



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

## HONGOS ECTOMICORRÍDICOS, PRODUCCIÓN DE INÓCULO Y MORFOTIPOS DE RAÍCES DE *Pinus jeffreyi* Balf. EN EL PARQUE NACIONAL CONSTITUCIÓN DE 1857, BAJA CALIFORNIA.

TESIS

Para obtener el grado de  
**Doctora en Ciencias Agropecuarias**

Presenta

**SELENE AGUILAR AGUILAR**

Director de tesis

Dr. Daniel González Mendoza

Co-director

Dr. Onésimo Grimaldo Juárez

Mexicali, Baja California Mayo, 2011.



Esta tesis fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

## **DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Consejo particular

---

**Dr. Daniel González Mendoza**  
Director de tesis

---

**Dr. Onésimo Grimaldo Juárez**  
Co-director

---

**Dra. Lourdes Cervantes Díaz**  
Sinodal

---

**Dr. Jesús Pérez Moreno**  
Sinodal

---

**Dr. Roberto Soto Ortiz**  
Sinodal

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACYT Y A CONAFOR por el apoyo financiero con el cual fue posible llevar a cabo esta investigación.

De forma muy especial a mi Director Dr. Daniel González Mendoza y a mi Co-director Dr. Onésimo Grimaldo Juárez por el gran apoyo y sobre todo la paciencia que tuvieron al dirigirme en la realización de este trabajo.

Al Dr. Jesús Pérez Moreno por su gran apoyo en la estancia realizada en el Colegio de Posgraduados y por la colaboración en el proyecto y la corrección del presente manuscrito.

A la Dra. Lourdes Cervantes Díaz y al Dr. Roberto Soto Ortiz por su colaboración en el proyecto y su revisión de este manuscrito.

A la Universidad Autónoma de Baja California y al Instituto de Ciencias Agrícolas por permitirme realizar mis estudios de Doctorado.

A todos mis profesores, los que impartieron cursos en el Doctorado en Ciencias Agropecuarias y al Instituto por las facilidades prestadas. A mis compañeros con quienes fue muy grato compartir cursos.

A la dirección del Parque Nacional Constitución de 1857, a través del Ing. Santos Soto quien apoyo con permisos de colecta y estancias en el parque.

A mi principal apoyo en las colectas realizadas y en las estancias, a mi compañera y amiga M.C. Karina León.

A todos.....

**¡GRACIAS!**

## *Dedicatoria*

*A mis principales amores, mi familia, a ti Omar porque me apoyaste en todo con la finalidad de verme realizada y porque en estos últimos años has estado junto a mí para brindarme apoyo, comprensión y sobretodo amor. A mis hermosos regalos Bruno Asdrubal y Briana Regina que han llegado a mi vida y la han transformado multiplicando el amor que era capaz de sentir.*

*A Rosaura, Victoriano, Erandy, Aldo, Rosa y Víctor por su gran apoyo y amor, porque a pesar de la distancia siguen siendo tan importantes en mi vida como siempre.*

*A ustedes dedico este esfuerzo*

<b>INDICE</b>	<b>PAG.</b>
CONTENIDO	i
INDICE DE CUADROS.....	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iii
INDICE DE GRÁFICAS.....	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY.....	vi
i. CONTENIDO	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo .....	4
1.2. Objetivos particulares.....	4
1.3. JUSTIFICACIÓN .....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Sitio de estudio.....	11
Metodología de la elaboración de mapas de localización y proyección de la distribución de hongos ectomicorrícicos.....	11
Clasificación de zonas.....	12
Ubicación de los sitios de colecta en los mapas.....	12
Ubicación de polígonos proyectados en el mapa topográfico.....	13
Colecta de esporomas.....	13
Colecta de raíz.....	14

Identificación de morfotipos ectomicorrícicos y porcentaje de micorrización.....	15
Análisis de diversidad para especies de hongos encontrados.....	15
Caracterización de las raíces ectomicorrizadas.....	17
Producción de inóculo esporal.....	17
Adquisición de esporomas.....	18
Separación de esporomas.....	19
Deshidratación esporomas .....	19
Molido de los píleos.....	20
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Mapas de ubicación de puntos de muestreo y proyección de polígonos.....	21
Esporomas encontrados.....	21
Morfotipos ectomicorrícicos encontrados en raíces de árboles adultos de <i>Pinus jeffreyi</i> dentro del Parque Nacional Constitución de 1857.....	25
Porcentaje de micorrización.....	28
Inoculo esporal producido.....	29
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN.....	32
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	35
VII. ANEXOS.....	39

## ii. INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Géneros ectomicorrícicos encontrados en el Parque Constitución de 1857, su zona y ubicación geográfica.....	24
<b>Cuadro 2.</b> Índices de riqueza y diversidad de las especies fúngicas encontradas en el Parque Nacional Constitución de 1857.....	24
<b>Cuadro 3.</b> Longitud de la raíz colonizada, sin colonizar y porcentaje de colonización de la raíz en las 30 muestras colectadas.....	28
<b>Cuadro 4.</b> Obtención de inóculo de especies del género <i>Laccaria sp.</i> a partir de cuerpos fructíferos frescos comprados en el mercado de Ozumba, Edo. De México.....	31

## iii. INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Clasificación de zonas con diferencias en el contenido de materia orgánica dentro del Parque Nacional de 1857.....	12
<b>Figura 2.</b> Ubicación de los cuadrantes de muestreo de raíz ubicados en el punto de goteo del árbol y su orientación.....	14

<b>Figura 3.</b> Hongos encontrados en el Parque Constitución de 1857; a) <i>Geastrum floriforme</i> , b) <i>Lycoperdum perlatum</i> , c) <i>Astraeus hygrometricus</i> , d) <i>Laccaria sp.</i> , e) <i>Mycenastrum corium</i> , f) <i>Suillus</i> .....	23
---	----

<b>Figura 4.</b> Morfotipos encontrados en las raíces secundarias de <i>Pinus jeffreyi</i> y su frecuencias en las tres zonas .....	27
---	----

#### iv. INDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Frecuencia de esporomas de cada especie encontrada en el Parque Constitución de 1857.....	22
---	----

<b>Gráfica 2.</b> Frecuencia de ejemplares de cada especie encontrada en el Parque Constitución de 1857.....	26
--	----

<b>Gráfica 3.</b> Proporciones de especies de <i>Laccaria sp.</i> encontradas en el mercado de Ozumba en 2008.....	30
--	----

## v. RESUMEN

Con la finalidad de detectar la diversidad de hongos presentes en el área boscosa dentro del Parque Nacional Constitución de 1857 en Baja California, México, se realizaron colectas en tres áreas boscosas a diferentes profundidades del sustrato de materia orgánica en el mes de Agosto de 2007, Febrero, Mayo y Agosto del 2008, en donde se obtuvo un total de 25 ejemplares correspondientes a 3 Géneros, cuatro especies al Genero *Geastrum*, una especie al Genero *Suillus* y otra del Genero *Laccaria*. La abundancia de especies encontrada estuvo relacionada con la precipitación y condiciones climáticas adversas propias del sitio.

Se realizaron muestreos donde se recolectaron raíces secundarias de árboles adultos de *Pinus jeffreyi* Grev. & Balf en diferentes puntos de las principales áreas boscosas dentro del parque y se identificaron los morfotipos ectomicorrícicos encontrados en dichas raíces, usando las claves DEMMY. Como resultado se encontraron seis morfotipos diferentes asociados a *P. jeffreyi*, lo que puede ser un indicativo del tipo de asociación ectomicorrícica en el lugar.

Se colectaron en un mercado del centro del país un total de 20.324 kg de hongos, donde se encontró la especie *Laccaria laccatta* identificada como una especie generalista que establece asociación ectomicorrícica con varias especies de pinos. Esta especie se encontró mezclada con otras especies del mismo género, por lo que se realizó una selección y separación para producir inóculo esporal de la especie *Laccaria laccatta*, para su posterior inoculación en *Pinus jeffreyi*.

## vi. ABSTRACT

To determine the diversity of fungi in the forest area of “Parque National Constitución de 1857” Park in Baja California, Mexico, specimens were collected in three forest areas at different depths of substrate organic matter from the month of August 2007, February, May and August 2008, in which were obtained a total of 25 samples of 3 genus, from *Geastrum* genus were found four species, one specie from *Suillus* genus and one from *Laccaria* genus. The abundance of species found, was related to precipitation and adverse climatic conditions of the site.

Samplings were conducted to collect secondary roots of mature trees of *Pinus jeffreyi* Grev. & Balf in different parts of the main forest areas of the park and were identified ectomycorrhizal morphotypes found in these roots using the keys Demmy. As a result found six different morphotypes related to *P. jeffreyi* which may be indicative of the type of ectomycorrhizal association in place.

Were collected in a downtown market in the country a total of 20.32 kg of mushrooms, was found the specie *Laccaria laccatta* identified as a generalist specie which can set ectomycorrhizal association with various species of pines. This specie was found mixed whit other species of the genus, so there made a selection and separation. Spore inoculum was made from the specie *Laccaria laccatta* for later inoculation *Pinus jeffreyi* species.

**El presente trabajo se llevó a cabo con apoyo financiero otorgado al Dr. Onésimo Grimaldo Juárez, por parte de CONAFOR proyecto PE 07.01, a través del Programa de Apoyos Directos y con el apoyo al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), en la Convocatoria de Incorporación de Nuevos Profesores de Tiempo Completo otorgado al Dr. Daniel González Mendoza.**

## I. INTRODUCCIÓN.

La micorriza es una simbiosis de las más importantes que se establecen entre microorganismos del suelo y las raíces de las plantas (Pérez-Moreno y Read, 2004). La palabra Micorriza se formó a partir del término griego Mycos (hongo) y del vocablo latín Rhiza (raíz) y fue acuñada como tal por primera vez por Frank (1885). Actualmente, el concepto de “micorriza” se considera en un sentido más amplio, para dar cabida a aquellas asociaciones simbióticas hongo-planta que no se establecen en raíces, sino en otros órganos de contacto especializados para el intercambio de nutrientes, como ocurre en orquídeas y otras plantas aclorofílicas carentes de verdaderas raíces (Honrubia, 2009). El proceso de micorrización se inicia cuando el hongo, coloniza la raicilla y llega a ser parte integrante de ella, desarrollando un filamento micélico (micelio o conducto extenso compuesto por varias hifas), que a modo de sistema radical y altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir diversos nutrientes, entre los más importantes el nitrógeno y fósforo, además de proveerle una mayor capacidad de absorción y retención de humedad del suelo por medio de las hifas asociadas (Castellano y Molina, 1989; Páez, 2006; Pérez-Moreno y Read, 2004). A cambio, el hongo recibe hidratos de carbono (azúcares, almidones, etc.) que necesita para su alimentación, estos hidratos de carbono provienen de la fotosíntesis de la planta, así mismo ésta asociación (hongo - raíz), favorece el crecimiento y el desarrollo tanto de la planta como del hongo (Páez, 2006).

Los hongos que forman ectomicorrizas son en su gran mayoría *Basidiomicetos*, aproximadamente unas 5000 especies, en menor proporción los *Ascomicetos* y los *Zigomicetos*, los cuales se asocian con unas 3000 especies de plantas, tanto en regiones tropicales como en templadas y boreales (Castellano, 1989; Pérez-Moreno y Read, 2004; García-Rodríguez, 2006).

Los hongos ectomicorrícicos (HEM) se caracterizan por ser asociaciones mutualistas obligadas entre hongos y raíces de plantas superiores que han evolucionado a través del tiempo (130-180 millones de años), lo cual ha generado una amplia diversificación de los micobiontes, principalmente en los bosques templados y boreales, en donde alrededor del 95 % de las especies forestales establecen la asociación ectomicorrícica (Pérez-Moreno y Read, 2004; García-Rodríguez 2006; Aguilar *et al.* 2009).

Los hongos ectomicorrícicos tienen una distribución limitada entre las especies vegetales. Sólo entre el 3 y 5% de los vegetales establecen este tipo de micorriza; sin embargo, su importancia forestal es enorme no sólo por la amplia distribución de las familias de plantas de uso maderable con las que forman simbiosis, sino también por los diversos grupos fúngicos que desarrolla ésta asociación y que incluye muchas especies comestibles. Además las especies forestales dependen de ésta simbiosis y diversas especies de árboles, incluyendo a los pinos que no se desarrollarían sin esta simbiosis (Smith y Read 1997; García-Rodríguez, *et al.* 2006; Chávez, 2007).

En las últimas décadas el uso de micorrizas en el ámbito forestal ha tenido un importante avance. Recientes estudios dirigen su atención en la adaptación de algunas especies de hongos micorrícicos a diferentes condiciones ambientales, para poder ser inoculados en pinos y lograr incrementar la sobrevivencia y la producción en las plantaciones forestales (González-Ochoa, 2003). Por lo tanto la presencia de hongos ectomicorrícicos es un prerequisite fundamental para un óptimo desarrollo de las especies de *Pinaceas* (Barroetaveña, 2003).

Para el área forestal resulta de gran interés la producción de inóculo, pues esto facilitaría el incremento en el crecimiento y supervivencia de las plántulas de coníferas que se cultivan en viveros para plantaciones masivas en sitios con suelos pobres, erosionados o

que han sido abandonados después de prácticas agrícolas improductivas (Cruz-Ulloa, 1999).

En cuanto al estado de Baja California, los bosques de pinos se localizan principalmente en las altas montañas orientadas de norte a sur a través de la península y son los únicos en México que presentan clima Mediterráneo (Delgadillo, 1997). La Sierra de Juárez es el macizo forestal más extenso del estado con una superficie de 5,009.48 hectáreas, siendo un ecosistema complejo con gradientes climáticos y altitudinales que van de los 1500 a 1820 metros, con presencia de nevadas durante el invierno y prolongados periodos de sequía (Delgadillo, 2004).

Las problemáticas ambientales que se presentan en esta área son la erosión debida al efecto del viento, según estimaciones de la Comisión Nacional de Zonas Áridas, la Sierra de Juárez tiene una velocidad promedio de erosión eólica que va de 50 a 200 Ton/ha/año, la cual se clasifica como severa (GBC, 2008). Otra de las condiciones adversas que se presentan, es una gran incidencia de incendios provocados en parte por los prolongados periodos de sequía, tan solo el número de incendios reportados para Baja California del 1 de enero al 31 de diciembre del 2008 fue de 242, afectando una superficie total de 13, 215.04 has del cual la superficie afectada de arbolado adulto fue de 177.96 has (SEMARNAT-CONAFOR, 2009), esto aunado a las características del suelo provocan una baja regeneración natural y un debilitamiento de los árboles adultos, lo que afecta al aspecto sanitario de las coníferas.

Por la problemática ambiental existente en la Sierra de Juárez es importante realizar estudios acerca de la asociación ectomicorrícica en esta, especialmente en El Parque Nacional Constitución de 1857, debido a que es la única zona protegida de la Sierra de Juárez.

## 1.1. OBJETIVO

Efectuar una identificación y caracterización de las especies de hongos y raíces ectomicorrizadas, asociadas a *Pinus jeffreyi* en tres sitios con vegetación y profundidades de materia orgánica diferentes, ubicadas en el Parque Nacional Constitución de 1857, Baja California.

## 1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar las especies de hongos ectomicorrícicos, mediante la caracterización morfológica de esporomas presentes en bosques de *Pinus jeffreyi*.
- Efectuar una caracterización morfológica de los morfotipos ectomicorrícicos de árboles adultos de *Pinus jeffreyi* en tres sitios de muestreo.
- Realizar una producción de inóculo esporal de hongos ectomicorrícicos relacionados potencialmente con la especie forestal de interés.

*1.3. Justificación:* Conocer la diversidad de simbioses ectomicorrícicos relacionados con *Pinus jeffreyi* y el potencial que puedan tener en la elaboración de inoculantes para ser utilizados en la reforestación con dicha especie forestal, ya que tiene una importancia significativa para la zona de Sierra de Juárez por ser la especie preponderante en la formación de las áreas boscosas y a las condiciones climáticas adversas que se registran en el sitio, especialmente en El Parque Nacional Constitución de 1857, siendo ésta la única zona protegida de la Sierra de Juárez.

## II. REVISION DE LITERATURA

### *Importancia de los hongos ectomicorrícicos*

Varias especies de hongos ectomicorrícicos pueden ser cultivados en laboratorio para su posterior utilización en micorrizaciones controladas de plantas en vivero (Chávez, 2007).

La importancia ecológica de la asociación ectomicorrícica se fundamenta no solo en que mejora la capacidad de la planta para la adquisición de nutrimentos, minerales y agua del suelo, otra característica de gran importancia es que reduce la toxicidad de metales pesados y otros contaminantes e incrementa la resistencia de las plantas a patógenos con lo que aumenta el desarrollo de la plantas que cuentan con esta asociación (Carrera Nieva, 2004). Se puede señalar la gran importancia comercial del grupo de hongos ectomicorrícicos por su interés culinario, lo que tiene un valor añadido en la repoblación de áreas forestales con plantas inoculadas (Carrera Nieva, 2004).

### *Hongos ectomicorrícicos y salinidad en plantas.*

Se ha observado que en algunos casos de la asociación ectomicorrícica, las plantas asociadas han presentado mayor adaptación a las condiciones de salinidad. No obstante, la tolerancia a la salinidad puede variar entre las especies de los HEM; por ejemplo, se ha observado que géneros como *Pisolithus*, *Laccaria sp.* y *Suillus* son aparentemente más tolerantes a las sales de sodio que *Thelephora* o *Cenococcum*. Por otra parte, Reddell *et al.* (1986) y Dixon (1993) observaron que especies de *Frankia* y *Suillus* presentaban procesos de compartimentalización de las sales en vacuolas y en su pared celular, excluyendo a los iones tóxicos de los procesos metabólicos. Por su parte Chen *et al.* (2001) observaron en especies de *Pisolithus* (18 aislados) una alta resistencia al NaCl en suelos salinos. Lo cual sugiere la presencia de un eficiente proceso de osmorregulación en el citoplasma, que mantiene una alta actividad metabólica y

mantiene los potenciales de agua para evitar el marchitamiento de la planta (Aguilar *et al.* 2009).

#### *Producción de inóculo.*

La necesidad de la utilización de planta inoculada en reforestación de zonas de escasa regeneración se justifica en el incremento del desarrollo y de la supervivencia de la planta en campo, que supone la presencia de hongos ectomicorrícicos en asociación simbiótica. En las reforestaciones con plantas micorrizadas se deben seguir varios pasos antes de la introducción de la planta en campo como son la selección de especies de hongos relacionados con la planta de interés y el desarrollo de las técnicas de inoculación adecuadas. Por ello la adecuada selección de las especies de hongos micorrícicos como simbioses y su posterior manipulación, tanto en laboratorio como en vivero, pueden ser aspectos claves para lograr con éxito el establecimiento de especies vegetales en campo. Hay varias técnicas de inoculación existentes como suspensiones miceliarias, suspensiones esporales e inóculo esporal en polvo empleadas con éxito hasta la fecha en vivero (Chávez, *et al.*, 2009).

