



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

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

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA**

## **MICRO CARTOGRAFÍA Y PATRONES ESPECTRALES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES DELGADAS**

**ENRIQUE SUÁSTEGUI MÉNDEZ**

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

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO**

2011

La presente tesis titulada: **"MICROCARTOGRAFÍA Y PATRONES ESPECTRALES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES DELGADAS"** realizada por el alumno: **Enrique Suástegui Méndez** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


MAESTRO EN CIENCIAS  
EDAFOLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA

  
DRA. Ma. DEL CARMEN GUTIÉRREZ CASTORENA

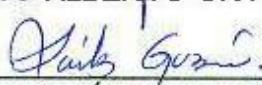
ASESOR

  
DR. GERARDO CRUZ FLORES

ASESOR

  
DR. CARLOS ALBERTO ORTIZ SOLORIO

ASESOR

  
M.C. PATRICIO SÁNCHEZ GUZMÁN

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Diciembre de 2011

## RESUMEN

### MICROCARTOGRAFÍA Y PATRONES ESPECTRALES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES DELGADAS

Enrique Suástegui Méndez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

Los estudios sobre la cuantificación de hongos se realizan de manera alterada, por lo que poco se conoce sobre la distribución de las esporas e hifas en el suelo y sus relaciones con rasgos edáficos de manera precisa. El análisis de imágenes es una técnica que permite a los científicos estudiar objetos de interés como características en una imagen digital y junto con el microscopio, examinar objetos en una amplia gama de escalas. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Cuantificar a las esporas e hifas a través de la micro-cartografía de secciones delgadas de diferentes tipos de suelos; 2) Determinar su patrón de distribución referida con respecto a poros, agregados y residuos orgánicos durante el proceso de mineralización de residuos orgánicos en diferentes suelos; presentar un sistema de clasificación para la identificación de objetos predefinidos (esporas, hifas, agregados, minerales y residuos orgánicos), con base en la respuesta espectral. La micro-cartografía de secciones delgadas es ser una herramienta útil para cuantificar y comprender la distribución espacio-temporal de los hongos *in situ*, con lo cual se puede predecir una gran variedad de procesos y mecanismos que son decisivos en la agregación del suelo bajo diferentes condiciones edáficas. Además, la localización espacial de esporas e hifas a partir de imágenes digitales obtenidas de secciones delgadas pueden ser diferenciadas de los componentes minerales y orgánicos a través de la interpretación automática de imágenes (clasificación supervisada, por la reflectancia emitida).

**Palabras Clave:** *Ustifluents, micro-cartografía, análisis de imágenes; micromorfología, clasificación supervisada.*

## ABSTRACT

### SPECTRAL MICRO MAPPING AND BIOLOGICAL ACTIVITY IN THIN SECTIONS

Enrique Suástegui Méndez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

The studies about fungi quantification are mainly made in altered condition; however, little is known about pore and hyphae distribution in the soil and its relationship with edaphic characteristics accurately. Image analysis is a technique that allows scientists to study objects of interest in digital imaging characteristics, and together with the microscope, to examine objects in a wide range of scales. The main objectives of this study were to quantify the spores and hyphae through the micro-mapping of thin sections of different soil types, 2) To determine their distribution pattern referred to pores, aggregates and organic waste in the process of mineralization of organic residues in different soils and 3) to present a classification system for the identification of predefined objects (spores, hyphae, aggregates, minerals and organic waste), based on spectral response. The micro-mapping of thin sections can be a useful tool to quantify and understand the spatio-temporal of fungi *in situ*, which can predict a variety of processes and mechanisms that are critical to soil aggregation under different edaphic conditions. In addition, the spatial location of spores and hyphae from digital images obtained from thin sections can be differentiated from organic and mineral components through the automatic interpretation of images (supervised classification, issued by the reflectance).

**Keywords:** *Ustifluents, micro-mapping, image analysis, micromorphologi, supervised classification.*

## AGRADECIMEINTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

Al colegio de postgraduados y especialmente al área de edafología, por brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente.

A la Dra. Ma del Carmen Gutiérrez Castorena por ser una pieza clave en el cumplimiento de esta etapa, al darme las herramientas y ser guía para cumplir con el término de este proyecto; además de otorgarme su apoyo, amistad y confianza.

Al Dr. Carlos A. Ortiz Solorio por su apoyo, tiempo y dedicación para culminar este trabajo, asimismo, por brindarme las herramientas y sus conocimientos

Al Dr. Gerardo Cruz Flores por su apoyo, tiempo y amistad.

Al M. en C. Patricio Sánchez Guzmán por su atención, apoyo, tiempo, dedicación y amistad.

Al Dr. Edgar V. Gutiérrez Castorena por aportar sus valiosos conocimientos al presente trabajo y un gran amigo.

Al Dr. Lenom Cajuste Botemps por aportar sus conocimientos.

Al personal de postgrado de Edafología, especialmente a Carmen Bojorges por su apoyo y tiempo dedicados en el trámite de este proyecto; y sobre todo, por la amistad que me brindo.

A mis compañeros y amigos de Edafología, Luis, Jesús, Juan, Héctor, Carlos. Por compartir conmigo sus invaluable conocimientos y esas inolvidables salidas a campo y todas aquellas personas que dejaron algo en mí en el transcurso de la carrera: ustedes saben quiénes son, gracias por escucharme y estar conmigo en todo momento, su amistad lo hizo más fácil

Al personal del Laboratorio de Génesis, Morfología y Clasificación de suelos, a Pedro, Luis y Candelario

## DEDICATORIA

A dios: por permitirme concluir ésta etapa de mi vida.

A la persona que lleno de luz mi vida: mi esposa **Dulce** gracias por tu atención, amor y  
comprensión

A mi Vale, que ya viene en camino, aunque no podrás leer esto todavía, un día vas a  
aprender, gracias por alegrarme la vida, Te quiero nena

A mis padres Victor y Rosalba: por su educación y ejemplo de seguir hacia  
adelante, por lo mucho que me brindaron con el paso de los años, y que en estos  
momentos expreso mi gratitud y reconocimiento hacia ustedes. Por haberme apoyado  
en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me  
ha permitido crecer, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanos Gabriel y Ángel, a Beatriz y mi sobrino Dany:  
por su paciencia y apoyo que  
me brindaron a lo largo de este proyecto.

## CONTENIDO

CAPÍTULO 1 .....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
Capítulo 2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
<b>1. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
<i>1.1 Distribución espacial y temporal .....</i>	<i>4</i>
<i>1.2. Hongos en el suelo .....</i>	<i>5</i>
<i>1.2.1. Micelio externo .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.2. Esporas .....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.3. Germinación y crecimiento hifal .....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.4. Pared de la espora .....</i>	<i>10</i>
<i>1.3. Escalas de observación .....</i>	<i>10</i>
<i>1.4. Suelo .....</i>	<i>12</i>
<i>1.4.1. Las funciones del suelo dentro del ecosistema .....</i>	<i>12</i>
<i>1.5. Micromorfología y análisis de imágenes .....</i>	<i>13</i>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>15</b>
Capítulo 3. MICRO CARTOGRAFÍA DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE HONGOS Y ESPORAS EN SECCIONES DELGADAS .....	20
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>23</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
Suelo y clima .....	24
Sitio experimental .....	25
Análisis micromorfológico .....	25
Análisis estadístico .....	26
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
Cuantificación y monitoreo de esporas e hifas .....	26
Diversidad e índice de esporas .....	28
Análisis estadístico .....	28

<b>DISCUSIÓN</b> .....	29
Cuantificación de esporas .....	29
Distribución de esporas con poros, agregados y residuos orgánicos .....	31
<b>CONCLUSIONES</b> .....	31
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	32
Capítulo 4. PATRONES ESPECTRALES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES DELGADAS .....	44
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	46
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	47
Análisis micromorfológico .....	48
<i>Análisis de imágenes</i> .....	48
Elaboración de la máscara digital .....	49
Delimitación de los sitios de entrenamiento .....	49
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	50
Área elemental representativa .....	50
Visualización y cuantificación de esporas e hifas fúngicas en el suelo.....	51
Análisis de imágenes .....	51
Clasificación supervisada de imágenes digitales de forma automatizada.....	52
Clasificación no supervisada.....	52
<b>CONCLUSIONES</b> .....	54
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	55



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Población fúngica (N° de individuos) en los sitios de muestreo .....	35
Cuadro 2. Límites de clase (LC) y valores de reflectancia (VR) .....	58
Cuadro 3. Propuesta de códigos de color de interpretación de las características edafológicas.....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo 3

Figura 1. Ubicación del área de estudio .....	36
Figura 2. Áreas homogéneas para la cuantificación y posición espacial de esporas e hifas .... .....	37
Figura 3. Número de esporas totales para los tres sitios experimentales a 60 días de incubación y 10 cm de profundidad. Relaciones con otros componentes las barras verticales en cada punto representan la desviación estándar de la media.....	37
Figura 4. Número de esporas totales para Ustifluents con diferentes propiedades edáficas: a) Sitio 1, textura fina, no salino; b) Sitio 2 textura fina, salino sódico; y 3) Sitio 3, textura gruesa, no salino a diferentes tiempos de incubación. Las barras verticales en cada punto representan la desviación estándar de la media .....	38
Figura 5. Secuencia de agregación .....	38
Figura 6. Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Mollic Ustifluents a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos. ....	39
Figura 7. Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Aquic Ustifluents a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos. ....	40
Figura 8. Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Mollic Ustifluents a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos. ....	41

Figura 9. Morfotipos de esporas <i>Glomus</i> sp encontrados en Ustifluvents y relacionados con diferentes superficies naturales; A) con residuo vegetal; B) con espacio poroso; C) con agregado y D) con residuo vegetal humificado. ....	42
Figura 10. Abundancia de esporas e hifas ( $\pm$ desviación estándar) en suelo con diferentes superficies naturales .....	43
Figura 11. Abundancia de esporas e hifas en los sitios de muestreo en diferentes profundidades .....	43

#### Capítulo 4

Figura 1. Esquema para el proceso de mosaico dentro de la sección delgada .....	59
Figura 2. Área Elemental representativa para la cuantificación de esporas .....	59
Figura 3. Propagación de hongos dentro de un volumen de poros.....	60
Figura 4. Interacciones del suelo por hongos visualizado en láminas delgadas a escalas microscópicas (A y B: $0.0185 \text{ mm}^2$ ), y en escalas más grandes ( $0.15 \text{ cm}^2$ , aproximadamente para confirmar el tamaño de una colonia de hongos). En el sitio con una mayor densidad de $1,2 \text{ g/cm}^3$ (C). A mayor escala, la presencia de hifas y esporas está indicado por un punto (D).....	60
Figura 5. Espacio ocupado por hifas y esporas alrededor de una raíz.....	61
Figura 6. Micro- Cartografía de los rasgos y superficies naturales .....	61
Figura 7. Distribución espacial de esporas respecto a la porosidad en un <i>Mollic Ustifluvents</i> (Textura arcillo limosa) .....	62
Figura 8. Distribución espacial de esporas respecto a la porosidad en un <i>Mollic Ustifluvents</i> (textura Arenosa) .....	63
Figura 9. Valores promedio (900 observaciones para cada característica de todas las muestras) de las firmas espectrales (valores de los píxeles de brillo) .....	64
Figura 10. Clasificación supervisada en un <i>Mollic Ustifluvents</i> .....	65
Figura 11. Clasificación no supervisada en un <i>Mollic Ustifluvents</i> .....	66
Figura 12. Clasificación supervisada y sus patrones espectrales de un <i>Mollic Ustifluent</i> .....	67
Figura 13. Distribución espacial y sitios de entrenamiento de para la cuantificación de esporas .....	68

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La distribución espacial y temporal de los hongos en el suelo tiene gran impacto en muchos servicios de los ecosistemas importantes como el papel en la dinámica del carbono y el de las epidemias. Esta distribución es el resultado de diversos controles ambientales que operan a diferentes escalas y de los procesos intrínsecos de la población tales como la dispersión, reproducción, mortalidad o la competencia, que se producen principalmente en escalas microscópicas (Ettema y Wardle, 2002). No obstante, todavía no está definido la escala útil para detectar las hifas fúngicas en el espacio de los poros y entre los agregados de manera *in-situ* (Trevez *et al.*, 2003). Esto se debe a que hay poco conocimiento sobre el origen de las comunidades de hongos en el suelo y cómo estas comunidades interactúan con la estructura del mismo.

Para la cuantificación de esporas o hifas generalmente se utilizan diversas técnicas como tinción, tamizado húmedo y decantado, dilución, unidades formadoras de colonia (UFC) e *hibridación in situ* por fluorescencia (Davet, 2004; Jjemba, 2004); sin embargo, hay poca información sobre la distribución de estos organismos y sus relaciones con superficies edáficas (agregados, restos de materia orgánica, granos minerales y poros) particularmente *in situ*. Una alternativa, es la micro-cartografía de secciones delgadas (De León *et al.*, 2007), que son generadas a partir de material del suelo inalterado (Bullock *et al.*, 1985).

Se ha reportado que la ubicación de bacterias y hongos en la red de poros es la clave para su supervivencia y su actividad; por ejemplo, el mayor tamaño que tienen los hongos provoca que sean más vulnerables al ciclo de secado o humedecimiento y a la depredación (Denef *et al.*, 2001), por lo que generalmente 80 a 90% de los hongos están restringidos a los poros más grandes (Hattori 1988; Otten *et al.*, 1999). No obstante, la mayor dificultad en la comprensión de las interacciones de hongos del suelo es la capacidad de observar la propagación de los mismos dentro de un volumen del poro en la escala pertinente de las hifas (hasta 10 mm de diámetro) y de colonias de hongos (orden de centímetros). Además, no se han realizado investigaciones sobre la cartografía de los hongos en secciones delgadas con el fin de determinar la escala de observación de las hifas fúngicas y su relación con diferentes rasgos edáficos (residuos de materia orgánica, agregados y poros).

Por otra parte, el procesamiento digital de imágenes ha sido ampliamente utilizado a escalas megascópicas para determinar la distribución espacial de la vegetación, salinidad, geomorfología, cuerpos de agua etc. Para ello se han empleado diversas metodologías (clasificaciones supervisadas o no supervisadas) y software (ERDAS, ARGIS) y todas las bandas espectrales desde el espectro visible hasta el infrarrojo.

A nivel microscópico, el procesamiento digital de imágenes captadas a partir de secciones delgadas han sido enfocadas a la recopilación de datos sobre las características del suelo con más de una fuente de iluminación tal como luz polarizada plana, luz polarizada cruzada, con compensador de yeso y luz incidente (Terribile y Fitzpatrick, 1992; Protz y Van den Bygaart, 1998) y luz ultravioleta (UV) (Protz *et al.*, 1992). Este procesamiento digital ha hecho posible que la descripción, interpretación y cuantificación de las características del suelo en secciones delgadas (estructura, los poros, minerales, y las fases no-mineral) sean más precisas, debido a que los equipos especializados en sensores para la captura de imagen tiene mayor capacidad de almacenamiento (hardware). No obstante, la combinación de metodologías usadas a escala megascópica con fuertes de luz artificial a escala de sección delgada no se han llevado a cabo. Se espera que cada rasgos edáfico (poros, agregados, residuos orgánicos y esporas e hifas) tengan patrones espectrales puros o combinados que permitan su identificación rápida y ubicación en secciones delgadas, lo que facilitara su distribución, cuantificación y en consecuencia su cartografía automatizada.

Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Cuantificar a las esporas e hifas durante el proceso de mineralización de residuos orgánicos en diferentes tipos de suelos; y 2) Determinar el patrón de distribución referida de hongos y esporas con respecto a poros, agregados y residuos orgánicos través de la micro-cartografía de secciones delgadas en diferentes tipos de suelos y 3) Presentar un sistema de clasificación para la identificación de objetos predefinidos (esporas, hifas, agregados, minerales y residuos orgánicos), con base en la forma de la respuesta espectral, de manera rápida y eficiente.

## **Capítulo 2. REVISIÓN DE LITERATURA**

## 1. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1 Distribución espacial y temporal

La importancia de la variabilidad espacial en la ecología del suelo ha sido ampliamente reconocida y la distribución espacial ha sido descrita en escalas que van desde individuos hasta comunidades a escala de paisaje (Franklin *et al.*, 2002; Franklin and Mills, 2003; Vieublé-Gonod *et al.*, 2006). Sin embargo, gran parte del trabajo ha sido de carácter descriptivo y la estructura espacial no se ha aprovechado plenamente para comprender la función del suelo ni reconocido plenamente como una propiedad fundamental de los suelos.

La estructura espacial de las poblaciones microbianas del suelo es el resultado de diversos controles ambientales que operan a diferentes escalas y de los procesos intrínsecos de la población tales como la dispersión, reproducción, mortalidad o la competencia, que se producen principalmente en escalas microscópicas (Ettema y Wardle, 2002). Las comunidades responden simultáneamente a una serie de variables que muestran diferentes patrones espaciales, que tienden a ser muy complejos; aunque ha sido corroborado por la evidencia empírica. Oline y Grant (2001) demostraron que el patrón espacial de la biomasa microbiana del suelo es más complejo que otras propiedades del suelo. Se ha establecido que las comunidades microbianas muestran diferentes patrones espaciales, lo que sugiere que responden de manera diferente a los agentes de la estructuración o que responden a diferentes agentes estructurantes (Saetre y Bååth, 2000; Ritz *et al.*, 2004).

Las comunidades microbianas, o subconjuntos de la misma, también muestran escalas anidadas de la estructura espacial, lo que indica que el desarrollo de la comunidad pueden responder a varios factores a la vez (Nunan *et al.*, 2002; Franklin y Mills, 2003), lo que se traduce, en una visión de conjunto que es muy complejo y difícil de desentrañar.

La estructura espacial se puede utilizar para ayudar a identificar los factores externos o intrínsecos del desarrollo y la actividad de la población (Ettema y Wardle, 2002). Sin embargo, con el fin de comprender cómo los factores externos e intrínsecos forman la actividad microbiana de la población, la estructura y distribución es importante para tener en cuenta las escalas en que operan estos organismos. Muchos estudios han examinado el papel de las variables ambientales que presentan los gradientes de escala

(grande y media), como la perturbación (Robertson *et al.*, 1993), contenido de humedad (Morris y Boerner, 1999), contenido de materia orgánica (Vieublé-Gonod *et al.*, 2003), distribución de las plantas (Saetre y Bååth, 2000) o las rutas de flujo preferencial en las poblaciones microbianas y la actividad en el paisaje, campo, parcela o las escalas básicas.

## 1.2. Hongos en el suelo

A pesar de la importancia reconocida de la comunidad de hongos del suelo en la regulación de la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas de plantas y suelo, todavía hay poco conocimiento sobre el origen de las comunidades de hongos en el suelo y cómo estas comunidades interactúan con la estructura del suelo. La diversidad de los hongos es alto, el número de especies estimadas es de 1.5 millones; sin embargo, a pesar de su diversidad, los hongos comparten ciertas características comunes, ya que son heterótrofos, deben recurrir a fuentes externas de C y por lo general, presentan un crecimiento filamentoso. Este último les da distintas ventajas ecológicas en el suelo por lo que ocupan un nicho diferente de las ocupadas por las bacterias en el suelo. El crecimiento apical les ofrece oportunidades para encontrar nuevas fuentes de carbono que pueden ser trasladadas a través de la red micelial a otra parte de la colonia de hongos. El mayor tamaño de los hongos (las dimensiones típicas de 30-10 mm) en relación con las bacterias (0.5-1 mm) significa que los hongos se encuentran raramente en microporos (Killham, 1994).

La ubicación de bacterias y hongos en la red de poros es la clave para su supervivencia y su actividad; por ejemplo, el mayor tamaño que tienen los hongos provoca que sean más vulnerables al ciclo de secado o humedecimiento y a la depredación (Denef *et al.*, 2001). Hattori (1988) demostraron que 80 a 90% de los hongos pueden ser restringidos los poros más grandes. Esto es consistente con el trabajo reportado más tarde por Harris *et al.* (2003) y Otten *et al.* (1999) quienes señalaron que la exploración de hongos es preferencial a través de los poros más grandes y llenos de aire. La mayor dificultad en la comprensión de las interacciones de hongos del suelo es la capacidad de observar la propagación de los mismos dentro de un volumen de poro en la escala pertinente de las hifas (hasta 10 mm de diámetro) y de colonias de hongos (orden de centímetros). Mucho progreso se ha hecho recientemente en secciones delgadas donde se

puede observar la distribución espacial de los hongos en un transecto de 2-D a través del suelo (Harris *et al.*, 2003). A escalas microscópicas (es decir, 0.77-0.58 mm, la única escala en la que pueden ser detectados en las secciones delgadas del suelo), las hifas de los hongos exploran el espacio poroso entre los agregados.

Hay pruebas de que la materia orgánica en los poros más pequeños está más protegida de la degradación que en los poros más grandes (Hassink *et al.*, 1993). La investigación en esta zona ha sido predominantemente centrada en las bacterias con pocas referencias a los hongos.

Los hongos y bacterias influyen de diferente forma en la estabilización y la formación de los diferentes componentes de la materia orgánica en los suelos agrícolas, en parte debido a sus interacciones con diferentes propiedades físicas del suelo (Six *et al.*, 2006). Las interacciones entre organismos y su sustrato dependen de la estructura del suelo y de la capacidad de los organismos a explorar el volumen de los poros.

La heterogeneidad microscópica del suelo y los hongos son de gran importancia, en el desarrollo de las epidemias vegetales causadas por patógenos del suelo. El papel de las condiciones físicas del suelo en el movimiento y la dispersión de patógenos fúngicos influyen en las epidemias de muchas maneras y en muchas escalas. Por ejemplo, el suelo más denso en condiciones más húmedas se traducirá en una colonización más intensa en el suelo, con las colonias de hongos pequeños pero densos.

