence of soil nutrients on ectomycorrhizal communities in a chronosequence of mixed temperate forests. *Mycorrhiza* 2009; 19: 305-316.
101. Van Tichelen KK, Vanstraelen T, Colpaert JV. Nutrient uptake by intact mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings: a diagnostic tool to detect copper toxicity. *Tree Physiology* 1999; 19: 189-196.
102. Van Tichelen KK, Colpaert JV, Vangronsveld J. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytologist* 2001; 150: 203-213.
103. Veselkin DV. Anatomical structure of ectomycorrhiza in *Abies sibirica* Ledeb. and *Picea obovata* Ledeb. under conditions of forest ecosystems polluted with emissions from copper-smelting works. *Russian Journal of Ecology* 2004; 35 (2): 71-78.
104. Vitousek PM, Turner DR, Kitayama K. Foliar nutrients during long-term soil development in Hawaiian montane rain forest. *Ecology* 1995; 76: 712-720.

105. Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman DG. Human alteration of the global nitrogen cycle: Source and consequences. *Ecological Applications* 1997; 7: 737-750.
106. Wadud MA, Nara K, Lian C, Ishida TA, Hogetsu T. Genet dynamics and ecological functions of the Pioneer ectomycorrhizal fungi *Laccaria amethystina* and *Laccaria laccata* in a volcanic desert on Mount Fuji. *Mycorrhiza* 2014; 24:551–563.
107. Wallander H, Wickman T. Biotite and microcline as potassium sources in ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings. *Mycorrhiza* 1999; 9: 25-32.
108. Wallander H. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonised by different ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 2000a; 218: 249-256.
109. Wallander H. 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* 2000b; 222: 215-229.
110. Wallander H, Johansson L, Pallon J. PIXE analysis to estimate the elemental composition of ectomycorrhizal rhizomorphs grown in contact with different minerals in forest soil. *Microbiology Ecology* 2002; 39: 147-156.
111. Walker RF, McLaughlin SB, West DC. Establishment of sweet birch on Surface mine spoil as influenced by mycorrhizal inoculation and fertility. *Restoration Ecology* 2004; 12:8-19.
112. Wen Z, Murata M, Xu Z, Chen Y, Nara K. Ectomycorrhizal fungal communities on the endangered Chinese Douglas-fir (*Pseudotsuga sinensis*) indicating regional fungal sharing overrides host conservatism across geographical regions. *Plant Soil* 2015; 387:189–199.
113. Xochitiotzin HM. 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, 2000.

# CAPÍTULO I. TRANSFERENCIA NUTRIMENTAL Y CRECIMIENTO DE *Abies religiosa* (Kunth) Schldt et. Cham CON DOS INÓCULOS DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS, EN DOS SUSTRATOS

## 1.1 RESUMEN

La ectomicorriza es una simbiosis mutualista que se establece entre 5000 especies de plantas con más de 20000 especies de hongos. La inoculación con hongos ectomicorrízicos constituye una herramienta fundamental en la producción de pináceas de importancia forestal. Sin embargo, diversas especies como *Abies religiosa* (Kunth) Schldt et. Cham. han recibido escaso interés. En el presente trabajo se evaluó el efecto de dos inóculos ectomicorrízicos [*Laccaria proxima* (Boud.) Pat. y suelo nativo de oyamel] y dos sustratos (aserrín y composta en relaciones de 8:2 y 9:1, respectivamente), en el crecimiento, contenido y movilización nutrimental de *A. religiosa*. Además, se incluyó un testigo sin inocular, se tuvieron entonces 6 tratamientos con 15 repeticiones cada uno, haciendo un total de 90 unidades experimentales, cada una constituida por un árbol. A los 550 días, se evaluaron las variables de crecimiento, contenido y movilización de nutrimentos en las plantas, así como el porcentaje de micorrización y se caracterizaron los morfotipos ectomicorrízicos. Las plantas inoculadas con *L. proxima*, desarrolladas en el sustrato con 20% de composta, presentaron un mejor crecimiento, mayores contenidos de macronutrientes y micronutrientes, así como mayor movilización nutrimental a los vástagos. La colonización micorrízica varió de 56.9 a 90.9% y el mayor porcentaje se registró en plantas inoculadas con *L. proxima* crecidas en el sustrato con 20% de composta. Se identificaron 3 morfotipos y se caracterizaron morfoanatómicamente. El presente trabajo demuestra que existen diferencias en los efectos benéficos a la planta por parte de los hongos ectomicorrízicos inoculados y los sustratos evaluados. Este trabajo demuestra el potencial de *L. proxima* en el sustrato de 20% composta y 80% aserrín para la producción de plantas de *Abies religiosa*. De esta forma, las plantaciones y las reforestaciones con esta especie podrían ser más exitosas. Con ello, se contribuiría a la mejoría de los servicios ecosistémicos de los bosques de oyamel.

**Palabras clave:** *Laccaria proxima*, inóculo ectomicorrízico nativo, micorrización, caracterización de morfotipos ectomicorrízicos, contenido de nutrimentos.

# NUTRIENT TRANSFER AND GROWTH OF *Abies religiosa* (Kunth) Schltld et. Cham WITH TWO INOCULES OF ECTOMICORRHIZAL FUNGI, IN TWO SUBSTRATES

## 1.2 ABSTRACT

The ectomycorrhiza is a mutualist symbiosis that is established among 5000 plant species with more than 20,000 species of fungi. The inoculation with ectomycorrhizal fungi constitutes a fundamental tool in the production of pinaceae of forest importance. However, various species such as *Abies religiosa* (Kunth) Schltld et. Cham. have received little attention. In the present work the effect of two ectomycorrhizal inocula [*Laccaria proxima* (Boud.) Pat. and native soil of *A. religiosa*] and two substrates (sawdust and compost in ratios of 8: 2 and 9: 1, respectively), in the growth, content and nutritional mobilization of *A. religiosa* was evaluated. Also a control without inoculation was included. There were then 6 treatments with 15 replicates each one producing a total of 90 experimental units, each one consisting of one tree. At 550 days, the variables of growth, content and mobilization of nutrients in the plants were evaluated, as well as the percentage of mycorrhization and the ectomycorrhizal morphotypes were characterized. The plants inoculated with *L. proxima*, grown on the substrate with 20% compost, showed better growth, higher levels of macronutrients and micronutrients, as well as greater nutrimental mobilization of the shoots. Mycorrhizal colonization varied from 56.9 to 90.9% and the highest percentage was recorded in plants inoculated with *L. proxima* grown on the substrate with 20% compost. Three morphotypes were identified and characterized morphoanatomically. The present work shows that there are differences in the beneficial effects to the plant by the inoculated ectomycorrhizal fungi and the evaluated substrates. This work then demonstrates the potential of *L. proxima* in the 20% compost and 80% sawdust substrate for the production of *Abies religiosa* plants. In this way, plantations and reforestations with this forest species could be more successful. With this, there would be a contribution to the ecosystem services of *A. religiosa* forests.

**Keywords:** *Laccaria proxima*, native ectomycorrhizal inoculum, mycorrhization, morphotyping, nutrient content.

### 1.3 INTRODUCCIÓN

La ectomicorriza es una asociación simbiótica que se establece entre alrededor de 20000 especies de hongos basidiomicetos y ascomicetos con las raíces de más de 5000 especies de gimnospermas o angiospermas (dentro de las que se incluyen miembros de familias de árboles de enorme importancia forestal) (Smith y Read, 2008). Los hongos le facilitan a la planta la absorción de nutrimentos y de agua, aumentan la producción de fitohormonas y protección contra patógenos. Además, las plantas micorrizadas toleran mejor las condiciones extremas, como los suelos con un pH muy ácido o muy básico y como la contaminación por metales pesados. Las plantas a cambio proporcionan entre 10 y 20% de los fotosintatos netos en carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, nucleótidos, aldehídos, fenoles, esterres y terpenoides producidos para la formación, mantenimiento y función de las estructuras micorrízicas (Kernaghan, 2005; Kouassi *et al.*, 2016).

Por lo que, la inoculación ectomicorrízica resulta fundamental en las especies forestales. *Abies religiosa* (Kunth) Schlitd et. Cham. (oyamel) es una especie mesoamericana, que se distribuye de 2500 a 3660 msnm (Calderón y Rzedowski y Rzedowski, 2001). Sin embargo, en los bosques donde esta especie es dominante existe una alta tasa de deforestación originada por actividades antropogénicas. Adicionalmente, existe una alta tasa de mortalidad cuando las plantas son llevadas de vivero a campo, la cual puede alcanzar hasta 65% (Maser *et al.*, 2007). Por esta razón es de enorme relevancia, conocer qué especies de hongos micorrízicos nativos se pueden utilizar como inóculos en las plántulas, con la finalidad de mejorar la supervivencia en las reforestaciones o en las plantaciones forestales hasta 70 a 90% (Isla-Bauer, 2004). Para ello es necesario estudiar los hongos ectomicorrízicos que aporten más beneficios a las plantas, incluyendo mayor crecimiento y translocación nutrimental, así como seleccionar esporomas que puedan servir para consumo humano (Carrasco-Hernández *et al.*, 2011; Wang y Hall, 2004). Por su parte, *Laccaria proxima* es una especie comestible ectomicorrízica de enorme importancia social, cultural y económica en el centro de México (Pérez-Moreno *et al.*, 2010). Adicionalmente, es de gran relevancia que además de emplear los inóculos micorrízicos apropiados, se considere el tipo de sustrato para producir plantas de calidad. A pesar de este escenario, estudios que evalúen de manera simultánea el efecto de los sustratos y diferentes micobiontes, han recibido escasa atención. Por lo anterior, se realizó la presente investigación cuyo objetivo

fue evaluar el efecto de dos fuentes de inóculo ectomicorrízico y de dos sustratos con diferentes contenidos de materia orgánica, en el crecimiento y contenido de 10 macro y micronutrientes en *A. religiosa*.