La micorrización controlada en vivero y su efecto en los procesos de reforestación en distintos países y condiciones ecológicas, han sido ampliamente estudiados y revisados (Castellano y Molina, 1989; Pérez-Moreno y Read, 2004). La utilización de planta micorrizada no sólo ha facilitado la revegetación en las últimas décadas. Recientes estudios dirigen su atención en la adaptación de algunas especies de hongos ectomicorrícicos a diferentes condiciones ambientales para poder ser inoculados en pinos y lograr incrementar la sobrevivencia y la producción en las plantaciones forestales en condiciones particulares, como pueden ser la recuperación de suelos degradados o escombreras de minas y la introducción de especies exóticas en distintas partes del

mundo, también ha mejorado la repoblación de los suelos forestales (Pera *et. al*, 1998; Gonzáles-Ochoa, 2003).

Por lo tanto, la presencia de hongos ectomicorrícicos es un prerrequisito fundamental para un óptimo desarrollo de las especies de *Pinaceas* (Barroetaveña, 2003). Para el área forestal resulta de gran interés la producción de inóculo, pues esto facilitaría el incremento en el crecimiento y supervivencia de las plantas de coníferas que se cultivan en viveros para plantaciones masivas en sitios con suelos pobres, erosionados o que han sido abandonados después de prácticas agrícolas improductivas (Cruz-Ulloa, 1999).

#### *Estudio de hongos en Baja California.*

En Baja California han sido escasos los estudios realizados de los hongos a pesar de su importancia tanto ecológica como cultural.

Algunos trabajos como el de Ayala y Ochoa (1998), quienes realizaron un estudio de hongos del estado de Baja California en el que se presentan los hongos conocidos de la península de Baja California donde se incluye un listado de las especies más importantes y una descripción taxonómica y ecológica de cada especie.

Ochoa *et al.* (1990), citan 23 especies, estando entre éstas el primer registro para la microflora mexicana de *Astraeus hygrometricus* var. *giganteus*. Moreno *et al.* (1992) estudiaron el género *Abstoma* y proponen a *Abstoma friabile* como especie nueva para la ciencia. Ochoa-Morales (1993) realiza un estudio taxonómico, ecológico y corológico sobre el grupo Gasteromicetos de la Península Baja California. Ochoa y Moreno (1996), llevan a cabo un estudio sobre 13 especies de este grupo dentro de la Reserva de la Biosfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado. Ochoa *et al.* (1998), registraron por primera vez para Norteamérica a *Tulostoma subsquamosum*, y por último

Ochoa y colaboradores (1998) realizan un estudio sobre *Calvatia pygmaea*, gasteromiceto que tenía 90 años de no ser registrado nuevamente (CONABIO, 2009).

#### *Efectividad de la inoculación con hongos ectomicorrícicos en pinos.*

El incremento de altura, diámetro, peso y sobrevivencia que dan algunas especies de hongos ectomicorrícicos al ser usados como inoculo, justifica hacer un gasto extra en la producción de pino en vivero. A nivel mundial se han reportado numerosas investigaciones en las que se menciona el beneficio que proporciona realizar inoculaciones en especies de Pino con inóculos de hongos ectomicorrícicos.

Castellano y Molina (1989) presentan un listado de casos en los que diferentes arboles han sido inoculados con hongos ectomicorrícicos y menciona cuales especies dieron al hospedero mejor desarrollo, como el hongo *Cenococcum geophilum* que fue exitoso al ser inoculado en *Quercus robur*; el hongo *Posolithus tinctorius* en *Quercus alba*, *Quercus rubus*, *Alnus glutinosa*, *Betula lenta*, *Picea engelmanni*, *Pseugotsuga menziesii*, *Pinus banksiana*, *Pinus echinata* y *Pinus ponderosa*; el hongo *Suillus granulatus* en *Quercus kelloggii*; y el hongo *Suillus luteus* en *Quercus kelloggii* y *Quercus rubus* (Castellano and Molina, 1989).

Pera *et al.* en (2005) realizó una revisión de investigaciones hechas en España con resultados publicados principalmente de coníferas inoculadas con hongos de los géneros: *Hebeloma*, *Laccaria sp.*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Scleroderma* o *Suillus*, donde se demuestra que la micorrización controlada con hongos seleccionados mejora los procesos de repoblación y revegetación en distintas situaciones ambientales, como: el establecimiento de masas en suelos forestales productivos, tanto con especies autóctonas como con especies exóticas de rápido crecimiento, la repoblación de suelos

agrarios abandonados, o la revegetación de suelos áridos de la zona mediterránea (Pera *et al.* 2005).

Chávez *et al.* en (2009) realizaron un estudio en donde se midió el efecto de diferentes inóculos empleados en el crecimiento en altura de plantas de *Pinus radiata*, donde se concluyó que la inoculación de *P. radiata* tuvo un efecto positivo en el crecimiento en altura de las plantas. Se observó que *Suillus luteus* y *Suillus Bellini*, generaron mayor incidencia en el crecimiento en altura de plantas de *P. radiata* respecto a los tratamientos control (Chávez *et al.* 2009).

#### *Estudios de inoculación con hongos ectomicorrícico en México y Baja California.*

En México, se han priorizado los estudios sobre la propagación de hongos endomicorrícicos que están relacionados principalmente con las plantas de interés hortícola. En el caso de los HEM, los estudios se iniciaron con el conocimiento de la formación de la micorriza en pinos semilleros por Macdonel en 1863 y Ferrera-Cerrato en 1976 (Cruz-Ulloa, 1999).

En cuanto a los hongos ectomicorrícicos en la zona norte y noroeste del país y su posible utilización como inoculante para algunas especies forestales se conoce poca información al respecto. Sin embargo, se tienen estudios como el caso de Garza (2002) que da a conocer 51 especies de macromicetos de 19 familias y 42 géneros asociados al bosque de *Pinus culminicola* en un sitio del Estado de Nuevo León, determinando también el habito de crecimiento de estas especies y la fenología de la producción de los esporomas. Así como los tipos morfológicos de las ectomicorrizas presentes, las morfoespecies, abundancia y la obtención de cultivos puros a partir de los esporomas y de las ectomicorrizas encontradas (Garza *et al.* 2002).

En cuanto a Baja California, no se tiene conocimiento de este tipo de estudios, a pesar de su importancia para aplicar tecnologías que puedan ayudar en la recuperación de los bosques, sobre todo que cuenta con zonas de climas extremos como los que se presentan en los bosques del Estado.

*Pinus jeffreyi* Grev. & Balf. Su clasificación taxonómica según Perry, (1991).

Reino – Plante

Division – Espermatofita

Subdivisión – Gimnospermae

Orden – Coniferales

Familia – Pinaceae

Genero – Pinus

Subgenero – Diploxilon

Sección – Ponderosae

Especie - *Pinus jeffreyi* Murr.

Este pino suele tener hibridación con *Pinus ponderosa* y *Pinus coulteri* en lugares donde se traslapan. Se encuentra en sitios a través de California al suroeste de Oregón, oeste de Nevada y norte de Baja California (Corey, 2007). Es comúnmente encontrado en Sierra de Juárez y Sierra San Pedro Mártir. Ocupa lugares de clima seco y suelos sinuosos (Perry, 1991; Corey, 2007).

*Pinus jeffreyi* es un pino de gran altura de 40 a 50 m, de lento crecimiento y muy longevo, llegan a vivir 400 o 500 años. Su tronco es normalmente recto y con un grosor promedio de un metro de diámetro, con una corteza de grandes placas irregulares y separadas por profundos surcos. Sus hojas (acículas) son de entre 22 y 28 cm de longitud en fascículos de tres. Sus conos son de tipo ovoide y miden de 13 a 17 cm de longitud, (Perry, 1991; Corey, 2007).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### *Sitio de estudio.*

El Parque Nacional Constitución de 1857, se ubica en el Municipio de Ensenada, Baja California, México, entre los 32°01'28" y 32°07'46" de latitud norte y entre los 115°51'18" y 115°57'19" de longitud oeste (GBC, 2009). Su extensión es de 5,009.48 hectáreas. Esta zona geográfica se encuentra catalogada como semiárida y/o árida y presenta clima tipo Cs con temporada lluviosa en la época fría del año y temperaturas entre 10 y 15 °C; su vegetación corresponde al bosque de *Pinus jeffreyi* principalmente (Delgadillo, 1998). El Parque Nacional Constitución de 1857 (PNC), esta ubicado dentro de la Sierra de Juárez, siendo la única zona protegida de la región, donde *Pinus jeffreyi* se encuentra sujeta a protección especial por la CONABIO y es la especie forestal preponderante en la formación de las masas boscosas de esta zona (Delgadillo, 2004; Rzedowski, 2006). Dentro del parque se observan zonas con diferente profundidad del sustrato de materia orgánica y vegetación debido principalmente a su fisiografía.

#### *Metodología de elaboración de mapas de localización y proyección de la distribución de hongos ectomicorrícicos.*

En esta etapa se realizaron recorridos por las zonas boscosas aledañas a la Laguna Hanson, dentro del área del Parque Nacional Constitución de 1857, recopilándose información sobre la vegetación y contenido materia orgánica. Los recorridos se realizaron en el año 2007 y parte de 2008. Los puntos donde se encontraron los hongos ectomicorrícicos fueron referenciados, utilizando geo-posicionador satelital (GPS).

### *Clasificación de zonas.*

De acuerdo con las características de vegetación y contenido de materia orgánica se clasificaron tres zonas. Esta clasificación facilitó la identificación de posibles áreas con mayor probabilidad de fructificación de hongos ectomicorrícicos, que es el objetivo principal de este trabajo.



ZONA 1 Capa de MO 5 cm



ZONA 2 Capa de MO 10 cm



ZONA 3 Capa de MO mas de 10 cm

**Figura 1.** Clasificación de zonas con diferencias en el contenido de materia orgánica dentro del Parque Nacional de 1857.

### *Ubicación de los sitios de colecta en mapas.*

Los ejemplares encontrados en las diferentes zonas fueron ubicadas con un GPS y posteriormente se realizaron mapas proyectados según las características de vegetación y materia orgánica existentes en toda el área de estudio (Ver Anexo 7).

Los puntos donde fueron localizados los hongos ectomicorrícicos, se ubicaron en un mapa topográfico con la siguiente metodología. Se utilizó una carta topográfica en formato digital, la cual es copiada a un programa CAD, en este caso se utilizó el AUTOCAD, 2006. Posteriormente se estableció una escala de una distancia conocida del

terreno, ubicada en la carta para que el programa calculara las distancias reales. Con la escala establecida, se procedió a ubicar las coordenadas de la imagen digital y se sobrepuso la información de los datos referenciados de los diferentes sitios muestreados. Una vez que se ubicó el sistema de coordenadas y se ajustó la escala del programa, se colocaron los puntos, este paso se realizó dando una coordenada (de las ubicadas en campo) a cada punto y con el proceso anterior, los puntos que se colocan en el sistema coordenado del AUTOCAD coinciden en las coordenadas de la carta. Por último se procedió a trasladar la carta con los puntos dibujados a una imagen JPG traslapándola en el sistema como una imagen.

#### *Ubicación de polígonos proyectados en el mapa topográfico.*

Los polígonos fueron proyectados tomando como referencia los sitios donde se localizaron los hongos para lo cual fueron consideradas las características de vegetación y contenido de materia orgánica, registradas en cada sitio. Estas características fueron interpretadas en orthofotos e imágenes de satélite del área de la Sierra de Juárez. Una vez identificados las zonas con características propicias para la fructificación de hongos ectomicorrícicos, se referenciaron los polígonos de estas zonas y se ubicaron en el mapa topográfico siguiendo la metodología antes descrita.

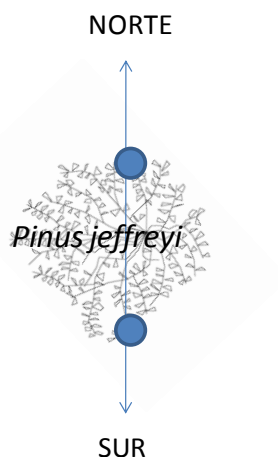
#### *Colecta de esporomas.*

La recolecta de los esporomas se efectuó en el mes de Agosto de 2007, Febrero, Mayo y Agosto del 2008, recorriendo las áreas del PNC al azar. La colecta se realizó en el sustrato mantillo de bosque. Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de microbiología del Instituto de Ciencias Agrícolas de la UABC, para su determinación.

Los ejemplares se identificaron mediante un análisis de las características macro y microscópicas basadas en el concepto de morfoespecie. La identificación se efectuó mediante las claves de Arora (1986) y Ayala y Ochoa (1998).

#### *Colecta de raíz.*

Las colectas de raíz se realizaron en el periodo (Agosto a Noviembre del 2008). Durante las colectas de esporomas, se ubicaron 5 sitios al azar en cada una de las tres zonas boscosas del PNC. En cada sitio se seleccionó al azar un árbol de *P. jeffreyi*, ubicando en él, el punto de goteo en relación a los límites de la copa del árbol (Figura 2). Una vez ubicado este punto, se realizaron dos excavaciones en cada árbol, orientadas una al norte y otra al sur. La excavación se realizó en un cuadrante de 1m x 1m y 20 cm de profundidad, del cual, se extrajeron las raíces secundarias de *P. jeffreyi* encontradas en dicho cuadrante.



**Figura 2.** Ubicación de los cuadrantes de muestreo de raíz ubicados en el punto de goteo del árbol y su orientación.

Se colectaron un total de 30 muestras de raíz (las cuales se etiquetaron indicando la zona, el número de árbol, número de muestra y la fecha de colecta). Las raíces

colectadas fueron lavadas con agua destilada estéril y conservadas en una solución de alcohol-formol-ácido acético (en proporción 1:1:1) para su preservación y posterior observación al microscopio estereoscópico con la finalidad de identificar las estructuras ectomicorrícicas ó morfotipos (Garza *et al.*, 2002).

*Identificación de morfotipos ectomicorrícicos y porcentaje de micorrización.*

Este paso se realizó seleccionando raicillas secundarias de las muestras de raíz obtenidas, se separaron usando pinzas de disección de punta fina y se colocaron en una caja de Petri previamente dividida en cuadrículas de un cm<sup>2</sup>. Posteriormente, las estructuras ectomicorrícicas fueron identificadas bajo el estereoscopio usando las lentes de aumento de 20X y 40X. Las estructuras ectomicorrícicas se apreciaron como un cambio en el desarrollo radicular, “deformación”.

Finalmente, se observó toda la longitud de la raíz y se cuantificó la presencia de estructuras ectomicorrícicas mediante el método de intersección de cuadrantes (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2001; Carrillo., 2000; Garza *et al.*, 2002). El porcentaje de raíz colonizada se calculo contando las raíces colonizadas y sin colonizar (Jha, 2008). Se aplicó la siguiente formula:

$$\% \text{ Micorrización} = \frac{\text{Longitud colonizada}}{\text{Longitud total}}$$

*Análisis de diversidad para especies de hongos encontrados.*

Para conocer la riqueza específica de las especies fúngicas de las zonas boscosas del PNC, se calculó el índice de Margaleff y para conocer la diversidad el índice de Simpson y de Shannon-Weaver (Cuadro 2).

## Índice de Shannon-Weaver

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

Donde:  $P_i$  = Abundancia proporcional de la especie  $i$ , lo cual implica obtener el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

Asume que todas las especies están representadas en las muestras y que todos los individuos fueron muestreados al azar. Puede adquirir valores entre cero cuando hay una sola especie y el logaritmo de  $S$  cuando todas las especies están representadas por el mismo número de individuos. Puede verse fuertemente influenciado por las especies más abundantes (Moreno, 2001).

## Índice de Simpson

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Donde:  $P_i$  = Abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

Manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie. Está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominantes. Como su valor es inverso a la equidad, la diversidad puede calcularse como  $1/\lambda$  (Moreno, 2001).

## Índice de diversidad de Margalef

$$D_{mg} = S - 1 / \ln N$$

Donde:

$S$  = número de especies

N = número total de individuos

Transforma el número de especies por muestra a una proporción a la cual las especies son añadidas por expansión de la muestra. Supone que hay una relación funcional entre el número de especies y el número total de individuos (Moreno, 2001).

#### *Caracterización de las raíces ectomicorrizadas.*

La identificación de la asociación de las raíces con los hongos ectomicorrícicos se realizó seleccionando raicillas secundarias, las cuales fueron recolectadas usando pinzas de disección de punta fina y se colocaron en una caja de Petri dividida en cuadrículas de un  $\text{cm}^2$ . Posteriormente, las estructuras ectomicorrícicas fueron identificadas bajo el estereoscopio usando las lentes de aumento de 20X y 40X. Las estructuras ectomicorrícicas se apreciaron como un cambio en el desarrollo radicular, “deformación”, del sistema radicular, en donde cada tipo de hongo ectomicorrícico presenta una “deformación” característica.

Una vez identificado las principales estructuras de la ectomicorriza, se compararon en las claves DEEMY (Agerer y Rambold, 2009), para realizar una clasificación de las ectomicorrizas encontradas en el PNC.

#### *Producción de inóculo esporal.*

La problemática existente para la producción de inóculo en el norte del país, es la corta temporada de lluvias y la sequía que predomina en la mayor parte del año, lo cual reduce de manera significativa la presencia de esporomas del hongo y por tanto son insuficientes para la producción de inóculo esporal. Ante esta situación, se tomó la opción de obtener esporomas frescos de otros estados de la República, donde las temporadas de lluvias son más favorables y la fructificación es más abundante. Por lo

anterior se realizó una colecta en el mercado de Ozumba, Edo., de México, en donde se colectó la especie de hongo comestible *Laccaria sp.*, debido a que se ha demostrado que esta especie es pionera (que se asocia en estadios principales de los árboles forestales), además en invernadero *Laccaria sp.* ha demostrado colonizar una amplia variedad de especies de pinos, por esta razón se pensó en producir inóculo esporal en polvo debido a su potencial para asociarse con *Pinus jeffreyi*.

Al realizar la adquisición de los hongos se tomaron en cuenta las condiciones de los hongos, los cuales debieron estar frescos para ser deshidratados y no debían presentar características de descomposición o pudrición. Se programó la deshidratación de los esporomas en las siguientes 24 horas de la adquisición de los hongos. Una vez deshidratados los esporomas se molieron y conservaron en frascos oscuros y totalmente herméticos para evitar que las esporas sufrieran algún daño.

Este tipo de inóculo se aplica en seco (2 gr de inóculo por planta), esto le da la ventaja de poder ser almacenado durante varias semanas, a diferencia del inóculo líquido.

#### *Adquisición de esporomas.*

La primera etapa para la producción del inóculo fue la adquisición o colecta de esporomas de los hongos ectomicorrícicos previamente identificados en posible asociación con la especie *Pinus jeffreyi*. Algunas especies ectomicorrícicas son comercializadas en grandes cantidades como es el caso del mercado de Ozumba, Estado de México, en el que se concentra la venta de hongos silvestres de diferentes estados como Puebla, Tlaxcala y Morelos, por lo que se encuentra una gran variedad de especies en un solo lugar y facilita la adquisición en la temporada de fructificación (Julio, Agosto, Septiembre y Octubre) de los hongos con los que se produce todo el inóculo que se utilizará durante el año. Para obtener inóculo esporal es necesario una gran cantidad de esporomas debido a que estos se deshidratarán y el contenido de agua en un

esporomas es de alrededor del 96%, por lo que obtendremos una cantidad muy reducida de los esporomas frescos.