El último desafío es entender cómo las condiciones físicas del suelo forman la dinámica de la comunidad de hongos en el suelo. Mientras que las teorías han surgido y han contribuido considerablemente a nuestra comprensión, en particular, los hongos han recibido hasta la fecha comparativamente relativamente poca atención. Una manera de progresar es desarrollar un enfoque de modelado capaz de vincular las condiciones del medio ambiente con la dinámica de la comunidad. Recientemente, Falconer *et al.* (2008) propusieron un modelo que se basa en la fisiología de los organismos; sin embargo, no es capaz de analizar la dinámica de hongos en una estructura heterogénea. En concreto, éste mostró la existencia de un estrecho rango de condiciones físicas del suelo que permiten la coexistencia de dos especies de hongos, separados por la estructura física. Este enfoque proporcionará una comprensión mucho más de lo necesario para las heterogeneidades



microscópicas en las condiciones físicas del suelo para explicar cómo afectan a la diversidad de hongos.

Sin embargo, los resultados recientes sobre las consecuencias de las interacciones entre los diferentes componentes del suelo, y en particular entre la estructura y la actividad microbiana, sugiere que la introducción de la complejidad de esta naturaleza en nuestra descripción de la tierra podría ser un paso esencial hacia la reducción de la demanda en los datos. Los estudios de las redes de interacción complejas están empezando a revelar las propiedades universales subyacentes (Albert y Barabassi, 2002); para ciertos modelos de redes, el comportamiento macroscópico del sistema puede ser relativamente insensible a los detalles de profundidad de las interacciones (Branda *et al.*, 2005). En otras palabras, a medida que se desarrolla una descripción más detallada de los suelos en términos de las interacciones entre sus componentes, no habrá un límite a la cantidad de detalles que se necesita. La ciencia del suelo debe centrarse más en las interacciones y menos en los componentes individuales de forma aislada.

Se ha reportado que en el suelo una multitud de diferentes especies de microorganismos están presentes en el suelo, sobre todo en la rizósfera del suelo (volumen del suelo adyacente) y está influenciada por las raíces de la planta, y representa una región de intensa actividad microbiana (Bonfante y Anca, 2009). La rizósfera es un ambiente que la planta misma ayuda a crear y donde los microorganismos patógenos y benéficos constituyen una fuerte influencia sobre la salud y crecimiento de las plantas. El grupo de microorganismos y otros agentes que se encuentran en la rizósfera incluyen bacterias, hongos, nematodos, protozoos, algas y microartrópodos (Johansson *et al.*, 2004).

Los HMA son hongos cosmopolitas que se asocian en las raíces de la mayoría de las especies vegetales (> 85%) y les proporcionan múltiples beneficios: mayor transporte de nutrientes, protección en condiciones de estrés, como: patógenos de hábitos radicales, salinidad, sequía, acidez y elementos tóxicos (Smith y Read, 1997). También son responsables de influenciar la diversidad vegetal y productividad en ecosistemas naturales (Van der Heijden *et al.*, 1998).

Además, los HMA tienen una importante ventaja con respecto a otros hongos y microorganismos del suelo, debido a que tienen un abastecimiento constante directo de C orgánico desde su hospedante. Sus hifas parecen permanecer viables por mayor tiempo, por

lo que su participación en la estabilidad de agregados se considera de mayor importancia (Franzluebbers *et al.*, 2000)

Debido a la longitud hifal en el suelo en comparación con la raíz, el área de la superficie por unidad de volumen de las hifas de HMA puede ser aproximadamente 100 veces más (Harley, 1989). Esta cantidad de hifas varía en los ecosistemas y presenta valores promedio comunes de 0.5 a 5 m (de hifa por gramo de suelo) en suelos cultivados y de hasta 20 m en suelos no perturbados.

Dado que la morfología de la colonización micorrízica que se produce en las raíces de las plantas es de escaso valor taxonómico (Brundrett *et al.*, 1996; Merryweather y Fitter, 1998), la taxonomía de los HMA se basa fundamentalmente en la morfología de sus esporas: forma, color, tamaño, grosor, tipo y naturaleza de las paredes que la constituyen, conexión hifal, ornamentaciones, etc. (Smith y Read, 1997), utilizándose la densidad de esporas (número de esporas/100g de suelo), como una medida de la importancia de las distintas especies de hongos en los suelos. Sin embargo, debido a las diferencias existentes en la capacidad de esporulación, ese parámetro no necesariamente refleja la abundancia real de las diversas especies de HMA.

Recientemente, con las técnicas de biología molecular, se ha comenzado a caracterizar las diversas especies de HMA presentes en las raíces de las plantas con base en la comparación de sus secuencias de ADN (Helgason *et al.*, 1998), pero el problema de la significación estadística del muestreo en el campo con estas técnicas aún dista mucho de estar resuelto, por lo que la cuantificación de esporas, aún con sus limitaciones, sigue siendo la medida de diversidad de HMA más utilizada.

### *1.2.1. Micelio externo*

El micelio externo micorrízico constituye de 80 a 90% de la biomasa fúngica en el suelo. Los suelos de diferentes ecosistemas contienen largas redes miceliales constituidas por hifas gruesas corredoras, que se encargan de explorar el suelo; el diámetro de estas disminuye con el incremento en el orden de ramificación (Friese y Allen, 1991).

Esta estructura puede trabajar como un sistema de conexión entre la raíz y el suelo y se distribuye ampliamente formando puentes hifales de conexión entre plantas funcionando como una fuente de intercambio nutrimental de un individuo a otro (Van der Heijden y Sanders, 2002).

El micelio externo constituye una importante fuente de inóculo para el progreso de la colonización del mismo sistema radical. El crecimiento extensivo del mismo no se inicia hasta después que las raíces han sido penetradas por las hifas del hongo. A lo largo de las hifas corredoras, se forman redes muy finas ramificadas que funcionan como estructuras de absorción (Basic absorption structures BAS). A partir del micelio externo del hongo, se pueden formar células auxiliares aisladas o agrupadas, cuya función no se ha determinado totalmente y grandes esporas de resistencia de paredes gruesas, las cuales pueden sobrevivir por años y cuya germinación inicia un nuevo ciclo de la simbiosis (Bago *et al.*, 1998).

### 1.2.2. Esporas

El micelio externo da origen a las esporas y éste debe traslocar cantidades relativamente grandes de carbohidratos dentro de ellas, colocando una cantidad considerable de biomasa fúngica fuera de las raíces; por ello las esporas representan una importante biomasa fúngica en el suelo (Smith y Read, 1997). Las esporas se establecen como estructuras de almacenamiento, resistencia y reproducción.

Las esporas con paredes gruesas, resistentes y hasta varios miles de núcleos parecen ser estructuras de supervivencia de largo tiempo con capacidad de ser dispersadas por el viento y el agua (Gemma y Koske, 1992). En el suelo las poblaciones están compuestas de esporas de diferentes edades y en diferentes estados de dormancia o quiescencia. Por consecuencia, la germinación puede ocurrir muy despacio y variablemente, proveyendo así un reservorio de inóculo que persiste por muchos años (Braunberger *et al.*, 1994).

La densidad de esporas en el suelo y su diversidad de especies es muy variable. Sieverding *et al.* (1999) encontraron una densidad máxima de 28 esporas  $\text{g}^{-1}$  de suelo y calcularon una biomasa de hasta 919  $\text{kg ha}^{-1}$ , lo cual estima una biomasa mayor a la que se estima para cuerpos fructíferos de hongos ectomicorrízicos. La composición de especies y abundancia de la población de esporas, tanto como la contribución de esporas a la

infectividad, están probablemente influenciadas por un amplio rango de factores relacionados con la producción de esporas, dormancia e infectividad, lo cual puede diferir entre especies de hongos, tipos de plantas así como con época y otras variables ambientales (Smith y Read, 1997).

#### *1.2.3. Germinación y crecimiento hifal*

Si hay una colonización exitosa se forma un micelio extenso, y si la espora llega a ser separada el crecimiento de la hifa cesa (Samaniego, 2008).

#### *1.2.4. Pared de la espora*

Cada espora, sin importar la especie, produce una pared la cual se origina de la hifa fértil en donde la espora es sostenida. La espora puede permanecer continuamente con la pared hifal o puede llegar a ser separada. La pared de la espora crece y se diferencia más a medida que la espora aumenta de tamaño. Cuando la espora deja de crecer, todas las capas de la pared de la espora han sido formadas, y ellas pueden continuar diferenciando propiedades tales como: color, rigidez y grosor (Stürmer y Morton, 1997).

La pared celular de los hongos posee constituyentes químicos como: polisacáridos, proteínas, lípidos y otras sustancias. La constitución varía entre las diferentes especies, también varía por factores como, edad, composición del medio, pH y temperatura (González- Chávez, 2002).

### *1.3. Escalas de observación*

El estudio del suelo, por décadas, se ha enfocado al entendimiento e interpretación de características y propiedades del suelo a gran escala. Esto provocó que las ciencias se desarrollaran más rápidamente que las relacionadas con el estudio de los procesos y factores de formación de suelo (De Kimpe y Morel, 2000).

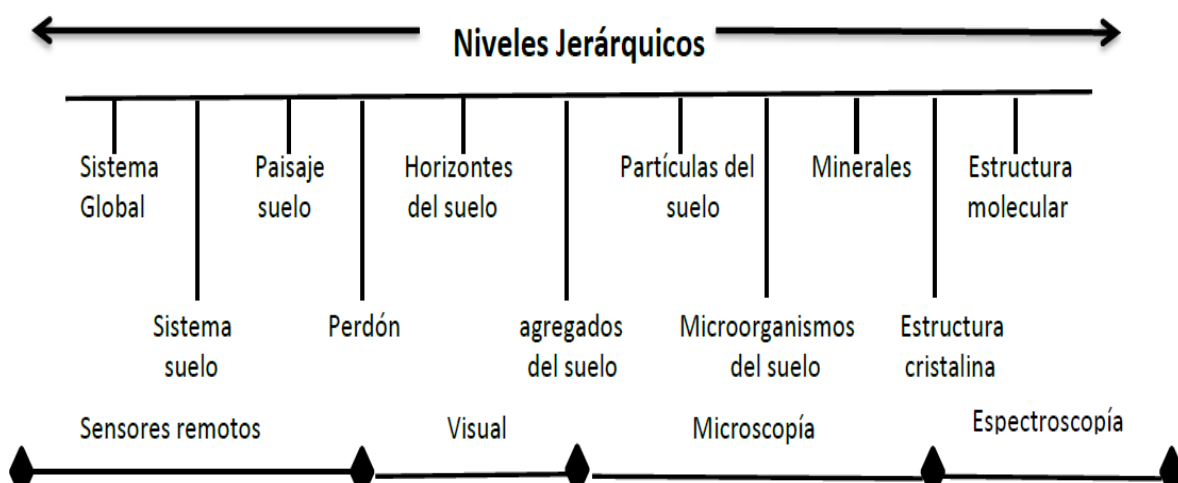
Dentro de la ciencia del suelo se incluye la calidad, extensión y variabilidad espacial, desde escalas microscópicas hasta megascópicas. Esta ciencia se considera integrativa y extrapolativa, ya que proporciona las guías organizacionales para catalogar modos, mecanismos y magnitudes de la variabilidad espacial del suelo; asimismo, aporta

esquemas de escalación de la variabilidad espacial de los componentes del suelo (Wilding *et al.*, 1994).

Este enfoque de la ciencia se debe a que la complejidad del suelo parece abrumadora; cuanto más cerca nos fijamos, mayor es la diversidad biológica y heterogeneidad física y química. Sin embargo, a pesar de ello «caos microscópico», el suelo es estable en sus propiedades macroscópicas a través de una gama de condiciones de funcionamiento. Se podría argumentar que la comprensión de la estabilidad depende del origen y la escala en la que se comprende al suelo.

*Enfoque reduccionista:* estudia los procesos que ocurren en el suelo para su interpretación, por lo que las herramientas de este enfoque son las escalas de observación, donde se emplean métodos de otras ciencias diferentes a la ciencia del suelo (Yaalon y Arnold, 2000).

El estudio del suelo en cada escala de observación, o nivel de detalle, requiere de herramientas específicas para su realización; por ejemplo: cuando se lleva a cabo una investigación del suelo en un contexto global o de paisaje se emplean los sensores remotos (fotografías aéreas o imágenes de satélite); en la descripción de un perfil del suelo en campo, la percepción visual; además los diferentes sentidos del cuerpo humano sirve para este fin. En cambio, cuando se requiere la identificación de los minerales que existen en el suelo, se recurre a la micromorfología (microscopía), y la espectroscopia (estudio submicroscópico) (Figura 1) que ofrece resultados más detallados (Wilding, 2000).



**Figura 1. Relación entre los niveles jerárquicos del suelo y las herramientas que se utilizan para su estudio.**

#### 1.4. Suelo

El Soil Survey Staff (2010), lo define como un cuerpo natural trifásico, constituido por sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases, que ocurren en la superficie de la tierra, y que ocupa un lugar en el espacio. Además, se caracteriza por, presentar horizontes o capas que se distinguen del material inicial como resultado de las adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de materia y energía o por la habilidad de soportar plantas enraizadas en un ambiente natural.

##### 1.4.1. Las funciones del suelo dentro del ecosistema

De acuerdo con Brady y Weil (1999) el suelo ejerce cinco funciones:

- *Medio para el crecimiento de las plantas.* El suelo es un soporte para el crecimiento de las plantas superiores, y proporciona un medio para el crecimiento de las raíces y suministro de nutrimentos.
- *Regulador del suministro de agua.* El suelo tiene la función de almacenar, purificar y reciclar el agua.
- *Reciclador de materiales de desecho.* Los suelos tienen la capacidad de reciclar grandes cantidades de basura orgánica transformándola en humus y convirtiendo los nutrimentos minerales en formas que se pueden utilizar por plantas y animales.
- *Hábitat para los organismos del suelo.* El suelo contiene billones de organismos que actúan como depredadores, consumidores, productores o parásitos.
- *Medio ingenieril.* Los suelos pueden presentar diferente estabilidad, eso hace que no todos sean aptos para la construcción, por lo que se deben considerar algunas de sus propiedades como dureza, capacidad de carga, comprensibilidad, resistencia y estabilidad; propiedades que varían mucho, más que los materiales de construcción.

Los cambios del ambiente físico y químico, producto de las actividades humanas, afectan directamente el hábitat edáfico; como consecuencia, los suelos sufren procesos de degradación en mayor o menor escala y quede puede interpretarse como una pérdida significativa de calidad (Monokrousos *et al.*, 2006).

### 1.5. *Micromorfología y análisis de imágenes*

La micromorfología del suelo es el estudio inalterado de bloques o secciones delgadas (25-30/ $\mu\text{m}$  de grosor) bajo el microscopio petrográfico. El estudio de la micromorfología del suelo se basa en el análisis de secciones delgadas preparadas a partir de muestras no alteradas del suelo y es un método que se utiliza actualmente para evaluar efectos que tienen diversos factores ecológicos (fauna, lluvia, fuego, cultivos, sequías.) sobre las propiedades del suelo (Vera *et al.*, 2007). Aunque históricamente la micromorfología está estrechamente relacionada con la génesis del suelo, su aplicación se incrementa en diferentes campos de la ciencia del suelo, los cuales incluyen a la física, química, biología y bioquímica del suelo (Bullock *et al.*, 1985). No sólo en la agricultura su uso es amplio, sino que empieza a apreciarse su utilidad en la arqueología, ecología, geología y mecánica de suelos.

Por otra parte el análisis de imágenes es un equipo compuesto por un microscopio y una computadora, técnica que ayuda a los científicos a estudiar objetos de interés en una imagen digital. Junto con el microscopio de video, los análisis de imágenes permiten examinar objetos en un amplia gama de escalas (Bui, 1990). Esta técnica tiene mucha importancia en la ecología del suelo; por ejemplo, los microbiólogos han usado los análisis de imágenes para cuantificar la tasa de crecimiento de células bacteriales y cultivos de microcolonias (Caldwell 1985; Korber *et al.*, 1989).

En el suelo el análisis de imágenes, se ha utilizado para medir la porosidad del suelo y la estructura (Ringrose-Voase y Bullock, 1984; Moran *et al.*, 1989). Además de la caracterización de pelets fecales de la fauna (Pawluk, 1987). También se utilizó la grabación de video-tape o imágenes por intervalo de tiempo rastrear los movimientos de los organismos del suelo (Korber *et al.*, 1989; Lussenhop *et al.*, 1991).

El estudio del suelo mediante secciones delgadas provee la oportunidad para los investigadores de la fauna del suelo estudiar las relaciones que evidencian la actividad animal, tales como la excavación y deposición de excrementos pueden ser identificados y cuantificados. La micromorfología ha sido por mucho tiempo una herramienta útil para caracterizar la interacción entre fauna y las propiedades físicas del suelo (Kooistra, 1991; Fromm *et al.*, 1993; Hassink *et al.*, 1993; Canti, 1998).

El desarrollo de las técnicas en el análisis de imágenes provee nuevas oportunidades para cuantificar los análisis en la micromorfología; por ejemplo, el espacio poroso (RingroseVoase, 1996; Adderley *et al.*, 2002). Tales características pueden ser aisladas de los materiales que los rodean haciendo posible la identificación automática a través de los análisis interactivos de un software.

Deleporte *et al.* (1997) usaron los análisis de imágenes para investigar el humus del bosque a través de los análisis de los cambios en el espacio poroso de las partículas minerales. Por su parte, para los suelos agrícolas, VandenBygaart *et al.* (2000) investigaron la influencia de las lombrices de tierra en las propiedades de la estructura del suelo usando análisis de imágenes del espacio vacío.

El análisis de imágenes de secciones delgadas o bloques de suelo ha sido usado para cuantificar la distribución del tamaño de los poros, la estructura y para caracterizar la irregularidad, orientación y forma de los poros de los suelos (Thompson *et al.*, 1992; Bouabid *et al.*, 1992; Deeks *et al.*, 1999).

McKeague *et al.* (1987) utilizaron mediciones de análisis de imágenes de espacio vacío para examinar el historial de los efectos en la porosidad de los cultivos en un suelo Brookston; además, observaron una reducción considerable en el espacio vacío total del horizonte superficial de este suelo bajo siembra continua de maíz.

En base a todo lo anterior se observa que el análisis de imágenes ha sido enfocado principalmente al suelo para determinar o cuantificar sus propiedades físicas; sin embargo, en lo que respecta al uso de la micromorfología y análisis de imágenes aplicado a los distribución espacial es escaso, ya que no se encuentra en la literatura estudios realizados para la cuantificación.

En la actualidad, los estudios de los suelos y de la participación biológica utilizan diferentes escalas de observación, bajo esta perspectiva, se pueden plantear algunas preguntas:

¿Qué escala es útil en la que se pueden detectar las hifas fúngicas en el espacio poroso?

Las limitaciones inherentes a estos métodos de muestreo se oponen a ciertos tipos de análisis de datos e interpretación, por lo que ha sido posible desarrollar un modelo de la distribución espacial de las esporas en el suelo en relación con la estructura o la arquitectura de raíz.



## LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., Ferrera, C., González-Chávez, M.C. y Villegas, M.A. 2000. Hongos micorrízicos arbusculares en la dinámica de aparición de estolons y nutrición de plantas de fresa cv. Fern obtenidas por cultivo in vitro. *Terra Latinoamericana* 18:211-218
- Adderley, W.P., Simpson, I.A., Davidson, D.A. 2002. Colour description and quantification in mosaic image of soil thin sections. *Geoderma* 108: 181– 195
- Albert, R., y Barabassi, A. L. 2002. Statistical mechanics of complex networks. *Rev. Mod. Phys.*
- Bago, B., Azcón-Aguilar, C., Goulet, A., Piché (1998). Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139: 375-388.
- Bonfante P. y Anca I. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Rev. Microbiol.*, 63: 363–383 *Phys.* 74: 47–97.
- Bouabid, R., Nater, E.A., Barak, P., 1992. Measurements of pore size distribution in a lamellar Bt horizon using epifluorescence microscopy and image analysis. *Geoderma* 53, 309-328.
- Branda, S. S., Vik, A., Friedman, L., and Kolter, R. (2005). Biofilms: The matrix revisited. *TRENDS Microbiol.* 13: 20–26.
- Braunberger, P.G., Abbott, L.K, Robson, A.D. (1994). The effect of rain in the dry season on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the growing season of annual clover-based pastures. *New Phytologist*, 127: 107-114.
- Brundrett M., Bougher, N., Dell, B, Grove, T., Malajczuk ,N., 1996 Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR. Pirie. Canberra, Australia. 374 pp.
- Bui, E. N. 1990. Applications of image analysis to soil micromorphology. USDA-ARS, Southern Piedmont Conservation Research Center, P.O. Box 555, Watkinsville, GA 30677 U.S.A.
- Caldwell, D.E. y Germida, J.J., 1985. Evaluation of difference imagery for visualizing and quantitating microbial growth. *Can. J. Microbiol.*, 31: 35-44.
- Canti, M.G.1998. The micromorphological identification of faecal spherulites from archaeological and modern materials. *Journal of Archaeological Science* 25:432–444.
- Deeks, L.K., Williams, A.G., Dowd, J.F., Scholefield, D.1999. Quantification of pore size distribution and the movement of solutes through isolated soil blocks. *Geoderma* 90: 65-86.
- Deleporte, S., Hallaire, V., Tillier, P.1997. Application of image analysis to a quantitative micromorphological study of forest humus. *European Journal of Soil Biology* 33: 8388

- Denef, K., Six, J., Bossuyt, H., Frey, S. D., Elliot, E. T., Merckx, R., and Paustian, K. 2001. Influence of dry-wet cycles on aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1599-1611.
- Ettema, C. H., y Wardle, D. A. 2002. Spatial soil ecology. *Trends Ecol. Evol.* 17, 177–183.
- Falconer, R. E., Bown, J. L., White, N. A., y Crawford, J. W. 2008. Modelling interactions in fungi. *R. Soc. Interface* 5: 603–615.
- Fromm, H., Winter, K., Filser, J., Hantschel, R., Beese, F. 1993. The influence of soil type and cultivation system on the spatial distributions of soil fauna and microorganisms and their interactions. *Geoderma* 60: 109-118.
- Franklin, R. B., y Mills, A. L. 2003. Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44: 335–346
- Franklin, R. B., Blum, L. K., McComb, A. C., y Mills, A. L. 2002. A geostatistical analysis of small-scale spatial variability in bacterial abundance and community structure in salt marsh creek bank sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42: 71–80.
- Franzluebbers, A.J., S.F. Wright y J.A. Stuedemann. 2000. Soil aggregation and glomalin under pastures in the Southern Piedmont USA. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1018-1026.
- Friese, C.F. y Allen, M.F. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: Inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia*, 83: 409-418.
- Gardezi, A. K., Cetina-Alcalá V. M., Talavera-Magaña D., Ferrera-Cerrato R., Rodríguez-Neave F. y Larqué-Saavedra M. 2000. Efecto de inoculación con endomicorriza arbuscular y dosis creciente de fertilización fosfatada en el crecimiento de Chapulixtle (*Dodonaea viscosa*). *Terra Lationoamericana* 18:153-159.
- Gemma, J. N. y Koske, R.E. 1992. Are mycorrhizal fungi present in early stages of primary succession? In: Read, D.J., Lewis, D.H., Fitter, A. H. & Alexander, I. J. (eds.). *Mycorrhizas in Ecosystems*. CAB International, Wallingford, UK., 183-189.
- González-Chávez, C., D'Haen, J., Vangronsveld, J., Dodd, J. 2002. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil* 240: 287-297.
- González-Chávez, M. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *TERRA Latinoamericana*, 23(1): 29-37.
- Harley, J.L. 1989. The significance of mycorrhiza. *Mycol. Res.* 92: 129-139.