#### 1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *A. religiosa* fueron donadas en 2015 por la Comisión de Recursos Naturales (CORENA) de la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México. Previo a su siembra, las semillas se sumergieron completamente en agua potable durante 18 h a temperatura ambiente. En seguida se procedió a desinfectarlas en hipoclorito de sodio a 0.4%, durante 30 minutos. Después, se drenó la solución y se enjuagaron las semillas con agua limpia. Posteriormente, las semillas se secaron durante 4 h a temperatura ambiente.

Los esporomas del hongo ectomicorrízico *L. proxima* (Figura 1B) empleado procedieron de áreas boscosas del municipio de Ozumba, estado de México. El inóculo de esta especie de hongo se elaboró conforme el procedimiento descrito por Carrasco-Hernández *et al.* (2011). Esta técnica consistió en deshidratar los píleos de los hongos a 36°C, después se molieron y se pasaron por un tamiz de 1 mm de abertura (Grupo FIICSA, Ciudad de México). El inóculo del hongo se almacenó a 5°C hasta la inoculación de los oyameles. La segunda fuente de inóculo ectomicorrízico consistió en raíces ectomicorrizadas y suelo rizosférico procedentes de bosques de *A. religiosa* en la comunidad de San Pablo Ixayoc, municipio de Texcoco. Este inóculo fue denominado “inóculo nativo” o “suelo nativo”, y se almacenó a 5°C hasta su utilización.

Se ocuparon tubetes forestales de plástico negros de 125 cm<sup>3</sup>. Estos fueron llenados con dos diferentes sustratos: 1) una mezcla de aserrín con composta en proporción de 80% y 20%, respectivamente (denominado “sustrato con mayor proporción de composta”); y 2) una mezcla de aserrín y composta en proporción de 90% y 10%, respectivamente (denominado “sustrato con menor proporción de composta”) (ANEXO I). Estos sustratos fueron esterilizados en una olla de presión, a una temperatura de 120°C por 3 h, durante tres días.

Posteriormente, se sembraron tres semillas por tubete y después de un mes se dejó una planta por tubete. Los inóculos ectomicorrízicos se agregaron previamente a la siembra de

las semillas. En *L. proxima* cada planta fue inoculada con 3 g (de  $10^7$  a  $10^8$  esporas). Mientras que en el caso del inóculo nativo se agregaron 30 g por planta. Las plantas fueron regadas dos veces por semana con agua destilada estéril por 550 días, que fue la duración del experimento.

El tipo de experimento utilizado fue de dos factores en un diseño experimental completamente al azar, siendo el primer factor el sustrato y el segundo las fuentes de inóculo ectomicorrízico. Se estudiaron dos sustratos, uno con 10% y otro con 20% de composta, previamente descritos. En combinación con los sustratos se evaluaron dos fuentes de inóculo ectomicorrízico: *L. proxima* y suelo nativo; y adicionalmente se incluyó un testigo sin inocular. Se tuvieron entonces 6 tratamientos, cada uno con 15 repeticiones, lo que dio un total de 90 unidades experimentales cada una consistente de un árbol.

Cada mes se midió la altura y el diámetro del tallo de todas las plantas, utilizando un vernier digital (Truper CALDI-6MP, México). Al final del experimento se cortó el vástago del cepellón que contenía la raíz. Las raíces fueron lavadas con agua para separar el suelo y se emplearon tres tamices [de 1.19, 0.180 y 0.085 mm de abertura (Grupo FIICSA, Ciudad de México)] para reducir la pérdida de éstas. Una vez separada la parte aérea de la raíz, se procedió al deshidratado de las mismas a 60°C en un horno (SHELLAB, Modelo CE5F, Cornelius, Oregón, U.S.A). Posteriormente, las partes aéreas y de las raíces se pesaron en una balanza analítica (Sartorius AC210S, Alemania) y se molieron. Este proceso se efectuó en 11 de las 15 repeticiones por tratamiento, dado que la determinación de la colonización ectomicorrízica es destructivo y requirió de 4 plantas. En cada una de las 11 plantas en las que se evaluó el peso seco se efectuó la determinación de macro y micronutrientes. En la parte aérea y en la parte radical de cada tratamiento, se consideró una muestra de 0.25 g para agregarle una solución de ácido sulfúrico, ácido perclórico y peróxido de hidrógeno (en una relación de 2:1:1), de acuerdo a lo descrito por Alcántar-González y Sandoval-Villa (1999). El extracto resultante se aforó a 25 ml y se filtró con papel de poro medio. Se tomó una alícuota de 10 ml para la cuantificación de N por el método de arrastre de vapor y titulación con ácido sulfúrico (Bremner, 1965). De manera directa en el extracto, se cuantificaron las concentraciones de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn y Na usando un equipo de espectrometría de emisión e inducción por plasma acoplado (Agilent, 725 Series ICP-OFS, California, U.S.A).

Se calcularon las relaciones parte aérea: raíz de los nutrientes de las plantas inoculadas (con *L. proxima* o con el suelo nativo de bosque de *A. religiosa*) y sin inocular. Por tratamiento, el contenido de cada nutriente en la parte aérea fue dividido entre el contenido de éste en la raíz. Los resultados de la relación del contenido de nutrientes parte aérea: raíz de las plantas inoculadas fueron divididos entre los valores obtenidos en las plantas no inoculadas, cifra que es indicadora de la movilización de nutrientes a la parte aérea (Rentería-Chávez *et al.*, 2017).

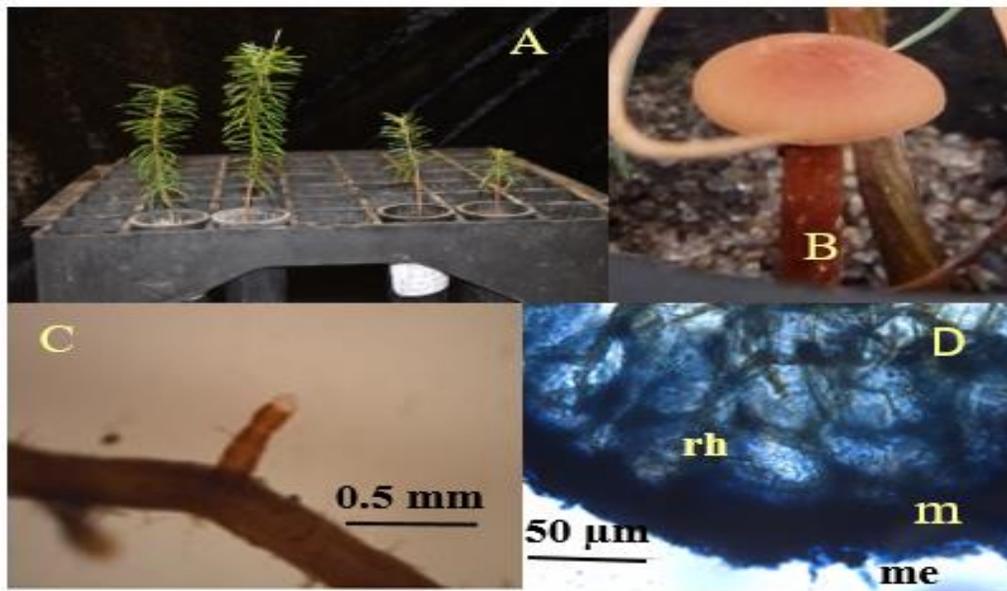
El porcentaje de micorrización se calculó como lo mencionó Münzenberger *et al.* (2004), en donde los ápices ectomicorrízicos turgentes de la raíz se dividieron entre el total de ápices y el resultado se multiplicó por 100. Se seleccionaron las raíces micorrizadas y se desprendieron del resto de las raíces principales, empleando unas pinzas de disección. Utilizando un microscopio estereoscópico (Leica MZ6, Alemania), los ápices micorrízicos se limpiaron con un pincel y agua para eliminar los agregados del sustrato y poder llevar a cabo la caracterización micromorfológica de los morfotipos ectomicorrízicos. Estos se determinaron y se describieron usando los métodos propuestos por Agerer (1987-2002, 2006), los cuales se basaron en variables como color, tipo de ramificación, forma, textura y características anatómicas. Este método junto con la clave propuesta por Ludwig-Maximilians (2004) se emplearon para revisar los ápices micorrízicos en los microscopios estereoscópico (Leica MZ6, Alemania) y óptico (Leica LM1000, Alemania), y realizar el registro de las variables. El color de los morfotipos ectomicorrízicos se determinó con las cartas de color de Munsell (Munsell Color Laboratory, New Windsor, New York, 2000).