#### *Separación de los esporomas.*

Una vez obtenida una cantidad adecuada de hongos frescos, fue necesario separar los púleos de los estípites en los esporomas, debido a que solo se utilizarían los púleos que son las estructuras que contienen las esporas. Se utilizaron tijeras afiladas para cortar los esporomas, realizando el corte en la unión entre el púleo y el estípite. En este paso se tuvo cuidado de no maltratar el púleo para evitar la caída de esporas.

#### *Deshidratación de esporomas.*

Posteriormente a la separación de los púleos y los estípites, se deshidrataron los púleos en un horno deshidratador de frutas tipo charolas, en el que se programó una temperatura máxima de 30° C para evitar que las esporas se dañaran. Las temperaturas óptimas para la deshidratación deben oscilar entre 26 a 30 °C. Los púleos se dejaron en el horno durante 24 horas, posteriormente se revisaron y extrajeron del horno ya totalmente deshidratados y se revisó que tuvieran una consistencia crujiente.

Una vez deshidratados los púleos se colocaron en bolsas de plástico selladas para evitar que absorbieran nuevamente la humedad. Las bolsas fueron etiquetadas debidamente con el nombre de la especie y la fecha de deshidratación.

### *Molido de los píleos.*

La etapa final de la producción del inóculo fue el molimiento de los píleos para lo cual se requirió de un molino especial para procesar muestras secas.

Una vez que se obtuvo el inóculo, éste fue conservado en frascos totalmente herméticos y secos para evitar la entrada o presencia de humedad, se mantuvieron en refrigeración a 4° C y en total oscuridad para evitar la activación de las esporas. Los frascos fueron etiquetados con los datos de la procedencia de los hongos, fecha de recolección y almacenamiento, así como información taxonómica de la especie del hongo.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

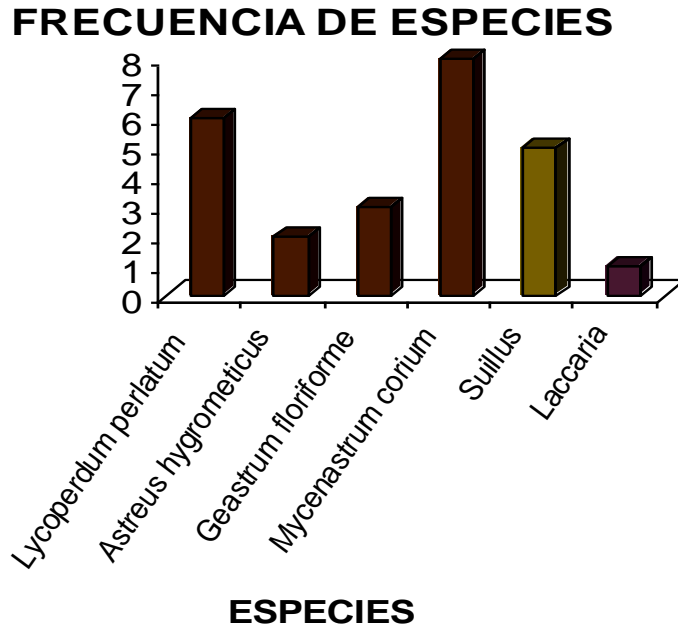
##### *Mapas de ubicación de puntos de muestreo y proyección de polígonos.*

Se generaron dos mapas topográficos con la localización de los puntos de colecta y polígonos de proyección de las áreas en donde se puedan localizar esporomas. En el primer mapa se muestran los puntos donde se realizó el muestreo para la búsqueda de esporomas en las inmediaciones del PNC. En este mapa básicamente se ubicaron dichos puntos con la finalidad de obtener una mayor visualización del muestreo y para ser utilizado como apoyo para generar el mapa de polígonos proyectados (Anexo 4). El segundo mapa generado fue el de polígonos proyectados, aquí se muestran estos polígonos donde en el terreno existe la posibilidad de encontrar esporomas. En estas zonas se encontró similitud en la acumulación de materia orgánica en el sustrato y en la conformación de la vegetación existente, en relación con los puntos en los que se encontraron los esporomas del muestreo (Anexo 4).

##### *Esporomas encontrados.*

Durante las colectas se encontraron 25 ejemplares de macromicetos en las zonas boscosas del PNC. Se determinaron 5 especies de las cuales 4 pertenecen al género *Geastrum*. Los porcentajes de esporomas encontrados en las colectas fueron *Geastrum* (76%), *Laccaria* (4%) y género *Suillus* (20%), las proporciones de esporomas colectados de cada especie se pueden observar en la Gráfica 1.

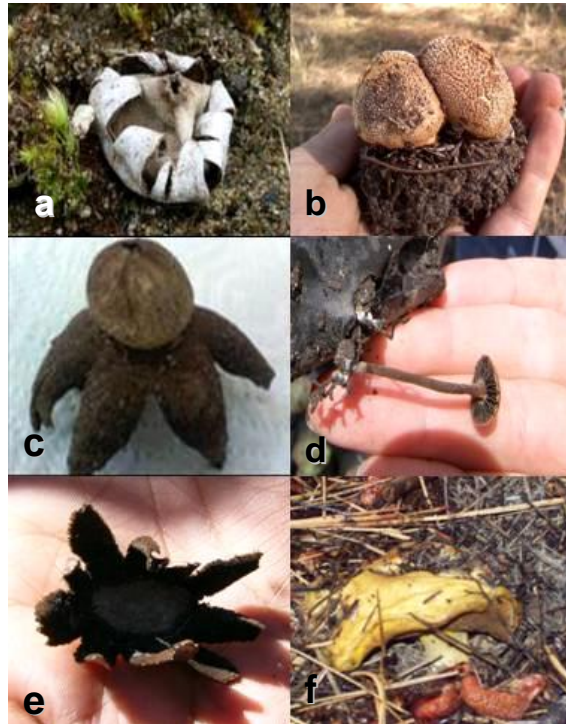
De las especies encontradas se pueden considerar como ectomicorrícicas a *Suillus sp.*, *Laccaria sp.*, y *Astreus hygrometricus*.



**Gráfica 1.** Frecuencia de esporomas de cada especie encontrada en el Parque Constitución de 1857.

Se encontraron cuatro diferentes especies de esporomas del genero *Geastrum*: *Lycoperdon perlatum* Pers; *Geastrum floriforme* Vittad.; *Astraeus hygrometricus* Pers. y *Mycenastrum corium* Guers. Los esporomas del género *Suillus* sp. y *Laccaria* sp. no se pudieron identificar hasta especie debido a que el estado de madurez que presentaban a la hora de la colecta no permitió la identificación de sus estructuras microscópicas en el laboratorio (Figura 2).

En el mes de agosto del 2008 se encontró el mayor número de ejemplares (44%), en el mes de febrero de 2008 se obtuvo el (36 %), en Agosto del 2007 el (12 %) y en Mayo del 2008 el (8 %).



**Figura 3.** Hongos encontrados en el Parque Constitución de 1857; a) *Geastrum floriforme*, b) *Lycoperdum perlatum*, c) *Astraeus hygrometricus*, d) *Laccaria* sp. e) *Mycenastrum corium*, f) *Suillus* sp.

Los esporomas del género *Suillus* se encontraron en el mes de Agosto, los del género *Laccaria* se encontraron en el mes de mayo y los esporomas del género *Geastrum* se encontraron en todas las colectas realizadas en la zona de estudio (Cuadro 1). Durante las colectas se registraron las coordenadas de los ejemplares recolectados con la finalidad de realizar nuevos muestreos en estos sitios en futuras investigaciones para observar la fructificación en diferentes años (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Géneros encontrados en el Parque Constitución de 1857, su zona y ubicación geográfica.

Zona	Género	Coordenadas Geográficas		MSNM
1	<i>Geastrum</i>	32°03'14.7''	115°54'36.5''	1623
1	<i>Geastrum</i>	32° 02'59.7''	115°54'44.3''	1625
2	<i>Geastrum</i>	32° 02' 05.8''	115° 54'57.2''	1526
2	<i>Geastrum</i>	32° 02' 26.8''	115°54'44.6''	1570
2	<i>Geastrum</i>	32°02'22.8''	115°54'24.6''	1599
2	<i>Geastrum</i>	32°02'19.6''	115° 54'10.0''	1614
2	<i>Geastrum</i>	32° 02'23.9''	115° 53'48.2''	1622
2	<i>Geastrum</i>	32°02'49.1''	115°53'40.9''	1633
3	<i>Geastrum</i>	32°02'31.4''	115°55'36.8''	1630
3	<i>Geastrum</i>	32°02'13.0''	115°55'34.3''	1629
3	<i>Geastrum</i> ,	32° 02'14.4''	115° 55'11.5''	1631
3	<i>Geastrum</i> , <i>Suillus</i> <i>sp.</i>	32° 02'35.6''	115° 55'37.5''	1615
3	<i>Suillus sp.</i> , <i>Laccaria</i>	32° 02' 29''	115° 55' 36.6''	1620

**Cuadro 2.** Índices de riqueza y diversidad de las especies fúngicas encontradas en el Parque Nacional Constitución de 1857.

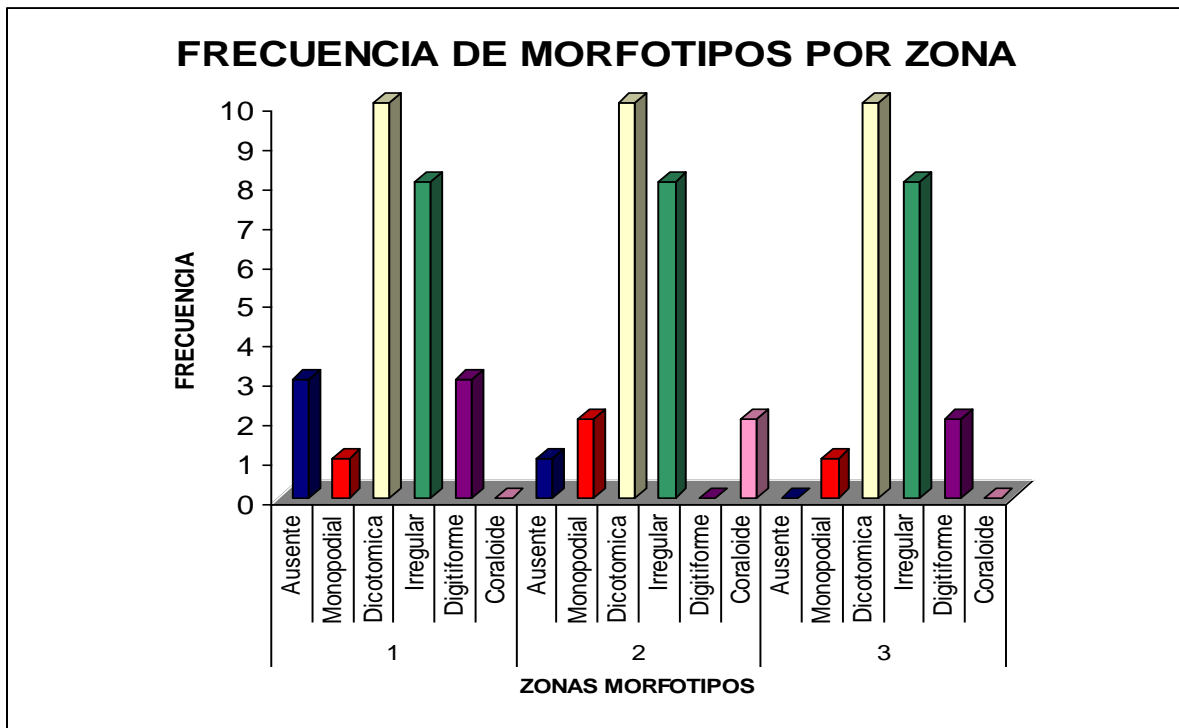
<i>Índice</i>	<i>Valor obtenido</i>
Margaleff	1.553
Simpson	0.3798
Shannon-Weaver	1.852

Con valores obtenidos en cuanto a la riqueza y diversidad de especies podemos interpretar que para el índice de Shannon-Weaver el valor obtenido nos indica que hay poca diversidad en nuestro sitio de estudio al igual que el índice de Simpson. El índice de Margaleff nos muestra la riqueza específica y para este caso también es bajo, esto podemos atribuirlo a las condiciones adversas en el sitio que provocan la escasez de especies con un bajo número de ejemplares, a que el tamaño de la muestra fue pequeño

e influye en el resultado. Los datos obtenidos pueden relacionarse con las condiciones climáticas adversas que prevalecen en el sitio de estudio.

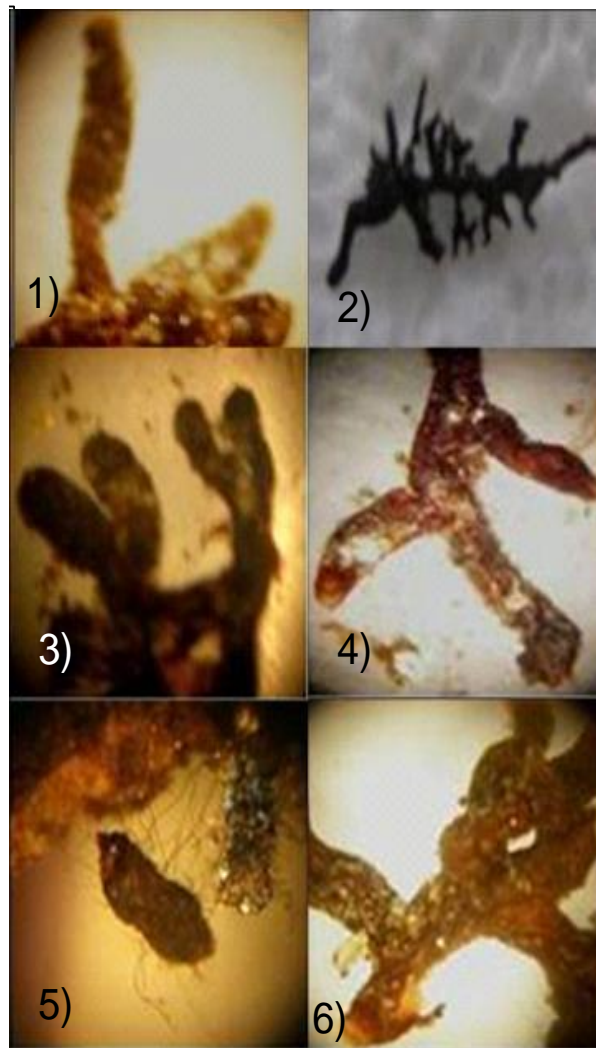
*Morfotipos ectomicorrícicos encontrados en raíces de árboles adultos de Pinus jeffreyi dentro del Parque Nacional Constitución de 1857.*

En las tres zonas de muestreo se identificaron los morfotipos encontrados en las raíces de *P. jeffreyi*. El morfotipo ectomicorrícico Dicotómico se encontró en todas las muestras analizadas. El morfotipo Irregular Pinnado se encontró en las muestras de ocho sitios de cada una de las zonas, lo que hace a este morfotipo el segundo mas frecuente asociado con *P. jeffreyi* dentro del PNC, seguido por el morfotipo Monopodial Pinnado que se encontró en una baja frecuencia en las tres zonas. Los morfotipos Ausente y Digitiforme (*Cenococcum geophilum*) se encontraron en las muestras de dos zonas únicamente; zonas 1, 2 y 1, 3 respectivamente. El morfotipo Coraloide se encontró solamente en las muestras de la zona 2 (Gráfica 2).



**Gráfica 2.** Frecuencias de los morfotipos por zona.

Las imágenes de los morfotipos encontrados en los muestreos realizados en la zona de estudios se muestran en la Figura 4.



**Figura 4.** Morfotipos encontrados en las raíces secundarias de *Pinus jeffreyi* y su frecuencias en las tres zonas: 1) Ausente, 2) Monopodial pinnada, 3) Dicotómica, 4) Irregular pinnada, 5) Digitiforme, 6) Coraloide.

El criterio de la ramificación de las micorrizas es importante para la clasificación de las mismas, sin embargo tiene la limitante que un mismo tipo de ramificación puede incluir varios morfotipos cuando se efectúan análisis más profundos, por ejemplo los análisis relacionados con la anatomía, caracterización micromorfológica del manto fúngico ó caracterización molecular.

Ésta es una caracterización inicial que presenta limitantes por lo que sería muy importante realizar en el futuro análisis moleculares dado que solamente el criterio de

ramificación de los morfotipos no es un factor definitivo para la clasificación de los mismos ni para establecer cuáles son las especies ectomicorrícicas relacionadas con la especie forestal.

*Porcentaje de micorrización.*

El resultado del porcentaje de micorrización encontrado fue proporcional al contenido de materia orgánica de las zonas ubicadas. En la evaluación del porcentaje de micorrización por zona, se observó que en la zona tres con un contenido de materia orgánica mayor a 10 cm, se encontraron las raíces con mayor porcentaje de micorrización con un 36% mientras que en la zona dos se encontró un 30% y en el sitio uno un 34%.

**Cuadro 3.** Longitud de la raíz colonizada, sin colonizar y porcentaje de colonización de la raíz en las 30 muestras colectadas.

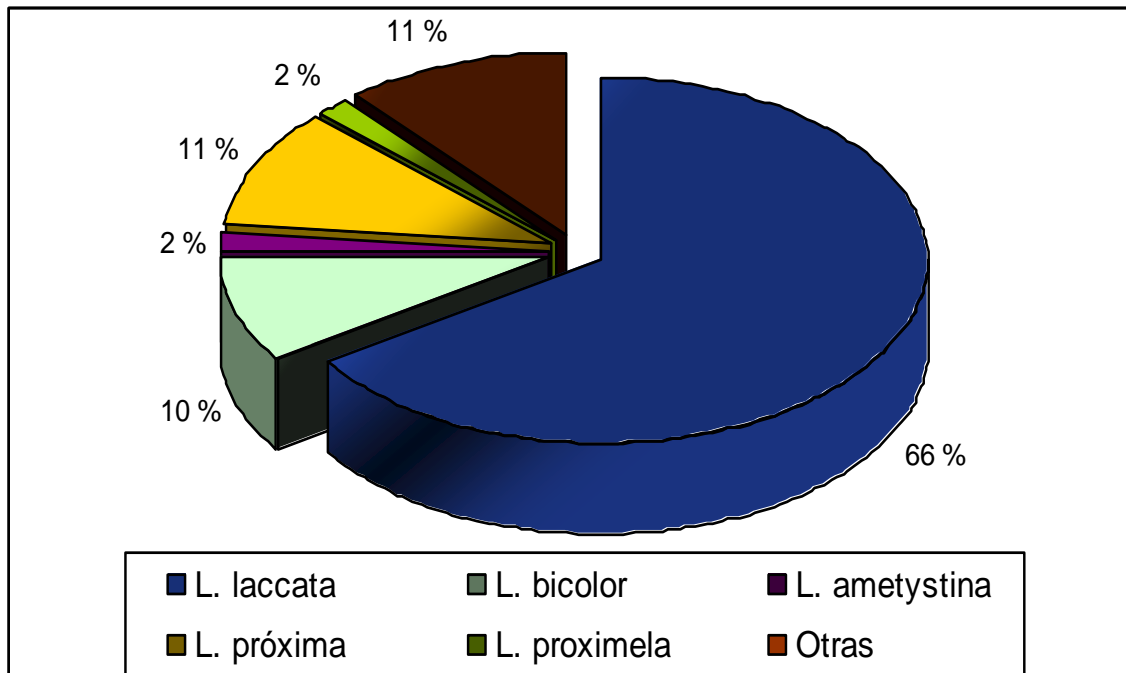
Número De muestra	Zona	Árbol	Muestra	Colonizada cm	Sin colonizer cm	Micorrización %
1	1	1	1	41	63	39
2	1	1	2	18	53	25
3	1	2	1	32	51	39
4	1	2	2	38	57	40
5	1	3	1	41	72	36
6	1	3	2	52	68	43
7	1	4	1	37	56	40
8	1	4	2	43	64	40
9	1	5	1	48	54	47
10	1	5	2	71	66	52
11	2	1	1	28	37	43
12	2	1	2	22	41	35
13	2	2	1	43	56	43
14	2	2	2	40	57	41
15	2	3	1	40	52	43
16	2	3	2	23	43	35
17	2	4	1	11	63	15
18	2	4	2	13	71	15
19	2	5	1	53	42	56
20	2	5	2	25	66	27
21	3	1	1	50	44	53
22	3	1	2	34	26	57

23	3	2	1	48	32	60
24	3	2	2	57	36	61
25	3	3	1	23	54	30
26	3	3	2	22	77	22
27	3	4	1	27	51	35
28	3	4	2	52	41	56
29	3	5	1	24	76	24
30	3	5	2	29	76	28

El resultado del porcentaje de micorrización concuerda con las características propias de los hongos, los cuales son especies que necesitan cierta humedad para que sus hifas se dispersen por el suelo extendiendo una red a modo de sistema radical (Páez et al. 2006; Pérez-Moreno et al. 2004), esta condición proporciona el acolchado de materia orgánica acumulada en el suelo.