- Harris, K., Young, I. M., Gilligan, C. A., Otten, W., y Ritz, K. 2003. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctonia solani* in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44: 45–56.
- Hassink, J., Bouwman, L. A., Zwart, K. B., and Brussard, L. 1993. Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soil. *Soil Biol. Biochem.* 25: 47–55.
- Hattori, K. 1988. Soil aggregates as microhabitats of microorganisms. *Rep. Inst. Agric. Res.* 37: 23–36.
- Helgason, T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, R. A.H., Young, J.P.W. (1998) Ploughing up the worldwide web? *Nature* 394: 431.
- Johansson, F., Paul, L., Finlay, R. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 113.
- Kabir, Z., I.P. O'Halloran y Hamel, C. 1997. The proliferation of fungal hyphae in soils supporting mycorrhizal and nonmycorrhizal plants. *Mycorrhiza* 6: 477-480.
- Killham, K. 1994. "Soil Ecology" Cambridge University Press, Cambridge. Pp 242
- Kooistra, M.J.1991. A micromorphological approach to the interactions between soil structure and soil biota. *Agriculture Ecosystems and Environment* 34: 315328.
- Korber, D.R., Lawrence, J.R., Sutton, B. and Caldwell, D.E., 1989. Effect of laminar flow velocity on the kinetics of surface recolonization by Mot + and Mot- *Pseudomonas fluorescens*. *Microb. Ecol.*, 18: 1-19.
- Lussenhop, T., Fogel, R. y Pregitzer, K., 1991. A new dawn for soil biology: video analysis of root-soil-microbial-faunal interactions. *Agric. Ecosystems Environ.* 34: 235-249.
- McKeague, J.A., Fox, C.A., Stone, J.A. and Protz, R., 1987. Effects of cropping system on structure of Brookston clay loam in long-term experimental plots at Woodslee, Ontario. *Can. J. Soil Sci.*, 67 (3): 571-584.
- Merryweather, J., Fitter, A.H. 199) The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta*. II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations. *New Phytol* 138: 131-142.
- Monokrousos N., Papatheodorou E.M., Diamantopoulos J.D., Stamou G.P. 2006. Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1282–1289.
- Morán, C.J., McBratney, A.B. y Koppi, A.J. 1989. A rapid method for analysis of soil macropore structure. I. Specimen preparation and digital binary image production. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53: 921-928.

- Morris, S. J., and Boerner, R. E. J. (1999). Spatial distribution of fungal and bacterial biomass in southern Ohio hardwood forest soils: Scale dependency and landscape patterns. *Soil Biol. Biochem.* 31: 887–902.
- Nunan, N., Wu, K., Young, I. M., Crawford, J. W., y Ritz, K. 2002. In situ spatial patterns of soil bacterial populations, mapped at multiple scales, in an arable soil. *Microb. Ecol.* 44: 296–305.
- O’Dea, M. E. 2007. Fungal mitigation of soil erosion following burning in a semi-arid Arizona savanna. *Geoderma* 138: 79-85.
- Oline, D. K., y Grant, M. C. (2001). Scaling patterns of biomass and soil properties: An empirical analysis. *Landscape Ecol.* 17: 13–26.
- Otten, W., Gilligan, C. A., Watts, C., Dexter, A. R., and Hall, D. 1999. Continuity of air- filled pores and invasion thresholds for a soil-borne fungal pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1803–1810.
- Pawluk, S., 1987. Faunal micromorphological features in moder humus of some western Canadian soils. *Geoderma* 40: 3-16.
- Preger, A. C.; Rillig, M. C.; John, A. R.; Du Preez, C. y Amelung, I. W.C. 2007. Losses of glomalin-related soil protein under prolonged arable cropping: A chronosequence study in sandy soils of the South African Highveld. *Soil Biology & Biochemistry* 39:445-453.
- Rillig, M. C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 84:355-363.
- Ringrose-Voase, A.J. and Bullock, P., 1984. The automatic recognition and measurement of soil pore types by image analysis and computer programs. *J. Soil Sci.*35: 673-684.
- RingroseVoase, A.J. 1996. Measurement of soil macropore geometry by image analysis of sections through impregnated soil. *Plant and Soil* 183: 27-47.
- Ritz, K., y Young, I. M. 2004. Intercations between soil structure and fungi. *Mycologist* 18: 52–59
- Robertson, E. B., Chenu, C., and Firestone, M. K. 1993. Microstructural changes in bacterial exopolysaccharides during dessication. *Soil Biol. Biochem.* 25: 1299–1301.
- Saetre, P., y Ba°ath, E. 2000. Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce-birch stand. *Soil Biol. Biochem.* 32: 909–917.
- Samaniego G. J. A. 2008. Germinación y sobrevivencia de esclerocios de (*Phymatotrichopsis omnivora*) en respuesta a NaOCl y suelo con glucosa. *Agric. Téc. Méx* 34(4): 375-385
- Sieverding, E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhiza mangement in Tropical Agrosystems. GTZ. Federal Republic of Germany Eschborn. ISBN 3-88085-462.

- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., y Batten, K. M. 2000 . Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 555–569.
- Smith, S.E. y Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edn. London, Uk: Academic Press Ltd.
- Smith, F.A. y Smith, S.E. 1997. Structural diversity in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol*, 137:373-388.
- Soil Survey Taxonomy. 2010. Claves para la Taxonomía de Suelos. Traducido por: Ortiz S. Carlos. A., Gutiérrez C. Ma. Del Carmen, y Gutiérrez C, E. V. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Natural Resources Conservation Service (NRCS).
- Strong, D. T., De Wever, H., Merckx, R., y Recous, S. 2004. Spatial location of carbon decomposition in the soil pore system. *Eur. J. Soil Sci.* 55: 739–750.
- Stürmer, S.L. y Morton, J.B. 1997. Developmental patterns defining morphological characters in spores of species in *Glomus* (Glomales, Zygomycetes). *Mycología* 89:72-81.
- Thompson, M.L., Singh, P., Corak, S., Straszheim, W.E. 1992. Cautionary notes for the automated analysis of soil pore-spaces images. *Geoderma* 53: 399-415.
- VandenBygaart, A.J., Fox, C.A., Fallow, D.J., y Protz, R. 2000. Estimating earthworm-influenced soil structure by morphometric image analysis. *Soil Science Society of America Journal* 64: 982- 988.
- Van der Heijden y I. Sanders. 2002. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem functioning. In: *Mycorrhizal Ecology*. M.G.A. van der Heijden y I. R. Sanders (eds.). *Ecological Studies* 157 Springer. New York, 225-242.
- Van der Salm C., Reinds G. J. y de Vries W. 2007. Water balances in intensively monitored forest ecosystems in Europe. *Environmental Pollution* 148(1):201-212
- Vera, M., Sierra, M., Díez, M., Sierra, C., Martínez A., Martínez F. J. y Aguilar, J. 2007. Deforestation and land use effects on micromorphological and fertility changes in acidic rainforest soil in Venezuelan Andes. *Soil & Tillage Research* 84: 184-194.
- Vieuble-Gonod, L., Chenu, C., and Soulas, G. 2003. Spatial variability of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) mineralisation potential at a millimetre scale in soil. *Soil Biol. Biochem.* 35: 373–382.
- Vieuble-Gonod, L., Chadoeuf, J., y Chenu, C. 2006. Spatial distribution of microbial 2,4-dichlorophenoxy acetic acid mineralization from field to microhabitat scales. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 64–71.

**Capítulo 3. MICROCARTOGRAFÍA DE LA  
DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE HONGOS Y  
ESPORAS EN SECCIONES DELGADAS**

# MICRO CARTOGRAFÍA DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE HONGOS Y ESPORAS EN SECCIONES DELGADAS

Microcartography of spacial distribution of fungi and spores in soil thin sections

Enrique Suástegui Méndez<sup>1</sup>, Ma. del Carmen Gutiérrez Castorena<sup>1\*</sup>, Carlos A. Ortiz<sup>1</sup> Solorio, Edgar V. Gutiérrez Castorena<sup>2</sup>, Gerardo Cruz Flores<sup>3</sup>, Patricio Sánchez Guzman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, México D.F. <sup>3</sup>Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, Batalla 5 de mayo s/n Esq. Fuerte de Loreto. Col. Ejército de Oriente C.P. 09230 México D.F. \*Autor para correspondencia: [carmen.gutierrez.castorena@gmail.com](mailto:carmen.gutierrez.castorena@gmail.com)

## RESUMEN

Generalmente, los estudios sobre la cuantificación de hongos se realizan de manera alterada, utilizando diferentes procedimientos como la técnica de tinción, tamizado húmedo y decantado, dilución, unidades formadoras de colonia (UFC) e *hibridación in situ* por fluorescencia; no obstante, poco se conoce sobre la distribución de las esporas e hifas en el suelo y sus relaciones con rasgos edáficos de manera precisa. El objetivo del presente estudio fue cuantificar a las esporas e hifas a través de la micro-cartografía de secciones delgadas de diferentes tipos de suelos y determinar su patrón de distribución referida con respecto a poros, agregados y residuos orgánicos durante el proceso de mineralización de residuos orgánicos en diferentes suelos. Se analizaron 123 secciones delgadas, verticales y horizontales, que se colectaron a intervalos de tiempo (1, 60 y 100 días), las cuales fueron escaneadas, magnificadas (300 %) e impresas en papel (22 x 27 cm); después fueron delimitadas en cuadrantes equivalentes y observadas sistemáticamente bajo un microscopio petrográfico. Cada hifa o espora identificada por cuadrante fue dibujada con marcador rojo en la imagen y un mapa de distribución fue generado. En suelos arcillosos se presentó la mayor cantidad de esporas las cuales se asocian con las tres superficies analizadas; mientras que en suelos arenosos el crecimiento de esporas fue limitado y en ninguna etapa se relacionaron con los poros del suelo. La mayor producción de esporas ocurrió a los 60 días después de la aplicación de residuos orgánicos al suelo y se relacionan con macro-agregados independientemente del tipo de suelo. Este método permite establecer la distribución espacial de esporas e hifas y comprender mejor su papel en la formación de los agregados del suelo.

**Palabras Clave:** *Ustifluvents, micro-cartografía, residuos orgánicos; micromorfología.*

## SUMMARY

Generally, studies on the quantification of fungi are made altered by using different technical procedures such as staining, wet sieving and decanting, dilution, colony forming units (CFU) and hybridization in situ by fluorescence; however, little is known about spores and hyphae distribution in the soil and its relationship with soil features. The objectives of this study were to quantify the spores and hyphae through the micro-cartography in soil thin sections, and to determine their related distribution patterns with pores, aggregates and organic waste during the mineralization process of organic residues in different soils. 123 soil thin sections (vertical and horizontal) were analyzed, which were collected at different intervals of time (1, 60 and 100 days). Then, they were scanned, magnified (300%) and printed on paper (22 x 27 cm), and defining into equivalent quadrants; lately, the soil thin sections were systematically observed under a petrographic microscope. Each hypha or spore identified by quadrant was drawn in red marker on the image and a distribution map was generated. In clay soils occurs the highest number of spores which are associated mainly with any natural surface; in contrast, in sandy soils spores are not associated with soil porosity. The highest productions of spores occurred at 60 days after application of organic waste to soil and are related mainly with macro-aggregates to regardless of soil type. This method allowed establishing the spatial distribution pattern of spores and hyphae and a better understanding about their role in formation of soil aggregates.

***Index words:*** *Ustifluents, micro-mapping, waste residues, micromorphology.*



## INTRODUCCIÓN

Dentro de la ciencia del suelo se incluye la calidad, extensión y variabilidad espacial, desde escalas megascópicas hasta microscópicas. Esta ciencia integrativa y extrapolativa proporciona las guías organizacionales para catalogar modos, mecanismos y magnitudes de la variabilidad espacial del suelo; asimismo, aporta esquemas de escalación de la variabilidad espacial de los componentes del suelo (Wilding *et al.*, 1994). Cada escala de observación, o nivel de detalle, requiere de herramientas específicas para su realización, desde sensores remotos, hasta descripción de un perfil del suelo (Hoosbeeck y Bryant, 1992). En cambio, cuando se requiere la identificación de los minerales o actividad biológica que existen en el suelo, se recurre a la micromorfología y a la espectroscopia (Wilding, 2000). Además, se emplean otras disciplinas si se desea estudiar a los procesos que ocurren en el suelo para su interpretación (Yaalon y Arnold, 2000).

A nivel microscópico, los primeros estudios de análisis de imagen realizados en suelos utilizaron imágenes grandes de baja resolución (Jongerius *et al.*, 1972), las cuales con el tiempo cambiaron a imágenes pequeñas con alta resolución (Terribile *et al.*, 1997; VandenBygaart y Protz, 1998). Las imágenes de alta resolución son necesarias para todos los componentes de interés, pero estos tienen que ser en una amplia zona contigua de la sección delgada para obtener la información espacial; además, para la comprensión de cada rasgo (agregación) es necesario relacionarlo con datos obtenidos a diferentes escalas dentro de los mismos agregados (Miedema, 1997), y analizarlos de manera individual, ya que no existe un método para la identificación completa de todas las funciones en una sección delgada (Terribile *et al.*, 1997).

En el caso de la actividad biológica, la estructura espacial se puede utilizar para identificar a los factores externos o intrínsecos que influyen en el desarrollo de la población (Ettema y Wardle, 2002).

En la actualidad, los estudios de suelos y de la participación biológica utilizan diferentes escalas de observación (Nunan *et al.*, 2002); no obstante, todavía no está definido la escala útil para detectar las hifas fúngicas en el espacio de los poros y entre los agregados *in-situ* (Trevez *et al.*, 2003).

Para la cuantificación de esporas e hifas generalmente se utilizan diversas técnicas como tinción, tamizado húmedo y decantado, dilución, unidades formadoras de colonia (UFC) e *hibridación in situ* por fluorescencia (Davet, 2004; Jjemba, 2004); no obstante, hay poca información sobre la distribución de estos organismos y sus relaciones con superficies edáficas (agregados, restos de materia orgánica, granos minerales y poros) particularmente *in situ*, y menos aún, su cartografía.

La distribución espacial y temporal de los hongos en el suelo tiene un gran impacto en la agregación y estabilidad del suelo (Hassink *et al.*, 1993). A pesar de esto, el conocimiento sobre la organización espacial de los hongos en el suelo y su papel en la agregación del suelo es limitado (Denef *et al.*, 2001). Una alternativa, es la micro-cartografía de secciones delgadas (De León *et al.*, 2007), que son generadas a partir de material del suelo inalterado (Bullock *et al.*, 1985). Esta metodología puede ser útil para determinar la escala de observación de las hifas fúngicas, su relación con diferentes rasgos (residuos de materia orgánica, agregados y poros) y su distribución espacial.

Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Cuantificar a las esporas e hifas durante el proceso de mineralización de residuos orgánicos en diferentes tipos de suelos; y 2) Determinar el patrón de distribución referida de hongos y esporas con respecto a poros, agregados y residuos orgánicos través de la micro-cartografía de secciones delgadas en diferentes tipos de suelos

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Suelo y clima

El área de estudio se ubica en los terrenos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, dentro del valle de México, en el kilómetro 36.5 de la carretera federal México-Texcoco.

El sitio geográficamente se localiza entre las coordenadas 19° 29' y 19° 37' de latitud norte y entre 98° 54' y 99° 03' de longitud oeste, con una altura media de 2250 m (Figura 1).

El clima es templado subhúmedo Cb (wo) (w) (i') g; con una precipitación media anual de 700 mm, con régimen de lluvias en verano y temperatura media anual de 15.5 °C (García, 1987). La vegetación está dominada por comunidades de Halofitas (*Distichlis*

*spicata*, *Saueda nigra*, *Eragrostis obtusiflora*), estratos arbóreos (*Tamarix plumosa*, *Casuarina equisetifolia*, *Acacia* sp., *Eucalyptos* spp.) (Rzedowzki, 1964) y cultivos anuales como maíz, frijón, avena, y cebada principalmente. Los suelos son aluviales con un régimen de humedad ústico, por lo que se clasifican como Ustifluvents variando a nivel de subgrupo o clase textural (Mollic o Aquic (Gutiérrez y Ortiz, 1999)).

### **Sitio experimental**

La cartografía de las esporas a nivel de sección delgada se basó en un experimento previo realizado por Ochoa *et al.* (2009) quienes monitorearon la descomposición de residuos orgánicos municipales y su efecto en la formación de agregados. Los tres sitios que se trabajaron corresponden al mismo tipo de suelo pero con diferente clase textural, nivel de salinidad y contenido de materia orgánica: Sitio 1, *Mollic Ustifluvents*; son suelos franco arcillo limosos, de ligera a moderadamente alcalinos y con contenidos medios de materia orgánica (MO); Sitio 2, *Aquic Ustifluvents*; son suelos franco arcillo limoso, salino-sódicos, con contenido moderado de MO; y Sitio 3, *Mollic Ustifluvents*, son suelos franco arenosos, ligeramente alcalinos, con contenidos medios y bajos de MO. En cada sitio experimental se consideraron dos proporciones de suelo: residuos orgánicos (2:1 y 1:1); dos profundidades de incorporación (24 y 42 cm); y dos frecuencias de riego (7 y 14 días). El estudio de la aplicación directa de residuos orgánicos en el suelo, se efectuó durante 100 días.

### **Análisis micromorfológico**

En este estudio se analizaron 123 secciones o láminas delgadas (espesor de 30  $\mu\text{m}$ , 7.5 x 5 cm con cortes verticales y horizontales), que fueron colectadas de la siguiente forma: 3 láminas por cada tipo de suelos (testigo a 0-10 cm); 24 láminas, 1<sup>er</sup> día de incubación (8 por Sitio, a 5 y 10 cm de profundidad); y 48 láminas a 60 y 100 días de incubación: (16 por sitio, a 5, 10, 15 y 30 cm de profundidad). Estas muestras inalteradas fueron preparadas de acuerdo con Murphy (1986) y se volvieron a describir micro-morfológicamente con base en Bullock *et al.* (1985).

Las secciones delgadas fueron escaneadas (512 x 720 pixeles), magnificadas (300 %) e impresas en papel (22 x 27 cm) de acuerdo con el método propuesto por De León *et al.* (2007), con algunas modificaciones. El material impreso se delimitó en cuadrantes equivalentes de 1 x 0.6 mm (60 en total) (Figura 2); luego cada sección delgada fue sistemáticamente observada bajo un microscopio petrográfico (Olympus BX51 ®) con una rejilla (grid) de 1 x 0.6 cm, 2x, 4x y 10x. Cada hifa o espora identificada por cuadrante fue dibujada con marcador rojo en la imagen y un mapa de distribución fue generado. Posteriormente, cada rasgo y su patrón distribución referida con respecto a superficies de agregados, tipos de poros y residuos de materia orgánica fueron cuantificados por cada tratamiento. De esta manera se estableció la distribución espacial *in situ* de las esporas.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se efectuó de acuerdo con el Análisis Estadístico Multivariado (AEMV) (pruebas de comparaciones múltiples con los test de Tukey) con SAS ®, versión 9.1. (SAS Institute Inc, Cary, NC., EE.UU.). Con los datos obtenidos se calculó la riqueza de especies y el índice de diversidad según Whittaker (1975).