Para todas las variables evaluadas se calculó el valor del promedio y su error estándar, así como el ANAVA verificando los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Y posteriormente, se aplicaron las pruebas de comparación de medias, según Tukey ( $p=0.05$ ), utilizando el programa estadístico SAS (versión 9.4, 2013).

## 1.5 RESULTADOS

### 1.5.1 Crecimiento vegetal

En las plantas que se desarrollaron en el sustrato con más cantidad de composta existió un mayor crecimiento cuando se inocularon con las fuentes de inóculo ectomicorrízico, en relación con las plantas no inoculadas (Figura 3A). En este sustrato existió un mayor peso seco aéreo, radical y total, así como mayor diámetro del tallo en plantas inoculadas con *L. proxima*, en comparación con las inoculadas con suelo nativo. En el sustrato con menor cantidad de composta no existieron diferencias para ninguna de las variables de crecimiento evaluadas, independientemente de la fuente de inóculo ectomicorrízico empleada (Tabla 5).



**Figura 3.** Plantas de *A. religiosa* y hongos ectomicorrízicos asociados. **A:** Plantas de *A. religiosa* crecidas en el sustrato con 20% de composta, del lado izquierdo se encuentran las que fueron inoculadas con *L. proxima* y del lado derecho las no inoculadas; **B:** Esporoma de *L. proxima*; **C:** Morfotipo de *L. proxima* con *A. religiosa* (4.5x); **D:** Corte transversal del morfotipo mostrado en (C), en azul de tripán, en donde se observa su manto (m), red de Hartig (rh) y micelio externo (me) (40x).

**Tabla 5.** Peso seco de la parte aérea y parte radical, altura y diámetro del tallo de plantas de *A.religiosa*, 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos.

Tratamiento	Peso seco (mg)			Altura (cm)	Diámetro (mm)
	Parte aérea	Raíz	Total		
<b>Sustrato con 80% de aserrín y 20% de composta</b>					
<b>pni</b>	30c±0.003	20c±0.004	50c±0.005	6.68bc±0.316	0.93d±0.050
<b>piLp</b>	120a±0.006	50a±0.004	170a±0.010	11.49a±0.919	1.46a±0.089
<b>pinAr</b>	70b±0.005	30b±0.002	100b±0.009	5.88c±0.515	0.99cd±0.049
<b>Sustrato con 90% de aserrín y 10% de composta</b>					
<b>pni</b>	70b±0.004	30b±0.002	100b±0.006	6.56bc±0.403	1.25ab± 0.071
<b>piLp</b>	80b±0.007	40ab±0.003	120b±0.010	8.35b±0.942	1.19abc±0.051
<b>pinAr</b>	70b±0.003	30b±0.002	100b±0.004	5.22c±0.227	1.04bcd±0.060

pni= plantas no inoculadas, piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. Los valores con la misma letra de cada columna son iguales, según Tukey (p=0.05).

### 1.5.2 Contenido de macronutrientes en plantas de oyamel

En el sustrato con mayor contenido de composta se observó que en la parte aérea y en el total de las plantas inoculadas con *L. proxima* los contenidos de N, P, K, Ca y Mg fueron mayores, en comparación con las plantas inoculadas con suelo nativo y las que no se inocularon. En la raíz, se observó la misma tendencia sólo para N y K. En el caso de Ca y Mg, independientemente de la fuente de inóculo empleado, se observaron mayores valores en plantas inoculadas que en plantas no inoculadas (Tabla 6).

En el sustrato con menor proporción de composta se observaron mayores valores en el N de parte aérea, raíz y total de las plantas inoculadas con *L. proxima*, en relación con las plantas inoculadas con suelo nativo y las que no se inocularon. Una tendencia similar se observó en el K de la parte aérea y total. En términos generales, independientemente de la parte de la planta, en el resto de los macronutrientes no existieron diferencias ( $p=0.05$ ) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Contenido de macronutrientes de plantas de *A.religiosa*, 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos.

Tratamientos	N	P	K	Ca	Mg
(µg por planta)					
<b>Sustrato con 80% de aserrín y 20% de composta</b>					
<b>Parte aérea</b>					
<b>pni</b>	410d±0.041	140c±0.013	240d±0.024	190d±0.019	140c±0.014
<b>piLp</b>	2120a±0.074	490a±0.024	1180a±0.042	730a±0.037	400a±0.020
<b>pinAr</b>	670c±0.044	240b±0.016	333c±0.022	310bc±0.020	220b±0.015
<b>Raíz</b>					
<b>pni</b>	111d±0.012	111ab±0.019	40d±0.005	160b±0.021	60b±0.008
<b>piLp</b>	360a±0.016	111ab±0.009	150a±0.007	340a±0.030	140a±0.033
<b>pinAr</b>	150bc±0.009	130a±0.008	60c±0.004	330a±0.021	110a±0.007
<b>Total</b>					
<b>pni</b>	490d±0.059	190d±0.027	280d±0.029	350c±0.039	200c±0.022
<b>piLp</b>	2430a±0.102	590a±0.036	1320a±0.052	1070a±0.065	530a±0.036
<b>pinAr</b>	790c±0.042	360b±0.020	410c±0.034	630b±0.036	320b±0.018

**Sustrato con 90% de aserrín y 10% de composta**

**Parte aérea**

<b>pni</b>	570c±0.030	190b±0.010	330c±0.017	300bc±0.016	210b±0.011
<b>piLp</b>	1130b±0.065	230b±0.021	590b±0.038	380b±0.033	210b±0.019
<b>pinAr</b>	430d±0.017	200b±0.008	280cd±0.011	260c±0.010	190b±0.007

**Raíz**

<b>pni</b>	120cd±0.008	90ab±0.006	70c±0.004	270a±0.017	130a±0.008
<b>piLp</b>	380a±0.023	80b±0.008	100b±0.009	250a±0.023	100a±0.009
<b>pinAr</b>	180b±0.009	110a±0.006	80bc±0.004	240a±0.013	110a±0.006

**Total**

<b>pni</b>	700c±0.038	280c±0.016	400c±0.022	570b±0.032	330b±0.019
<b>piLp</b>	1380b±0.146	320c±0.029	580b±0.073	620b±0.057	310b±0.028
<b>pinAr</b>	610cd±0.026	320cd±0.014	370c±0.015	500b±0.023	290b±0.013

---

pni= plantas no inoculadas, piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. Los valores con la misma letra, para cada parte de la planta, son iguales, según Tukey (p=0.05).

### 1.5.3 Contenido de micronutrientes en plantas de oyamel

En el sustrato con mayor proporción de composta se observaron mayores cantidades de Fe, Cu, Mn y Zn en la parte aérea y en el total de las plantas inoculadas, en comparación con plantas no inoculadas. El contenido de Na fue mayor en plantas inoculadas con *L. proxima*, en comparación con plantas inoculadas con suelo nativo o sin inocular. En el caso de los contenidos de Fe y de Zn en la raíz, éstos fueron más altos en *L. proxima* en comparación con los otros dos tratamientos (Tabla 7). En el sustrato con menor cantidad de composta se observaron los mayores contenidos de Fe y Zn en la parte aérea, radical y total en plantas inoculadas con *L. proxima*, en comparación con plantas inoculadas con suelo nativo o sin inocular. Una tendencia similar se observó en el contenido de Na en la parte aérea y total. En términos generales, en el resto de los micronutrientes no se observaron tendencias claras entre plantas inoculadas y sin inocular (Tabla 7).

**Tabla 7.** Contenido de micronutrientes de plantas de *A.religiosa*, 550 días después de la siembra inoculadas con dos fuentes de inóculo, crecidas en dos sustratos.

Tratamientos	Fe	Cu	Mn	Zn	Na
(µg por planta)					
Sustrato con 80% de aserrín y 20% de composta					
<b>Parte aérea</b>					
<b>pni</b>	6.7c ± 0.68	0.1d ± 0.01	4.9c ± 0.49	0.6d ± 0.06	91.3c ± 9.21
<b>piLp</b>	16.6a ± 0.83	0.6a ± 0.02	11.1a ± 0.56	3.4a ± 0.17	272.4a ± 13.66
<b>pinAr</b>	15.5a ± 1.01	0.2b ± 0.02	11.1a ± 0.72	1.2c ± 0.08	109.2bc ± 7.10
<b>Raíz</b>					
<b>pni</b>	24.4d ± 3.09	0.2c ± 0.03	2.2d ± 0.28	0.5c ± 0.07	99.0e ± 12.54
<b>piLp</b>	47.3ab ± 2.65	0.5a ± 0.04	3.1bcd ± 0.27	1.5a ± 0.09	283.8a ± 15.91
<b>pinAr</b>	33.0c ± 2.08	0.3ab ± 0.02	4.8a ± 0.30	0.4c ± 0.03	136.7cd ± 8.61
<b>Total</b>					
<b>pni</b>	31.1d ± 3.74	0.3c ± 0.03	7.1c ± 0.76	1.1d ± 0.13	190.3c ± 21.42
<b>piLp</b>	63.2ab ± 3.10	1.0a ± 0.05	14.2a ± 0.81	4.8a ± 0.19	520.7a ± 29.33
<b>pinAr</b>	47.9bc ± 2.83	0.5b ± 0.03	15.4a ± 0.84	1.5c ± 0.08	241.0bc ± 13.88