#### *Inóculo esporal producido.*

La colecta se realizó durante el mes de julio del 2008, en donde se colectaron un total de 20.324 kg de hongos del género *Laccaria*, entre los que se encontraron diferentes especies de este mismo género. Después de la separación por especies de *Laccaria sp.* se obtuvo la proporción de cada una de las especies encontradas en la colecta. En la gráfica 1 se presentan las proporciones de cada especie los cuales fueron *Laccaria laccata* 66%, *Laccaria bicolor* 10%, *Laccaria próxima* 11%, *Laccaria proximela* 2% y *Laccaria ametistina* 2%, Gráfica 3.



**Gráfica 3.** Proporciones de especies de *Laccaria* encontradas en el mercado de Ozumba en 2008.

Se realizó la separación de los píleos y los estípites de las cinco especies de *Laccaria* encontradas durante la colecta, una vez separados se pesaron, tanto los píleos como los estípites en fresco y después en seco. Se registraron los pesos de los píleos molidos en forma de inóculo para obtener el peso total del producto final. Se obtuvieron los datos de las proporciones en gramos de las especies encontradas, Cuadro 3.

**Cuadro 4.** Obtención del inóculo de especies del género *Laccaria* sp. a partir de esporomas frescos comprados en el mercado de Ozumba, Edo. De México.

	Peso fresco (gr)	Peso seco (gr)	Inoculo (gr)
<b><i>Laccaria laccata</i></b>			
Pileo	11,350.92	825.00	727.26
Estipite	3,596.49	275.96	
<b>Total</b>	<b>14,947.41</b>	<b>1,100.96</b>	
<b><i>Laccaria bicolor</i></b>			
Pileo	1,297.00	79.60	74.09
Estipite	745.40	57.51	
<b>Total</b>	<b>2,042.40</b>	<b>137.11</b>	
<b><i>Laccaria ametystina</i></b>			
Pileo	228.33	17.99	13.23
Estipite	220.11	9.67	
<b>Total</b>	<b>448.44</b>	<b>27.66</b>	
<b><i>Laccaria próxima</i></b>			
Pileo	1,794.33	206.48	155.21
Estipite	709.32	91.00	
<b>Total</b>	<b>2,503.65</b>	<b>297.48</b>	
<b><i>Laccaria proximela</i></b>			
Pileo	205.65	26.91	23.84
Estipite	177.28	18.29	
<b>Total</b>	<b>382.93</b>	<b>45.2</b>	
<b>Total</b>	<b>20,324.83</b>		
Nota: 3,803.09 gr son de otras especies confundidas entre <i>Laccaria</i>			

De los 20.324 kilogramos obtenidos en las colectas en el mercado de Ozumba, solo se obtuvieron 994.78 grs. de inóculo por la gran cantidad de agua que contienen los esporomas. La mayor proporción de hongos encontrados fueron de la especie *Laccaria laccata*.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN.

Dadas las extremas condiciones de humedad y materia orgánica encontradas en la Sierra de Juárez, la escasez de esporomas podría ser indicadora de que no todas las especies ectomicorrícicas asociadas a la raíz de *Pinus jeffreyi* son capaces de formarlos. Se ha descubierto en otros ecosistemas forestales que existen géneros como *Tylospora* o *Tomentella* que colonizan intensamente las raíces pero no forman esporomas y especies como *Tommentella* son formadoras de las ectomicorrizas dominantes en bosques maduros (Lilleskov and Bruns, 2005); este tipo de asociación podría ser la que ocurre en el ecosistema estudiado, aun que se tiene que realizar una mayor cantidad de estudios para verificar esta hipótesis.

Los valores de la riqueza específica como la diversidad, son bajos de acuerdo con las observaciones de las condiciones de las diferentes zonas, esto se puede deber a que son zonas muy conservadas con pocas especies que conforman el bosque y a las condiciones climáticas adversas propias de la zona de Sierra de Juárez, como son los largos periodos de sequía y bajas temperaturas que se presentan, dicha condición está directamente relacionado con el número de especies fúngicas presentes.

La especie de hongo *Astraeus hygrometricus* es considerada ectomicorrícica y se han considerado a muchas especies de gran importancia de éstos géneros por mantener una estrecha relación con el bosque y su mantenimiento ó productividad (Garza *et al.* 2002; Chanona-Gómez, 2007).

Las especies encontradas han sido descritas con anterioridad para Baja California por Ayala (1998); sin embargo para el PNC es primera vez que se citan estas especies.

En cuanto a los morfotipos, los resultados indican que pudieran existir al menos 6 especies ectomicorrícicas diferentes asociadas a *Pinus jeffreyi*, ya que se ha mencionado que cada morfotipo representa una especie de hongo ectomicorrícico asociado (Rodríguez *et al.* 2004). En este sentido se recomienda realizar análisis más profundos relacionados con aspectos de la anatomía, caracterización micromorfológica del manto o caracterización molecular, para poder relacionar directamente los morfotipos existentes con las especies de hongos encontrados en la zona de estudio. Este estudio representa la caracterización inicial de los morfotipos ectomicorrícicos encontrados en *Pinus jeffreyi*.

En los sitios en los que se encontró mayor contenido de materia orgánica hay mayor humedad y en general estos sitios cuentan con un mayor acolchado compuesto por hojarasca y humus. Por las características de los sitios encontrados dentro de la zona tres “mayor contenido de materia orgánica” es mayor el porcentaje de micorrización encontrado, esto se puede dar por que las características en el sitio propician un ambiente idóneo para el desarrollo de las hifas de los hongos. Este tipo de resultados ya han sido mencionados previamente como es el caso de Runion *et al.* (1997) el cual encontró que hay mayor porcentaje de raíces colonizadas por ectomicorrizas en árboles de *Pinus palustris* cuando estos son plantados en lugares con una cantidad adecuada de humedad a diferencia de cuando se encuentran en lugares con poca humedad (Valdez *et al.*, 2006).

Se recomienda realizar más colectas de macromicetos en estudios espacio temporales para conocer más acerca de las especies fúngicas que se encuentran en esta zona, ya que por el tipo de clima presente hay una gran variación de temperatura y humedad año con año.

Se deben realizar trabajos de taxonomía molecular de los morfotipos asociados a *Pinus jeffreyi* para comprobar cuales son las especies de hongos ectomicorrícicos asociadas a esta especie forestal en el Parque Constitución de 1857.

Por la gran importancia de *Pinus jeffreyi* en los bosques de Baja California y por los resultados positivos obtenidos en recientes estudios enfocados en la inoculación de plantas de pino con algunas especies de hongos micorrícicos específicos, se debe dar continuación a este tipo de trabajos que presentan una descripción inicial en esta importante relación simbiótica ya que con la manipulación correcta de ésta se podría lograr el incremento y la sobrevivencia de las plantaciones forestales en el estado.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR-AGUILAR S., PÉREZ-MORENO J., FERRERA-CERRATO R., GRIMALDO-JUÁREZ O., CERVANTES-DÍAZ L. & GONZÁLEZ-MENDOZA D. 2009. Hongos ectomicorrícicos y la tolerancia a la salinidad en plantas. *Rev. chil. hist. nat.*, vol.82, n.1. 163-168 .

AGERER R. & RAMBOLD G. 2004 –2009 [first posted on 2004-06-01; most recent update: 2009-01-26]. DEEMY. An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. [www.deemy.de](http://www.deemy.de) – München, Germany.

ARORA, D. 1986. Mushrooms Demystified. A Comprehensive Guide to the Fleshy Fungi. Second Edition. Ten Speed Press. Berkeley, California. USA. 959 pp.

AYALA, N., OCHOA M. C. 1998. Hongos conocidos de Baja California. Universidad Autónoma de Baja California. México. 161 pp.

BARROETAVERÑA C., RAJCHENBERG M. 2003. Las micorrizas y la producción de plántulas de *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws. en la Patagonia, Argentina. *BOSQUE* 24(1): 17-33.

CARRERA N. A., LÓPEZ R. G. F., 2004. Manejo y evaluación de ectomicorrizas en especies forestales. *Revista Chapingo: Serie ciencias forestales y del ambiente*, año/vol. 10, número 002, 93-98.

CARRILLO S. C. 2000. Tercer Curso Avanzado de Viveros y Producción de Planta Forestal. Técnicas de micorrización en vivero con hongos ectomicorrícicos. Experiencias realizadas en el Centro Nacional de Mejora Forestal “El Serranillo”. Centro Nacional de Mejora Forestal “El Serranillo”, Ministerio de Medio Ambiente. Guadalajara. España.

CASTELLANO, M. A.; MOLINA, R. 1989. Mycorrhizae. *In*: LANDIS, T. D.; TINUS, R. W.; MCDONALD, S. E.; BARNETT, J. P. *The Container Tree Nursey Manual*, Volume 5. *Agric. Handbk.* 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 101-167.

CHANONA-GÓMEZ F., ANDRADE GALLEGOS R. H., CASTELLANOS ALBORES J., SÁNCHEZ J. E., 2007. Macromicetos del Parque Educativo Laguna Bélgica, municipio de Ocozocoautla de espinosa, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, año/vol. 78, no. 002, 368-381.

CHÁVEZ, M. D., PEREIRA, C. G. Y MACHUCA. H. A. 2007. Crecimiento in vitro de cuatro especies de hongos ectomicorrícicos recolectados en plantaciones de *Pinus radiata*. *Agrociencia*, 23(2), 79-84.

CHÁVEZ M. D., PEREIRA C. G., MACHUCA H. A. 2009. Efecto de tipos de inóculos de tres especies fúngicas en la micorrización controlada de plántulas de *Pinus radiata*. *BOSQUE* 30(1): 4-9.

CHEN D. M., ELLUL S., HERDMAN K. & CAIRNEY J. W. G. 2001. Influence of salinity on biomass production by Australian *Pisolithus* spp. Isolates. *Mycorrhiza* 11: 231-236.

COREY L. G. 2007. *Pinus jeffreyi*. In: Fire Effects Information System, [Online]. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory (Producer). Available: <http://www.fs.fed.us/database/feis/>.

CONABIO. 2009. Informe final del proyecto: Estudio monográfico de los gasteromicetos del noroeste de Baja California, México. Provincia Californiana. Por: Ochoa-Morales C., Universidad Autónoma de Baja California. En: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfL106.pdf>

CRUZ-ULLOA B. S. 1999. Micorrización en la conservación de los bosques. *Ciencia Ergo Sum*, Vol. 6. (2), 159-164.

DELGADILLO J. 1998. Florística y Ecología del Norte de Baja California. 2ª Edición. Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, B.C. 407 pp.

DELGADILLO, R. J. 2004. El bosque de coníferas de la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California. Secretaria de Medio Ambiente y recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 160. p.p.

DIXON R. K., RAO M. V. & GARG V.K., 1993. Salt stress affects in vitro growth and in situ symbioses of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 3: 63-68.

FERRERA-CERRATO R. 2001. Simbiosis Micorrizica, Capitulo 2. En: Alarcón, A.; J.J. Almaraz S., R. Ferrera-Cerrato, M.C. A. González-Chávez, M.E. Lara H., M.J. Manjarrez M., R. Quintero L. y S. Santamaría R. Manual: Tecnología de hongos micorrízicos en la producción de especies forestales en vivero. R. Ferrera-Cerrato, A. Alarcón y M.E. Lara H. (eds). Colegio de Postgraduados, Montecillo. SEMARNAT-PRONARE. México. 98.

GARCIA-RODRÍGUEZ J. L., PÉREZ-MORENO J., ALDRETE A., CETINA-ALCALÁ V. M., Y VAQUERA-HUERTA H. 2006. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (pers.) coker et couch en cultivo y en simbiosis con Eucalipto y Pino. Agrociencia. 40: 665-676.

GARZA O. F., GARCÍA J. J., ESTRADA C. E., VILLALÓN M. H. 2002. Macromicetos, Ectomicorrizas y Cultivos de *Pinus culminicola* en Nuevo León. Ciencia UANL, abril-junio, año/vol. V, número 002. Universidad de Nuevo León. Monterrey, México. 204-210.

GOBIERNO DEL ESTADO DE BAJA CALIFORNIA (GBC). 2009. Erosión y Desertificación. En: Diagnóstico Ambiental. Página: <http://www.bajacalifornia.gob.mx/spa/problematika/diagnosticoA.html>.

GONZÁLEZ-OCHOA A., DE LAS HERAS J., TORRES P. AND SÁNCHEZ-GÓMEZ E. 2003. Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two commercial nurseries. Ann. For. Sci. 60 43–48.

HONRUBIA M. 2009. Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. Anales del Jardín Botánico de Madrid, Vol. 66, Núm. 1. 133-144.

JHA B. N. SHARMA G. D. AND SHUKLA A. K. 2008. Effect of Ectomycorrhizal Development on Growth in Pine Seedlings. Journal of Plant Sciences 3 (1): 77-84.

MORENO E. C. 2001. Metodos para medir la biodiversidad. M & T-Manuales y Tesis Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA), Vol. 1. Zaragoza España, 84 pp. En: <http://entomologia.rediris.es/sea/manytes/metodos.pdf>.

LILLESKOV E. A., BRUNS T. D. 2005. Spore dispersal of a resupinate ectomycorrhizal fungus, *Tomentella sublilacina*, via soil food webs. *Mycologia*, 97: 762-769.

PÁEZ O. BERNAZA G. Y ACOSTA M. 2006. Las Micorrizas: Alternativa Ecológica para una Agricultura Sostenible. Página: <http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>.

PERA J., ALVAREZ I.F., PARLADÉ J. 1998. Eficacia del inoculo miceliar de 17 especies de hongos ectomicorrizicos para la micorrizacion controlada de: *Pinus pinaster*, *Pinus radiata* y *Pseudotsuga menziesii*, en contenedor. *Invest. Agr.: Sist. Recur. For.* Vol. 7. 139-153.

Pera J. y Parladé J. 2005. Inoculación controlada con hongos ectomicorrizicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España. *Invest Agrar: Sist Recur For.* Vol 14(3). 419-433.

PEREZ-MORENO, JESÚS Y READ, DAVID J. 2004. Los hongos ectomicorrizicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *INCI*, vol.29, no.5, 239-247.

PERRY J. 1991. The pines of Mexico and Central America. Portland, OR: Timber Press. 231 p.

REDDELL P., FOSTER R.C. & BOWEN G.D. 1986. The effects of sodium chloride on growth and nitrogen fixation in *Casuarina obesa* Miq. *New Phytologist* 102: 397-408.

RODRÍGUEZ BARREAL J. A., DOMÍNGUEZ J. A., SAÍNZ DE OMEÑACA J. A., ZAZO J., REYNA S., GARCÍA S., FOLCH L., PÉREZ BADÍA R., AND GALIANA F., 2004. Producción y plantación de planta inoculada con trufa negra. In: Vallejo V. R. and Alloza J. A., (eds.). *Avances en el estudio de la gestión del monte mediterráneo*. 261-282. Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo- CEAM.

RZEDOWSKI, J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. En: [http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx\\_Cont.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf)

SEMARNAT-CONAFOR. 2009. Programa nacional de protección contra incendios forestales. Resultados 2008. Primera Edición 2009. México. En: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/10/240Programa%20Nacional%20Proteccion%20Incendios%202008.pdf>

SMITH S. E., READ D. J., 1997. Mycorrhizal Symbiosis. San Diego, CA: Academic Press, Inc. 779 pp.

VALDÉS M. ASBJORNSEN H. GÓMEZ-CÁRDENAS M. JUÁREZ M. VOGT K. A. 2006. Drought effects on fine-root and ectomycorrhizal-root biomass in managed *Pinus oaxacana* Mirov stands in Oaxaca, Mexico. Mycorrhiza 16: 117–124.

## VII. ANEXOS

## ANEXO 1.

Artículo publicado:

Revista Chilena de Historia Natural 82: 163-168, 2009

Hongos ectomicorrícicos y la tolerancia a la salinidad en plantas

Ectomycorrhizal fungi and tolerance to salinity in plants

SELENE AGUILAR-AGUILAR<sup>1</sup>, JESÚS PÉREZ-MORENO<sup>2</sup>, RONALD FERRERA-CERRATO<sup>2</sup>,  
ONÉCIMO GRIMALDO-JUÁREZ<sup>1</sup>, LOURDES CERVANTES-DÍAZ<sup>1</sup> & DANIEL GONZÁLEZ-  
MENDOZA<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> **Instituto de Ciencias Agrícolas Universidad Autónoma de Baja California (ICA-UABC) Carretera a Delta s/n, Código Postal 21705, Ejido Nuevo León, Baja California, México.**

<sup>2</sup> **Laboratorio de Microbiología, Edafología-IENAT, Colegio de Postgraduados, km 36,5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, Código Postal 56230, México.**

### RESUMEN

El proceso de salinización de los suelos constituye un problema generalizado a nivel global. En este sentido, los hongos ectomicorrícicos tienen una importante participación en la recuperación de suelos forestales ya que involucran una serie de mecanismos celulares que pueden contribuir a la tolerancia a la salinidad en plantas que habitan los bosques templados o boreales. La participación de los hongos ectomicorrícicos en la tolerancia a la salinidad involucra la regulación homeostática de los iones, la mejora de captación de agua y la inducción de genes específicos en las raíces colonizadas. Los hongos ectomicorrícicos pueden estimular la presencia de osmolitos como la prolina, azúcares y polioles que contribuyen en la protección de las células vegetales. Además, estos organismos inducen la síntesis de enzimas antioxidantes y glutatión que participan en la disminución de especies reactivas de oxígeno. Esta revisión ofrece una descripción de la participación de los hongos ectomicorrícicos en la tolerancia a la salinidad en plantas.