## **RESULTADOS**

### **Cuantificación y monitoreo de esporas e hifas**

En el Cuadro 1 se muestra el comportamiento de la población fúngica en diferentes tipos de suelos, profundidades y frecuencia de riegos. En suelos aluviales de texturas finas (Sitio 1), ocurrió la mayor densidad de poblaciones fúngicas (364), sobre todo en el horizonte superficial; mientras que en los suelos salinos o con texturas gruesas (Sitios 2 y 3), la población fúngica disminuyó de manera drástica (94 y 48 respectivamente), a pesar de los altos contenido de MO incorporados y frecuencia de riegos. También se puede apreciar en este cuadro, que la profundidad influye en el desarrollo de las poblaciones fúngicas, ya que la mayor cantidad de hongos y esporas ocurren en la superficie y disminuye su contenido con la profundidad, independientemente del tipo de suelo y con los mismos tiempos de riego o aplicaciones de materia orgánica. En cuanto a la proliferación de esporas por días

de incubación, se encontró que la mayor incidencia ocurrió a los 60 días, independientemente del suelo (Figura 3).

Con el análisis de la distribución espacial de la población de esporas e hifas se encontró que se relacionan de diferente manera con los rasgos edáficos presentes en los suelos de acuerdo con el grado de mineralización de la materia orgánica (Figura 6). Antes de las aplicaciones de residuos orgánicos, las esporas se identificaron relacionadas con la superficie de los agregados de los tres sitios analizados; no obstante, una vez iniciado el experimento, el patrón de distribución relacionada y distribución básica varió de acuerdo con el tipo de suelo. En suelos de texturas finas (Sitio 1), y con alto contenido sales (Sitio 2), las esporas se observaron relacionadas con la superficie de agregados, poros y residuos orgánicos; en tanto que, en suelos de textura gruesa (Sitio 3), las esporas sólo se asociaron con agregados (macro y micro) pero nunca con el espacio poroso. A 60 días de incubación, las esporas y las hifas se relacionaron predominantemente con la superficie de los agregados, además, es cuando se cuantificó la mayor concentración de poblaciones fúngicas (Figura 7 y 8), lo que demuestra que el crecimiento apical les ofrece la oportunidad de localizar nuevas fuentes de carbono que pueden ser trasladadas a través de la red de micelio a otra parte de la colonia de hongos. De acuerdo con Ritz y Young (2004), el mayor tamaño de los hongos (las dimensiones típicas de 30-10  $\mu\text{m}$ ) genera que estos se relacionen más con macro poros que con lo microporos, los cuales generalmente se ubican dentro de los agregados.

Con el análisis de la porosidad, se encontró que en los suelos de textura fina (Sitio 1), donde ocurre la mayor biomasa de hongos, se presentan poros de empaquetamiento compuesto (como resultado del acomodo de los agregados) y fisuras; en contraste con el suelo arenoso (Sitio 3), en donde sólo se presentan poros de empaquetamiento simple (por el acomodo de las arenas). El espacio poroso total (que es medida en un tiempo dado para un suelo), varió a lo largo del experimento en los tres tipos de suelos y con tendencia a la baja (de 40 a 33% en el Sitio 1 y de 29 a 25 % en el Sitio 3). En la superficie de los agregados asociados con poros de empaquetamiento compuesto es donde ocurre la mayor densidad de población de hongos, sobre todo en el Sitio 1.

En cuanto a la formación de macro y micro-agregados se encontró que tienen un comportamiento lineal durante el proceso de descomposición e incubación de la materia

orgánica. El mayor porcentaje de micro-agregados se presentó a los 60 días (45 %), valor que corresponde a la mayor cantidad de esporas e hifas, y disminuyó (hasta 20%) al finalizar el proceso a 100 días (Figura 5). Sin embargo, el número de esporas es aún discutido como indicador del comportamiento del hongo, ya que su esporulación puede ser gobernada por un sin número de factores bióticos y abióticos. La presencia de un mayor número de esporas a los 60 días, puede haberse producido como una respuesta del hongo ante condiciones de estrés.

### **Diversidad e índice de esporas**

Los suelos de texturas finas no salinos presentaron la mayor densidad de esporas (Sitios 1), riqueza de especies e índice de diversidad, sobre todo a los 60 días de incubación; en contraste con los suelos de texturas arenosas (Sitio 3) donde prácticamente no ocurren esporas (Cuadro 1). La especie más abundante fue *Glomus* “marrón hifa transparente” la cual domina hasta en 90% (Figura 9), del total de esporas cuantificadas, tanto en la parte más superficial del suelo como en el perfil. Sin embargo, sólo en el Sitio 2 (suelo de textura fina salino-sódico) se observaron dos morfotipos o tipos de esporas con morfología diferente, las cuales no se ajustan a las descripciones publicadas en la literatura.

### **Análisis estadístico**

La abundancia de esporas e hifas varió entre las tres superficies analizadas (poros, agregados y residuos orgánicos) y con respecto a la profundidad (10, 15 y 30 cm). Las pruebas de comparaciones múltiples para los promedios de abundancia de los rasgos edáficos con los test de Tukey, reflejaron diferencias significativas entre las superficies de los agregados y de los residuos orgánicos ( $p < 0.05$ ) y entre la superficie de los agregados y porosidad ( $p < 0.01$ ) (Figura 10). Asimismo, la abundancia de hongos y esporas y su relación con rasgos del suelo con respecto a la profundidad, se observó que existen diferencias significativas entre la abundancia de hongos e hifas ( $P < 0.05$ ), con respecto a la porosidad y agregados a la profundidad de 0-10 cm; y entre agregados y residuos orgánicos ( $P < 0.05$ ) a la profundidad 0-15cm; mientras que la abundancia de hongos es igual en los tres tipos de superficies con las cuales se asocian a la profundidad de 30 cm (Figura 11).

En general, para las tres asociaciones entre esporas y rasgos edáficos, al igual que para casi todos los sitios de muestreo, el mayor promedio de abundancia de hongos (56) se encontró en la profundidad de muestreo (0-10 cm), lo cual se corrobora con lo mencionado anteriormente sobre los resultados de abundancia total.

Finalmente, se presentó una densidad de esporas mayor en la periferia de los agregados, en comparación con los macroporos y residuos orgánicos. Sin embargo, a pesar de la incorporación de los residuos vegetales, se encontraron algunas en los primeros días de incubación, los cuales probablemente cumplan el papel de inoculantes del suelo.

## DISCUSIÓN

### Cuantificación de esporas

El mapa de la distribución de esporas e hifas permitió observar (para los tres tipos de suelos), que la mayor interacción se da en la periferia de los agregados (85% de los casos); después en menor proporción con los residuos vegetales; y finalmente con menor presencia en el sistema poroso. Esta diferencia de resultados caracteriza al patrón predominante de colonización que los hongos realizan para su sobrevivencia.

La alta relación entre esporas asociadas con superficies de agregados y de poros de empaquetamiento compuesto, con una distribución básica agregada, confirma que los hongos tienen un papel primordial en la participación de la agregación de los suelos, pero sobre todo los de texturas finas. En el caso del suelo arenoso, las condiciones edáficas limitaron el desarrollo de las esporas sobre todo cuando se asociaron con los macroporos. El mayor tamaño de los hongos (las dimensiones típicas de 30-10  $\mu\text{m}$ ) genera que estos se relacionen más con macro poros que con microporos (Ritz y Young 2004), hasta en 80-90%, debido principalmente a que los hongos tienden a explorar a través de los poros grandes y llenos de aire (Harris *et al.*, 2003; Otten *et al.*, 1999). Sin embargo, esto es válido si los macroporos son el resultado de actividad biológica como los poros de empaquetamiento complejo (Brady y Weil, 1999), ya que los poros de empaquetamiento simple tienden a percolar toda el agua y por lo tanto, presentan déficit de agua para el desarrollo de los organismos (Pape y Lager, 1995).

Además, la ubicación de hongos en la red de poros es la clave para su supervivencia y su actividad, ya que en macroporos suelen ser más vulnerables a la depredación y el ciclo de secado- humedecimiento (Denef *et al.*, 2001).

La baja densidad de esporas e hifas relacionadas con residuos orgánicos, sobre todo en suelos arenosos, se debe principalmente a las altas temperaturas que ocurren en las primeras etapas de mineralización. De acuerdo con Miller (1993), los hongos actúan después de que las poblaciones bacterianas disminuyen su población y los sustratos remanentes son predominantemente ricos en celulosa y ligninas. Esto contrasta con los resultados obtenidos, ya que los hongos se relacionaron predominantemente con micro y macro-agregados, rasgos que se formaron por la actividad bacteriana en el primer mes de incubación (Ochoa *et al.*, 2009).

Finalmente, la salinidad del suelo y las inundaciones son dos de los factores ambientales desfavorables para el desarrollo de hongos, por lo que siempre se ha creído que las plantas en estos ambientes generalmente no son colonizadas por estos hongos simbióticos (Aliasgharzadeh *et al.*, 2001; Álvarez *et al.*, 2001). Sin embargo, este estudio demuestra que al degradarse la materia orgánica con las condiciones de temperatura y humedad que se presentaron a los 60 días generó un ambiente donde estos organismos proliferaron. Ochoa *et al.* (2009) reportaron que la conductividad eléctrica y el pH del suelo disminuyeron (a no salinos y ligeramente alcalinos) a medida que avanzaron los días de incubación debido a que la materia orgánica mineralizada ocluyó al catión  $\text{Na}^+$ , lo que generó condiciones que permitieron el desarrollo de los hongos, incluso con un mayor porcentaje que en los suelos arenosos.

En lo que respecta a los morfotipos de hongos que se desarrollaron en los sitios experimentales se encontró que en los suelos estudiados proliferó *Glomus* sp., hongo cosmopolita que puede dominar hasta 85 % (Kennedy *et al.*, 2002). Asimismo, se ha reportado que los hongos se organizan en micro-colonias compuestas de pocas individuos que pueden pertenecer a diferentes morfotipos (Nunan *et al.*, 2003); no obstante, en el suelo salino sódico la presencia de dos morfotipos de *Glomus* sp., indica que este género, es un colonizador más agresivo y que se adaptan con mayor facilidad a cambios en las condiciones de clima y suelo extremo como lo son los suelos del ex lago de Texcoco (Gutiérrez y Ortiz, 1999).



### **Distribución de esporas con poros, agregados y residuos orgánicos**

El patrón de distribución agrupamiento de poblaciones de esporas e hifas y su asociación sobre la superficie de agregados, sobre todo en suelos de texturas finas, indica que el desarrollo de la comunidad puede responder a varios factores (Nunan *et al.*, 2002; Franklin y Mills, 2003) a escala microscópica. Muchos estudios han examinado el papel de las variables ambientales que influyen en el gradiente de la escala, tales como la perturbación (Robertson *et al.*, 1997), contenido de humedad y contenido de materia orgánica (Morris y Boerner, 1999). Aunque no hay duda de que todos estos factores influyen en su actividad y sobre el desarrollo de la población fúngica, no están relacionados con aspectos de las poblaciones, tales como los niveles de diversidad sostenida a pequeña escala y los patrones de diversidad no competitivo en el suelo (Zhou *et al.*, 2002; Treves *et al.*, 2003), que son la base de las propiedades fundamentales del suelo. En general, su distribución espacial está relacionada con variaciones en la cantidad y calidad de la materia orgánica, con la disponibilidad de nutrientes y con la humedad del suelo.

Se ha reportado que los organismos del suelo no se distribuyen al azar sino que siguen patrones espaciales de agregación, a escalas diferentes (desde nm a km) que se superponen. Esta estructuración obedece al efecto causado por diferentes factores de control y es totalmente dinámica (Ettema y Wardle, 2002). Utilizando técnicas de observación de secciones ultra-finas de suelo mediante microscopía electrónica, tomografía, análisis geoestadístico y la elaboración de modelos, especialmente basados en fractales, se ha demostrado que la distribución de los organismos edáficos está altamente estructurada y que esta estructuración es importante para la funcionalidad del suelo.

### **CONCLUSIONES**

En suelos arcillosos, ocurre la mayor proliferación de esporas, las cuales se asocian con cualquier superficie natural (poros, residuos orgánicos y agregados) al inicio de la mineralización de la materia orgánica y con la superficie de los agregados a 60 días de incubación; mientras que en suelos arenosos en ninguna etapa se relacionan con poros y el crecimiento de esporas es limitado. La mayor producción de esporas ocurre a 60 días y se relacionan con macro-agregados independientemente del tipo de suelo.

La micro-cartografía de secciones delgadas puede ser una herramienta útil para cuantificar y comprender la distribución espacio-temporal de los hongos *in situ*, con lo cual se puede predecir una gran variedad de procesos y mecanismos que son decisivos en la agregación del suelo.

### LITERATURA CITADA

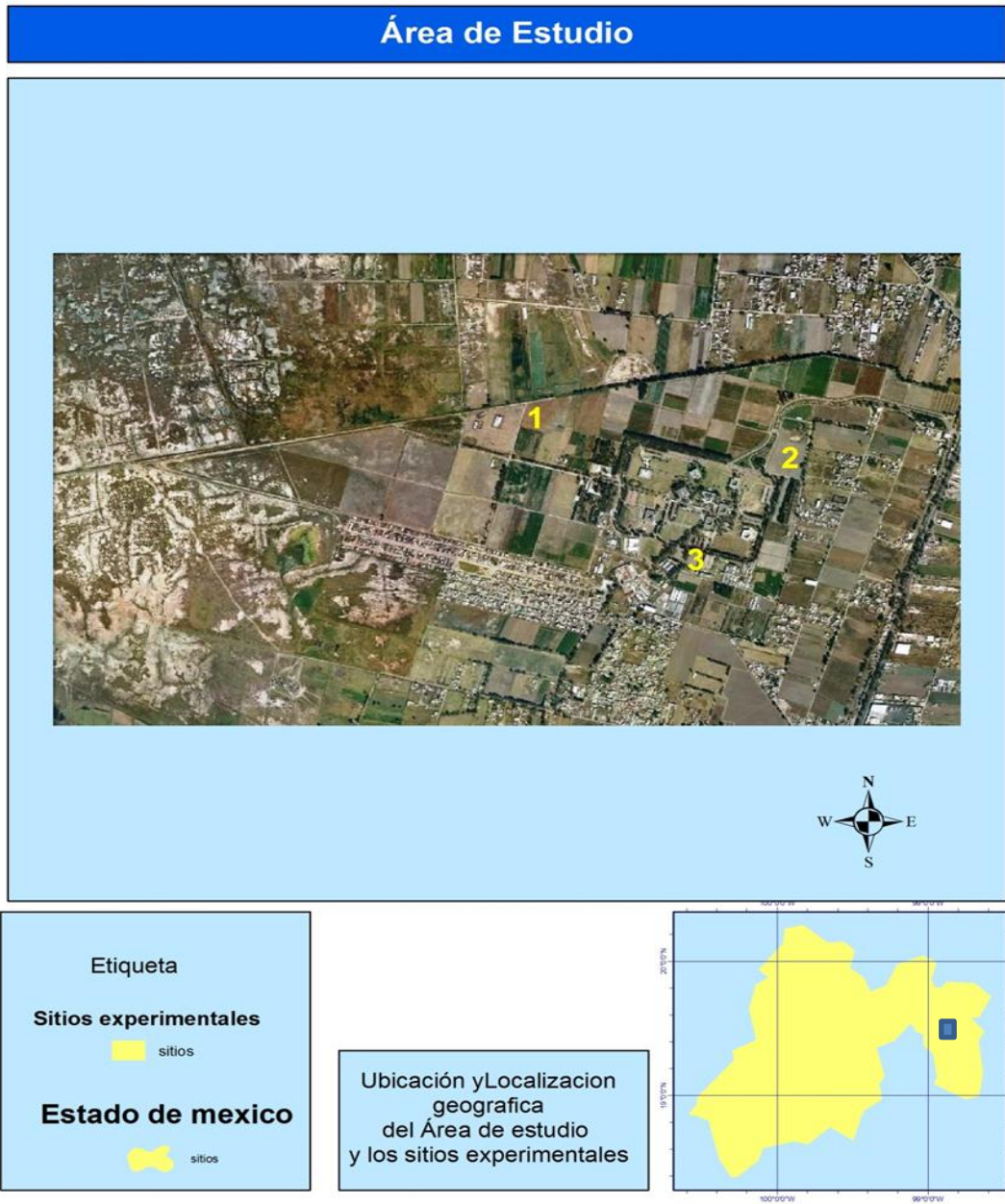
- Aliasgharzadeh N., S.N. Rastin, H. Towfighi, and A. Alizadeh. 2001. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of the Tabriz Plain of Iran in relation to some physical and chemical properties of soil. *Mycorrhiza*. 11:119–122
- Alvarez, J., R. Ortiz, y F. Alcaraz. 2001. Edaphic characterization and soil ionic composition influencing plant zonation in a semiarid Mediterranean Salt Marsh. *Geoderma*. 99:81–98
- Bullock, P., N. Fedoroff, A. Jongerius, G. Stoops, and T. Tursina. 1985. Handbook for soil thin section description. Wayne Research Publications, England. 152 pp.
- Brady, N. C. and R. R. Weil. 1999. The nature and properties of soils. 12<sup>a</sup> Edition. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey. U.S.A. pp 881
- Davet, P. 2004. Microbial Ecology of the soil and plant growth. Science Publisher, Inc. USA. pp392
- De León-González, F., Ma. C. Gutiérrez-Castorena, Ma. C. A. González-Chávez, and H. Castillo-Juárez. 2007. Root-aggregation in a pumiceous Sandy soil *Geoderma*. 142: 308–317
- Denef, K., J. Six, H. Bossuyt, S. D. Frey, E. T. Elliot, R. Merckx, and K. Paustian. 2001. Influence of dry-wet cycles on aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biol. Biochem*. 33:1599–1611.
- Ettema, C. H., and D. A. Wardle. 2002. Spatial soil ecology. *Trends Ecol. Evol*. 17:177–183
- Franklin, R. B., and A. L. Mills. 2003. Multi-scale variation in spatial heterogeneity for microbial community structure in an eastern Virginia agricultural field. *FEMS Microbiol. Ecol*. 44:335–346.
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Kopen. 4<sup>o</sup> Edición. México. pp 246
- Gutiérrez-Castorena, Ma. C., and C. A. Ortiz-Solorio. 1999. Origen y evolución de los suelos del lago de Texcoco, México. *Agrociencia* 33: 199-208
- Hassink, J., L. A. Bouwman, K. B. Zwart, and L. Brussard. 1993. Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soil. *Soil Biol. Biochem*. 25:7–55.

- Harris, K., I. M. Young, C. A. Gilligan, W. Otten, and K Ritz. 2003. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctoniasolani* in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44:45–56.
- Hossbeeck, M. R. and R. B. Bryant. 1992. Towards the quantitative modeling of pedogenesis. *Geoderma* 55: 183-210
- Jongorius, A., D. Schoonderbeek, A. Jager, and S. Kowalinski. 1972. Electro-optical soil porosity investigation by means of Quantimet-B equipment. *Geoderma* 7:3-4
- Jjemba, K. P. 2004 *Environmental microbiology principles and applications*. Science Publisher, Inc. USA. 372 pp.
- Kennedy, L. J., R. L. Tiller, and J. C. Stutz. 2002. Associations between arbuscular mycorrhizal fungi and *Sporoboluswrightii* in riparian habitats in arid Sout–western North America. *Journal of Arid Environments* 50:459–475
- Miedema, R. 1997. Applications of micromorphology of relevance to agronomy. *Adv. Agron.* 59:119–169
- Miller, F. C. 1993. Composting as process based on the control of ecologically selective factors. Pp 515-543. In: B. Metting (ed) *Soil microbial ecology*. Marcel Decker, INC New York,.USA.
- Murphy, C. P. 1986. *Thin section preparation of soils and sediments*. A.B. Academic Publishers, Berkshamsted, England, 149 pp.
- Morris, S. J, y R. E. J. Boerner. 1999. Spatial distribution of fungal and bacterial biomass in southern Ohio hardwood forest soils: Scale dependency and landscape patterns. *Soil Biol. Biochem.* 31:887–902.
- Nunan, N., K. Wu, I. M. Youn, J. W. Crawford, K. Ritz. 2002. In situ spatial patterns of soil bacterial populations, mapped at multiple scales, in an arable soil. *Microb. Ecol.* 44:296–305.
- Nunan, N., K. J. Wu, I. M. Young, J. W. Crawford, and K. Ritz. 2003. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-architecture of soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44:203–215.
- Ochoa, E. S., C. A. Ortiz-Solorio, Ma C. Gutiérrez-Castorena, R. Quintero- Lizaola, y J. T. G. Silva. 2009 *Aplicación directa de residuos sólidos orgánicos municipales a suelos volcánicos*. *Terra Latinoamericana* 27:53-62
- Otten, W., C. A. Gilligan, C. Watts, A. R. Dexter, and D. Hall. 1999. Continuity of airfilled pores and invasion thresholds for a soil-borne fungal pathogen, *Rhizoctoniasolani*. *Soil Biol. Biochem.* 31:1803–1810.
- Pape, Th., and D. Lager. 1995. *Manual for soil description and classification*. Departament of soil Science and Geology. Wegeningen, Neherlans. 164 pp

- Rzedowzki, J. 1964. Algunas asociaciones vegetales en los Terrenos del Lago de Texcoco. *Soc. Bot. Mex.* 21:1-5
- Ritz, K., and I. M. Young. 2004. Intercations between soil structure and fungi. *Mycologist* 18:52–59.
- Robertson, G. P. K. Klingensmith, M. Klug, E. Paul, J. Crum, and B. Ellis. 1997. Soil resources, microbial activity, and primary production across an agricultural ecosystem. *Ecol. Appl.* 7:158–170.
- Terribile, F., R. Wright, and E.A. Fitzpatrick. 1997. Image analysis in soil micromorphology: from univariate approach to multivariate solution. In: Shoba S, Gerasimova M and Miedema R (eds.) *Soil Micromorphology: Studies on Soil Diversity Diagnostics Dynamics*. Printing Service Centre Van Gils, Wageningen. Pp 397–417.
- Treves, D. S., B. Xia, J. Zhou, and J. M. Tiedje. 2003. A two-species test of the hypothesis that spatial isolation influences microbial diversity in soil. *Microb. Ecol.* 45: 20–28.
- VandenBygaart, A. and R. Protz. 1999. The representative elementary area (REA) in studies of quantitative soil micromorphology. *Geoderma.* 89:333–346
- Wilding, L. P. 2000. Pedology. In Summer, m.2000. *Hanbook of Soil Science*. CRC PRESS. New York. USA p. E1-E40
- Wilding, L. P., J. L. Bouma, and D. Goss. 1994. Impact of spatial variability on modeling. In R. Brryant and M.R. Hoobeeck (eds). *Quantitative modeling of soil forming processes: Soil Sci. Soc. Am. J, Special Publ. N° 39, Madison WI. USA*
- Whittaker, R. H. 1975. *Communities and Ecosystems*. MacMillan. Nueva York, EEUU. 385 pp.
- Yaloon, D H, RW Arnold (2000) Attitudes toward soils and their societal relevance: The and now. *Soil Science.* 165: 5-12.
- Zhou, J. Z., B. C. Xia, D. S. Treves, L. Y. Wu, T. L. Marsh, R. V. O’Neill, A. V. Palumbo, and J. M. Tiedje. 2002. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:326–334.