**Sustrato con 90% de aserrín y 10% de composta**

**Parte aérea**

<b>pni</b>	7.6bc ± 0.40	0.2c ± 0.01	6.5b ± 0.34	0.9c ± 0.05	141.4b ± 7.44
<b>piLp</b>	14.1a ± 1.25	0.2bc ± 0.02	5.9bc ± 0.53	1.6b ± 0.12	271.5a ± 19.16
<b>pinAr</b>	8.9b ± 0.35	0.2bc ± 0.01	11.5a ± 0.45	1.1c ± 0.04	100.4c ± 3.92

**Raíz**

<b>pni</b>	23.1d ± 1.43	0.5a ± 0.03	2.9cd ± 0.18	0.7b ± 0.04	178.9bc ± 11.07
<b>piLp</b>	54.8a ± 4.07	0.4a ± 0.04	3.8abc ± 0.36	1.1a ± 0.08	246.1ab ± 23.38
<b>pinAr</b>	35.2bc ± 1.86	0.3b ± 0.02	4.2ab ± 0.22	0.5c ± 0.03	127.0de ± 6.72

**Total**

<b>pni</b>	30.6d ± 1.82	0.6b ± 0.04	9.4b ± 0.52	1.6c ± 0.09	320.3b ± 18.39
<b>piLp</b>	68.0a ± 4.98	0.6b ± 0.06	9.7b ± 0.88	2.8b ± 0.20	500.7a ± 35.93
<b>pinAr</b>	44.1c ± 2.19	0.5b ± 0.02	15.7a ± 0.66	1.6c ± 0.07	227.4c ± 10.47

---

pni= plantas no inoculadas, piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. Los valores con la misma letra, para cada parte de la planta, son iguales, según Tukey (p=0.05).

#### 1.5.4 Movilización nutrimental

En términos generales, existió una mayor movilización nutrimental, vía hongos ectomicorrízicos, a la parte aérea de las plantas crecidas en el sustrato con mayor cantidad de composta. Las plantas inoculadas con *L. proxima*, crecidas en dicho sustrato, movilizaron todos los nutrientes hacia la parte aérea, principalmente P, Ca, Cu y Zn. En contraste, las plantas inoculadas con suelo nativo solamente movilizaron 6 de los 10 nutrientes evaluados, principalmente Cu y Zn. En el caso del sustrato con menor cantidad de composta, en general, existió escasa movilización; excepto para Cu y Zn en plantas inoculadas con suelo nativo (Tabla 8).

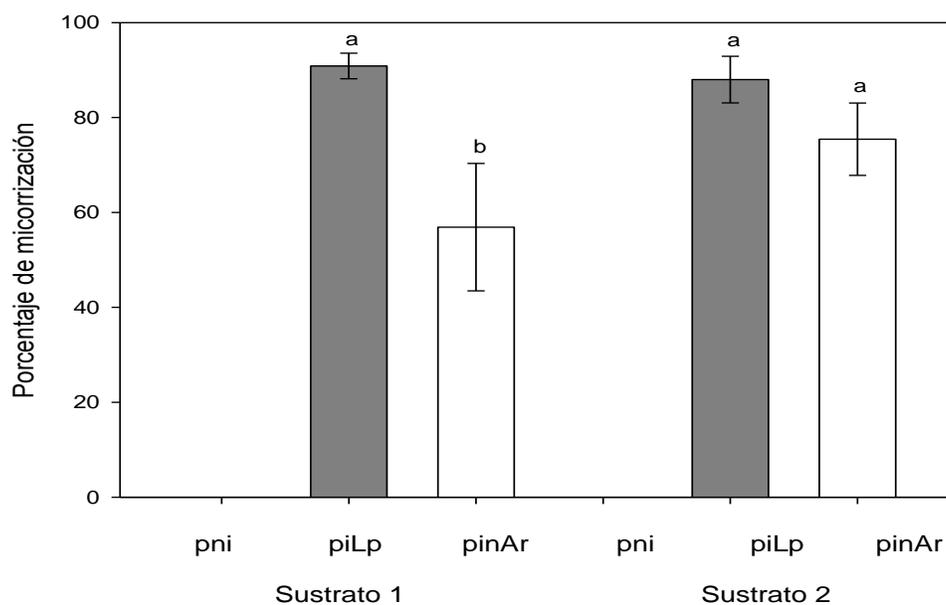
**Tabla 8.** Relaciones parte aérea: raíz de macro y micronutrientes de *A. religiosa*, 550 días después de la siembra inoculado con hongos ectomicorrízicos, crecidas en dos sustratos.

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Mn	Zn	Na
<b>Sustrato con 80% de aserrín y 20% de composta</b>										
<b>pni</b>	3.84	1.25	6.20	1.13	2.14	0.27	0.40	2.20	1.21	0.92
<b>piLp.</b>	5.86	4.32	7.80	2.14	2.88	0.35	1.23	3.60	2.21	0.96
<b>pinAr</b>	4.55	1.91	5.23	0.92	2.01	0.47	0.73	2.32	2.88	0.80
<b>piLp: pni</b>	1.53	<b>3.46</b>	1.26	<b>1.89</b>	1.34	1.30	<b>3.07</b>	1.64	<b>1.83</b>	1.04
<b>pinAr: pni</b>	1.18	1.53	0.84	0.81	0.94	1.74	<b>1.82</b>	1.05	<b>2.38</b>	0.87
<b>Sustrato con 90% de aserrín y 10% de composta</b>										
<b>pni</b>	4.62	2.08	4.55	1.12	1.65	0.33	0.37	2.29	1.28	0.79
<b>piLp.</b>	2.99	2.75	5.75	1.53	2.12	0.26	0.52	1.56	1.49	1.10
<b>pinAr</b>	2.42	1.75	3.48	1.08	1.77	0.25	0.72	2.73	2.31	0.79
<b>piLp: pni</b>	0.63	1.32	1.26	1.37	1.28	0.79	1.40	0.68	1.16	1.39
<b>pinAr: pni</b>	0.52	0.84	0.76	0.96	1.07	0.76	<b>1.95</b>	1.19	<b>1.80</b>	1.00

pni= plantas no inoculadas piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. En negritas se marcaron las relaciones indicadoras de movilización nutrimental a la parte aérea más relevantes.

### 1.5.5 Porcentaje de micorrización

No se observó colonización ectomicorrízica en plantas no inoculadas. El promedio de micorrización varió de 56.9% a 90.85%, de acuerdo a los tratamientos inoculados. Existieron diferencias (Tukey  $p=0.05$ ) entre plantas micorrizadas con los dos inóculos evaluados dependiendo del sustrato. En plantas inoculadas con *L. proxima* crecidas en el sustrato con alta proporción de composta, la micorrización fue mayor en comparación con plantas inoculadas con suelo nativo. En contraste, no existieron diferencias entre los tratamientos inoculados cuando las plantas fueron crecidas en el sustrato con menor proporción de composta (Figura 4).



**Figura 4.** Colonización micorrízica en plantas de *A. religiosa*, 550 días después de la siembra inoculadas con dos inóculos de hongos ectomicorrízicos, en dos sustratos. Sustrato 1 = 20% composta y 80% aserrín; Sustrato 2 = 10% composta y 90% aserrín. pni= plantas no inoculadas, piLp= plantas inoculadas con *Laccaria proxima*, pinAr= plantas inoculadas con suelo nativo de bosque de *Abies religiosa*. Para cada sustrato, las barras con una misma letra son iguales según Tukey ( $p=0.05$ ).

### 1.5.6 Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos

A continuación, se menciona la caracterización morfoanatómica de los tres morfotipos encontrados en el presente trabajo en *A. religiosa*. En las plantas inoculadas con *L. proxima* se encontró el morfotipo con las siguientes características:

**Morfotipo de *L. proxima*.** Color rojo amarillento (5YR 5/6) con terminación amarillo pálido (2.5Y 8/4) (Munsell Color Laboratory, New Windsor, New York, 2000), ramificación simple o dicotómica, forma recta, superficie del manto lisa, las dimensiones del ápice fueron de 0.62 mm en su longitud y 0.25 mm en su diámetro (Figura 3C). Al realizar cortes longitudinales en los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso. Se realizaron cortes transversales en los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y el manto, siendo éstos en promedio de 131.03  $\mu\text{m}$ , 68.97  $\mu\text{m}$  y 34.48  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Figura 3D). Se determinó taxonómicamente por sus características morfológicas y pertenece a la especie *Laccaria proxima* (Boud.) Pat. (Galindo-Flores *et al.*, 2015; Ludwig-Maximilians, 2018). Este morfotipo se encontró en 354 ápices de las plantas de *A. religiosa* en promedio en los dos tipos de sustratos y con las dos fuentes de inóculo.