Palabras clave: **salinidad, hongos ectomicorrícicos, tolerancia.**

## ABSTRACT

The process of salinization of the soil is a widespread problem at the global level. In this sense, ectomycorrhizal fungi have an important role in the recovery of forest soil, as it involves a number of cellular mechanisms that may contribute to the salinity tolerance in plants that inhabit temperate and boreal forests. The participation of ectomycorrhizal fungi on the salinity tolerance involves the ion-homeostasis regulation, improving uptake water and inducing specific gene in roots colonized. Likewise ectomycorrhizal fungi can stimulate the presence of osmolytes as proline, sugars and polyols that contribute to the protection of plant cells. Additionally, these organisms stimulate the synthesis of glutathione and antioxidant enzymes involved in the decrease of reactive oxygen species. This review provides an overview of participation of ectomycorrhizal fungi in the salinity tolerance in plants.

Key words: **salinity, ectomycorrhizal fungi, tolerance.**

---

## INTRODUCCIÓN

El proceso de salinización del suelo es uno de los principales factores abióticos que limitan la generación de alimentos, debido a que disminuye la capacidad de producción de los campos agrícolas (Flowe 2004). Diversos estudios han demostrado que casi la mitad de zonas agrícolas bajo riego, principalmente de zonas áridas y semiáridas, son afectadas por la salinización del suelo (Munns 2002, Flower 2004). En plantas, concentraciones excesivas de iones como Na y Cl en las células pueden generar un estrés osmótico, lo cual puede comprometer la homeostasis celular en las plantas, alterando la integridad de la membrana y ocasionando la muerte celular (Zhu 2002. Langenfeld-Heyser 2007). Debido a esto, las plantas han desarrollado a través de su proceso evolutivo una serie de mecanismos externos e internos que involucran diversas adaptaciones anatómicas y morfológicas, así como una compleja red de mecanismos a nivel bioquímico. Entre las estrategias internas que la planta tiene para regular el contenido de iones se puede mencionar: acumulación o exclusión de iones; control de la absorción de los iones por la raíz y su transporte a tejido foliar; compartimentalización en células de la planta; síntesis de solutos compatibles; cambios en la estructura de la membrana e inducción de enzimas antioxidantes y hormonas (Marcum 1999, Bandou et al. 2006). Lo anterior ha permitido clasificar a las plantas en base a la capacidad de crecer en ambientes salinos en glicófitas y halófitas, las primeras se caracterizan por ser altamente sensibles a las variaciones de salinidad; mientras que, por el contrario, las halófitas se caracterizan por ser tolerantes y desarrollarse en ambientes con elevadas concentraciones de sales (e.g., 500 mM de NaCl). En base a lo anteriormente descrito se

puede definir el fenómeno de tolerancia a la salinidad en los organismos vegetales como el proceso evolutivo que confiere a distintas especies de plantas la capacidad de crecer y desarrollarse en ambientes con presencia excesiva de electrolitos (Parida & Das 2005). Las estrategias que la célula vegetal ha desarrollado para mantener el equilibrio homeostático son en general conocidas; no obstante, son pocos los estudios sobre la participación de los hongos ectomicorrícicos (HEM) en la tolerancia a la salinidad en especies de importancia forestal.

Recientemente, los HEM han cobrado interés debido a los programas de reforestación o restauración de suelos mediante el uso de especies forestales, en donde la presencia de HEM es de vital importancia para mantener y estimular la absorción y retención de agua, la fijación de CO<sub>2</sub> y contribuir a la recuperación de ecosistemas forestales (Cha-uma et al. 2003).

#### *La simbiosis HEM y plantas forestales*

Los HEM se caracterizan por ser asociaciones mutualistas obligadas entre hongos y raíces de plantas superiores que han evolucionado a través del tiempo (130-180 millones de años), lo cual ha generado una amplia diversificación de los micobiontes, principalmente en los bosques templados y boreales, en donde alrededor del 95 % de las especies forestales establecen la asociación ectomicorrícica. Los hongos que forman las ectomicorrizas son principalmente Basidiomicetos, aproximadamente unas 5.000 especies, y algunos Ascomicetos que se asocian con unas 3.000 especies diferentes de plantas (García-Rodríguez 2006). El establecimiento de la interacción entre los HEM y las plantas es el resultado de una compleja red de mecanismos a nivel bioquímico que se inicia a través de la germinación de las esporas que producen hifas monocarióticas, las cuales se fusionan y forman el micelio dicariótico que interactúa con el sistema radicular de las plantas. Posteriormente, las hifas se adhieren a la superficie de las raíces formando una estructura conocida como manto fúngico que tiene generalmente un espesor de 20-100  $\mu$ m. En cuanto al intercambio de nutrientes entre ambos organismos se realiza mediante la red de Hartig, que se forma por la penetración de las hifas entre los espacios intercelulares de células epidérmicas en Angiospermas y entre las capas de células corticales en Gimnospermas (Pérez-Moreno & Read 2004), en donde el micelio que está vinculado con la hifa extramatricial tiene la función de explorar el sustrato facilitando la absorción, transporte de nutrientes y agua al tejido radicular de la planta.

#### *Los HEM y la tolerancia a salinidad en plantas*

Estudios realizados in situ e in vitro han observado que la asociación de los hongos ectomicorrícicos y plantas suele disminuir con el incremento de la salinidad en el suelo o en

el medio de crecimiento. No obstante, la tolerancia a la salinidad puede variar entre las especies de los HEM; por ejemplo, se ha observado que géneros como *Pisolithus*, *Lacearí*a y *Suillus* son aparentemente más tolerantes a las sales de sodio que *Thelephora* o *Cenococcum*. Por otra parte, Reddell et al. (1986) y Dixon (1993) observaron que especies de *Frankia* y *Suillus* presentaban procesos de compartimentalización de las sales en vacuolas y en su pared celular, excluyendo a los iones tóxicos de los procesos metabólicos. Por su parte, Chen et al. (2001) observaron en especies de *Pisolithus* (18 aislados) una alta resistencia al NaCl en suelos salinos. Lo cual sugiere la presencia de un eficiente proceso de osmorregulación en el citoplasma, que mantiene una alta actividad metabólica y mantiene los potenciales de agua para evitar el marchitamiento de la planta. Recientemente, en los programas de reforestación de sitios salinos ha cobrado interés el uso de los HEM, lo cual ha motivado investigaciones enfocadas a identificar y aislar cepas de HEM tolerantes a salinidad.

Estudios recientes indican que los HEM pueden tener diferencias en el grado de tolerancia a la salinidad. Por ejemplo, al exponer diferentes cepas de *Paxillus involutus* (Batsch ex Fr.) Fr y *Pisolithus tinctorius* (Mich.: Pers.) Coker & Couch a NaCl (500 mM) se ha observado la presencia de variaciones intraespecíficas en la tolerancia (Matsuda et al. 2006, Langenfeld-Heyser et al. 2007). Por otra parte, se ha observado que plantas de *Picea glauca* (MoenchVoss) y *Pinus banksiana* Lamb, inoculadas con *Hebeloma crustuliniforme* (Bull) Quel. UAMH 5247, *Lacearí*a *bicolor* Maire (Orton) UAMH 8232 y *Suillus tomentosus* (Kauff.) Sing., mostraron un incremento del 100 % en su sobrevivencia al crecer en zonas impactadas por NaCl (Bois et al. 2006). Lo cual ha incrementado el interés en conocer los mecanismos de tolerancia a salinidad que son inducidos por los HEM en las plantas, mediante el empleo de herramientas fisiológicas, bioquímicas y moleculares. Esto con la finalidad de generar estrategias que permitan hacer más eficientes los programas de reforestación de los suelos con elevado contenido de sales.

#### *Mecanismos de exclusión y acumulación en los HEM*

Entre los mecanismos que los HEM presentan para proteger a las plantas del efecto tóxico de los iones se pueden mencionar los de exclusión y compartimentalización. Estos procesos actúan como una primera línea de defensa en donde las estructuras de los HEM funcionan como extensiones de las raíces que retienen los iones principalmente en vacuolas, sin afectar sus funciones metabólicas. Este proceso tiene lugar principalmente en las hifas externas y micelio de los HEM en donde la entrada de iones a la planta es regulada por estas estructuras. El modo de acción de este mecanismo involucra de manera general mantener altas concentraciones de K y baja concentraciones de Na en el citosol en las células del HEM. Lo anterior es posible debido a la expresión y actividad de transportadores de Na y K; así como de bombas de H<sup>+</sup> que regulan el transporte de los iones en las células del HEM

(Corratgé et al. 2007). Esto ha sido recientemente descrito por Langenfeld-Heyser et al. (2007), quienes registraron una disminución en el flujo del Na y un incremento de K a través del xilema en plantas de *Populus canescens* (Ait.) Sm. (pro sp.) inoculadas con *Paxillus involutus*. Por otra parte, Bandou et al. (2006) observaron que al exponer plantas de *Coccoloba uvifera* L., micorrizadas con *Scleroderma bermudense* Coker a diferentes dosis de NaCl, estas presentaron menor presencia a iones en sus raíces reflejándose en un mejor estado fisiológico con respecto a las plantas no micorrizadas.

#### *Mejora en la economía de nutrientes*

Los HEM también contribuyen a disminuir el efecto que tiene la salinidad en la movilidad y absorción de nutrientes, en las raíces de las plantas mediante una mejora en la captación de nutrientes y agua. Esto debido a que la red de hifas facilita la absorción de nutrientes como P y K ya que existe una mayor área de exploración del sustrato (Munn & Mosse 1980, Giri & Mukerji 2004, Tain et al. 2004).

Trabajos realizados por Plamboeck et al. (2007) muestran que la red de hifas participa activamente en el transporte del agua hacia la planta. En este sentido, investigaciones realizadas por Tagu et al. (1996) y Bucking et al. (2002) en plantas de *Eucalyptus globulus* Labill micorrizadas con *Pisolithus tinctorius* muestran la expresión de genes que sintetizan pequeñas proteínas hidrofóbicas, llamadas hidrofobinas, que participan en la agregación de la hifa del HEM. La función principal de estas proteínas no se conoce con exactitud, pero se sabe que evitan la deshidratación del manto hifal y generan una barrera que limita la difusión de elementos como Ca, Mg y K a la raíz micorrizada, contribuyendo a la disminución del estrés salino (Mankel et al. 2002).

No obstante, aun cuando se han demostrado los efectos protectores de los HEM en la disminución de la absorción de sales por la raíz y la mejora en el suministro de nutrientes hacia la planta bajo estrés salino, existe una serie de variables biológicas y ambientales que deben ser consideradas en la selección de cepas de HEM. Entre estos factores se pueden mencionar la especie de planta, la especificidad de la cepa de hongo ectomicorrícico, las condiciones edáficas y el manejo del cultivo.

#### *Presencia de osmoprotectores en los HEM*

Entre las sustancias osmoprotectoras que pueden ser estimuladas en los HEM, se puede mencionar a los polioles, estos se caracterizan por ser formas reducidas de monosacáridos y pueden clasificarse en acíclicos (e.g., manitol) y cíclicos (e.g., pinitol). Los HEM pueden sintetizar y acumular solutos compatibles u osmoprotectores en el citoplasma, para mantener el equilibrio homeostático en el interior de las células del hongo y proteger al

sistema radical colonizado de la planta (Noiraud et al. 2001). Entre las funciones fisiológicas que tienen los polioles se puede mencionar su participación en la osmoprotección de plantas; así como en la disminución de especies reactivas de oxígeno (Parida et al. 2007). Entre los polioles, que han sido evaluados en los HEM, se puede citar al manitol, que ha sido observado principalmente en hongos Basidiomicetos, expuestos a diferentes dosis de salinidad. En donde su función es la de actuar como un soluto compatible contribuyendo a disminuir el estrés salino en las células del HEM y evitar el daño de las raíces colonizadas de las plantas (Bois et al. 2006). Por otra parte, la presencia de otros osmoprotectores como la prolina también ha sido evaluada en los HEM. La prolina es un aminoácido que en condiciones de estrés salino aumenta para actuar como un agente osmótico, protegiendo a las células del estrés salino. Esto debido a que la prolina actúa como un mediador del ajuste osmótico ya que estabiliza a las proteínas y membranas, además de inducir genes relacionados con el estrés salino (Khedr et al. 2003). Lo anterior fue observado en HEM de las especies *Hymenoscyphus* spp., que al ser expuestos a distintas dosis de NaCl se incrementaba el contenido de prolina que contribuía a evitar un déficit de agua en la planta expuesta al estrés salino (Bois et al. 2006).

Asimismo, se ha reportado en plantas micorrizadas de *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst., un incremento de prolina que genera un mejor ajuste osmótico, que contribuye a la funcionalidad del aparato fotosintético de la planta (Alberdi et al. 2007).

Por otra parte, Shi et al. (2002) mencionan que los HEM tienen una posible participación regulando el contenido de azúcares (e.g., trealosa), contribuyendo a la protección de la integridad celular de plantas de *Fagus sylvatica* Linneo al estar expuesta a NaCl debido a que la trealosa actúa como osmoprotector y secuestrador de especies reactivas de oxígeno en las células de las raíces de plantas micorrizadas (Ferreira et al. 2007).

### *Enzimas antioxidantes*

El estrés ocasionado por los iones Na y Cl en las plantas puede generar un déficit en la absorción de agua que afecta las actividades metabólicas de las células, y genera la presencia de especies reactivas de oxígeno como superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (ERO), los cuales pueden ocasionar severos daños a la integridad de la membrana celular a través de procesos de lipoperoxidación; así como afectar la integridad de ácidos nucleicos y proteínas (González-Mendoza & Zapata-Pérez 2008). La presencia de especies reactivas de oxígeno durante el inicio de la simbiosis de HEM y plantas, generalmente son producidas en concentraciones no tóxicas al inicio del proceso de reconocimiento, por lo que sus niveles suelen estar incrementados en las primeras fases de colonización de la raíz por los HEM (Baptista et al. 2007). Lo anterior permite que la simbiosis ectomicorrícica pueda generar una respuesta más rápida en la biosíntesis de *novo*

de enzimas antioxidantes para contrarrestar el efecto negativo generado por el incremento de ERO en plantas cuando está bajo estrés causado por la presencia de NaCl. Lo anterior ha sido reportado por Langenfeld-Heyser et al. (2007), quienes encontraron que plantas de *Populus canescens*, expuestas a NaCl (500 mM) y micorrizadas con *Paxillus involutus* (cepa MAJ), estimularon un incremento mayor en la síntesis de enzimas antioxidantes, principalmente de peroxidasa que esta relacionado con una disminución del peróxido de hidrógeno y una mayor lignificación de las paredes celulares de la raíz. Por otra parte, estudios realizados por Courbot et al. (2004) en *Paxillus involutus*, demostraron la presencia de otros agentes antioxidantes, como el glutatión (molécula rica en tioles) que puede actuar como agente antioxidante, al reaccionar con las especies reactivas de oxígeno y formar glutatión oxidado.

#### *Estudios moleculares en HEM y la tolerancia a salinidad en plantas*

La aplicación de herramientas moleculares y bioquímicas en el estudio de la tolerancia a la salinidad en los HEM es reciente y se ha observado que está constituida de una compleja red de diferentes mecanismos que son regulados por grupos de genes que inducen la síntesis de proteínas con funciones específicas. Lo anterior ha sido discutido por Liang et al. (2007), quienes al evaluar la repuesta de *Boletus* en condiciones de estrés salino mediante el uso de técnicas bioquímicas identificaron diversas proteínas que tienen una función de protección en los HEM. Por otra parte, trabajos realizados por Marjanovic et al. (2005) identificaron la expresión de genes relacionados con acuaporinas (proteínas de canales de agua) en la asociación ectomicorrícica, en donde la expresión de estos genes contribuía a generar un mayor incremento del transporte de agua en la planta y una reducción del impacto negativo de la salinidad. Finalmente, mediante el uso de herramientas bioquímicas y moleculares, es posible evaluar con más detalle los diferentes mecanismos de tolerancia que los hongos ectomicorrícicos han desarrollado para sobrevivir en ambientes con elevadas concentraciones de sales.

## CONCLUSIONES

Los hongos ectomicorrícicos son organismos que proporcionan amplios beneficios a la planta, debido a una compleja red de mecanismos que le confieren la capacidad de suministrar nutrientes y crecer en ambientes salinos. El mejor entendimiento del establecimiento de la simbiosis entre HEM y plantas permitirá establecer procesos biotecnológicos enfocados a la producción y propagación de cepas de HEM y su aplicación en la recuperación de sitios salinos sódicos. La presencia de un mecanismo u otro en la planta colonizada por los HEM no es del todo comprendido, por lo que es necesario realizar futuros estudios que involucren la aplicación de herramientas moleculares y bioquímicas, así como de plantas modelo con el fin

de entender con mayor claridad el modo de acción de los mecanismos de tolerancia que ocurren en la simbiosis ectomicorrícica.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), por los apoyos recibidos en la Convocatoria de Incorporación de Nuevos Profesores de Tiempo Completo.

## LITERATURA CITADA

ALBERDI M, M ÁLVAREZ, E VALENZUELA, R GODO Y, E OLIVARES & M BARRIENTOS (2007) Response to water deficit of *Nothofagus dombeyi* plants inoculated with a specific (*Descolea antártica* Sing) and non-specific (*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch) ectomycorrhizal fungi. *Revista Chilena de Historia Natural* 80: 479-491.

BANDOU E, F LEBAILLY, F MULLER, M DULORMNE, A TORIBIO, J CHABROL, R COURTECUISSSE, C PLENCHETTE, Y PRIN, R DUPONNOIS, M THIAO, S SYLLA, B DREYFUS & AMBA (2006) The ectomycorrhizal fungus *Scleroderma bermudense* alleviates salt stress in seagrape (*Coccoloba uvifera* L.) seedlings. *Mycorrhiza* 16: 559-565.

BAPTISTA P, A MARTINS, MS PAÍS, RM TAVARES & T LINO-NETO (2007) Involvement of reactive oxygen species during early stages of ectomycorrhiza establishment between, *Castanea sativa* and *Pisolithus tinctorius*. *Mycorrhiza* 17: 185-193.

BOIS G, A BERTRAND, Y PICHÉ, MYP FUNG & DP KHASA (2006) Ectomycorrhizal fungi affect the physiological response of *Picea glauca* and *Pinus banksiana* seedlings exposed to a NaCl gradient. *Tree Physiology* 26: 1185-1196.

BUCKING H, AJ KUHN, WH SCHRODER & W HEYSER (2002) The fungal sheath of ectomycorrhizal pine roots an apoplastic barrier for the entry of calcium, magnesium, and potassium into the root cortex? *Journal of Experimental Botany* 53: 1659-1669.

DIXON RK, MV RAO & VK GARG (1993) Salt stress affects in vitro growth and in situ symbioses of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 3: 63-68.

CHA-UMA S, K MOSALEEYANON, K SUPAIBULWATANA & C KIRDMANEE (2004) Physiological responses of Thai neem (*Azadirachta siamensis* Val.) to salt stress for salt-tolerance screening program. *Science Asia* 30: 17-23.