**Cuadro 1.** Población fúngica (N° de individuos) en los sitios de muestreo

Profundidad	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Frecuencia de Riego (días)		Tratamiento	
				7	14	1:1	2:1
10 cm	364	94	48	144	50	120	40
15 cm	57	36	22	15	6	34	18
30 cm	12	5	3	8	0	7	2



**Figura 1. Ubicación del área de estudio**

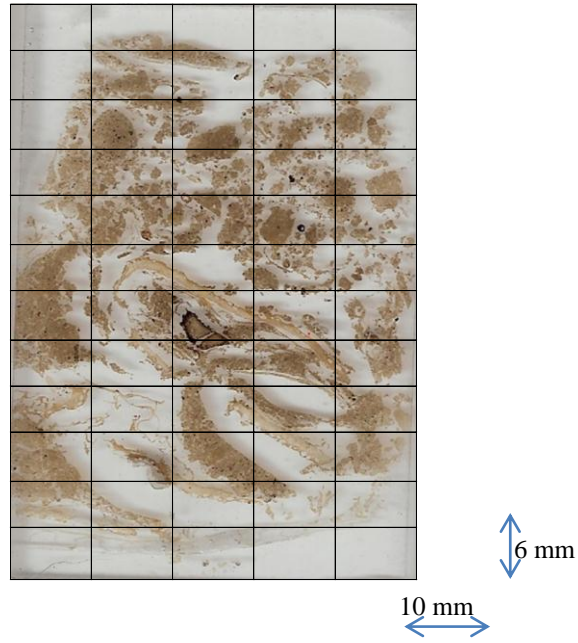


Figura 2. Áreas homogéneas para la cuantificación y posición espacial de esporas e hifas

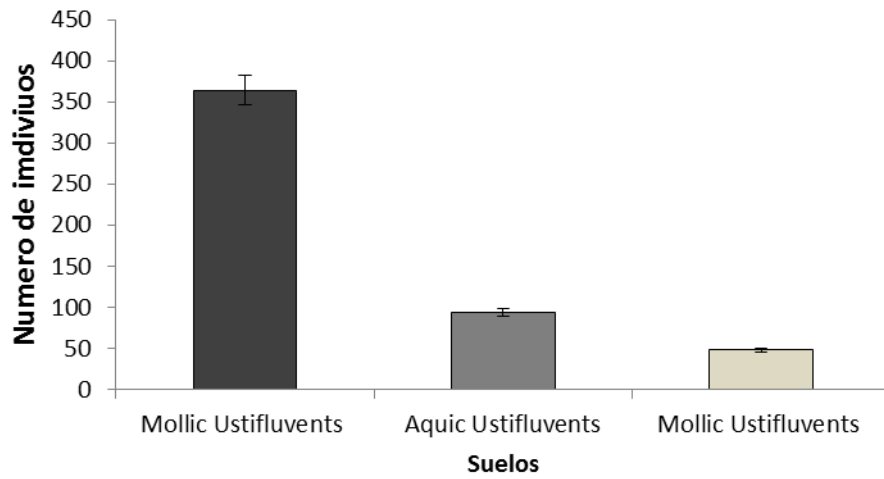
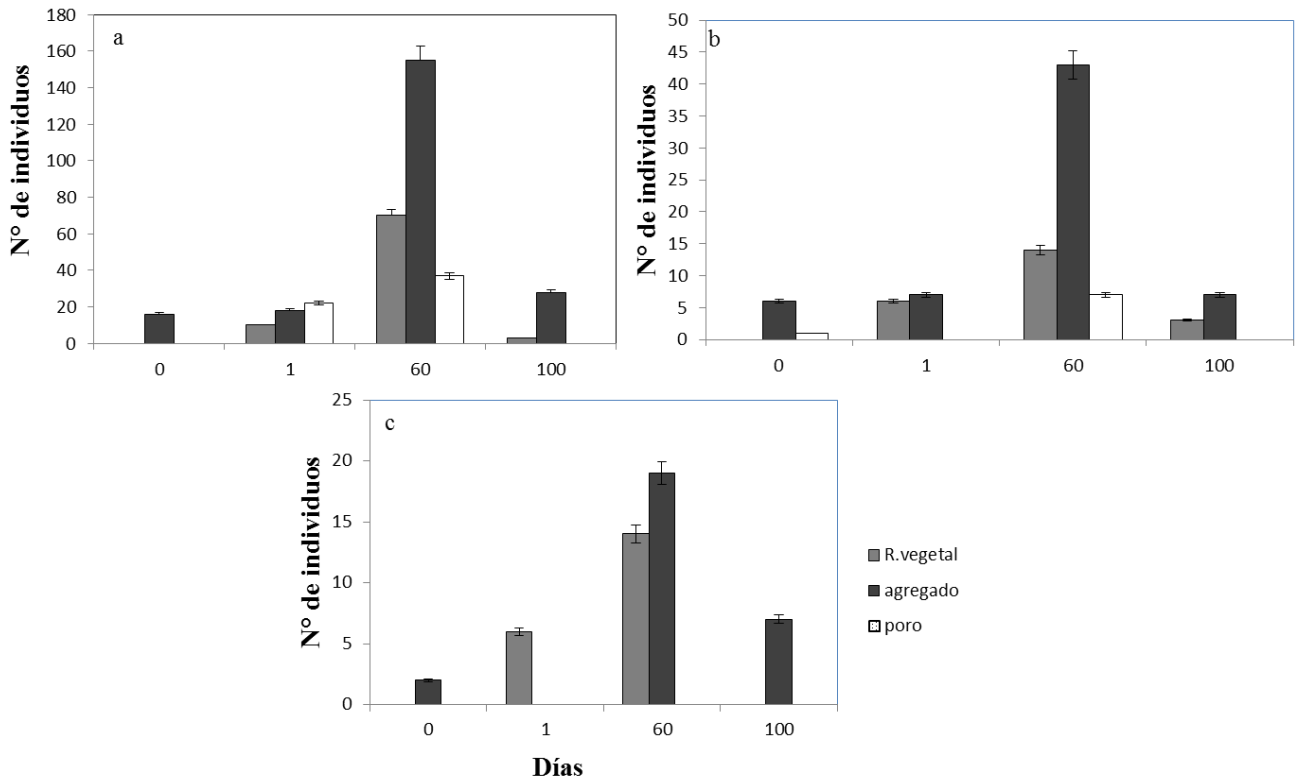
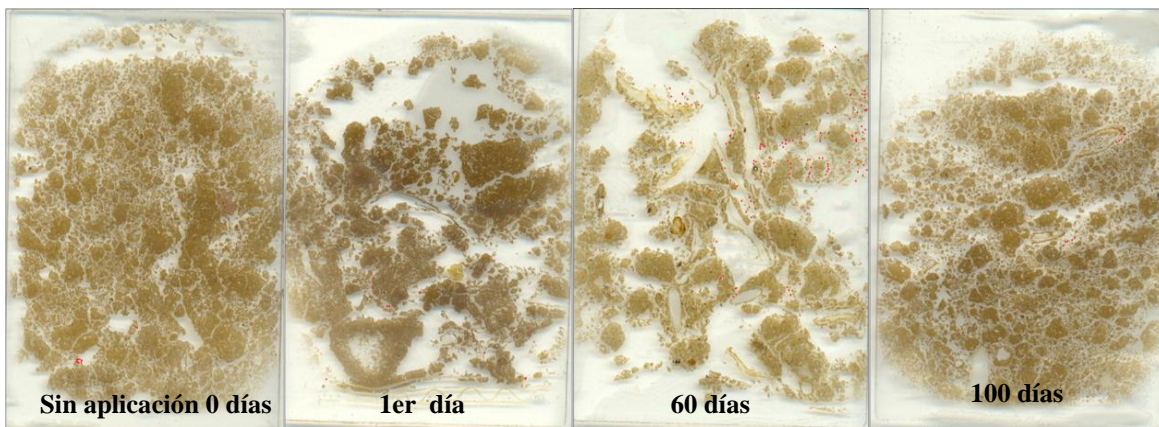


Figura 3. Número de esporas totales para los tres sitios experimentales a 60 días de incubación y 10 cm de profundidad. Relaciones con otros componentes las barras verticales en cada punto representan la desviación estándar de la media.



**Figura 4. Número de esporas totales para Ustilfluents con diferentes propiedades edáficas: a) Sitio 1, textura fina, no salino; b) Sitio 2 textura fina, salino sódico; y 3) Sitio 3, textura gruesa, no salino a diferentes tiempos de incubación. Las barras verticales en cada punto representan la desviación estándar de la media**



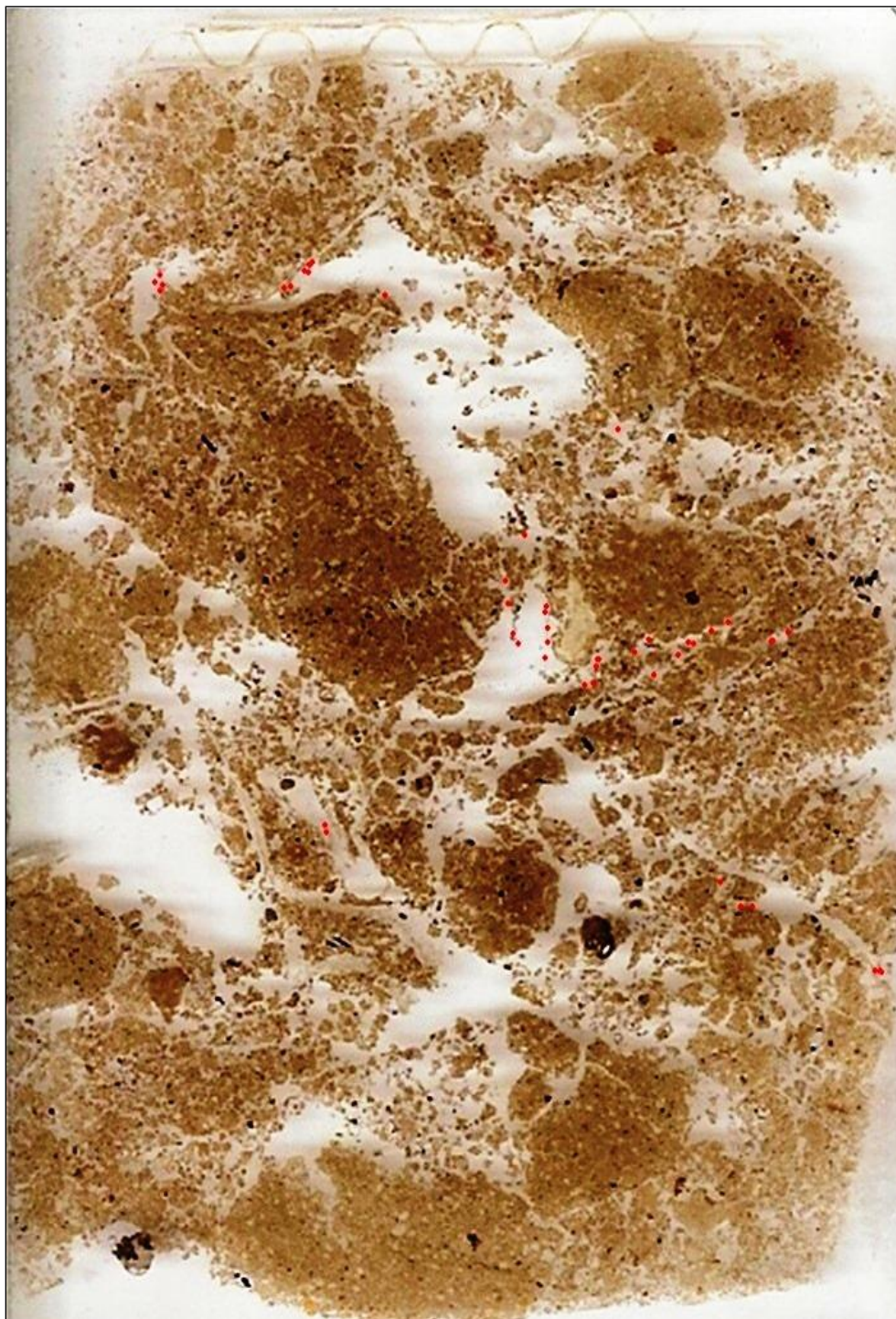
**Figura 5. Secuencia de agregación**





**Figura 6.** Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Mollic Ustifluvent a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos.



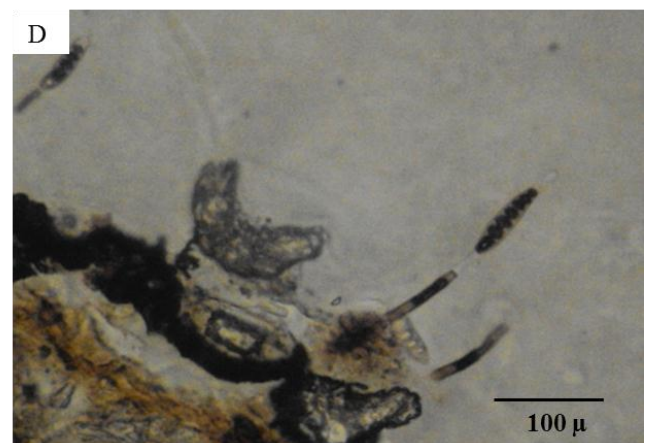
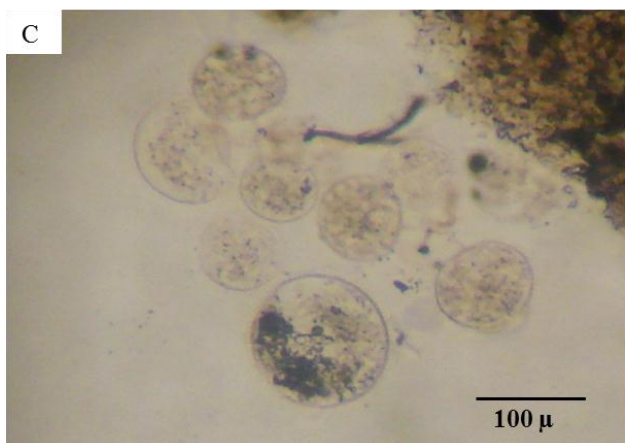
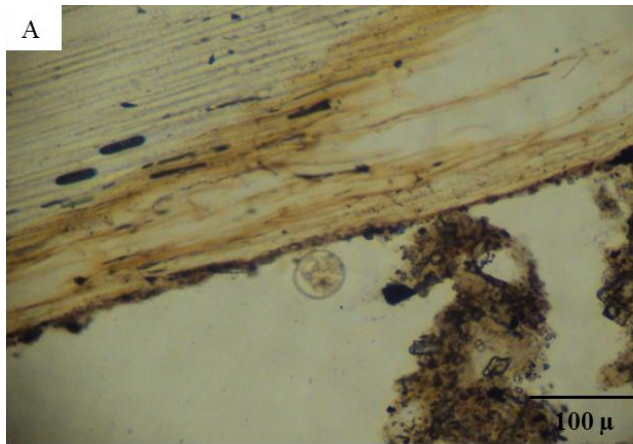


**Figura 7. Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Aquic Ustifluvent a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos.**

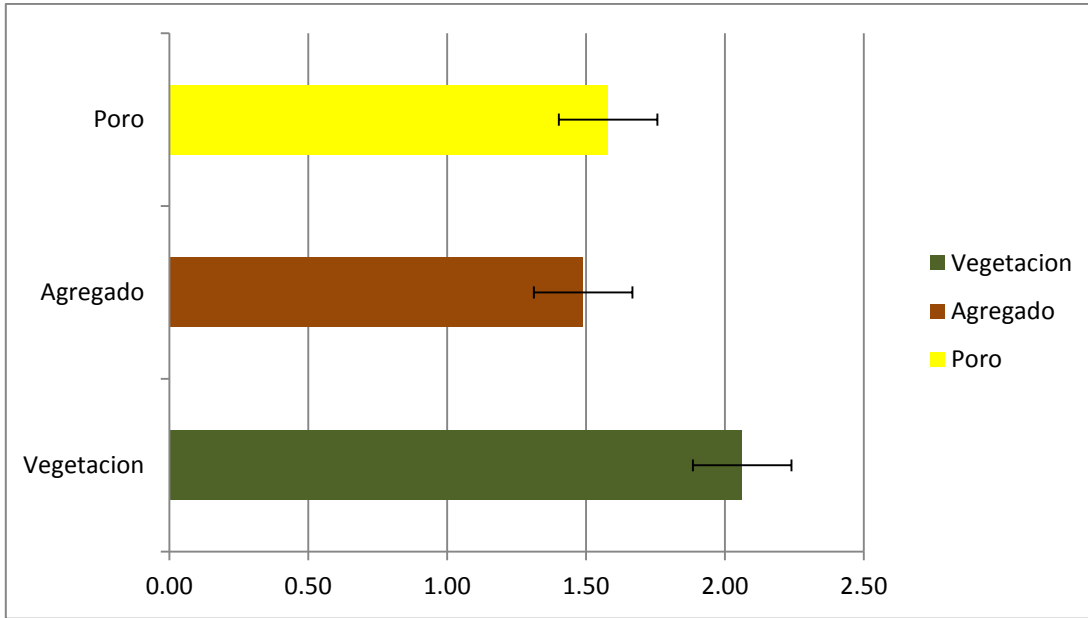




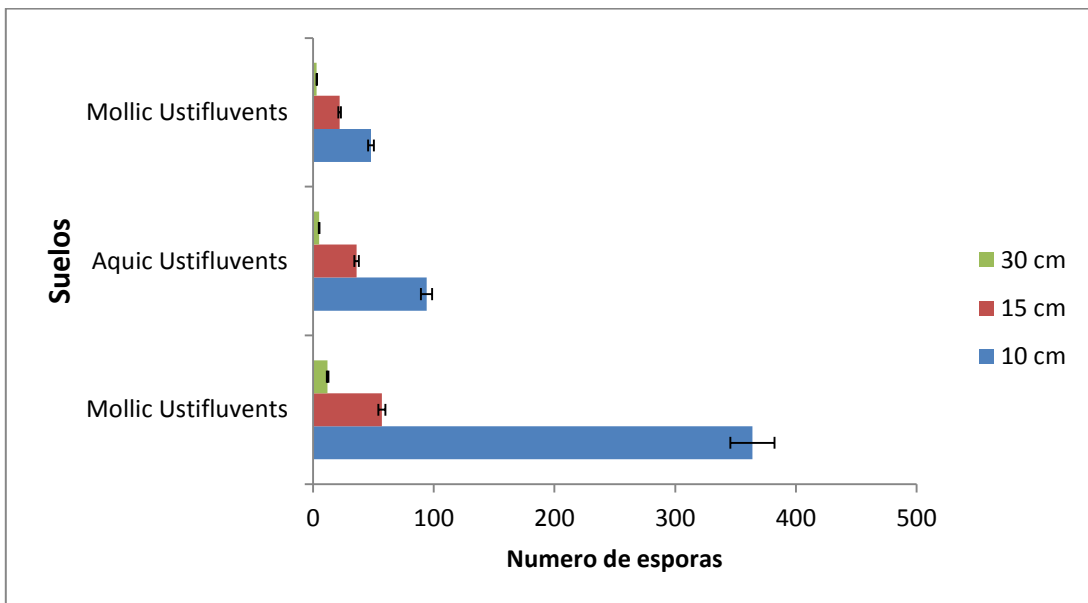
**Figura 8.** Mapa de distribución espacial de esporas e hifas en un Mollic Ustifluvent a 60 días de incubación de los residuos orgánicos municipales y 10 cm de profundidad. Los puntos rojos indican su localización y su relación con rasgos edáficos.