En el caso de plantas inoculadas con suelo nativo de *A. religiosa* se identificaron dos morfotipos ectomicorrízicos, los cuales se describen a continuación:

**Morfotipo 1 de Suelo nativo de bosque de *A. religiosa*.** Color café rojizo oscuro (5YR 3/4) con terminación amarillo pálido (2.5Y 8/4) (Munsell Color Laboratory, New Windsor, New York, 2000), ramificación dicotómica, forma tortuosa, superficie del manto granosa, las dimensiones del ápice fueron 0.9 mm en su longitud y 0.3 mm en su diámetro. Al realizar cortes longitudinales en los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso. Se realizaron cortes transversales en los ápices y las medidas en promedio fueron de 125.86  $\mu\text{m}$  en los haces vasculares, en las células del cortex de 86.21  $\mu\text{m}$  y en el manto de 29.31  $\mu\text{m}$ . Este morfotipo se encontró en 25 ápices de las plantas de oyamel en promedio en los dos tipos de sustratos.

**Morfotipo 2 de SA.** Color rojo amarillento (5YR 4/6) con terminación blanca (5Y 8/1) (Munsell Color Laboratory, New Windsor, New York, 2000), ramificación dicotómica, forma inclinada, superficie del manto lisa, hifas y rizomorfos escasos, las dimensiones del

ápice fueron de 1.3 mm en su longitud y 0.33 mm en su diámetro. Al realizar cortes longitudinales en los ápices se observó que el tejido en las capas interna y externa del manto fue plectenquimatoso. Se realizaron cortes transversales en los ápices para medir los haces vasculares, las células del cortex y manto, siendo éstos en promedio de 112.07  $\mu\text{m}$ , 51.72  $\mu\text{m}$  y 31.03  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Este morfotipo se encontró en 3 ápices de las plantas de *A. religiosa* que crecieron en el sustrato con mayor contenido de composta, en promedio.

## 1.6 DISCUSIÓN

### 1.6.1 Crecimiento vegetal

Previamente se ha demostrado que la inoculación con hongos ectomicorrízicos incrementa el crecimiento en Pináceas. Por ejemplo, Martínez-Reyes *et al.* (2012) registró aumentos en peso seco aéreo, radial y total, así como altura y diámetro en plantas de *Pinus greggii* Engelm. ex Parl. inoculadas con *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Quél. en comparación con plantas no inoculadas. Las mismas tendencias fueron registradas en *Pinus montezumae* Lamb. por Barragán-Soriano *et al.* (2018) al inocular con el mismo hongo; por Carrasco-Hernández *et al.* (2011) al inocular *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. con seis hongos ectomicorrízicos solos o en combinación; y por López *et al.* (2018) al inocular *Pinus pringlei* Shaw. con 3 hongos ectomicorrízicos. Estos últimos autores demostraron que las diferencias de crecimiento en invernadero originaron una mayor supervivencia en campo en plantas micorrizadas, en comparación con plantas no micorrizadas

Anteriormente, se ha demostrado que el uso de distintos sustratos afecta diferencialmente el crecimiento de las plantas ectomicorrizadas. De manera similar a lo observado en este trabajo, Repáč (2007) reportó mayor crecimiento de vástago y de peso seco total en *Picea abies* (L.) H. Karst. inoculado con *Hebeloma crustuliniforme* (Bull.) Quél. *Hygrophorus agathosmus* (Fr.) Fr. y *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. en sustratos que contenían turba. Sin embargo, algunos autores han reportado la tendencia contraria. Rincón *et al.* (2005) encontraron que no existió una diferencia en el crecimiento durante el

primer año de *Pinus pinea* L. inoculado en *Melanogaster ambiguus* (Vittad.) Tul. & C. Tul., *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch, *Rhizopogon luteolus* Fr., *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. M. Fr. y *Scleroderma verrucosum* (Bull.) Pers.

Rentería-Chávez *et al.* (2017) reportaron que plantas de *P. greggii* inoculadas con *Hebeloma leucosarx* P.D. Orton, *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton y *Laccaria laccata* (Scop.) Cooke presentaron mayores crecimientos, en términos de peso seco aéreo, radical y total, así como en altura y diámetro del tallo, en comparación con plantas no inoculadas, independientemente de los dos sustratos evaluados. Sin embargo, dichos autores encontraron que este efecto fue mayor en plantas crecidas en el sustrato de turba, vermiculita, agrolita, corteza y osmocote, en comparación con plantas crecidas en el sustrato experimental compuesto por arena, corteza de pino y suelo forestal.

### **1.6.2 Contenido de macronutrientes**

Previamente, se ha documentado que distintas pináceas inoculadas con hongos ectomicorrízicos presentan mayores contenidos de macronutrientes, en comparación con plantas no inoculadas. En las plantas de *Pinus patula* inoculadas con 6 hongos ectomicorrízicos se obtuvo un mayor contenido total de N, P y K, en relación con las plantas no inoculadas (Carrasco-Hernández *et al.*, 2011). En plantas de *Pinus wallichiana* A. B. Jacks que fueron inoculadas con *L. laccata* los valores de N, P y K fueron mayores, en comparación con las plantas sin inocular (Ahangar *et al.*, 2012). Estos tres macronutrientes también fueron mayores en plantas de *P. montezumae* inoculadas con *H. mesophaeum*, en comparación con plantas no inoculadas (Barragán-Soriano *et al.*, 2018). Este mismo hongo se inoculó en plantas de *P. greggii* y se registraron mayores contenidos de N, P, K, Ca y Mg, en comparación con las plantas no inoculadas (Martínez-Reyes *et al.*, 2012). En plantas de *P. pringlei* inoculadas con 3 hongos ectomicorrízicos se registraron valores mayores de N, P, K, Ca y Mg, en comparación con plantas sin inocular (López-Gutiérrez *et al.*, 2018). Asimismo, se ha demostrado en algunos casos que el sustrato influye en el contenido de macronutrientes de plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos y plantas no inoculadas. Rentería-Chávez *et al.* (2017) reportaron que plantas de *P. greggii* inoculadas con *H. leucosarx*, *L. bicolor* y *L. laccata* presentaron

mayores contenidos totales de N, P, K, Ca y Mg, en comparación con las plantas no inoculadas en dos sustratos evaluados. Sin embargo, dichos autores encontraron que, en el sustrato de turba, vermiculita, agrolita, corteza y osmocote se presentaron valores mayores de dichos nutrimentos, en comparación con el sustrato compuesto por suelo forestal, arena y corteza de pino. Walker *et al.* (2004) registraron que en plantas de *Betula lenta* L. inoculadas con *P. tinctorius* el contenido de N fue más alto, en comparación con plantas sin inocular en tres sustratos evaluados (los cuales se realizaron con la mezcla del suelo que provenía de una mina de carbón perturbada y con un fertilizante comercial en tres proporciones). Sin embargo, el N de plantas inoculadas fue mayor en los sustratos de fertilidad media y alta, en comparación con las plantas inoculadas que crecieron en el sustrato de baja fertilidad. De manera contraria, en otros estudios los valores de N, P, K, Ca y Mg no presentaron diferencias entre plantas inoculadas y sin inocular crecidas en sustratos con materia orgánica y con fertilizante en diferentes proporciones (Barroetaveña *et al.*, 2016; Baum *et al.*, 2000).

### **1.6.3 Contenido de micronutrientes**

Las investigaciones relacionadas con micronutrientes en pináceas son escasas. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que existe un mayor contenido de dichos nutrimentos en plantas micorrizadas, en comparación con plantas no micorrizadas. En plantas de *P. pringlei* inoculadas con *Hebeloma alpinum*, *Laccaria trichodermophora* G. M. Muell. y *Thelephora terrestris* Ehrh. se registraron valores mayores de Fe, Cu, Mn y Zn en las plantas inoculadas, en relación con las plantas no inoculadas (López-Gutiérrez *et al.*, 2018). De la misma manera que para los macronutrientes, se ha comprobado en algunos casos que el sustrato influye en el contenido nutrimental de plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos y plantas no inoculadas. En plantas de *P. greggii* inoculadas con *H. leucosarx*, *L. bicolor* y *L. laccata* se presentaron los contenidos totales más altos de Fe, Cu, Mn, Zn y Na, en comparación con las plantas no inoculadas en cualquiera de dos sustratos evaluados (Rentería-Chávez *et al.*, 2017). No obstante, en el sustrato de turba, vermiculita, agrolita, corteza y osmocote se presentaron valores mayores de dichos nutrimentos, en comparación con el sustrato compuesto por suelo forestal, arena y corteza de pino

(Rentería-Chávez *et al.*, 2017). En plantas de *Betula lenta* L. inoculadas con *P. tinctorius* y plantas sin inocular, los contenidos de Fe y Zn no presentaron diferencias en tres sustratos evaluados (los cuales contenían suelo que provenía de una mina de carbón perturbada con fertilizante comercial en tres proporciones) (Walker *et al.*, 2004). Sin embargo, en este mismo experimento, el contenido de Cu fue mayor en las plantas inoculadas que crecieron en dos sustratos con fertilidad media y alta, en comparación con las plantas que crecieron en el sustrato con baja fertilidad. Otras investigaciones han documentado la importancia de los hongos ectomicorrízicos en la translocación de Cu y de Zn en diversas gimnospermas (Adriaensen *et al.*, 2006; Colpaert *et al.*, 2005; De Oliveira *et al.*, 2017).