- CHEN DM, S ELLUL, K HERDMAN & JWG CAIRNEY (2001) Influence of salinity on biomass production by Australian *Pisolithus* spp. Isolates. *Mycorrhiza* 11: 231-236.
- CORRATGÉ C, S ZIMMERMANN, R LAMBILLIOTTE, C PLASSARD, R MARMEISSE, J-B THIBAUD, B LACOMBE & H SENTENAC (2007) Molecular and functional characterization of a Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> transporter from the Trk family in the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*. *Journal of Biological Chemistry* 282: 26057-26066.
- COURBOT M, L DIEZ, R RUOTOLO, M CHALOT & P LEROY (2004) Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 7413-7417.
- FERREIRA AS, MR TOTOLA & AC BORGES (2007) Physiological implications of trehalose in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* sp. under thermal stress. *Journal of Thermal Biology* 32: 34-41.
- FLOWERS TJ (2004) Improving crop salt tolerance. *Journal Experimental Botany* 55: 307-319.
- GARCÍA-RODRÍGUEZ JL, J PÉREZ-MORENO, A ALDRETE, VM CETINA-ALCALÁ & H VAQUERA-HUERTA (2006) Characterization of the wild ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch in culture and in symbiosis with eucalypt and pine. *Agrociencia* 40: 665-676.
- GIRI B & K MUKERJI (2004) Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza* 14: 307-312.
- GONZÁLEZ-MENDOZA D & O ZAPATA-PÉREZ (2008) Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 82: 41-49.
- KHEDR AHA, MA ABBAS, AA ABDEL WAHID, WP QUICK & GM ABOGADALLAH (2003) Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress. *Journal of Experimental Botany* 54: 2553-2562.
- LANGENFELD-HEYSER R, J GAO, T DUCIC, TACHD, CF LU, E FRITZ, A GAFUR & A POLLE (2007) *Paxillus involutus* mycorrhiza attenuate NaCl-stress responses in the salt-sensitive hybrid poplar *Populus canescens*. *Mycorrhiza* 17: 121-131.
- LIANG Y, H CHEN, MJ TANG & SH SHEN (2007) Proteome analysis of an ectomycorrhizal fungus *Boletus edulis* under salt shock. *Mycological Research* 111: 939-946.

MANDEL A, K KRAUSE & E KOT (2002) Identification of a hydrophobin gene that is developmentally regulated in the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma terreum*. Applied and Environmental Microbiology 68: 1408-1413.

MARCUM K (1999) Salinity tolerance mechanisms of grasses in the subfamily *Chloridoideae*. Crop Science 39: 1153-1160.

MARJANOVIC Z, N UEHLEIN, R KAHLENHOFF, JJ ZWIAZEK, M WEI6, R HAMPP & U NEHLS (2005) Aquaporins in poplar: what a difference a symbiont makes! Planta 222: 258-268.

MATSUDA Y, F SUGIYAMA, K NAKANISHI & S ITO (2006) Effects of sodium chloride on growth of ectomycorrhizal fungal isolates in culture. Mycoscience 47: 212-217.

MUNN DN & B MOSSE (1980) Mineral nutrition of legume crops. En: Summerfield RJ & AH Bunting (eds) Advances in legume science: 115-125. H.M.S.O., London, United Kingdom.

NOIRAUD N, L MAUROUSSET & R LEMOINE (2001) Transport of polyols in higher plants. Plant Physiology and Biochemistry 39: 717-728.

REDDELL P, RC FOSTER & GD BOWEN (1986) The effects of sodium chloride on growth and nitrogen fixation in *Casuarina obesa* Miq. New Phytologist 102: 397-408.

PARIDA AK, VS DAGAONKAR, MS PHALAK, GV UMALKAR & LP AURANGABADKAR (2007) Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotechnology Reports 1: 1-37.

PARIDA AK & AB DAS (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

PÉREZ-MORENO J & DJ READ (2004) Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. Interciencia 29: 239-247.

PLAMBOECK AH, TE DAWSON, LM EGERTON-WARBURTON, M NORTH, TD BRUNS & JI QUEREJETA (2007) Water transfer via ectomycorrhizal fungal hyphae to conifer seedlings. Mycorrhiza 17: 439-447.

SHI LB, M GUTTENBERGER, I KOTTKE & R HAMPP (2002) The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi. *Mycorrhiza* 12: 303-311.

TAGU D, B NASSE & F MARTIN (1996) Cloning and characterization of hydrophobins-encoding cDNAs from the ectomycorrhizal Basidiomycete *Pisolithus tinctorius*. *Gene* 168: 93-97.

TAIN CY, G FENG LI XL & ZHANG FS (2004) Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Applied Soil Ecology* 26: 143-148.

ZHU JK (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53: 247-273.

ANEXO 2.

Manual publicado por  
CONAFOR

**Caracterización de hongos  
ectomicorrícicos en un  
bosque de *Pinus jeffreyi* y su  
uso potencial como inóculo**

## **Comisión Nacional Forestal**

Gerencia de Desarrollo y Transferencia  
de Tecnología Periférico Pte. #5360

Colonia San Juan de Ocotán

Zapopan, Jalisco C.P. 45019

Tel: 01 800 73 70000 y (33) 37 77

70 17 [www.conafor.gob.mx](http://www.conafor.gob.mx)

[tt@conafor.gob.mx](mailto:tt@conafor.gob.mx)

## **Universidad Autónoma de Baja California**

Instituto de Ciencias Agrícolas

Avenida Álvaro Obregón y

Julián Carrillo Mexicali, Baja

California. [www.uabc.mx](http://www.uabc.mx)

### **Técnico Responsable del proyecto / Onécimo**

Grimaldo Juárez [ogrimaldoj@hotmail.com](mailto:ogrimaldoj@hotmail.com)

**Colaborador /** Selene Aguilar Aguilar

**Colaborador /** Daniel González Mendoza

Este producto es resultado del proyecto “**Efectos de la inoculación con hongos ectomicorrizogenos sobre el desarrollo de *Pinus jeffeyi*, *P. quadrifolia* y *P. coulteri* en un ensayo de vivero de la sierra de Juárez, Baja California**”, financiado a través de Apoyo Directo, que es el mecanismo de financiamiento para la Investigación Aplicada, el Desarrollo Tecnológico, Divulgación y Transferencia de Tecnología, de la Gerencia de Desarrollo y Transferencia de Tecnología de la Comisión Nacional Forestal en su ejercicio 2

# ÍNDICE

<b>Introducción</b>	<b>6</b>	Características físicas del sustrato	<b>21</b>
Objetivo general	8	Clasificación taxonómica de la especie de pino asociado	
Objetivos específicos	8	al HEM	<b>22</b>
Alcances del proyecto	9	Evaluación del porcentaje de colonización en las raíces	<b>22</b>
<b>1 Colecta de esporomas (cuerpo fructífero)</b>	<b>9</b>	Número de morfotipos por raíz	<b>24</b>
Análisis de los esporomas	13	<b>3 Producción de inóculo esporal</b>	<b>25</b>
<b>2 Colecta de raíces micorrizadas de árboles adultos</b>	<b>13</b>	Colecta de esporomas	<b>26</b>
Identificación de la ectomicorriza en raíces	14	Separación de los esporomas.	<b>27</b>
Identificación de los morfotipos	14	Deshidratación	<b>28</b>
Morfología de la asociación-ectomicorriza	15	Molido de los píleos.	<b>29</b>
Longitud	15	Envasado	<b>30</b>
Morfotipo de la micorriza según su ramificación	16	Inoculación de plántulas de <i>Pinus</i>	
Orden del sistema de ramificación	17	<b>4 <i>jeffreyi</i> con inóculo</b>	
Abundancia de micorrizas en la raíz	18	esporal en polvo en condiciones asépticas	<b>31</b>
Diámetro del eje principal	18	<b>5 Tipos de inóculos</b>	<b>34</b>
Presencia y abundancia de rizomorfos	19	<b>Conclusiones</b>	<b>35</b>
Forma de la terminación en la raíz ectomicorrizada	19	<b>Literatura citada</b>	<b>36</b>
Presencia o tipo de estructuras que se generan en la asociación			
ectomicorrícica	20		
Color de las terminaciones	20		
Características del sitio de muestreo	21		
Tipo de sustrato	21		

# Introducción

La palabra “micorriza” se formó a partir del término griego *mycos* (hongo) y del vocablo latín *rhiza* (raíz) y fue acuñada como tal, por primera vez, por Frank en 1885. El hongo coloniza la raicilla y llega a ser parte integrante de ella, desarrollando un filamento micélico (de micelio: conducto extenso compuesto por varias hifas) que a modo de sistema radical y altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir diversos nutrientes, entre los más importantes el nitrógeno y fósforo, además de proveerle una mayor capacidad de absorción y retención de humedad del suelo por medio de las hifas asociadas (Páez *et al.*, 2006; Pérez-Moreno y Read, 2004).

A cambio, el hongo recibe hidratos de carbono (azúcares, almidones, entre otros) que necesita para su alimentación, estos hidratos de carbono provienen de la fotosíntesis de la planta. Así, esta asociación (hongo-raíz) favorece el crecimiento y el desarrollo, tanto de la planta como del hongo (Páez *et al.*, 2006).

Las ectomicorrizas se caracterizan por ser asociaciones mutualistas que han evolucionado a través del tiempo (130-180 millones de años) lo cual ha generado una amplia diversificación de los micobiontes, principalmente en los bosques templados y boreales en donde alrededor del 95 por ciento de las raíces de las especies forestales establecen la asociación ectomicorrícica.

Los hongos que forman las ectomicorrizas son en su gran mayoría

basidiomicetos, aproximadamente 5 mil especies. Los ascomicetos se asocian con unas 3 mil especies de plantas y en menor proporción los zygomycetos (Castellano y Molina, 1989; García-Rodríguez *et al.*, 2006). La asociación de los hongos ectomicorrízicos (ECM) y las plantas es el resultado de una compleja red de mecanismos a nivel bioquímico y se inicia a través de la germinación de la espora, la cual produce hifas monocarióticas que se fusionan y forman el micelio dicariótico, este micelio interactúa con el sistema radicular de las plantas. Posteriormente, las hifas se adhieren a la superficie de las raíces formando una estructura conocida como manto fúngico que tiene generalmente un espesor de 20 a 100  $\mu\text{m}$ .

En las últimas décadas, el uso de micorrizas en el ámbito forestal ha tenido un importante avance. Recientes estudios dirigen su atención en la adaptación de algunas especies de hongos micorrícicos a diferentes condiciones ambientales, para poder ser inoculados en pinos y lograr incrementar la sobrevivencia y la producción en las plantaciones forestales (González-Ochoa *et al.*, 2003). Por lo tanto, la presencia de hongos ectomicorrízicos es un prerrequisito fundamental para un óptimo desarrollo de las especies de “pináceas” (Barroetaveña y Rajchenberg, 2003).

Debido a los beneficios que provee la ectomicorriza a las plantas forestales, se desarrolló el presente manual que plantea los siguientes objetivos.

## Objetivo general

Evaluar la presencia de hongos ectomicorrícicos (HEM) en poblaciones de *Pinus jeffreyi*, de la reserva de Sierra de Juárez (Parque Constitución de 1857).

## Objetivos específicos

- 1.- Evaluar la presencia de esporomas en las poblaciones de *Pinus jeffreyi*, en la reserva del Parque Nacional Constitución de 1857 en la Sierra de Juárez.
- 2.- Identificar la presencia de los morfotipos de ectomicorrizas asociadas al sistema radicular de *Pinus jeffreyi*.
- 3.- Colecta de esporomas de HEM para la producción de un inoculante esporal a partir de especies de HEM identificadas en la reserva de Sierra de Juárez.

## Alcances del proyecto

El presente documento pretende mostrar el proceso de elaboración de inoculantes a partir de esporomas de hongos ectomicorrícicos para emplearse en plántulas de *Pinus jeffreyi* como una alternativa para mejorar su calidad y sobrevivencia en futuras reforestaciones en la Sierra de Juárez, así como un primer acercamiento al tipo de micorrizas que se encuentran presentes en las inmediaciones de la reserva natural del Parque Nacional Constitución de 1857.

## 1 Colecta de esporomas (Cuerpo fructífero)

La colecta de esporomas se realiza durante las mañanas (de 8:00 a 10:00 am) cuando la temperatura es la óptima para la fructificación de los hongos. Los meses más recomendables para las colectas son julio y agosto y dependiendo de las condiciones de humedad del año, es posible encontrar algunos esporomas en los meses de septiembre y octubre y ocasionalmente en mayo.

Los factores que se consideraron para el muestreo fueron: tipo de vegetación, suelo, cubierta de materia orgánica, accesibilidad, perturbación y aspectos to-pográficos. Posteriormente, se delinearon transectos de 100x10 metros para el conteo y colecta de los esporomas. Se recomienda realizar la colecta con precaución para no alterar el sustrato donde se ubiquen las diferentes especies. Las especies encontradas, así como su descripción taxonómica y su simbiosis se describe a continuación.

Clasificación de los esporomas colectados y su identificación taxonómica



### *Suillus sp. Gray*

Himenio compuesto de tubos soldados entre sí, suelen ser de colores claros y brillantes: amarillos, verdes...

La cutícula es de colores variados, sin restos, viscosa y pegajosa, característica que diferencia este género. Abundantes en los bosques, especialmente de coníferas, en el otoño. Los pies son variados, en algunos casos fibrosos o membranosos, con anillos gelatinosos o sin ellos (Arora, 1986).

**HEM: SI**

### *Lycoperdon perlatum Pers.*



De forma más o menos globosa con la parte superior algo puntiaguda provisto de pie, coloración blanquecina de joven, más pardusco con la edad; recubierto de espinas o verrugas piramidales individuales de diversos tamaños. Al madurar se abre un orificio apical por donde salen

las esporas. Comestible de joven mientras la gleba es blanca. De hábitat variado, normalmente en el interior de los bosques, sobre el



mantillo, pero también en zonas herbosas. Es una especie común que aparece formando grupos, a veces cespitosos, de mediados de verano a mediados de otoño (Ayala y Ochoa, 1998; Arora, 1986). **HEM: NO**

### *Laccaria laccata Peck.*

Pileo convexo con una ligera depresión central, margen ondulado. Láminas cerosas, gruesas, adheridas. Estípite fibroso, estriado. Esporas subglobosas a globosas, ligeramente ornamentadas, hialinas.

Habita en bosque de *Quercus* o mixto (Ayala y Ochoa, 1998).

**HEM: SI**

### *Geastrum floriforme Vittad.*

Basidiocarpos pequeños, gregarios, de nueve a 17 milímetros de ancho cuando están cerrados, subglobosos a globoso deprimidos, algunas veces con el ápice en punta. Exoperidio higroscópico con ocho a diez (rara vez de siete a 11) rayos enrollados sobre el endoperidio cuando secos, con las puntas hacia arriba cuando húmedos, la capa externa del exoperidio blanco-grisácea, capa interna pardo-grisácea a grisácea. Endoperidio sésil, delgado, subgloboso con un pedistoma poco levantado, fibroso irregularmente, concolor con el peridio. Columela pequeña, pardo a blanco-grisácea. Gleba café-ocre. En suelo arenoso, en chaparral con chamizo y matorral costero (Ayala y Ochoa, 1998).

**HEM: NO**





***Mycenastrum corium* Guers.**

Carpóforo globoso sin base estéril. Peridio grueso de dos capas. Gleba polvorienta olivácea. Dehiscencia esteliforme. Esporas globosas a subglobosas, verrugosa de apariencia reticulada. Capilicio espinoso fragmentado ramificado. Habita en suelos arenosos a los bordes de caminos, márgenes de arroyos, en pastizales, matorral costero y bosque de encino, a fines de invierno y primavera (Ayala y Ochoa, 1998).

**HEM: NO**



***Astraeus hygrometricus* Pers.**

Basidiocarpo sésil en forma de estrella. Exoperidio grueso de consistencia cartilaginosa. Gleba polvorienta. Esporas globosas, grandes y ornamentadas. Capilicio ramificado con paredes gruesas, septado con abundantes fibulas. Habita en pastizales subáridos, matorrales áridos, bosque de *Quercus*, *Platanus* y *Pinus*, en todo el año; desde el nivel del mar hasta los 2 400 metros (Ayala y Ochoa, 1998; Arora, 1986).

**HEM: NO**

**Nota:**

Los esporomas del género *Suillus* no se identificaron hasta el nivel de especie, debido a que el estado de madurez que presentaban a la hora de la colecta no permitió la identificación de sus estructuras microscópicas en el laboratorio.

**Análisis de los esporomas**

Los esporomas recién recolectados se enjuagan con agua destilada y estéril. Luego se desinfectan externamente con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 por ciento por un minuto. Posteriormente son lavados con agua destilada y estéril para eliminar el desinfectante. Una muestra de las especies colectada es caracterizada y herborizada siguiendo las técnicas de Cifuentes *et al.* (1986). La identificación taxonómica se obtiene a través de la caracterización de las estructuras microscópicas y macroscópicas.

**2 Colecta de raíces micorrizadas de árboles adultos**

En los sitios donde se encuentran los esporomas de los HEM, se colectan muestras de las raíces de los árboles presentes. Para esto se seleccionan al azar cuatro árboles de *Pinus*, ubicando en cada uno de ellos el punto de goteo en relación a los límites de la copa del árbol. Una vez ubicado este punto, se realiza una excavación en un cuadrante de un metro cuadrado, 88cm con 20 centímetros de profundidad, en el cual se extraen las muestras de raíces de *Pinus*. Finalmente, todas las muestras son etiquetadas indicando el número de árbol, número de muestra y la fecha de colecta. Las raíces colectadas se lavan con agua destilada y estéril y se conservan en una solución de alcohol-formol-ácido acético (en proporción 1:1:1) para su preservación y observación posterior al microscopio estereoscópico con la finalidad de identificar las estructuras ectomicorrícicas ó morfotipos presentes (Garza *et al.*, 2002). El promedio de la edad en los árboles de *Pinus jeffreyi* muestreados es entre 80 y 100 años, esto debido a que la zona muestreada se encuentra dentro de una reserva y los árboles dentro de ella son en su mayoría longevos.

## Identificación de la ectomicorriza en raíces

La identificación de la asociación de las raíces con los HEM se realizó seleccionando raicillas secundarias, las cuales son recolectadas usando pinzas de disección de punta fina y colocándolas en una caja de Petri previamente dividida en cuadrículas de un centímetro cuadrado. Posteriormente, las estructuras ectomicorrícicas fueron identificadas bajo el estereoscopio usando las lentes de aumento de 20X y 40X. Las estructuras se aprecian como un cambio en el desarrollo radicular, “deformación”, del sistema radicular, en donde cada tipo de HEM presenta una “deformación” característica. En la figura 1, se muestran los morfotipos que se encuentran en *Pinus jeffreyi* en la zona de la Sierra de Juárez.



Figura 1. Morfotipos de ectomicorrizas observadas en *Pinus jeffreyi*.

## Identificación de los morfotipos

Para la identificación de morfotipos ectomicorrícicos, se emplean claves establecidas para tal fin, en este caso se utilizaron las publicadas en el sistema de Información para la caracterización y determinación de ectomicorrizas DEEMY (Agerer y Rambold, 2004–2009).

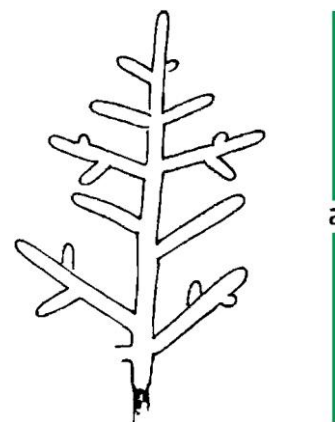
A continuación se presentan las principales características para describir los morfotipos de HEM encontradas en asociación con las especies forestales de la Sierra de Juárez.