**Figura 9. Morfotipos de esporas *Glomus* sp encontrados en Ustifluvents y relacionados con diferentes superficies naturales; A) con residuo vegetal; B) asociada con espacio poroso; C) asociación son agregado y D) asociación con residuo vegetal humificado.**



**Figura 10. Abundancia de esporas e hifas ( $\pm$  desviación estándar) en suelo con diferentes superficies naturales**



**Figura 11. Abundancia de esporas e hifas en los sitios de muestreo en diferentes profundidades**

**Capítulo 4. PATRONES ESPECTRALES DE LA  
ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES  
DELGADAS**

# **PATRONES ESPECTRALES DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN SECCIONES DELGADAS DE SUELOS**

## **Spectral Patterns of Biological Activity In Soil Thin Sections**

**Enrique Suástegui Méndez<sup>1</sup>, Edgar V. Gutiérrez Castorena<sup>2</sup>, Ma del Carmen Gutiérrez Castorena<sup>1</sup>,  
Carlos A. Ortiz<sup>1</sup> Solorio<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, México D.F

### **RESUMEN**

El análisis de imágenes es un equipo compuesto por un microscopio y una computadora impulsada por una técnica que ayuda a los científicos estudiar objetos de interés como características en una imagen digital. Junto con el microscopio, los análisis de imágenes permiten examinar objetos en una amplia gama de escalas. El objetivo de este trabajo fue presentar un sistema de clasificación para la identificación de objetos predefinidos (esporas, hifas, agregados, minerales y residuos orgánicos), con base en la respuesta espectral. Se tomaron imágenes digitales de cada sección delgada para determinar la distribución espacial de las esporas y agregados, y se realizó la microcartografía de la distribución de las esporas con las diferentes superficies naturales. Las imágenes digitales de cada sección delgada fueron analizadas con los softwares Autocad v10, Erdas v9.2 y Arc Giv 9.3, para mantener la precisión y corrección geométrica de cada imagen. La distribución espacial de las esporas y agregados, se determinó en secciones delgadas, las cuales fueron observadas sistemáticamente con un microscopio petrográfico usando una rejilla transparente (1 x 0.6 cm, 2×). La localización espacial de esporas e hifas pueden ser diferenciadas de los componentes minerales y orgánicos a través de la interpretación automática de imágenes (clasificación Supervisada, por la reflectancia emitidas). El modelo de identificación presentado en este trabajo fue capaz de identificar con precisión la mayoría de los píxeles y agruparlos en una clase específica dentro de la imagen digital.

***Palabras Clave:** análisis de imagen, micromorfología, firma espectral, clasificación supervisada.*



## INTRODUCCIÓN

Los suelos están compuestos de una fase sólida en la que la heterogeneidad estructural es un factor dominante para la determinación espacial de la actividad biológica (Young y Ritz, 1998). Esta determinación se puede realizar a través del análisis cuantitativo, el cual es una parte esencial de la investigación edafológica, porque proporciona una clave para la interpretación acertada de la génesis y el uso y manejo del suelo (Drees y Ransom, 1994).

Los primeros trabajos cuantitativos relacionados con la micromorfología de suelos se centraron en la estructura y porosidad del suelo utilizando métodos manuales, como es el caso del conteo por puntos, metodología tediosa y propensa a cometer errores (Marschallinger, 1997). Sin embargo, a partir de la década de 1970, surgieron los sistemas para el análisis de imágenes que llevaron a cabo numerosas investigaciones sobre estructura (Jongerius *et al.*, 1972; Jongerius, 1983; Bullock y Murphy, 1980; Ringrose-Voase y Nortcliff, 1987; Ringrose-Voase, 1987, 1990, 1991; Grevers y de Jong, 1992) y porosidad del suelo (Moran *et al.*, 1989; McBratney *et al.*, 1992; Bouabid *et al.*, 1992; Protz *et al.*, 1992; Thompson *et al.*, 1992; Puentes *et al.*, 1992; Terribile y Fitzpatrick, 1992; Mermut *et al.*, 1992; Michael *et al.*, 1992; Sweeney *et al.*, 1992; Protz y Van den Bygaart, 1998). No obstante, se han hecho muy pocos trabajos para identificar y cuantificar la distribución espacial de esporas e hifas fúngicas, debido principalmente a las limitaciones en la obtención de imágenes y videos digitales que detectan tanto una amplia gama de niveles de gris como formas geométricas.

Morgan *et al.* (1991) desarrollaron una técnica totalmente automatizada para determinar la biomasa de hongos en los suelos, utilizando métodos de tinción. Si las esporas e hifas fúngicas o regiones de las células son teñidos, estas pueden ser aisladas y discriminadas con base en su diferencia de nivel de gris en una determinada banda espectral; en consecuencia, se puede realizar las medidas morfométricas para cada una de ellas.

Si bien la aplicación y el análisis de imágenes en un principio eran muy caros, adelantos tecnológicos y teóricos han dado como resultado la reducción de costos. El rápido avance en equipo especializado en sensores para la captura de imagen, una mayor capacidad de almacenamiento (hardware) y la disponibilidad y desarrollo de software cada



vez más potentes en el análisis hizo posible que la descripción, interpretación y cuantificación de las características del suelo en secciones delgadas (estructura, los poros, minerales, y las fases no-mineral) sean más precisas. Por lo tanto, el análisis de imágenes digitales ofrece datos mucho más amplios e integrados respecto a técnicas manuales (Marschallinger, 1997), tal como se emplea en el análisis de imagen asistida por un ordenador en la microscopía de barrido (Fortey, 1995).

Las recientes aplicaciones en el procesamiento digital de imágenes captadas a partir de secciones delgadas han sido enfocadas a la recopilación de datos sobre las características del suelo con más de una fuente de iluminación tal como luz polarizada plana, luz polarizada cruzada, con compensador de yeso y luz incidente (Terribile y Fitzpatrick, 1992; Protz y Van den Bygaart, 1998) y luz ultravioleta (UV) (Protz *et al.*, 1992). Sin embargo, no existe un método universal, que permita la evaluación automática de la fase mineral y no mineral directamente con fuente de luz única. Este estudio propone la aplicación de un método que utiliza una fuente de iluminación para clasificar y cuantificar las diferentes características (minerales y no minerales) directamente de las secciones delgadas del suelo en la escala microscópica.

Por otra parte, el análisis de imágenes es un área que incluye muchos tipos de algoritmos para el procesamiento de imágenes digitales. Hay diversas maneras de manipular las imágenes, donde las rutinas específicas utilizadas dependerán del propósito del análisis (Aydemir *et al.*, 2004). A la fecha, no se tiene conocimiento de ningún estudio relacionado con la distribución espacial de esporas, y menos aún sobre sus patrones espectrales, ya que estos se han enfocado principalmente en características morfológicas y espaciales para su cuantificación en el suelo.

El objetivo de este trabajo es presentar un sistema de clasificación para la identificación de objetos predefinidos (esporas, hifas, agregados, minerales y residuos orgánicos), con base a la respuesta espectral.

## **MATERIALES Y METODOS**

El análisis de imágenes para la identificación de esporas a nivel de secciones delgadas (15 láminas) se basó en el experimento realizado por Suástegui *et al.* (2011). En este estudio se monitoreó la distribución espacial de esporas e hifas en sitios

correspondiente al tipo de suelo (*Ustifluvents*) con diferencia en cuanto a clase textural, salinidad y contenido de materia orgánica.

El Sitio 1, clasificado como *Mollic Ustifluvents*; son suelos franco arcillo limosos, de ligera a moderadamente alcalinos y con contenidos medios de materia orgánica (MO); El Sitio 2, es clasificado como un *Aquic Ustifluvents*; s suelos franco arcillo limoso, salino-sódicos, con contenido moderado de MO; y por último el Sitio 3, *Mollic Ustifluvents*, suelos franco arenosos, ligeramente alcalinos, con contenidos medios y bajos de MO.

### **Análisis micromorfológico**

En el presente estudio se analizaron 123 secciones delgadas (espesor de 30  $\mu\text{m}$ , 7,5 x 5 cm con cortes verticales y horizontales), que fueron colectadas de la siguiente forma: 3 láminas por cada tipo de suelos (testigo a 0-10 cm); 24 láminas, 1<sup>er</sup> día de incubación (8 por Sitio, a 5 y 10 cm de profundidad); y 48 láminas a 60 y 100 días de incubación: (16 por sitio, a 5, 10, 15 y 30 cm de profundidad). De estas láminas se eligieron 15 por cada tipo de suelo.

### **Análisis de imágenes**

Las imágenes digitales de cada sección delgada fueron analizadas con los softwares Autocad v10, Erdas v9.2 y Arc Gisv 9.3, para mantener la precisión y corrección geométrica de cada imagen. Para determinar la distribución espacial de las esporas y agregados, las secciones delgadas fueron observadas sistemáticamente con un microscopio petrográfico (Olympus® BX51) usando una rejilla transparente (1 x 0.6 cm, 2 $\times$ ). Una vez captadas las imágenes digitales fueron editadas y analizadas una por una con ayuda del software Image-Pro v5.1 Plus ® y los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente.

Además, se realizó la microcartografía de la distribución de las esporas con las diferentes superficies naturales. Las dimensiones de cada campo de visión fue 768 x 576 píxeles con una resolución de 2.79  $\mu\text{m}$ , para proporcionar una área elemental representativa, fundamental en términos cuantitativos en la micromorfología (VandenBygaart y Protz, 1999).

El proceso de elaboración de mosaicos en imágenes digitales llevada a cabo para cada sección y a cada modo de iluminación fue mediante el procedimiento descrito por Adderley *et al.* (2002) para producir imágenes compuestas (10 x 6 mm) Para ello se formó un mosaico de 5cm horizontal x 6cm vertical. Este tamaño es menor al recomendado por VandenBygaart y Protz (1999) en base a su análisis del espacio poroso.

Las imágenes digitales capturadas (1.6 cm<sup>2</sup> de superficie) se almacenaron con extensión TIF, que posteriormente fueron exportadas a extensión (\*.img) para ser procesadas por el software ERDAS.

El análisis de imágenes se llevó a cabo mediante una serie de procedimientos (Figura 2); por una parte la clasificación supervisada con el método de la máxima verosimilitud con pixeles de entrenamiento y por otra con pixeles de verificación. Ambas son útiles al realizar una clasificación supervisada de la imagen con diferentes capas. Este procedimiento algorítmico es empleado frecuentemente en teledetección y fue descrito por Campbell (1987), Lillesand y Kiefer (1987), y Mather (1989).

### **Elaboración de la máscara digital**

Obtenida la imagen digital, se procedió a delimitar el área de estudio a través de la elaboración de una máscara en formato vectorial empleando el software AutoCAD®, a partir de las coordenadas del formato de imagen, proceso que se realizó con el apoyo del Sistema de Información Geográfica (SIG) Arcgis®.

### **Delimitación de los sitios de entrenamiento**

La georeferenciación de esporas e hifas fueron realizadas a partir de la máscara digital obtenida en la micro-cartografía de las secciones delgadas, que posteriormente formaron polígonos y constituyeron pixeles de entrenamiento usadas en la clasificación supervisada de la imagen.

Para indagar el grado de discriminación en las coberturas de los sitios de muestreo frente a otras, se clasificó la imagen con luz polarizada y compensador. Consecutivamente, se hizo la clasificación digital en las imágenes para determinar si las esporas e hifas eran segregadas en otras superficies naturales del área total de la imagen incluyendo superficies con o sin residuos orgánicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Área elemental representativa

El número y tamaño de las muestras necesarias para estudiar las características micropedológicas, de los diferentes suelos para ilustrar la amplia gama de variaciones en el tamaño y las formas, necesitan 6000 puntos para obtener un área de 1 X 0.6 cm en una sección delgada. Al cuantificar de manera automatizada en este estudio, el total de rasgos fue de 2 560 000 puntos, es decir que cada píxel representa un área 0.00185  $\mu\text{m}$  de área.

Cuando se utilizó el conjunto completo de datos de la sección delgada, en lugar de un subconjunto de puntos de conteo (Figura 1), se logró obtener datos de todo el espacio poroso y con el mosaico de imágenes secuenciales de cada sección delgada, se obtuvo la continuidad de los mismos dentro de un perfil de suelo.

Sweeney (1994) fue el primero en utilizar el concepto de la AER (Área Elemental Representativa) sobre el espacio poroso en secciones delgadas de suelo y concluyó que se requiere una superficie de 2x2 cm para estimar los parámetros en secciones de 4x5 cm con un pixel de 50  $\mu$  en una matriz de 512 x 512 (Figura 2), la cual es mucho mayor a la que se trabajó en esta investigación. Esto se logró gracias al desarrollo de escáneres de gran variedad, cámaras digitales, un mejor software, y computadoras más rápidas y ha ampliado el potencial para un análisis micromorfológico cuantitativo más eficiente y más factible, lo que ayudará a una mayor comprensión de la génesis y los procesos que ocurren en suelos a diferentes escalas

Por su parte Terribile y FitzPatrick (1992) mencionaron que a pesar de que se usan en los análisis micromorfológicos diferentes tipos de luces no se logra una buena corrección geométrica porque utilizan diferentes puntos aleatorios (común en escala granes). Esto evitaba una buena identificación y cuantificación de los rasgos del suelo debido a las limitaciones de los digitalizadores de video en la detección de la gama en niveles de gris y de medidas geométricas correctas. En el presente estudio esto se corrigió al utilizar una rejilla en la cual ya tiene una misma coordenada.

## **Visualización y cuantificación de esporas e hifas fúngicas en el suelo**

La mayor dificultad en la comprensión de las interacciones de hongos del suelo, es la capacidad de observar su propagación dentro de un volumen de poros en 3-D en la escala pertinente, que van desde hifas fúngicas (hasta 10  $\mu\text{m}$  de diámetro) y colonias de hongos (orden de centímetros) (Figura 3). No obstante, con la utilización reciente de secciones delgadas, la distribución espacial de los hongos observados en un transecto de 2-D a través del suelo es posible (Harris *et al.*, 2003).

Además, a escala microscópica (es decir, 0.77 x 0.58 mm, es la escala en la que pueden ser detectadas las esporas e hifas fúngicas en láminas delgadas de suelo), las hifas fúngicas exploran el espacio de los poros y tienen una gran influencia en la agregación del suelo (Figura 4).

Al analizar las secciones delgadas (2-D), se observó que no todos los macroporos disponibles en el suelo son colonizados por los hongos (Figura 5); además cuando se clasifica se logra visualizar el volumen de poros en 3-D a través del cual se ha producido propagación de hongos.

El resto del volumen de poro se puede conectar, pero sólo por los poros más pequeños de 70  $\mu\text{m}$ , que se presenta en la resolución de este análisis. Esta conexión es importante para la colonización por hongos, ya que una vez dentro de un volumen de poros conectados estos serán colonizados.

## **Análisis de imágenes**

Con el análisis de imágenes digital se logró examinar el volumen de poros visibles, generalmente en un plano 2-D en una sección delgada, a un plano de 3-D (Figura 6). Este análisis proporciona un estudio novedoso del espacio poroso en el suelo. Poros más grandes que están muy cerca el uno del otro, no están necesariamente conectados y por lo tanto, pueden estar de manera inaccesibles para una colonia de hongos invasores (Harris *et al.*, 2003). A la inversa también puede ocurrir, poros grandes con una mayor distancia se pueden conectar en 3-D (Six *et al.*, 2006).

Después de la adición de residuos orgánicos al suelo (Ochoa *et al.* 2009), la clase específica de poros, la biomasa de los hongos y los residuos derivados se correlacionan entre sí; por ejemplo, la porosidad presenta una tendencia a la baja respecto al tiempo y los

valores oscilan entre 40 y 33% (Figura 7). El total de la porosidad, medida en un tiempo dado para un suelo, está fuertemente influenciado por las características del suelo, como son: textura, contenido de carbono orgánico y manejo. En general, la porosidad se incrementa con el crecimiento de carbono orgánico y se relaciona con la disminución de la densidad aparente (Strong *et al.*, 2004).

### **Clasificación supervisada de imágenes digitales de forma automatizada**

La elección de sitios de entrenamiento (SE) se reporta en la Figura 9, mientras que en el Cuadro 1, incluye los rangos de los límites de clase (LC) y la media más-menos la desviación estándar ( $x \pm \sigma$ ) de los valores de reflectancia (VR), del conjunto de SE para cada banda de la imagen.

Los VR son diferentes en cada una de las bandas espectrales de la imagen digital, donde la banda tres presentando las mayores cantidades respecto a las bandas uno y dos. Este comportamiento indica una variación en las características de cada cobertura y de los factores de la incidencia de la luz.

Las muestras de suelo en cada sección delgada están compuestas por 6 clases diferentes (agregado, poro, residuo vegetal, minerales, esporas e hifas). Cada característica edáfica de las imágenes originales tiene una firma espectral diferente. Cerca de 900 valores de firmas espectrales de cada función en las muestras se reporta en la (Figura 9). Esto significa que las características identificadas bajo el microscopio pueden ser diferenciadas mediante valores del espectro único para cada función. De manera que con la clasificación supervisada, se logró diferenciar dos clases (agregados y porosidad) (Figura 10).

Sin embargo, los errores encontrados en los otros rasgos edáficos tienden a invalidar este método, esto fue probablemente causado por la dificultad de la zona de entrenamiento seleccionado, ya que se pueden confundir o tener la el mismo valor de reflectancia.

### **Clasificación no supervisada**

Por otra parte, al efectuar una clasificación no supervisada sobre la imagen digital, el algoritmo no discrimina ninguna función, más bien realizó una serie de combinaciones de parámetros en número de clases y su interacción (80 clases y seis repeticiones). Este

proceso no discriminó ninguna función al ser verificados en el microscopio petrográfico, incrementándose posteriormente los números a 100 clases y ocho repeticiones.

Al realizar una clasificación no supervisada es necesario determinar el número de clases que se quiere establecer, y dejar que las defina un procedimiento estadístico basado en algoritmos de clasificación automática multivariante en los que los individuos más próximos se van agrupando formando clases (Figura 11).

Por otro lado, cuando se hace una clasificación supervisada en forma automática, se utilizan los valores de reflectancia de los píxeles que conforman a los sitios de entrenamiento (límite de clase) en cada banda (Eastman, 1999), sin considerar las características del suelo o del objeto de estudio por separado. La información que se obtuvo, después del proceso, fue la homogenización de los objetos haciendo difícil diferenciar la variabilidad entre las SE, aun cuando existe variaciones en sus propiedades.

Al efectuar la clasificación supervisada de la imagen con los datos del Cuadro 1, se obtuvo la localización de las esporas e hifas (Figura 13), donde se muestra que la mayor agrupación de se ubican alrededor de los agregados y solo una fracción pequeña se localiza en el espacio poroso. Estos resultados concuerdan con el trabajo de Suástegui *et al.* (2011), quienes indican que el desarrollo de esporas e hifas está restringido por los procesos de aireación y humedecimiento.

Por otra parte, uno de los problemas al identificar y localizar las esporas e hifas es su rango espectral, es debido a la confusión con algunos componentes minerales al presentar la misma reflectancia. Para clasificar otras características como: minerales, residuos vegetales, hifas y esporas, primeramente se enmascaró y posteriormente se clasificó. Los resultados que se obtuvieron muestran una correcta agrupación de los minerales y residuo vegetal, confirmándose con puntos de referencia microscópicos.

La clasificación (supervisada) de los diferentes objetos son caracterizados en un 98% para agregados, 87% a residuos vegetales, 65% a esporas y 50% a hifas. La clasificación para minerales reporta una alta confiabilidad, cuando por lo menos 100 puntos de referencia fueron confirmados bajo el microscopio. No obstante, el error (error de clasificación) del método aumenta en esporas e hifas.

La identificación de esporas no fue satisfactoria, debido a que sus características espectrales son similares a del espacio vacío, además se confunden ópticamente con el cuarzo, el cual muestra la interferencia de colores en sus secciones basales (Bullock *et al.*, 1985). Los granos de cuarzo producen colores que van del blanco al gris de primer orden en virtud del sistema de luz polarizada con ángulos de orientación diferente (Kerr, 1955); mientras que en luz paralela son transparentes, lo mismo sucede con el vidrio volcánico que al cruzar la luz es isotrópico (Gutiérrez y Effland, 2010)

Al combinar las imágenes de luz polarizada plan, luz polarizada cruzada y la luz con compensador de yeso, no mejoró la calidad de la información y se obtuvieron muchos errores en la clasificación. Esto se debió principalmente a las características espectrales de cada componente edáfico que no sólo dependen de su composición sino también en la orientación de sus ejes. Del mismo modo que las imágenes filtradas en la banda azul no aporta mucha información. En las bandas roja y verde con luz polarizada cruzada y paralela dio similares resultados visuales y por lo tanto produjo datos redundantes en comparación con las tres imágenes elegidas.

En todas las imágenes originales se produjo un ligero desnivel de la iluminación, donde las fronteras son más oscuras que el resto de la imagen. Esta fuente de error es debido a una combinación de factores tales como la sensibilidad espacial de la cámara la luz emitida por la bombilla y la orientación en que se toma la imagen.

## CONCLUSIONES

La localización espacial de esporas e hifas a partir de imágenes digitales obtenidas de secciones delgadas pueden ser diferenciadas de los componentes minerales y orgánicos a través de la interpretación automática de imágenes (clasificación supervisada, por la reflectancia emitidas. Además, los objetos morfométricos no pueden ser clasificados ni mucho menos agrupados debido a que presentan características bidimensionales.

Es posible medir las áreas, los índices y las formas de los poros de una sección delgada e inferir el tamaño y distribución de las esporas e hifas, pero dado que los datos son tomados al azar en las secciones de una red interconectada de poros, la interpretación de las distribuciones no es muy exacta, debido a los datos bidimensionales que se extrapolan a datos tridimensionales.



Los resultados obtenidos sugieren que el uso y análisis de imágenes digitales tiene un potencial para la identificación de esporas e hifas.

El modelo de identificación presentado en este artículo fue capaz de identificar con precisión la mayoría de los píxeles y agruparlos en una clase específica dentro de la imagen digital después de la formación aproximadamente 40 iteraciones a través del conjunto de entrenamiento.