#### **1.6.4 Movilización nutrimental**

En términos generales han existido escasos estudios relacionados con la movilización de micronutrientes en gimnospermas por los hongos ectomicorrízicos. En el presente trabajo se encontraron relevantes movilizaciones, principalmente de Cu y de Zn, a la parte aérea vía la simbiosis ectomicorrízica. En las plantas, el Cu es componente y activador de enzimas oxidasas, polifenoloxidasas y carboxilasas; forma la parte estructural de algunas proteínas (por ejemplo: anurina, esstelacianina, umecianina y glicoproteínas); además, participa en procesos de fotosíntesis, respiración, regulación hormonal y en el metabolismo de diversos compuestos secundarios (Alcántar-González *et al.*, 2016). Se conoce que las ectomicorrizas pueden translocar Cu al follaje de las plantas hospederas, así como proteger el aparato fotosintético de su simbionte. Turnau *et al.* (2001) y Van Tichelen *et al.* (1999) reportaron que plantas de *Pinus sylvestris* L. inoculadas con *Thelephora terrestris*, *Suillus luteus* (L.) Roussel y *Paxillus involutus* transportaron Cu hacia las hojas del hospedero. No obstante, Van Tichelen *et al.* (1999 y 2001) observaron que las entradas de Cu movilizado varían dependiendo del micobionte, por ejemplo *T. terrestris* tienen menor capacidad de movilizar dicho nutriente a las acículas de *P. sylvestris*, comparado con *Suillus bovinus* (L.) Roussel, *S. luteus* y *Paxillus involutus*. Sin embargo, el exceso de Cu origina reducción en el crecimiento radical debido al daño en las membranas de las células en este órgano de absorción e induce deficiencias de Fe en las plantas (Alcántar-González *et al.*, 2016). Veselkin (2004) mencionó que las estructuras de plantas de *Abies sibirica* Ledeb y

los hongos micorrízicos se modificaron para compensar el exceso de Cu, dado que el radio total de las terminaciones de la micorriza y las raíces de las plantas aumentaron. Ahonen-Jonnarth *et al.* (2000) demostró que *P. sylvestris* inoculado con *Paxillus involutus* y *Suillus variegatus* (Sw.) Kuntze expuestas a altas concentraciones de Cu, generan diversos mecanismos de protección a las plantas. Estos incluyen el secuestro del Cu en las ectomicorrizas y en el micelio externo almacenándolo en el interior de las células fúngicas, así como la producción de ácido oxálico, el cual quelata a dicho nutrimento. Las ectomicorrizas pueden secuestrar el Cu para evitar que las plantas sufran de toxicidad. Por lo que, los hongos secuestran este nutrimento absorbiéndolo con las hifas extrarradicales para almacenarlo en el interior de sus células. En este proceso se produce ácido oxálico. Además, recientemente en *Tricholoma vaccinum* (Schaeff.) P. Kumm se identificaron proteínas transportadoras denominadas MATE, que forman parte del gen *mte1*, las cuales tienen como función la desintoxicación de diversos iones metálicos como el Cu (Schlunk *et al.*, 2015).

En las plantas el Zn es componente esencial y activador de enzimas anhidrasas, isomerasas, deshidrogenasas, aldolasas, carboxilasas y ribonucleasas; es fundamental en los procesos de la respiración, control hormonal, síntesis de proteínas, clorofila y ácido indolacético (Alcántar-González *et al.*, 2016). Las ectomicorrizas pueden incrementar la movilización de Zn hacia las plantas hospederas asociadas. Plántulas de *Pinus sylvestris* micorrizadas con *Suillus bovinus* tienen la capacidad de absorber y la translocar Zn a los brotes, siendo éstos más sanos que los que presentan plantas no micorrizadas (Adriaensen *et al.*, 2006; Bücking y Heyser, 1994). Sin embargo, a concentraciones de Zn superiores a 200 mg kg<sup>-1</sup> en tejido vegetal existe una reducción en el crecimiento radical y en expansión foliar, seguidos de clorosis (Alcántar-González *et al.*, 2016). Los beneficios de las plantas inoculadas con ectomicorrizas se han observado en diversas especies forestales. Al aumentar las concentraciones de Zn, la translocación de éste a los brotes de *Populus tremula* L. se inhibió en los tratamientos de plantas micorrizadas como un mecanismo de protección vegetal (Langer *et al.*, 2012). No obstante, existen niveles de Zn de tolerancia después de los cuales los hongos ectomicorrízicos son dañados. En medios de cultivo sólidos con 17 mg L<sup>-1</sup> de Zn se registraron concentraciones tóxicas para *Hebeloma subsaponaceum* P. Karst., *Hebeloma cylindrosporum* Romagn, *H. crustuliniforme*,

*Scleroderma* sp. y en *Austroboletus occidentalis* Watling & N. M. Greg. (De Oliveira and Tibbett, 2017). Los mecanismos para almacenar los excesos de Zn son: el secuestro de este micronutriente en la pared celular o la quelación y la compartimentación intracelular (Colpaert *et al.*, 2005). En plantas de *P. sylvestris* inoculadas con *Suillus luteus*, se ha reportado una conspicua acumulación de Zn dentro del manto fúngico y los rizomorfos (Turnau *et al.*, 2001). Cejpková *et al.* (2016) registraron que *Imleria badia* (Fr.) Vizzini es capaz de almacenar altas concentraciones de Zn en su micelio externo. En esporomas de *Russula atropurpurea* (Krombh.) Britzelm existen péptidos cíclicos que quelatan Zn denominados RaZBP1 y RAZBP2 (Leonhardt *et al.*, 2014) y también se han identificado tres transportadores de Zn denominados RaZIP1 (especializado en la membrana plasmática), RaCDF1 y RaCDF2 (Leonhardt *et al.*, 2018; Sácky *et al.*, 2016). En el micelio externo de *Hebeloma cylindrosporum* y *Tuber melanosporum* Vittad, así como en el micelio externo y esporomas de *Hebeloma mesophaeum* también se han identificado transportadores de Zn (Bolchi *et al.*, 2011; Sácky *et al.*, 2014).

### **1.6.5 Porcentaje de micorrización**

Previamente, otros autores también han encontrado diferencias en la micorrización ocasionadas por el tipo de sustrato que se emplea. De manera similar a lo encontrado en el presente trabajo, Baum *et al.* (2000) observaron que el porcentaje de colonización micorrízica en *Populus trichocarpa* cv. Weser inoculadas con *Laccaria bicolor* y con *Paxillus involutus* se incrementó cuando el sustrato contenía mayor cantidad de materia orgánica, en comparación con el que tenía una menor proporción de ésta. En *Quercus palustris* Muenchh. y *Quercus coccinea* Münchh la micorrización de *Pisolithus tinctorius* fue más alta en plantas crecidas con vermiculita, en comparación con aquellas crecidas en corteza de pino, corteza de pino esterilizada y suelo mineral (Martin *et al.*, 2003). Rincón *et al.* (2005) encontraron en *Pinus pinea* L. que los porcentajes de micorrización de *Melanogaster ambiguus*, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon luteolus* y *Rhizopogon roseolus* fueron más altos en plantas crecidas en turba y vermiculita, en comparación con aquellas crecidas en turba y corteza de pino. En *Pinus greggi* inoculado con *Hebeloma leucosarx*, *Laccaria laccata* y *L. bicolor* sus porcentajes de micorrización fueron mayores en el

sustrato compuesto por arena, corteza de pino y suelo forestal, en comparación con el sustrato de turba, vermiculita, agrolita, corteza y osmocote (Rentería-Chávez *et al.*, 2017). No obstante, hay otros autores que han encontrado una tendencia contraria a la reportada en el presente trabajo. En estos casos se ha observado que el tipo de sustrato no influye en la diferencia de micorrización. Repáč (2007), quien encontró que en plántulas de *Picea abies* (Karst) inoculadas con *Hebeloma crustuliniforme*, *Hygrophorus agathosmus* y *P. involutus* no existieron diferencias en el porcentaje de micorrización en los 4 tipos de sustratos empleados. El mismo autor, Repáč *et al.* (2014), en esta misma especie de planta inoculada con 9 hongos ectomicorrízicos, observó que no existieron diferencias en la colonización micorrízica en tres sustratos comerciales.

Un aspecto que enfatiza la importancia del presente estudio está constituido por el hecho de que, a la fecha sólo existen dos trabajos en los que se han efectuado inoculación con hongos ectomicorrízicos en *Abies religiosa*. Flores-Rentería *et al.* (2018) inocularon esta especie de planta con suelo forestal, *Inocybe splendens* R. Heim y *Suillus brevipes* (Peck) Kuntze, utilizando un sustrato de vermiculita y turba. Después de 18 meses de que estas plantas fueron introducidas al bosque, se observó que la colonización de las micorrizas inoculadas fue de 50% con inóculo de suelo forestal, 30% con inóculo de *Inocybe splendens*, 54% con inóculo de *Suillus brevipes* y 20% en plantas no inoculadas. Lamus *et al.* (2015) en condiciones de laboratorio, inocularon plantas de *A. religiosa* con *Turbinellus floccosus* (Schwein.) Earle y registraron que su porcentaje de micorrización fue de 44%. Todos estos autores obtuvieron porcentajes de colonización menores a los encontrados en el presente trabajo. Ninguno de estos trabajos evaluó la movilización de los nutrientes a las plantas ectomicorrizadas.