## Morfología de la asociación-ectomicorriza

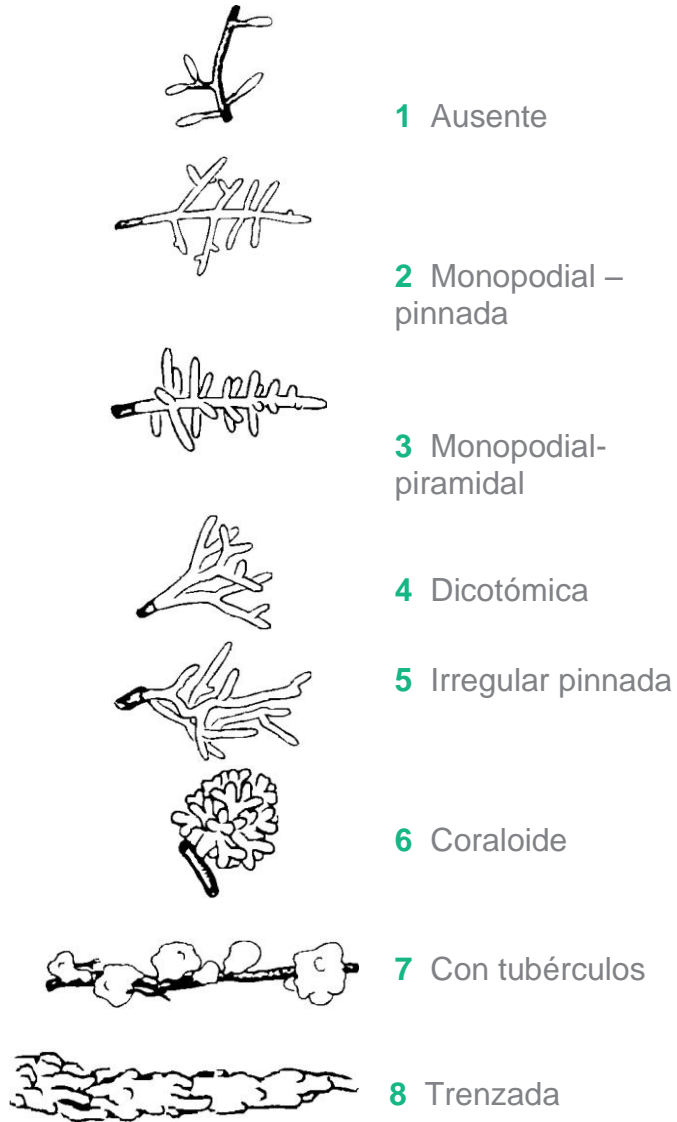
### Longitud

La longitud de un sistema de micorrizas es considerada como la longitud de la última rama (ápice del eje principal) al punto donde se encuentran las partes más viejas donde el manto todavía es reconocible. Si los mantos están muy delgados, es difícil determinar esta medición. El rango de valores debe determinarse, ej. 5–25 (50) milímetros; el valor en paréntesis simboliza una dimensión excepcional.

Ejemplo:

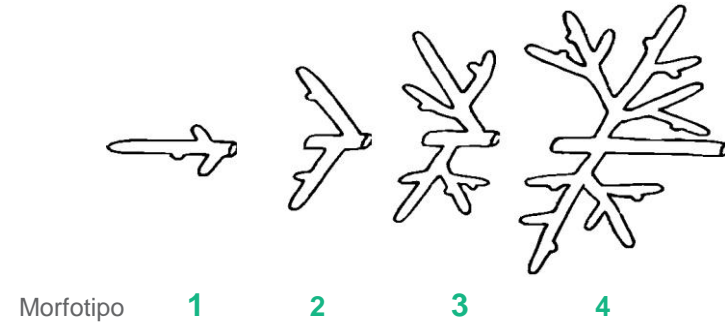


## Morfotipo de la micorriza según su ramificación



## Orden del sistema de ramificación

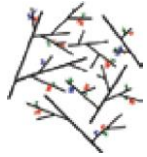
En algunos casos se pueden encontrar secciones sin ramificación (morfotipo 1) y posteriormente ramificarse una (morfotipo 2), dos (morfotipo 3) y tres veces más (morfotipo 4).



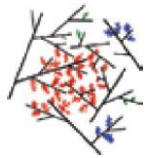
El registro de información de la ramificación se realiza de la siguiente manera: 0–1 (sin ramificación, una ramificación a cada lado), 0–2 (doble o más ramificaciones a los lados). El '0' siempre debe agregarse, ya que representa el principio de un sistema en vías de desarrollo.

## Abundancia de micorrizas en la raíz

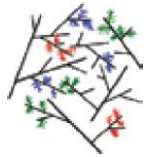
Se determina al observar la abundancia y niveles de diferenciación como se muestra en las siguientes figuras.



1 Solitarias o en baja frecuencia



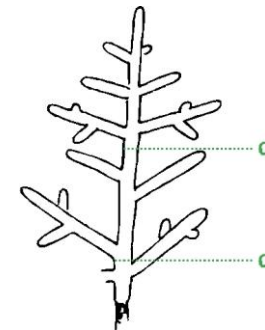
2 En forma de nido, hifas esteriles



3 Abundante , denso

## Diámetro del eje principal

Para medir el diámetro se obtiene el promedio de dos mediciones del eje principal, realizadas en la zona intermedia de la raíz colonizada, como se muestra en la figura, sin embargo en sistemas coraloides no es común encontrar diferencia entre el diámetro de extremos sin ramificación.



## Presencia y abundancia de rizomorfos

Estas estructuras pueden formarse como estructuras robustas, cortas y cónicas que consisten en hifas densamente aglutinadas y se originan principalmente en ángulos muy inclinados y puntos restringidos del manto formando una estructura similar a la pierna de un insecto. Los términos 'frecuente' y 'poco frecuente' están determinados a criterio personal. Si hay alguna dificultad para decidir si 'frecuente o poco frecuente' debe usarse, en ambos.

1	Ausente
2	Presente
3	Poco frecuente
4	Abundante

## Forma de la terminación en la raíz ectomicorrizada.

-  Directa o recta
-  Inclineda
-  Sinuosa
-  Tortuosa
-  Estrechado entre las partes más viejas y más jóvenes
-  Adornado con cuentas.

## Presencia o tipo de estructuras que se generan en la asociación ectomicorrícica.

Considerando que los rizomorfos son fácilmente inapreciables o confusos, hay dificultades para distinguirlos. Como regla general, los cystidia son caracterizados por una longitud corta y se encuentran particularmente cuando es muy densa una zona aterciopelada de vellos extendidos alrededor del manto. Las hifas a menudo se encuentran emanando y cystidia en el contorno.



Ausente

Rizomorfos

Hifa emanando

Cystidia

Figura 2. Tipo de estructuras en las asociaciones ectomicorrícicas.

## Color de las terminaciones.

La coloración se determina observando las ectomicorrizas en un estereoscopio. Puede haber algunas combinaciones en descripciones de color como castaño rojizo, verde azulado o verde amarillento. Los códigos deben traducirse en colores básicos como los que se muestran a continuación.

<b>1</b>	Negro	<b>11</b>	Lila, rojizo azul
<b>2</b>	Castaño oscuro	<b>12</b>	Violeta, rojizo azul oscuro
<b>3</b>	Castaño	<b>13</b>	Azulado
<b>4</b>	Parduzco	<b>14</b>	Azul
<b>5</b>	Ocre, castaño amarillento,	<b>15</b>	Verdoso
<b>6</b>	Amarillo	<b>16</b>	Verde
<b>7</b>	Amarillento	<b>17</b>	Grisáceo
<b>8</b>	Naranja	<b>18</b>	Gris
<b>9</b>	Rojizo	<b>19</b>	Blanco
<b>10</b>	Rojo	<b>20</b>	Blanquecino

## Características del sitio de muestreo

### Tipo de sustrato

Se describen las características o tipo de sustrato donde fueron colectadas las raíces que se analizaron. Los principales sustratos donde son encontrados los hongos ectomicorrícicos son los que se mencionan a continuación.

<b>1</b>	Capa orgánica
<b>2</b>	Horizonte mineral orgánicamente enriquecido
<b>3</b>	Tierra mineral
<b>4</b>	En rocas
<b>5</b>	En turba
<b>6</b>	Debajo de musgos
7	Sustrato artificial
8	Madera dereroriándose
9	Alrededores de excremento de mamífero

### Características físicas del sustrato

Se determina el pH, textura, porosidad, estructura, contenido de materia orgánica y contenido de algunos minerales como el nitrógeno, fósforo y potasio del suelo o capa de sustrato en la que se encuentren las raíces muestreadas para tener referencia de las condiciones en las que se desarrollan los hongos ectomicorrícicos asociados a la especie de pino que se esté estudiando.

## Clasificación taxonómica de la especie de pino asociado al HEM

Otra característica que se debe observar es el grupo taxonómico al que pertenece el pino asociado a la ectomicorriza que se quiere identificar. La característica más importante es el número de hojas aciculares. En el caso de la Sierra de Juárez, las especies de pinos que se encuentran ahí pertenecen al grupo 2, al menos las dos especies más importantes en estos bosques: *Pinus jeffreyi* y *P. coulteri*.

Grupo	Número de hojas aciculares
1	Pino de dos hojas aciculares
2	Pino de tres hojas aciculares
3	Pino de cinco hojas aciculares

## Evaluación del porcentaje de colonización en las raíces

Para realizar el conteo de las raíces colonizadas y obtener el porcentaje de micorrización mediante el método de intersección de cuadrantes, se corta la raíz en segmentos y se colocan en una caja de Petri, con cuadrícula de un centímetro cuadrado. Posteriormente, se realiza la observación al microscopio estereoscópico, se examinan las raíces, evaluando las intersecciones en un sentido vertical y horizontal. Finalmente, se observa toda la longitud de la raíz y se cuantifica la presencia de estructuras ectomicorrícicas (Figura 3) (Ferrera-Cerrato, 2001; Carrillo., 2000; Garza *et al.*, 2002).



Figura 3. Cuantificación de la longitud radical.

Para calcular el porcentaje de raíz colonizada, se cuentan las raíces observadas, separando las colonizadas y sin colonizar. El conteo se realiza en cada centímetro cuadrado, siguiendo la metodología antes descrita. Posteriormente con los datos obtenidos se realiza el cálculo de la longitud radical colonizada para obtener el porcentaje de micorrización, de acuerdo a la siguiente formula:

$\% \text{ Micorrización} = \frac{\text{Longitud colonizada}}{\text{Longitud total}}$	<p><b>Ejemplo:</b>            % Micorrización =            (15/35) X 100            Micorrización = 42            %            Longitud            radical total            = 35 Raíz            colonizada =            15</p>
---	---

Los resultados obtenidos se pueden presentar en un cuadro para su mejor inter-pretación, ver ejemplo (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cuantificación del porcentaje de micorrización de acuerdo al método de intersección De cuadrantes (datos obtenidos de las raíces muestreadas en la Sierra de Juárez).

Sitio	Raíces Colonizadas (centímetro)	Raíces sin colonizar (centímetro)	Longitud radical total (centímetro)	Micorrización %
1	10	30	40	25.0
2	38	29	67	56.7
3	16	21	37	43.2
4	6	11	17	35.2
5	43	37	80	47.7
6	39	32	71	54.9
7	24	19	43	72.7
8	47	30	77	61.0
9	25	17	42	59.5

## Número de morfotipos por raíz

Otro parámetro de interés en la identificación de las estructuras es la de evaluar los morfotipos para visualizar la diversidad de los hongos ectomicorrícicos en la raíz. Para realizar la identificación de los morfotipos se realiza de acuerdo a la metodología previamente descrita. Finalmente, siguiendo este método, se reportan los diferentes morfotipos (estructuras ectomicorrícicas) presentes en cada sitio de estudio (Tabla 2).

Sitio	Morfotipo	Numero
1	Dicotómica	2
	Irregular pinnada	5
2	Dicotómica	18
	Irregular pinnada	1
3	Dicotómica	7
	Irregular pinnada	2
	Digitiforme	2
4	Dicotómica	9
	Irregular pinnada	3
5	Dicotómica	31
6	Dicotómica	52
	Coraloide	3
7	Dicotómica	2
8	Irregular pinnada	2
	Dicotómica	41
	Coraloide	3

**Tabla 2.** Numero de morfotipos encontrados en *Pinus jeffreyi* por sitio muestreado.

## 3 Producción de inóculo esporal

Para la elaboración del inóculo esporal es necesario tener plenamente identificada la especie de HEM asociada a la especie de pino que se quiere inocular. La problemática existente para la producción de inóculo en el norte del país, es la corta temporada de lluvias y la sequía que predomina en la mayor parte del año, lo cual reduce de manera significativa la presencia de esporomas del hongo y por tanto son insuficientes para la producción de inóculo esporal. Ante esta situación, se tiene la opción de obtener esporomas frescos de otros estados de la República, donde las temporadas de lluvias son más favorables y la fructificación es más abundante.

Se debe tomar la precaución de adquirir o coleccionar los hongos asociados a las especies de pinos que se requiera inocular, ya que de lo contrario al no estar asociados el proceso de inoculación será inútil. Otros de los aspectos que se deben tener en cuenta es el estado de los hongos al ser deshidratados, estos deben estar frescos y sin presentar características de descomposición o pudrición. La conservación de los esporomas depende de cada especie ya que existen algunas especies que sólo se pueden conservar en buen estado 24 horas después de colectadas o algunos otros como los *Boletus* que se pueden conservar en buen estado un promedio de 48 horas, por lo anterior se debe programar la deshidratación de los esporomas a más tardar 24 horas después de la adquisición de éstos. Una vez deshidratados los cuerpos fructíferos se pueden moler y conservar en frascos oscuros y totalmente herméticos durante uno o dos años sin que las esporas sufran algún daño.

Este tipo de inóculo se aplica en seco (dos gramos de inóculo por planta), esto le da la ventaja de poder ser almacenado durante varios meses, a diferencia del inóculo líquido el cual se puede almacenar en refrigeración en buen estado sólo por tres semanas.

La preparación del inóculo esporal en polvo consta de las siguientes etapas:

## Colecta de esporomas

La primera etapa para la producción de inóculo es la adquisición o colecta de esporomas de los hongos ectomicorrícicos identificados en asociación con la especie de pino que se requiere inocular. Para el caso de Baja California, específicamente en la Sierra de Juárez, lugar donde se desarrolló parte del presente manual, la producción de esporomas de los hongos en los años de 2007 y 2008 fue muy escasa, debido en parte a la escasez de lluvias de años anteriores y a las condiciones específicas del bosque en esta zona. Resultado de lo anterior: no fue posible producir el inóculo suficiente para realizar la inoculación de plantas de *Pinus Jeffreyi*, principal especie de interés forestal en la Sierra de Juárez. No obstante, con la identificación de la especie *Laccaria laccata* en el área mencionada, se realizó la colecta de esporomas de este hongo, en otras zonas del país donde se tiene registro de la presencia de esta especie (Figura 4). Lo cual permitió obtener la cantidad requerida de esporomas para la producción del inóculo.



Figura 4. Colecta de esporomas en un mercado regional de Ozumba, estado de México.

## Separación de los esporomas.

Una vez obtenida la cantidad adecuada de esporomas, es necesario separar los píleos de los estípites de los esporomas, debido a que sólo se utilizarán los píleos que son los que contienen las esporas. El material necesario para la separación depende de la especie, si se trata de hongos con estípite delgado y fibroso se pueden utilizar unas tijeras afiladas, en caso de que se trabaje con especies de hongos con estípite grueso y carnoso se recomienda usar navaja. En este paso se debe tener cuidado de no maltratar el píleo para evitar la caída de esporas.



## Deshidratación

Posteriormente a la separación de los píleos y los estípites, se procede a la deshidratación del material fúngico en un deshidratador de tipo charolas, en el que se debe programar una máxima temperatura de 30 grados centígrados para evitar que las esporas se dañen, las temperaturas óptimas para la deshidratación deben oscilar entre 26 y 28 grados centígrados. El tiempo que se deben dejar los esporomas en el deshidratador depende de cada especie debido a la diferencia en la cantidad de agua. Los esporomas deben ser revisados y extraídos del horno cuando estén totalmente deshidratados y tengan una consistencia crujiente.



**Figura 5.** Deshidratación de hongos en un deshidratador de frutas tipo charolas.

Ya deshidratados los píleos se colocan en bolsas de plástico selladas para evitar que absorban nuevamente humedad. Las bolsas deben ser etiquetadas debidamente con el nombre de la especie y la fecha de deshidratación.

## Molido de los píleos.

La etapa final de la producción del inóculo es el molido de los píleos para lo cual se requiere de un molino de granos para procesar muestras secas (existen varios modelos en el mercado), otra opción para moler los píleos es utilizar una licuadora aunque esta opción es menos recomendable ya que algunas esporas son dañadas al realizar la molienda. Durante este proceso es necesario protegerse totalmente de la respiración de esporas, ya que estas estructuras son microscópicas y pueden entrar fácilmente a los pulmones y causar daños.



**Figura 6.** Molienda de píleos secos en molino.

## Envasado

Una vez que se obtiene el inóculo, éste debe ser conservado en frascos totalmente herméticos y secos para impedir la entrada o presencia de humedad y en refrigeración a cuatro grados centígrados en completa oscuridad para evitar la activación de las esporas.

Los frascos deben ser etiquetados con los datos de la procedencia de los hongos, fecha de recolección y almacenamiento, así como información taxonómica de la especie del hongo.



**Figura 7.** Inóculo esporal conservado en frascos de plástico con etiqueta de identificación.

## 4 Inoculación de plántulas de *Pinus jeffreyi* con inóculo esporal en polvo en condiciones asépticas

El inóculo producido se puede emplear en plántulas de las especies de pinos relacionadas con los hongos ectomicorrícicos identificados. El proceso de la inoculación es el siguiente:

1) Verificar que la planta a inocular esté libre de patógenos, para lo cual se recomienda, primero desinfectar la semilla en una solución de hipoclorito al dos por ciento sumergiéndolas en la solución durante 10 minutos, después enjuagar tres veces con agua corriente. Posteriormente, la semilla se escarifica sumergiendo en agua estéril tibia por 24 horas.



**Figura 8.** Germinación de semillas (*Pinus jeffreyi*) después de siete días.

2) Una vez terminada la escarificación, la semilla húmeda se pone en refrigeración a temperaturas de cuatro grados centígrados durante cinco días. Esto último tiene el propósito de activar el proceso de germinación de la semilla. Después de este periodo la semilla es colocada en charolas o cajas de Petri a luz indirecta o en una cámara de germinación a una temperatura promedio de 25 grados centígrados. Las charolas o cajas de Petri deben contener en su base un sustrato (papel filtro o toallas de papel) húmedo con agua estéril, de esta manera se suministrará la humedad requerida durante la germinación, la cual requiere un periodo de entre siete y 15 días.

3) Posteriormente, y antes del trasplante de las plantas a los contenedores forestales tipo tubetes con sustrato esterilizado, se deposita el inóculo (aproximadamente 10 mil esporas) a una profundidad de cinco centímetros del sustrato (Figura 9a). En este caso la cantidad de esporas requeridas se obtuvo con dos gramos del inóculo. Dos meses después del trasplante de las plantas, se realizará una segunda inoculación con igual cantidad de inóculo que en la primera ocasión, para compensar la pérdida por lixiviación de las esporas por el riego (Figura 9b).