### LITERATURA CITADA

- Adderly, W.P., Simpson, I.A., Davidson, D.A. 2002. Color description and quantification in mosaic images of soil thin sections. *Geoderma* 108:181– 195.
- Bouabid, R., Nater, E.A., Barak, P. 1992. Measurement of pore size distribution in a lamellar Bt horizon using epifluorescence microscopy and image analysis. In: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), *Digitization, processing and quantitative interpretation of image analyses in soil science and related areas*. *Geoderma* 53:309– 328.
- Bullock, P., Murphy, C.P. 1980. Towards the quantification of soil structure. *J. Microsc.* 120:317– 328.
- Campbell, J.B. 1987. *Introduction to Remote Sensing*. The Guilford Press, New York. 551 pp.
- Drees, L.R., Ransom, H. 1994. Light microscopic techniques in quantitative soil mineralogy. *Quantitative methods in soil mineralogy*. Soil Science Society of America, 677 S. Segue Rd, Madison, WI 53711, USA (SSSA Miscellaneous Publication).
- Fortey, N.J., 1995. Image analysis in mineralogy and petrology. *Mineral. Mag.* 59: 117–178.
- Grevers, M.C.J., de Jong, E., 1992. Soil structure changes in subsoiled Solonetzic and Chernozemic soils measured by image analysis. *Geoderma* 53: 289– 307.
- Gutierrez, C.Ma.C. y Effland E.R. 2010. Pedogenic and biogenic siliceous features. In: *Interpretation of micromorphological features of soils and regoliths*. Elsevier. Pp. 471-496
- Harris, K., I. M. Young, C. A. Gilligan, W. Otten, y K Ritz. 2003. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctonia solani* in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44:45–56.
- Jongerius, A. 1983. The role of micromorphology in agricultural research. In: Bullock, P., Murphy, C.P. (Eds.), *Soil Micromorphology, Volume 1. Techniques and Applications*. AB Academic, Berkhamsted, Herts, pp. 111 – 138.

- Jongerius, A., Schoonderbeek, D., Jager, A., Kowalinski, T. 1972. Electro-optical soil porosity investigation by means of Quantiment- B equipment. *Geoderma* 7: 177– 198.
- Lillesand, T.M., Kiefer, R.W. 1987. *Remote Sensing and Image Interpretation*. Wiley, New York. 721 pp.
- Marschallinger, R., 1997. Automatic mineral classification in the macroscopic scale. *Comp. Geosci.* 23:119– 126.
- Marschallinger, R.1997. Automatic mineral classification in the macroscopic scale. *Comp. Geosci.* 23: (1) 119– 126.
- Mather, P.M. 1989. *Computer Processing of Remotely Sensed Images*. Wiley, Chichester, England. 352 pp.
- Michael, L.T., Singh, P., Corak, S., Straszheim, W.E.1992. Cautionary notes for the automated analysis of soil pore-space images. *Geoderma* 53:399–415.
- Mermut, A.R., Grevers, M.C.J., de Jong, E. 1992. Evaluation of pores under different management systems by image analysis of clay soils in Saskatchewan, Canada. *In*: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), *Digitization, Processing and Quantitative Interpretation of Image Analyses in Soil Science and Related Areas*. *Geoderma* 53:357–372.
- Moran, C.J., McBratney, A.B., Koppi, A.J. 1989. A rapid method for analysis of soil macro-pore structure: I. Specimen preparation and digital binary image production. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 921– 928.
- McBratney, A.B., Moran, C.J., Stewart, J.B., Cattle, S.R., Koppi, A.J. 1992. Modifications to a method of rapid assessment of soil macropore structure by image analysis. *In*: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), *Digitization, Processing and Quantitative Interpretation of Image Analyses in Soil Science and Related Areas*. *Geoderma* 53: 255–274.
- Ochoa, E. S., C, A, Ortiz-Solorio, Ma C. Gutiérrez-Castorena, R. Quintero- Lizaola, y J. T. G. Silva. 2009 Aplicación directa de residuos sólidos orgánicos municipales a suelos volcánicos. *Terra Latinoamericana* 27:53-62
- Puentes, R., Wilding, L.P., Drees, L.R. 1992. Microspatial variability and sampling concepts in soil porosity studies of Vertisols. *In*: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), *Digitization, Processing and Quantitative Interpretation of Image Analyses in Soil Science and Related Areas*. *Geoderma* 53: 275– 287.
- Protz, R., Van den Bygaart, A.J. 1998. Towards systematic image analysis in the study of soil micromorphology. Online Publication. HintzeOnline and Springer. *Sciences of Soils*, 3:4.

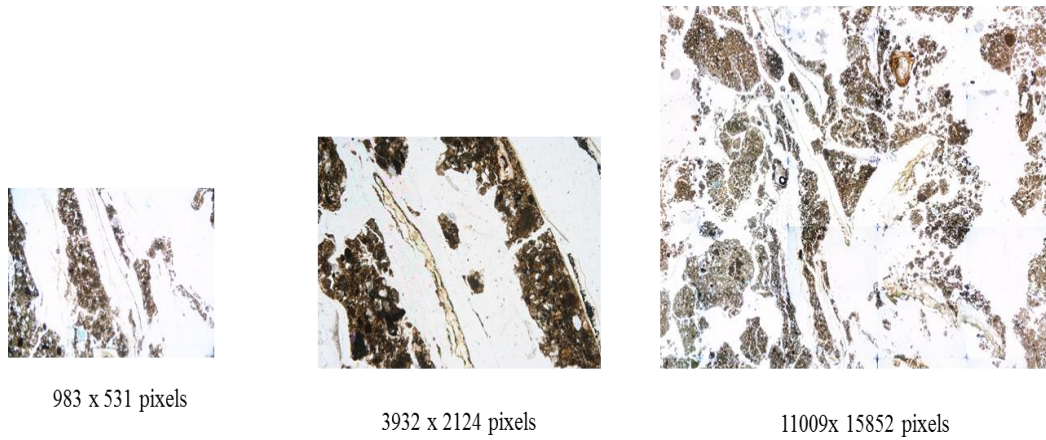
- Protz, R., Sweeney, S.J., Fox, C.A. 1992. An application of spectral image analysis to soil micromorphology: 1. Methods of analysis. In: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), Digitization, Processing and Quantitative Interpretation of Image Analyses in Soil Science and Related Areas. *Geoderma* 53:373– 385.
- Ringrose-Voase, A.J., Nortcliff, S. 1987. The application of stereology to the estimation of soil structure properties. In: Fedoroff, N., Bresson, L.M., Courty, M.A. (Eds.), *Soil Micromorphology. Proc. VIIth Int. Working Meeting on Soil Micromorphology, Paris.*, pp. 81– 88.
- Ringrose-Voase, A.J. 1987. A scheme for the quantitative description of soil macrostructure by image analysis. *J. Soil Sci.* 38, 343– 356.
- Ringrose-Voase, A.J. 1990. One dimensional image analysis of soil structure: I. Principles. *J. Soil Sci.* 41: 499– 512.
- Ringrose-Voase, A.J. 1991. Micromorphology of soil structure: description, quantification and application. *Aust. J. Soil Res.* 29:777– 813.
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., y Batten, K. M. 2006. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 555–569.
- Strong, D. T., De Wever, H., Merckx, R., y Recous, S. 2004. Spatial location of carbon decomposition in the soil pore system. *Eur. J. Soil Sci.* 55: 739–750.
- Suástegui, M. E., Gutiérrez-Castorena Ma. C., Ortiz-Solorio C, A Gutiérrez-Castorena E. V, Cruz F. G y Sánchez G. P. 2011. Microcartografía de la distribución espacial de hongos y esporas en secciones delgadas. *Terra Latinoamericana*. En revisión
- Sweeney, S.J., Protz, R., Fox, C.A. 1992. An application of spectral image analysis to soil micromorphology: 2. Comparison of two soil profile. *Geoderma*. *In*: Mermut, A.R., Norton, L.D. (Eds.), Digitization, Processing and Quantitative Interpretation of Image Analyses in Soil Science and Related Areas. *Geoderma Special Issue*, vol. 53, pp. 341– 355.
- Terribile, F., FitzPatrick, E.A. 1992. The application of multilayer digital image processing techniques to the description of soil thin sections. *Geoderma* 55:159–174.
- Thompson, M.L., Piyush, S., Coraket, S., Straszheim, W.E. 1992. Cautionary notes for the automated analysis of soil pore-space images. *Geoderma* 53: 399–415.
- VandenBygaart, A.J., Protz, R. 1999. The representative elementary area (REA) in studies of quantitative soil micromorphology. *Geoderma* 89, 333– 346.
- Young I.M. ,y Ritz, K. 1998. Can there be a contemporary ecological dimension to soil biology without a habitat?. *Soil Biol. Biochem.*, 30:1229–1232

**Cuadro 2** .Límites de clase (LC) y valores de reflectancia (VR)

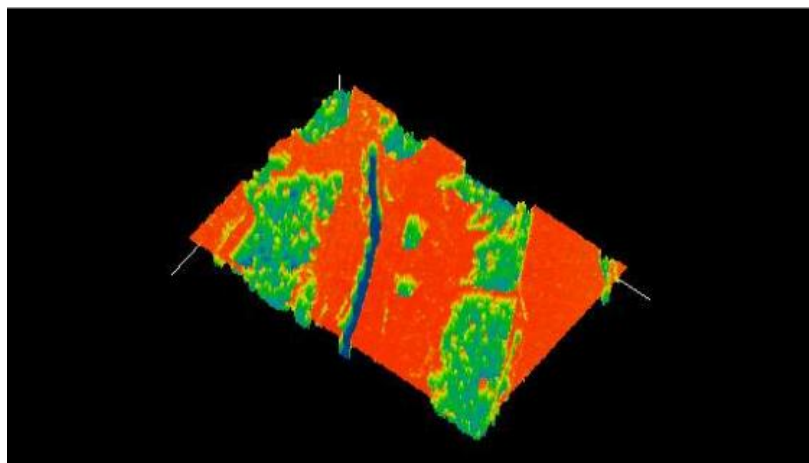
Firma espectral	Banda 1		Banda 2		Banda 3		Value	Conteo
	LC	$x \pm \sigma$	LC	$x \pm \sigma$	LC	$x \pm \sigma$		
1	0.75	254-1.5	0.712	245-1.3	0.764	255-1.7	11	18762
2	0.627	253-1.8	0.322	2.46-1.6	0.176	253-1.8	10	12
3	0	254-1.4	0.392	2.49-1,2	0	254-1.6	13	12

**Cuadro 3.** Propuesta de códigos de color de interpretación de las características edafológicas.

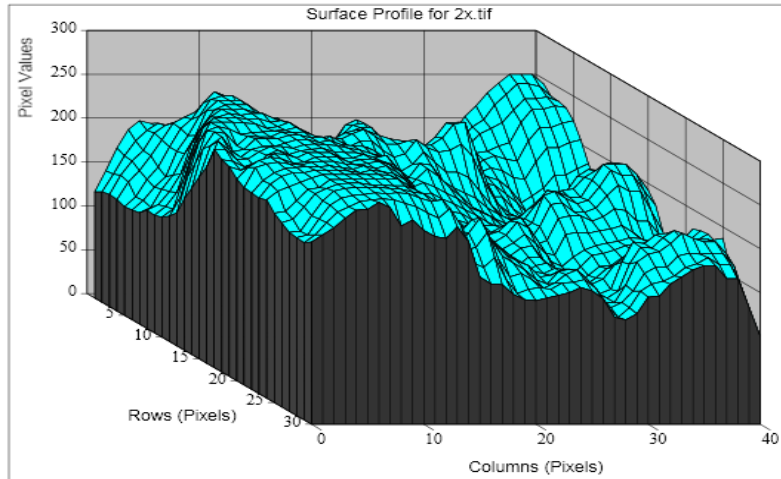
Características edafológicas	Códigos numéricos de color (RGB)
Agregados	(254,208,62)
Porosidad	(132,146,148)
Residuos vegetal	(255,232,230)
Minerales	(249,196,164)
Esporas	(247,196,164)
hifas	(210,108,40)



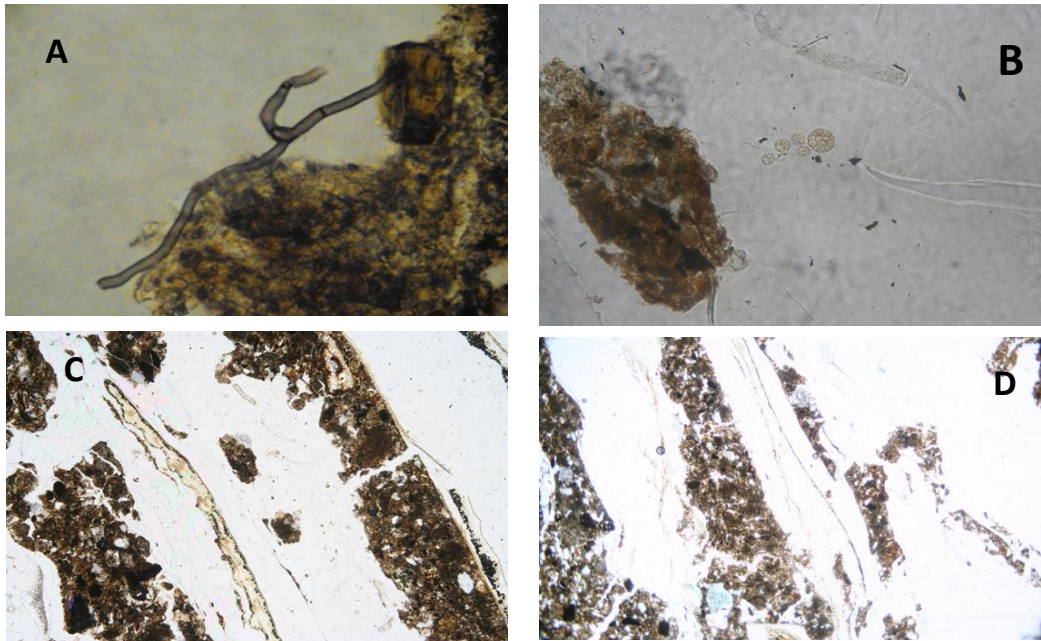
**Figura 1. Esquema para el proceso de mosaico dentro de la sección delgada**



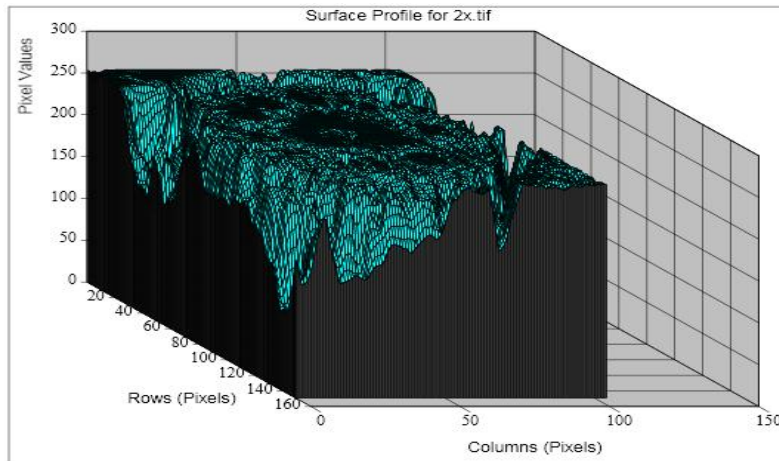
**Figura 2. Área Elemental representativa para la cuantificación de esporas**



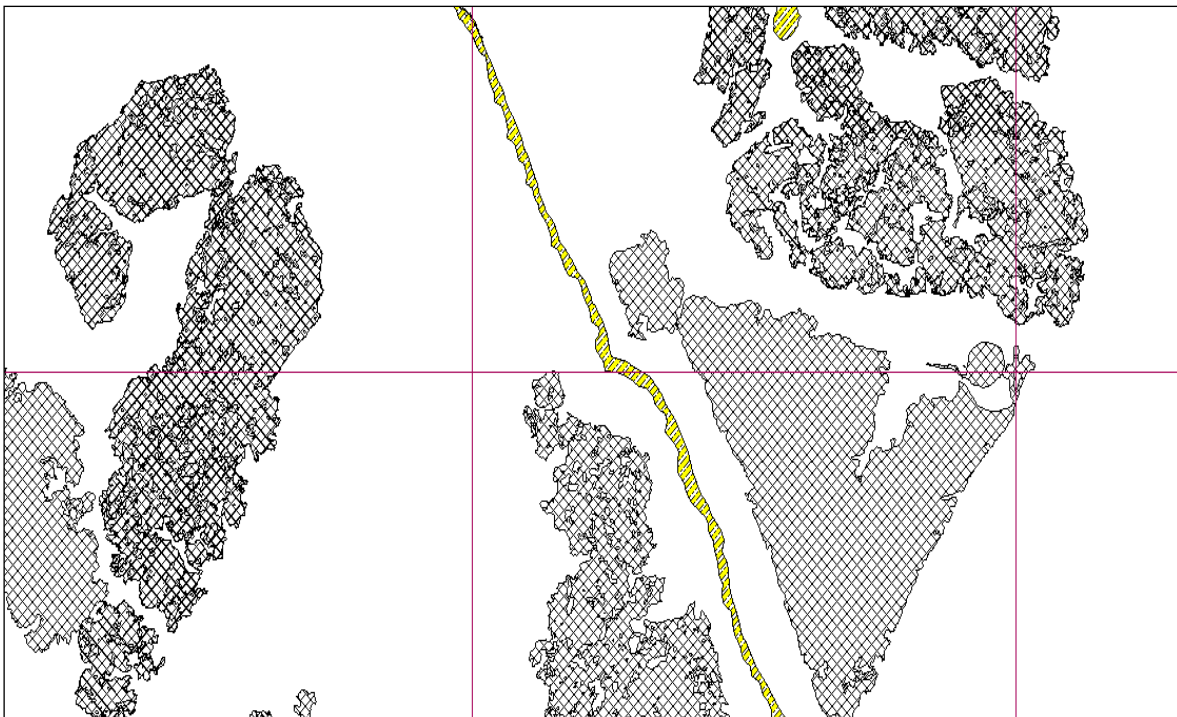
**Figura 3. Propagación de hongos dentro de un volumen de poros**



**Figura 4. Interacciones del suelo por hongos visualizado en láminas delgadas a escalas microscópicas (A y B:  $0.0185 \text{ mm}^2$ ), y en escalas más grandes ( $0.15 \text{ cm}^2$ , aproximadamente para confirmar el tamaño de una colonia de hongos). En el sitio con una mayor densidad de  $1,2 \text{ g/cm}^3$  (C). A mayor escala, la presencia de hifas y esporas está indicado por un punto (D).**



**Figura 5. Espacio ocupado por hifas y esporas alrededor de una raíz**



**Figura 6. Micro- Cartografía de los rasgos y superficies naturales**



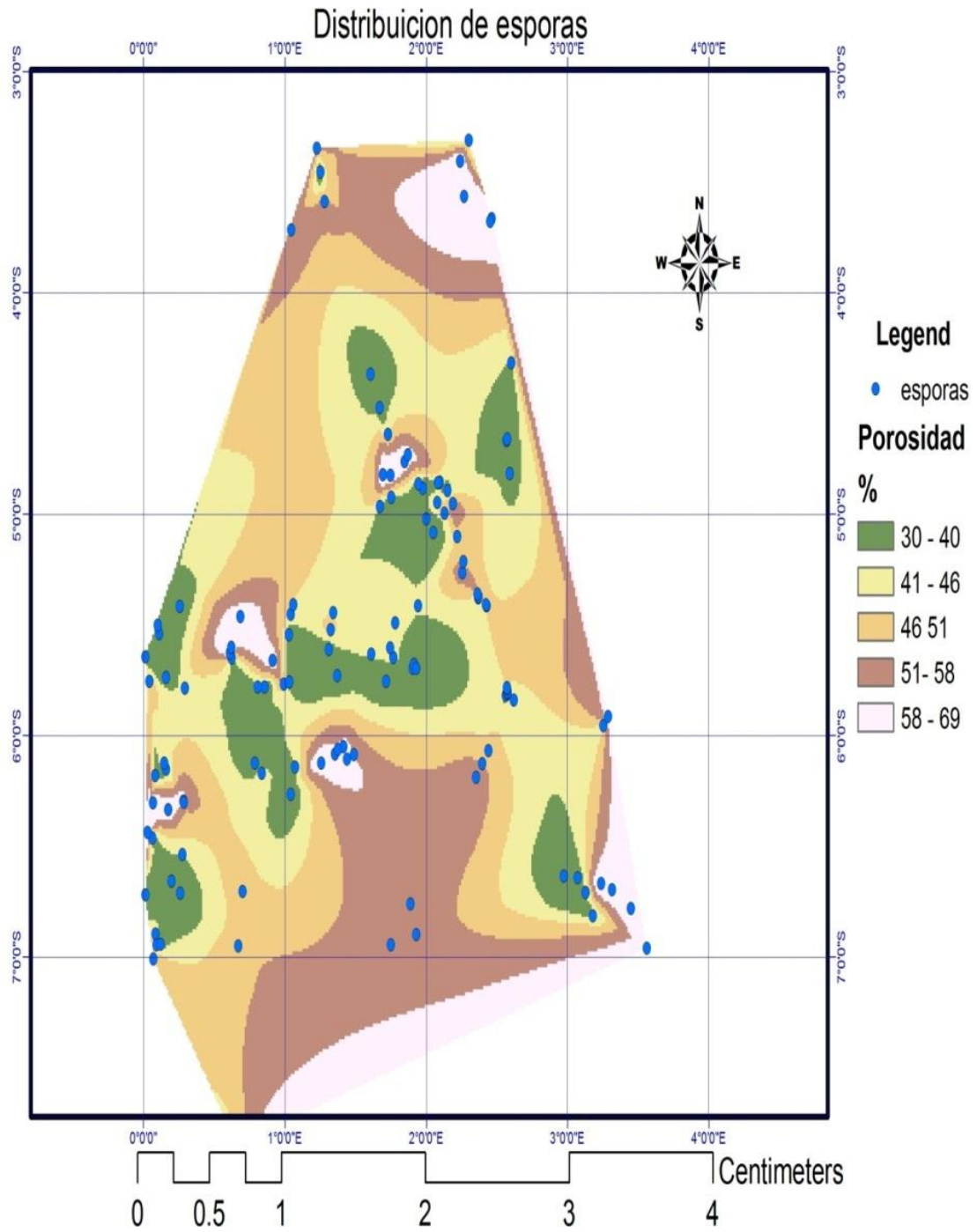


Figura 7. Distribución espacial de esporas respecto a la porosidad en un *Mollic Ustifluvent*s (Textura arcillo limosa)