#### **1.6.6 Caracterización de los morfotipos ectomicorrízicos**

A la fecha sólo existe la caracterización morfoanatómica de las ectomicorrizas de *A. religiosa* con una especie de hongo: *T. floccosus* (Lamus *et al.*, 2015). La riqueza encontrada en esta investigación fue de 3 morfotipos. Lo que coincide con Horton y Bruns (2001), que mencionan que la riqueza ectomicorrízica es baja en plántulas y pocas especies de hongos son las que dominan el espacio o recurso disponible. El morfotipo 1

correspondió a *Laccaria proxima* (Boud.) Pat. (Galindo-Flores *et al.*, 2015; Ludwig-Maximilians, 2018), que fue con la especie que se inoculó. Los morfotipos 2 y 3 podrían pertenecer a los géneros *Laccaria* o *Suillus* por su coloración, su tipo de ramificación, las medidas del sistema micorrízico, así como por la organización de hifas en el manto y su grosor de éste (Galindo-Flores *et al.*, 2015; Ludwig-Maximilians, 2018). No obstante, se conoce que el tipo de ramificación, las medidas del sistema radical, la presencia de rizomorfos y el grosor del manto pueden modificarse por las propiedades del huésped, el hospedero, o por las interacciones que involucran a éstos y al ambiente (Brundrett, 2004). Por lo que, es necesario realizar pruebas moleculares con el ADN de los ápices micorrízicos de dichos morfotipos para complementar su descripción y, de esta manera, poder determinar a qué especie pertenecen (Horton and Bruns, 2001).

Es muy relevante el estudiar los micobiontes que colonizan las plántulas de *A. religiosa* para la producción masiva de dicha especie en vivero; dado que se conoce que es una especie susceptible por el cambio climático y se estima que podría reducir su población actual hasta en 96.5% para el año 2090 (Sáenz-Romero *et al.*, 2012).

## 1.7 LITERATURA CITADA

1. Adriaensen K, Vangronsveld J y Colpaert JV. Zinc-tolerant *Suillus bovinus* improves growth of Zn-exposed *Pinus sylvestris* seedlings. *Mycorrhiza* 2006; 16: 553-558.
2. Agerer R. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlg, Schwäbisch Gmünd, Alemania, 1987-2002.
3. Agerer R. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological Progress* 2006; 5: 67-107.
4. Ahangar MA, Dar HG, Bhat ZA. Growth response and nutrient uptake of blue pine (*Pinus wallichiana*) seedlings inoculated with rhizosphere microorganisms under temperate nursery conditions. *Ann. For. Sci.* 2012; 55: 217-227.
5. Ahonen-Jonnarth U, Van-Hees PAW, Lundström US, y Finday RD. Organic acids produced by mycorrhizal *Pinus sylvestris* exposed to elevated aluminium and heavy metal concentrations. *The New Phytologist* 2000; 146: 557-567.
6. Alcántar-González G y Sandoval-Villa M. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C. Chapingo, Estado de México. Publicación especial. 1999. Núm. 10, 156 p.
7. Alcántar-González G, Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC. Nutrición de cultivos. 2ª Edición. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México, 2016.
8. Barragán-Soriano JL, Pérez-Moreno J, Almaraz-Suárez JJ, Carcaño-Montiel MG, Medrano-Ortiz KI. Inoculation with an edible ectomycorrhizal fungus and bacteria increases growth and improves the physiological quality of *Pinus montezumae* Lamb. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 2018; 24(1): 3-16.

9. Barroetaveña C, Bassani VN, Monges JI, Rajchenberg M. Field performance of *Pinus ponderosa* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi planted in steppe-grasslands of Andean Patagonia, Argentina. *Bosque* 2016; 37: 307-316.
10. Baum C, Schmid K, Makeschin F. Interactive effects of substrates and ectomycorrhizal colonization on growth of a poplar clone. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 2000; 163: 221-226.
11. Bolchi A, Ruotolo R, Marchini G, Vurro E, Di Toppi LS, Kohler A, Tisserant E, Martin F, Ottonello S. Genome-wide inventory of metal homeostasis-related genes: a functional phytochelatin synthase in the hypogeous mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum*. *Fungal Genetics and Biology* 2011; 48: 573-584.
12. Bremner JM. Total nitrogen. En: Black CA (Ed.). *Methods of soil analysis*. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, 1965: 1149-78.
13. Brundrett M. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews* 2004; 79:473-495.
14. Bücking H, W Heyser. The effect of ectomycorrhizal fungi on Zn uptake and distribution in seedlings of *Pinus sylvestris* L. *Plant and Soil* 1994; 167: 203-212.
15. Calderón de Rzedowski G, Rzedowski J. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2ª Edición. Instituto de Ecología A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México, 2001.
16. Carrasco-Hernández V, Pérez-Moreno J, Espinoza-Hernández V, Almaraz-Suárez JJ, Quintero-Lizaola R, Torres-Aquino M. Nutrient contents and inoculation with edible ectomycorrhizal fungi on two neotropical pines. *Revista Chilena de Historia Natural* 2011; 84: 83-96.
17. Carrasco-Hernández V, Pérez-Moreno J, Quintero-Lizaola R, Espinosa-Solares T, Lorenzana-Fernández A, y Espinosa-Hernández V. Edible species of the fungal genus *Hebeloma* and two neotropical pines. *Pak. J. Bot.* 2015; 47:319-326.

18. Cejpková, J, Gryndler M, Hrselova H, Kotrba P, Randa Z, Synkova I, Borovicka J. Bioaccumulation of heavy metals, metalloids, and chlorine in ectomycorrhizae from smelter-polluted area. *Environmental Pollution* 2016; 218: 176-185.
19. Colpaert JV, Adriaensen K, Muller LAH, Lambaerts M, Faes C, Carleer R, Vangronsveld J. Element profiles and growth in Zn-sensitive and Zn-resistant Suilloid fungi. *Mycorrhiza* 2005; 15: 628–634.
20. De Oliveira VH, Tibbett M. Cd and Zn interactions and toxicity in ectomycorrhizal basidiomycetes in axenic culture. *PeerJ Preprints* 2017; 1-17.
21. Flores-Rentería D, Barradas VL, Álvarez-Sánchez J. Ectomycorrhizal pre-inoculation of *Pinus hartwegii* and *Abies religiosa* is replaced by native fungi in a temperate forest of central Mexico. *Symbiosis* 2018; 74: 131-144.
22. Galindo-Flores G, Castillo-Guevara C, Campos-López A, Lara C. Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences* 2015; 93: 855-863.
23. Horton TR, Bruns TD. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* 2001; 10: 1855-1871.
24. Isla-Bauer ML. Temas ambientales del siglo XXI. H. Ayuntamiento de Texcoco y del Colegio de Postgraduados. México, 2004.
25. Kernaghan G. Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiología* 2005; 49: 511-520.
26. Kouassi KA, Kouadio EJP, Konan KH, Due AE, Kouame LP. Phenolic compounds, organic acid and antioxidant activity of *Lactarius subsericatus*, *Cantharellus platyphyllus* and *Amanita rubescens*, three edible ectomycorrhizal mushrooms from center of Côte d'Ivoire. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry* 2016; 11: 127-139.
27. Lamus V, Franco S, Montoya L, Endara AR, Caballero LA, Bandala VM. Mycorrhizal synthesis of the edible mushroom *Turbinellus floccosus* with *Abies religiosa* from central Mexico. *Mycoscience* 2015; 56: 622-626.

28. Langer I, Santner J, Krpata D, Fitz WJ, Wenzel WW, Schweiger PF. Ectomycorrhizal impact on Zn accumulation of *Populus tremula* L. grown in metalliferous soil with increasing levels of Zn concentration. *Plant Soil* 2012; 355: 283-297.
29. Leonhardt T, Sácký J, Simek P, Santrucek J, Kotrba P. Metallothionein-like peptides involved in sequestration of Zn in the Zn-accumulating ectomycorrhizal fungus *Russula atropurpurea*. *Metallomics* 2014; 5: 1693-1701.
30. Leonhardt T, Sácký J, Kotrba P. Functional analysis RaZIP1 transporter of the ZIP family from the ectomycorrhizal Zn-accumulating *Russula atropurpurea*. *Biometals* 2018; 31:255-266.
31. López-Gutiérrez A, Pérez-Moreno J, Hernández-Santiago F, Uscanga-Mortera E, García-Esteva A, Cetina-Alcalá VM, Cardoso-Villanueva MR, Xoconostle-Cázares B. Nutrient mobilization, growth and field survival of *Pinus pringlei* inoculated with three ectomycorrhizal mushrooms. *Botanical Sciences* 2018; 96 (2): 286-304.
32. Ludwig-Maximilians. An Information System for Characterization and DEtermination of EctoMYcorrhizae (DEEMY) (página en internet). Universität München, Dept. Biologie I – Systematische Mykologie (actualizada 2004-2018; citada 23 de marzo de 2018) Disponible en <http://www.deemy.de/>.
33. Martín TP, Harris JR, Eaton GK, Miller OK. The Efficacy of Ectomycorrhizal Colonization of Pin and Scarlet Oak in Nursery Production. *J. Environ. Hort.* 2003; 21: 45-50.
34. Martínez-Reyes M, Pérez-Moreno J, Villarreal-Ruiz L, Ferrera-Cerrato R, Xoconostle-Cázares B, Vargas-Hernández JJ, Honrubia-García M. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con el hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 2012; 18: 183-192.
35. Masera O, Bellon MR, Segura G. Forestry options for sequestering carbon in Mexico: Comparative economic analysis of three case studies, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2007; 27 (S1): 227-244.

36. Münzenberger B, Golldack J, Ullrich A, Schmincke B, Hütti RF. Abundance, diversity and vitality of mycorrhizae of Scots pine (*Pinus silvestris*) in lignite recultivation sites. *Mycorrhiza* 2004; 14: 193-202.
37. Pérez-Moreno J, Lorenzana A, Carrasco-Hernández FV, Yescas-Pérez A. Los hongos comestibles silvestres del Parque Nacional Izta-Popo. Zoquiapan y Anexos. Colegio de Posgraduados, Semarnat, Conacyt. Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2010.
38. Rentería-Chávez MC, Pérez-Moreno J, Cetina-Alcalá VM, Ferrera-Cerrato R, Xoconostle-Cázares B. Transferencia de nutrientes y crecimiento de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con hongos comestibles ectomicorrícicos en dos sustratos. *Rev. Argent. de Microbiol.* 2017; 49: 93-104.
39. Repáč I. Ectomycorrhiza formation and growth of *Picea abies* seedlings inoculated with alginate-bead fungal inoculum in peat and bark compost substrates. *Forestry* 2007; 80: 517-530.
40. Repáč I, Balanda M, Vencurik J, Kmet' J, Krajmerová D, Paule L. Effects of substrate and ectomycorrhizal inoculation on the development of twoyears-old container-grown Norway spruce (*Picea abies* Karst.) seedlings. *Forest* 2014; 8: 487-496.
41. Rincón A, Álvarez IF, Pera J. Effects of ectomycorrhizal inoculation and the type of substrate on mycorrhization, growth and nutrition of containerised *Pinus pinea* L. seedlings produced in a commercial nursery. *Ann. For. Sci.* 2005; 62: 817-822.
42. Sácky J, Leonhardt T, Borovicka J, Gryndler M, Briksí A, Kotrba P. Intracellular sequestration of zinc, cadmium and silver in *Hebeloma mesophaeum* and characterization of its metallothionein genes. *Fungal Genetics and Biology* 2014; 67: 3–14.
43. Sácky J, Leonhardt T, Kotrba P. Functional analysis of two genes coding for distinct cation diffusion facilitators of the ectomycorrhizal Zn-accumulating fungus *Russula atropurpurea*. *Biometals* 2016; 29: 349363.

44. Sáenz-Romero C, Rehfeldt GE, Duval P, Lindig-Cisneros RA. *Abies religiosa* hábitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management*, 2012; 275: 98-106.
45. Schlunk I, Krause K, Wirth S. A transporter for abiotic stress and plant metabolite resistance in the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma vaccinum*. *Environmental Science and pollution research* 2015; 22 (24): 19384-19393.
46. Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal simbiosis. Tercera edición, Academic Press, New York, 2008.
47. Turnau K, Przybylowicz WJ, Mesjasz-Przybylowicz J. Heavy metal distribution in *Suillus luteus* mycorrhizas as revealed by micro PIXE analysis. 2001.
48. Van Tichelen KK, Vanstraelen T, Colpaert JV. Nutrient uptake by intact mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings: a diagnostic tool to detect copper toxicity. *Tree Physiology* 1999; 19: 189-196.
49. Van Tichelen KK, Colpaert JV, Vangronsveld J. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytologist* 2001; 150: 203-213.
50. Veselkin DV. Anatomical structure of ectomycorrhiza in *Abies sibi* Rica Ledeb. and *Picea obovata* Ledeb. under conditions of forest ecosystems polluted with emissions from copper-smelting works. *Russian Journal of Ecology* 2004; 35 (2): 71-78.
51. Walker RF, McLaughlin SB, West DC. Establishment of sweet birch on Surface mine spoil as influenced by mycorrhizal inoculation and fertility. *Restoration Ecology* 2004; 12:8-19.
52. Wang Y, Hall IR. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.* 2004; 82: 1063-1073.

## CONCLUSIONES GENERALES

Se reporta por primera ocasión la movilización de macro y micronutrientes en *Abies religiosa* como consecuencia de la inoculación con hongos ectomicorrízicos. Se encontró una mayor movilización de los 10 nutrientes evaluados hacia la parte aérea de las plantas de *A. religiosa* crecidas en el sustrato con 20% de composta, principalmente cuando se inoculó con *Laccaria proxima*. En ambos sustratos existió una mayor movilización de Cu y de Zn con los dos tipos de inóculos. En plantas de oyamel inoculadas con *L. proxima* crecidas en el sustrato con 20% de composta, la micorrización fue mayor en comparación con las plantas inoculadas con suelo nativo de *A. religiosa*. Sin embargo, no existieron diferencias entre los tratamientos inoculados cuando las plantas fueron crecidas en el sustrato con 10% de composta. Se presenta el primer reporte de síntesis y descripción morfoanatómica entre el micobionte *L. proxima* y *A. religiosa*. Se observó que el efecto benéfico de la micorrización en términos de crecimiento depende del contenido de composta en el sustrato. Las plantas de oyamel con inóculo de *L. proxima*, que se desarrollaron en el sustrato con 20% de composta presentaron un mejor crecimiento, los contenidos nutrimentales se incrementaron y también éstos lograron moverse de la raíz a la parte aérea de la planta. El presente trabajo demuestra que *L. proxima*, el cual es un hongo comestible ectomicorrízico, podría emplearse para inocular plantas de *Abies religiosa* y producirlas masivamente, esta producción sería potenciada si se empleara el sustrato de 20% de composta y 80% de aserrín. De esta forma, las plantaciones y las reforestaciones con esta especie forestal podrían ser más exitosas. Con lo cual se contribuiría a la mejoría de los servicios ecosistémicos, entre los que destacan la regulación del clima y la captura de carbono. Los bosques de oyamel en buen estado propician el desarrollo de la biodiversidad que en ellos se alberga, entre las que resaltan 136 especies de hongos ectomicorrízicos, 21 especies con uso alimenticio y 7 especies empleadas en la medicina.

Las características físicas y químicas de los dos sustratos fueron evaluadas de acuerdo a Van Reeuwijk (1999) y se describen en seguida:

## ANEXO I

### CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS SUSTRATOS EMPLEADOS EN LA PRESENTE INVESTIGACIÓN

**Anexo 1a. Contenido de macronutrientes y pH de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de *A. religiosa*, inoculadas con hongos ectomicorrízicos**

Sustrato	pH	C	Materia orgánica	N total	C/N	P Olsen	K	Ca	Mg
		%				mg/kg	Cmol(+) Kg-1		
20% Composta y 80% aserrín	7.90 medianamente alcalino	7.28	12.55 muy alto	0.13 medio	56 alta	59.91 alta	8.70 alta	21.27 alta	15.25 alta
10% Composta y 90% aserrín	7.70 medianamente alcalino	4.11	7.08 muy alto	0.13 medio	31.62 alta	46.23 alta	10.63 alta	18.78 alta	15.08 alta

El nivel de proporción de cada variable se determinó con la NOM-021-SEMARNAT-2000.

**Anexo 1b. Contenido de micronutrientes, capacidad de intercambio catiónico y color de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de *A. religiosa*, inoculadas con hongos ectomicorrízicos**

Sustrato	Color (seco)	Color (húmedo)	Cu	Fe	Mn	Zn	Na	CIC
			mg/kg				Cmol(+) Kg-1	
20% Composta y 80% aserrín	café	café muy oscuro	1.86 alto	64.10 muy alto	18.19 muy alto	10.77 muy alto	2.89 muy alto	21.61 media
10% Composta y 90% aserrín	café amarillento	café oscuro	1.99 alto	56.27 muy alto	62.49 muy alto	10.46 muy alto	2.78 muy alto	19.19 media

El nivel de proporción de cada variable se determinó con la NOM-021-SEMARNAT-2000.

**Anexo 1c. Granulometría de los sustratos evaluados, en donde crecieron plantas de *A. religiosa*, inoculadas con hongos ectomicorrízicos**

Sustrato	<0.6 mm	<1/>0.6 mm	<2 / >1 mm	<2.36 / >2 mm	>2.36 mm
	%				
20% Composta y 80% aserrín	30.70	34.80	17.23	1.45	15.83
10% Composta y 90% aserrín	27.72	29.03	19.53	1.58	22.15

## **LITERATURA CITADA**

1. Van Reeuwijk L. P. (ed.). Procedimientos para Análisis de Suelos, versión 1995. Traducción de María del Carmen Gutiérrez Castorena, Carlos Arturo Tavares Espinosa y Carlos Alberto Ortiz Solorio. Primera Edición en Español, 1999. Especialidad de Edafología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México, 145 p.p.
2. NOM-021-SEMARNAT-2000. Norma Oficial Mexicana, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. Fecha de publicación: 31 de Diciembre de 2002.