## Distribución de esporas

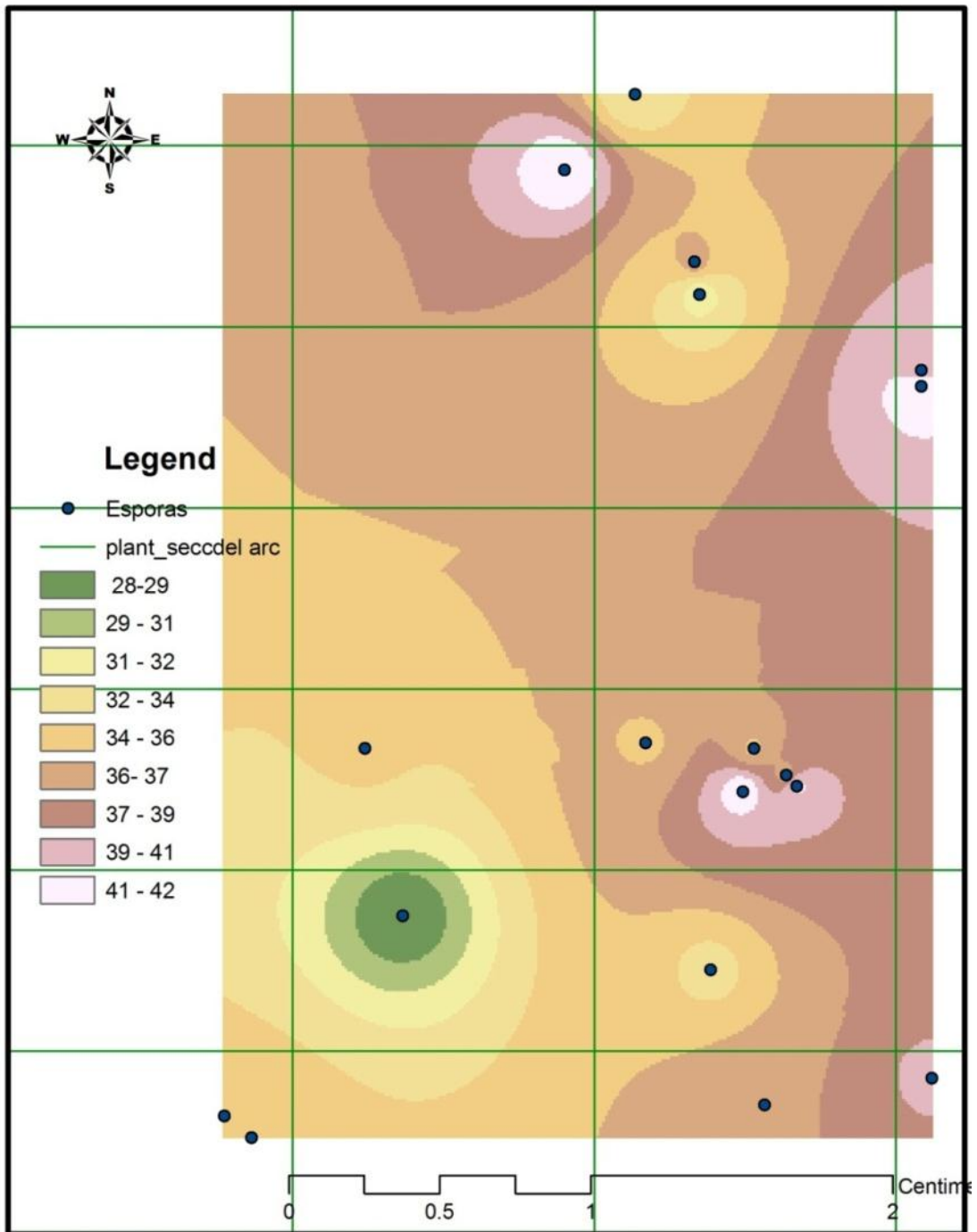
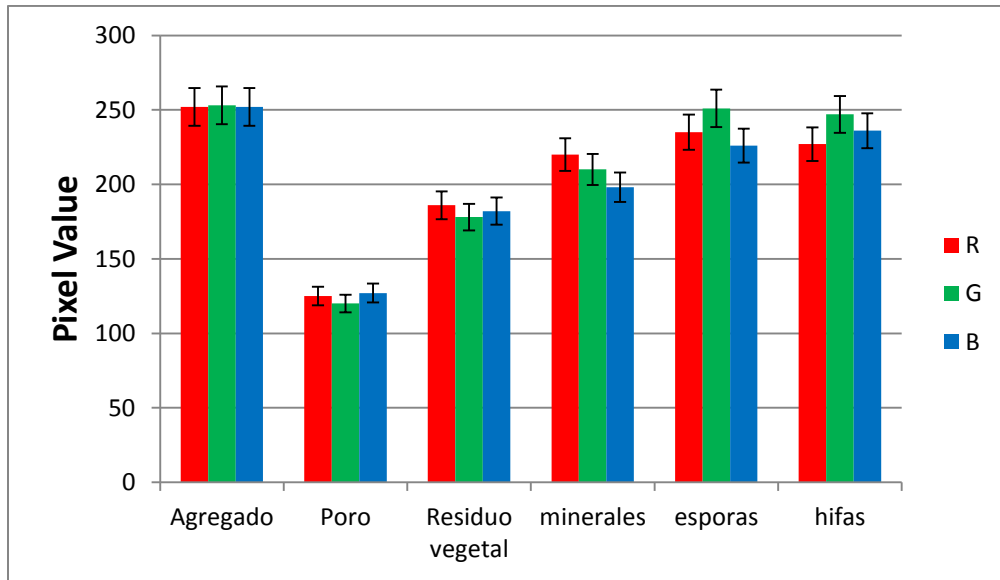
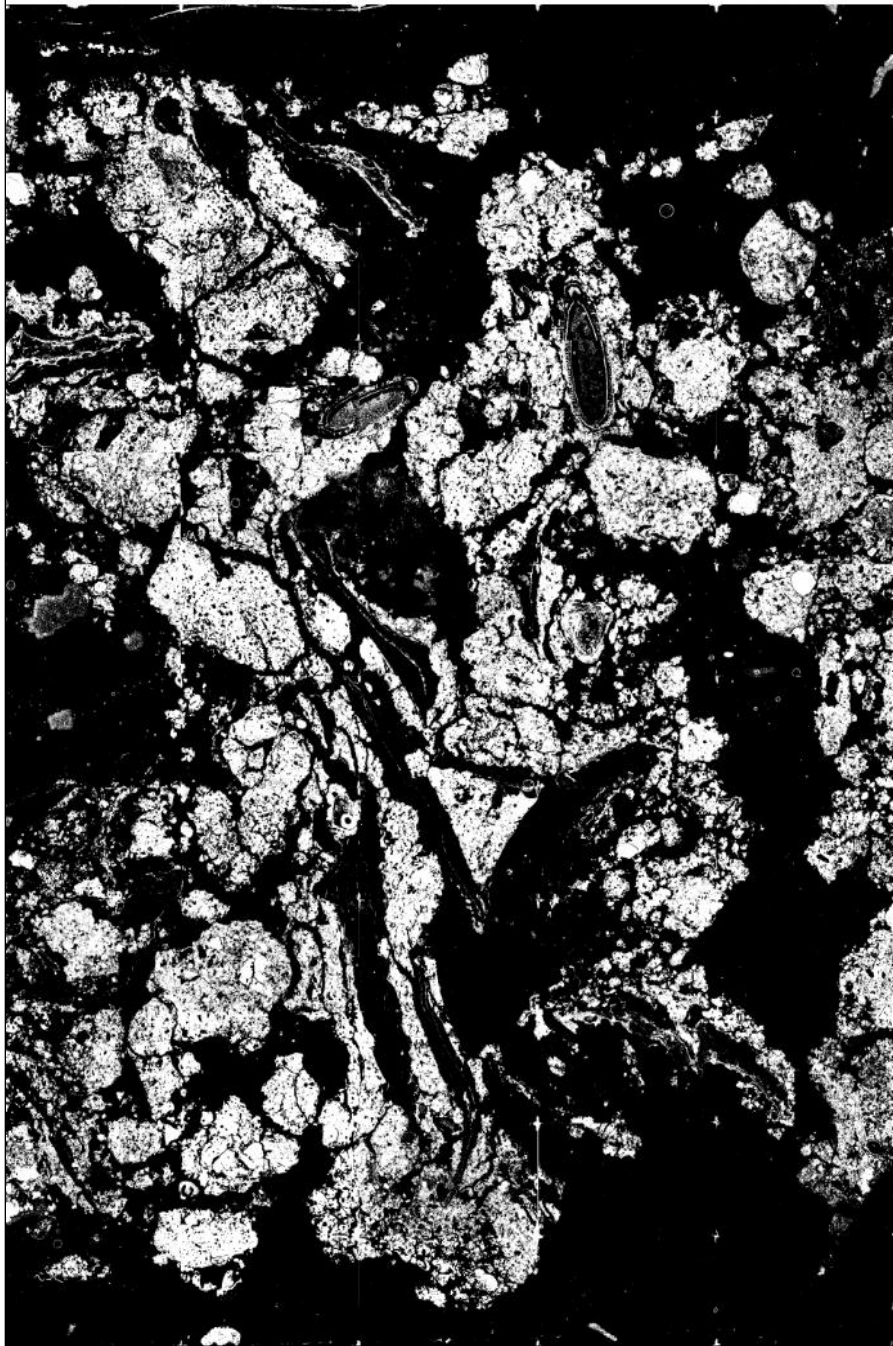


Figura 8. Distribución espacial de esporas respecto a la porosidad en un *Mollic Ustifluvent* (Textura Arenosa)



**Figura 9.**Valores promedio (900 observaciones para cada característica de todas las muestras) de las firmas espectrales (valores de los píxeles de brillo)



**Figura 10. Clasificación supervisada en un Mollic Ustifluvents**

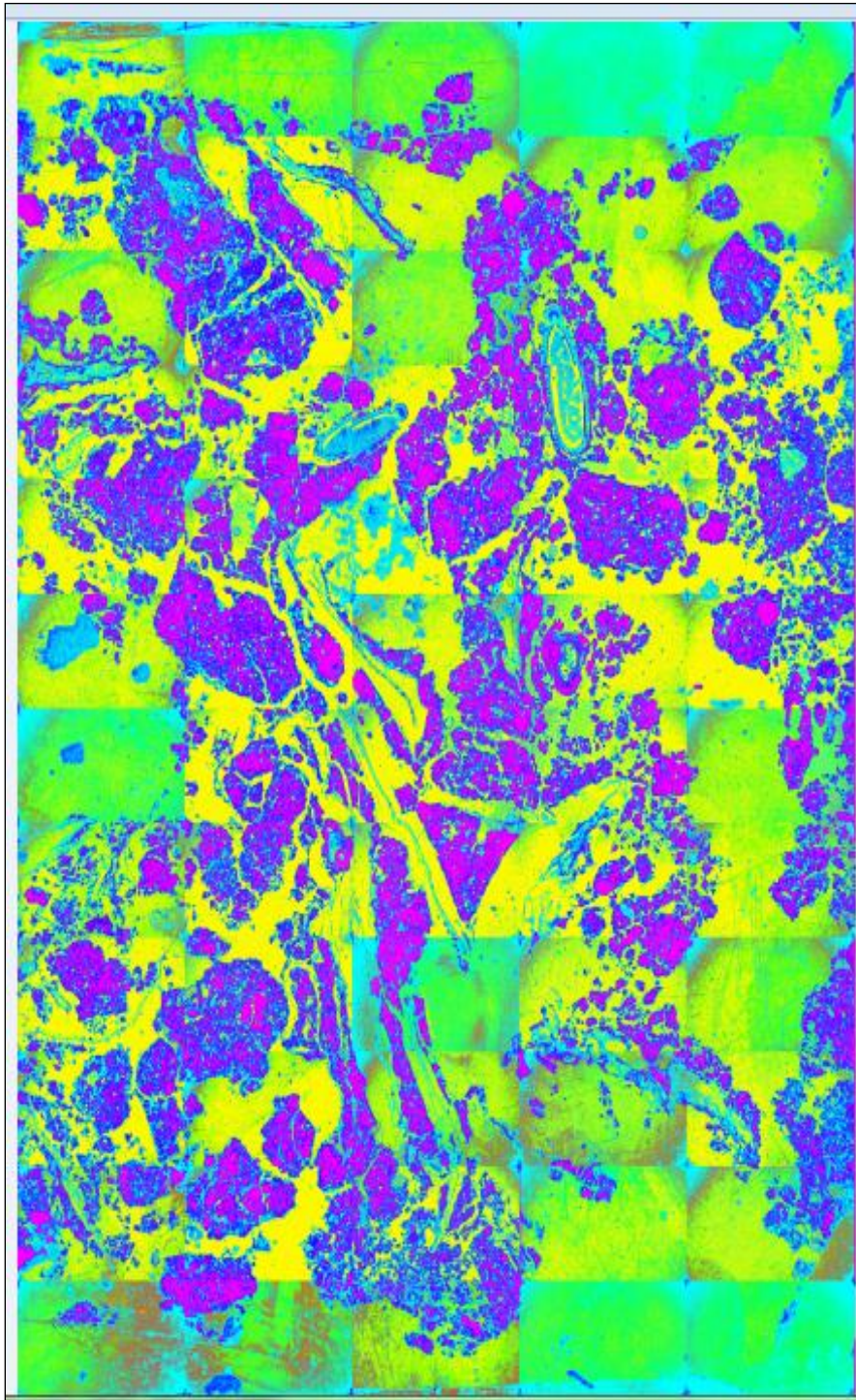


Figura 11. Clasificación no supervisada en un Mollic Ustifluvents



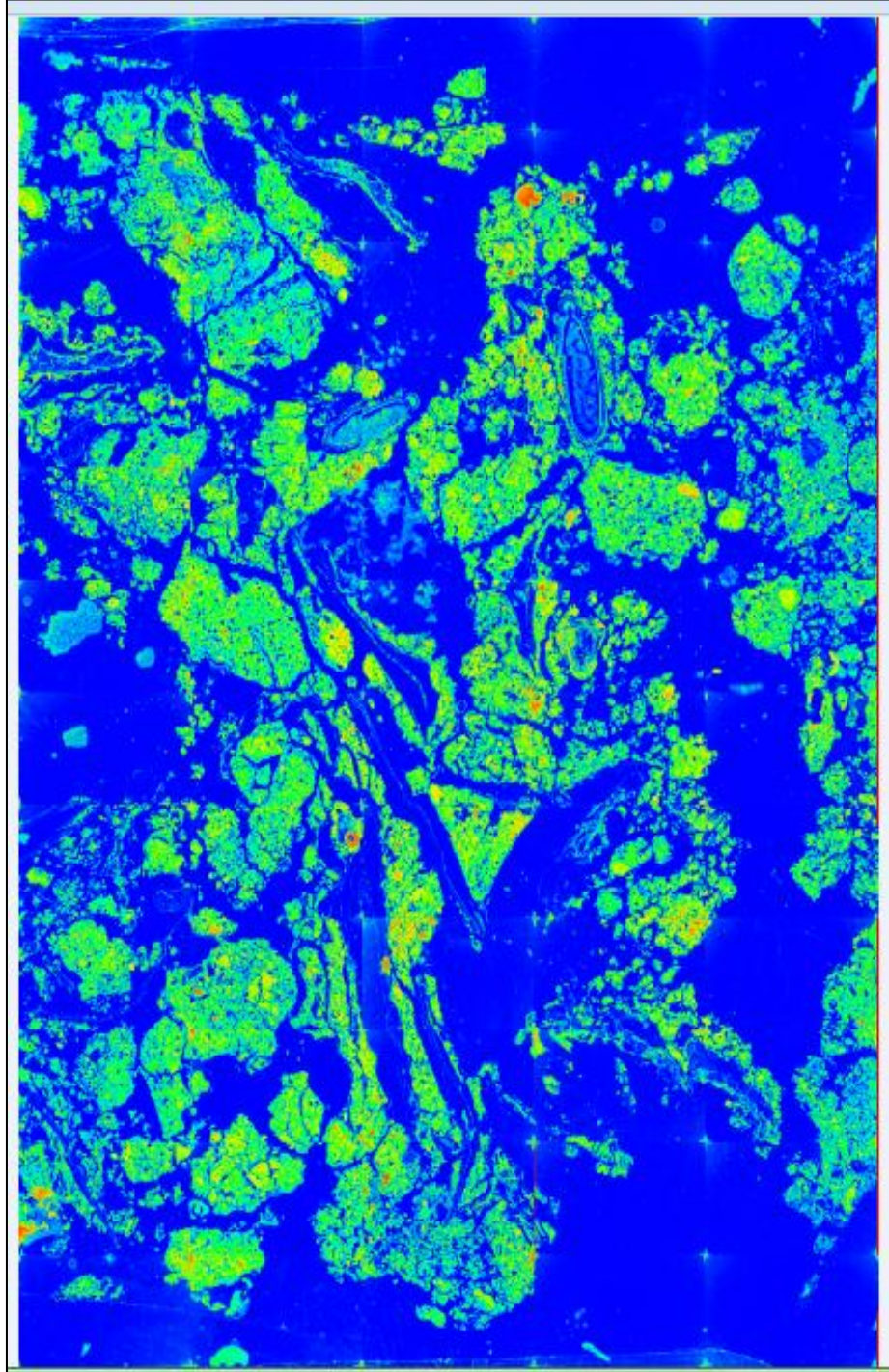


Figura 12. Clasificación supervisada y sus patrones espectrales de un Mollic Ustifluents

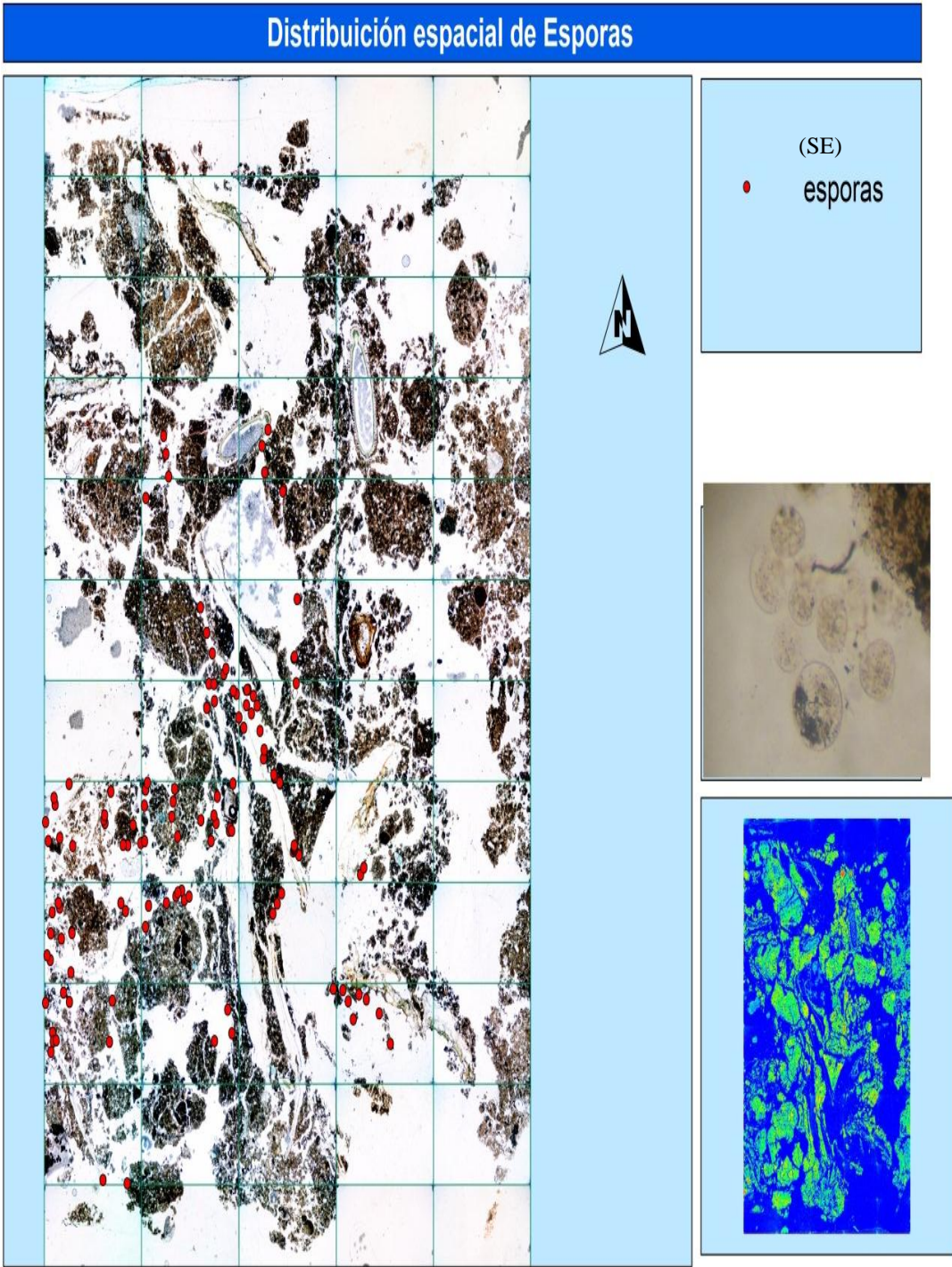


Figura 13. Distribución espacial y sitios de entrenamiento de para la cuantificación de esporas