En caso de que las plántulas presenten alguna infección por hongos fitopatógenos, es recomendable aplicar fungicidas como: Benomil (Promil)® y Carbendazim®, los cuales están reportados como no dañinos en el desarrollo del hongo ectomicorrízico, en especial el Benomil® que es el más adecuado cuando se está trabajando con planta inoculada.

Para más información técnica de estos productos consulte de la página 38 a 4



Figura 9. Proceso de inoculación de HEM en vivero.

(A) Inoculación antes del trasplante y

(B) inoculación a los dos meses de establecimiento de las plántulas.

Finalmente se recomienda que la planta micorrizada se lleve al campo cuando cumpla un año de permanecer en los contenedores y al inicio de la época de lluvias.

## 5 Tipos de inóculos

Las tres principales fuentes para la ectomicorrización e inoculación con micorizas del tipo vesícula arbuscular (en los viveros que producen planta forestal en contenedor) son el propio suelo del bosque, las esporas y los micelios vegetativos. Cada uno tiene sus ventajas y desventajas, dependiendo de los objetivos y del costo del programa de inoculación (Castellano y Molina 1989). En el Cuadro 3 se presentan las ventajas y desventajas de los principales inóculos.

Tipo de inóculo	Ventajas	Desventajas
Inóculo de suelo	Bajo costo y fácil de obtener Fácil tratamiento de secado al sol	Se requiere gran cantidad de suelo. Alto riesgo de introducción de patógenos y malezas La concentración de esporas podría ser baja Alto impacto ecológico para la zona de recolección
Inóculo esporal	Medio muy eficiente para inocular gran cantidad de plantas en vivero No requiere equipamientos y procedimientos especializados	La colecta de esporomas puede ser muy complicada Puede ser poco efectiva si se dañan las esporas en el proceso de elaboración Riesgo de contaminación por patógenos
Inóculo esporal en polvo	Largo periodo de almacenamiento en total ausencia de humedad y luz	Suministros y equipos costosos para deshidratación y molido de los esporomas
Inóculo esporal en solución	Rapidez de elaboración No requiere equipos especializados	Poca duración en almacenamiento
Inóculo miceliar	Producción de inóculos puros de hongos seleccionados	Suministros y equipos costosos Personal altamente entrenado

## Conclusiones

La presencia o fructificación de hongos ectomicorrícicos asociados a los pinos, representa una oportunidad para su identificación y producción de inóculo para emplearse en el establecimiento de nuevas plantaciones. Hay especies de hongos ectomicorrícicos identificados en las regiones del país donde la fructificación de hongos no es la suficiente para la producción de inóculo. Para el caso de Baja California, específicamente en la Sierra de Juárez, lugar donde se desarrolló parte del presente manual, la producción de esporomas de los hongos en los años de 2007 y 2008 fue muy escasa, debido en parte a la escasez de lluvias de años anteriores y a las condiciones específicas del bosque en esta zona. Resultado de lo anterior: no fue posible producir el inóculo suficiente para realizar la inoculación de plantas de *Pinus jeffreyi*, principal especie de interés forestal en la Sierra de Juárez. No obstante, con la identificación de la especie *Laccaria laccata* en el área mencionada, se procedió a la colecta de la biomasa de este hongo en otras zonas en donde se tiene registro de la presencia de esta especie. Lo cual permitió obtener la cantidad requerida de esporomas para la producción del inóculo.

Por otra parte, para la obtención del inóculo, es necesario disponer de equipos como deshidratador (horno deshidratador de frutas tipo charolas o deshidratador solar de alimentos de CONAFOR), molino para procesar muestras secas y refrigerador, con el propósito de obtener y mantener las esporas viables por varios meses. En el proceso de inoculación, es importante manejar recipientes, sustrato y semilla desinfectada, para no afectar el establecimiento inicial del HEM.

Se recomienda realizar al menos dos aplicaciones del inoculante a las plantas durante la fase de vivero. La primera se debe realizar una semana antes de la plantación en los contenedores y la segunda dos meses después para garantizar el establecimiento de colonización del HEM a la planta de pino.

## Literatura citada

ARORA, D. 1986. Mushrooms Demystified. A Comprehensive Guide to the Fleshy Fungi. Second Edition. Ten Speed Press. Berkeley, California. USA. 959 pp.

AGERER, R; RAMBOLD, G: (2004-2007) DEEMY - An information system for determination and characterisation of ectomycorrhizae. - www.deemy.de. München, Germany, (2007).

AYALA, N; OCHOA M. C., (1998). Hongos conocidos de Baja California. Universidad Autónoma de Baja California. B.C. México. 161pp.

BARROETAVERÑA C., RAJCHENBERG M. 2003. Las micorrizas y la producción de plántulas de *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws. en la Patagonia, Argentina. BOSQUE 24(1): 17-33.

CARRILLO S. C. 2000. Tercer Curso Avanzado de Viveros y Producción de Planta Forestal. Técnicas de micorrización en vivero con hongos ectomicorrícicos. Experiencias realizadas en el Centro Nacional de Mejora Forestal "El Serranillo". Centro Nacional de Mejora Forestal "El Serranillo", Ministerio de Medio Ambiente. Guadalajara. España.

CASTELLANO, M. A.; MOLINA, R. 1989. Mycorrhizae. In: LANDIS, T. D.; TINUS, R. W.; MCDONALD, S. E.; BARNETT, J. P. The Container Tree Nursery Manual, Volume 5. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 101-167. BARROETAVERÑA C., RAJCHENBERG M. 2003. Las micorrizas y la producción de plántulas de *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws. en la Patagonia, Argentina. BOSQUE 24(1): 17-33.

CIFUENTES, B. J., VILLEGAS-RÍOS Y L. PÉREZ-RAMÍREZ. 1986. Hongos. In Manual de Herbario: administración y manejo de colección. Técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos, A. Lot, F. Chiang (eds.) Consejo Nacional de la Flora México A. C., México, D. F. p. 55-64.

FERRERA-CERRATO R. 2001. Simbiosis Micorrizica, Capitulo 2. En: Alarcón, A.; J.J. Almaraz S., R. Ferrera-Cerrato, M.C.A. González-Chávez, M.E. Lara H., M.J. Manjarrez M., R. Quintero L. y S. Santamaría R. Manual: Tecnología de hongos micorrícicos en la producción de especies forestales en vivero. R. Ferrera-Cerrato, A. Alarcón y M.E. Lara H. (eds). Colegio de Postgraduados, Montecillo. SEMARNAT-PRONARE. México. 98 p.

GARCÍA-RODRÍGUEZ J. L., PÉREZ-MORENO, J., ALDRETE, A., CETINA-ALCALÁ, V., VAQUERA-HUERTA H. 2006. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrícico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Cooke et Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. Agrociencia 40:665-676.

GARZA O. F., GARCÍA J. J., ESTRADA C. E., VILLALÓN M. H. 2002. Macromicetos, Ectomicorrizas y Cultivos de *Pinus culminicola* en Nuevo León. Ciencia UANL, abril-junio, año/vol. V, número 002. Universidad de Nuevo León. Monterrey, México. 204-210 pp.

GONZÁLEZ-OCHOA A., DE LAS HERAS J., TORRES P. AND SÁNCHEZ-GÓMEZ E. 2003. Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two commercial nurseries. Ann. For. Sci. 60 43-48.

PÁEZ O., BERNAZA G., Y ACOSTA M. 2006. Las Micorrizas: Alternativa Ecológica para una Agricultura Sostenible. Página: <http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>.

PEREZ-MORENO, JESÚS Y READ, DAVID J. 2004. Los hongos ectomicorrícicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. INCI, vol.29, no.5, p.239-247.

## BENOMILO

### AGRICOLA

APLICACION AL FOLLAJE EN LOS CULTIVOS DE:

Presentación	Equivalente g l.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
POLVO HUMECTABLE	500	IV	AGUACATERO	3	30
			ALMENDRO	1	S/LIMITE
			APIO	3	7
			ARROZ	5	S/LIMITE
			BULBOS DE ORNAMENTALES	EXENTO	S/LIMITE
			CACAHUATE	0.2	14
			CALABACITA	1	S/LIMITE
			CALABAZA	1	S/LIMITE
			CIRUELO	15	S/LIMITE
			COL	0.2	S/LIMITE
			DURAZNO	15	S/LIMITE
			FRESA	5	S/LIMITE
			FRIJOL	2	14
			JITOMATE	5	1
			LIMONERO	10	1
			MANDARINO	10	1
			MANGO	3	14
			MANZANO	7	S/LIMITE
			MELON	1	S/LIMITE
			NARANJO	10	1
			PEPINO	1	S/LIMITE
			PERAL	7	S/LIMITE
			PIÑA	35	S/LIMITE
			PLATANO	1	7
			ROSAL	EXENTO	S/LIMITE
			SANDIA	***	14
SOYA	0.2	14			
TORONJO	10	1			
VID	10	7			

\*\*\* ESTOS PRODUCTOS PLAGUICIDAS ENTRARAN A PROCESO DE REVISION Y ACTUALIZACION RESPECTO AL LIMITE MAXIMO DE RESIDUO PARA LA COMBINACION PLAGUICIDA/CULTIVO

PARA USO EXCLUSIVO EN PLANTAS FORMULADORAS DE PLAGUICIDAS AGRICOLAS

POLVO TECNICO				
IV	900	950		
IV		950		

IV

## CARBENDAZIM

### AGRICOLA

#### APLICACION AL FOLLAJE EN LOS CULTIVOS DE:

Presentación	Equivalente g I.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
DISP.(EMULSION ACEITE EN AGUA)	511	IV	CACAHUATE	0.1	14
FLOABLE	500	IV	FRIJOL	2	14
POLVO HUMECTABLE	500	IV	ORNAMENTALES	EXENTO	S/LIMITE
SUSPENSION ACUOSA	357	IV	SOYA TABACO		

#### TRATAMIENTO DE PLANTAS EN ALMACIGOS:

Presentación	Equivalente g I.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
MICROGRANULADO DISP. EN AGUA	500	IV	CACAHUATE ORNAMENTALES SOYA TABACO		

#### APLICACIÓN EN DRENCH AL CUELLO DE LA PLANTA EN EL CULTIVO DE:

Presentación	Equivalente g I.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
SUSPENSION ACUOSA	600	IV	NARDOS	EXENTO	S/LIMITE

#### PARA USO EXCLUSIVO EN PLANTAS FORMULADORAS DE PLAGUICIDAS AGRICOLAS.

Presentación	Equivalente g I.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
POLVO TECNICO	900	IV			
	950	IV			
	990	IV			
SOLIDO TECNICO	980	IV			
	990	IV			

### URBANO

#### PARA USO EXCLUSIVO DE APLICADORES DE PLAGUICIDAS EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES FUNGOSAS EN AREAS VERDES

Presentación	Equivalente g I.A./l o kg	Categoría Toxicológica	Uso Autorizado	LMR (ppm)	IS (Días)
DISP.(EMULSION ACEITE EN AGUA)	511	IV			

## CARBENDAZIM

### USO: AGRICOLA E INDUSTRIAL

**Nombre Químico:** Metilbenzimidazol-2-il carbamato

**CAS:** 10605-21-7

**Fórmula:** C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**Peso Molecular:** 191.2

**DL50 Oral (mg/kg):** > 1500 (RATA)

**DL50 Dérmica (mg/kg):** > 2000 (RATA)

**Categoría Tóxica:** IV

**IDA:** 0.03 mg/kg.

**Clasificación:** BENZIMIDAZOL

**Tipo de plaguicida:** FUNGICIDA

### RIESGOS Y PELIGROS

No se debe agregar a plaguicidas alcalinos como el sulfato de cobre básico, caldo bordelés ni sulfuro de calcio.

### EFFECTOS EN LA SALUD

#### Exposición aguda:

Irritante ocular, dérmico y de mucosas

#### Exposición crónica:

No se han encontrado efectos en los estudios realizados en animales

### EFFECTOS AL MEDIO AMBIENTE

**Toxicidad:** Tóxico a peces y otros organismos acuáticos.

**Persistencia:** Poco persistente. Descompuesto principalmente por microorganismos, 2-Ami-nobenzimidazol principal producto de degradación.

### EN CASO DE INTOXICACION

**Primeros Auxilios:** Lavar con abundante agua las zonas afectadas, quitar la ropa contami-nada. retirar al paciente del lugar del incidente, inducir el vómito.

### RECOMENDACIONES DE USO Y MANEJO

**Uso:** Evite la dispersión del polvo. Evite la exposición de mujeres embarazadas, adolescentes y niños, con el fuego se producen gases o humos tóxicos e irritantes. No aplicar con menos de 200 litros de agua/ha

**Equipo Mínimo de Protección:** Mascarilla y lentes de seguridad

**Equipo Mínimo de Protección:** Overol de manga larga, guantes, calzado, sombrero



# **CONAFOR**

## **Comisión Nacional Forestal**

Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico

Gerencia de Desarrollo y Transferencia de Tecnología

ANEXO 3.

ARTICULO SOMETIDO:

Revista CHAPINGO, serie Ciencias Forestales y del ambiente.

Enviado el 11 de enero del 2011.

**ECTOMICORRIZAS ASOCIADAS A *Pinus jeffreyi* EN EL PARQUE NACIONAL  
“CONSTITUCIÓN DE 1857” EN BAJA CALIFORNIA, MÉXICO.**

**Selene Aguilar-Aguilar<sup>1</sup>, Daniel González-Mendoza<sup>1\*</sup>, Onecimo Grimaldo-Juarez<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Agrícolas Universidad Autónoma de Baja California (ICA-UABC).  
Carretera a Delta s/n, Código Postal 21705, Ejido Nuevo León, Baja California, México

\* Autor para correspondencia. Correo-e: daniasaf@gmail.com

**RESUMEN**

Se estudio la diversidad de hongos presentes en las tres áreas boscosas del Parque Nacional Constitución de 1857 en Baja California, México. Las colectas se realizaron en el mes de Agosto de 2007, Febrero, Mayo y Agosto del 2008, obteniendo un total de 25 ejemplares correspondientes a 3 Géneros, cuatro especies al Genero *Geastrum*, una especie al Genero *Suillus* y otra del Genero *Laccaria*. La abundancia de especies estuvo relacionada con la precipitación y condiciones ecológicas propias del sitio. Se realizaron muestreos para coleccionar raíces secundarias de árboles adultos en *Pinus jeffreyi* Grev. & Balf y se identificaron los morfotipos ectomicorrícicos usando las claves DEMMY. Se encontraron seis morfotipos diferentes, lo que sugiere que existe asociación ectomicorrícica de *P. jeffreyi* con al menos seis diferentes especies de hongos presentes en esta área.

**PALABRAS CLAVE:** Hongos Ectomicorrícicos, Morfotipos, Parque Nacional Constitución de 1857.

**ECTOMYCORRHIZAL ASSOCIATED WITH *Pinus jeffreyi* IN “CONSTITUCION DE 1857” NATIONAL PARK IN BAJA CALIFORNIA, MEXICO.**

**SUMMARY**

The diversity of fungal species present in the three forest areas of the Constitution of 1857 National Park in Baja California, Mexico. The samples were collected in August 2007, February, May and August 2008. 25 specimens collected for 3 Genus, four species of Genus *Geatrum*, one specie to the genus *Suillus* and another to Genus *Laccaria*. The abundance of species was correlated with pluvial precipitation and ecological conditions of the site themselves. Samples were taken to collect secondary roots of mature trees in *Pinus jeffreyi* and ectomycorrhizal morphotypes were identified using the Demmy's keys. We found six different morphotypes, this situation suggest that there are ectomycorrhizal associations with at least six different species of fungi with *P. jeffreyi* in this area.

**KEYWORDS:** ectomycorrhizal fungi, morphotypes, Parque Nacional Constitucion de 1857.

## INTRODUCCIÓN

En Baja California, los bosques de pinos se localizan principalmente en las altas montañas ubicadas de norte a sur de la península y son los únicos en México que presentan un clima Mediterráneo. La Sierra de Juárez es el macizo forestal mas extenso del estado, con una superficie de 5,009.48 hectáreas, siendo un ecosistema complejo con gradientes climáticos y altitudinales que van de los 1500 a 1820 metros, con prolongados periodos de sequía y presencia de nevadas en invierno (Delgadillo, 2004). El Parque Nacional Constitución de 1857 (PNC), esta ubicado dentro de la Sierra de Juárez, siendo la única zona protegida de la región, donde *Pinus jeffreyi* se encuentra sujeta a protección especial por la CONABIO y es la especie forestal preponderante en la formación de las masas boscosas de esta zona (Rzedowski, 2006). Sin embargo, debido a la presencia de periodos largos de sequia, erosión eólica y la presencia de bajos nutrientes en el suelo provocan una baja regeneración natural y un debilitamiento de los árboles adultos (Reyes y Rojo, 1985). Recientemente, los hongos ectomicorrizicos (HEM) han cobrado interés debido a los programas de reforestación o restauración de suelos mediante el uso de especies forestales, en donde la presencia de HEM es de vital importancia para mantener y estimular la absorción y retención de agua, la fijación de CO<sub>2</sub> y contribuir a la recuperación de ecosistemas forestales (Aguilar-Aguilar *et al.* 2009). Por otra parte, a pesar de su importancia de los HEM, existen pocos estudios disponibles sobre el conocimiento de las especies de hongos ectomicorrícicos relacionados con la especie *Pinus Jeffreyi*, presentes en el Parque Nacional Constitución de 1857. De tal forma en el presente trabajo se planteo el objetivo de identificar la presencia de hongos ectomicorrícicos existentes en las diferentes zonas del PNC, y la presencia de la asociación ectomicorrizica con las raíces de *Pinus jeffreyi*. Como un estudio preliminar para el aislamiento de HEM con potencial de ser empleados como inoculantes en las plantaciones forestales.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

El Parque Nacional Constitución de 1857 se ubica en el Municipio de Ensenada, Baja California, México, entre los 32°01'28" y 32°07'46" de latitud norte y entre los 115°51'18" y 115°57'19" de longitud oeste (GBC, 2009). Su extensión es de 5,009.48 hectáreas. Esta zona geográfica se encuentra catalogada como semiárida y/o árida y presenta clima tipo Cs con temporada lluviosa en la época fría del año y temperaturas entre 10 y 15 °C; su vegetación corresponde al bosque de *Pinus jeffreyi* principalmente.

### **Colecta de raíces de *P. Jeffreyi* y cuerpos fructíferos de HEM.**

El muestreo de los cuerpos fructíferos y colecta de raíz de *P. jeffreyi*, se efectuó en verano e invierno del año 2007 y 2008. Para tal fin se ubicaron 14 sitios al azar en tres zonas diferentes del PNC 1857 considerando las características de vegetación y contenido de materia orgánica (Figura 1 a, b). En cada sitio se seleccionaron 5 árboles al azar de *P. jeffreyi*, ubicando en él punto de goteo en relación a los límites de la copa del árbol. Una vez ubicado este punto, se realizaron dos excavaciones en cada árbol orientadas, una al norte y otra al sur. La excavación se realizó en un cuadrante de 1m x 1m y 20 cm de profundidad, en el cual se extrajeron raíces secundarias de *P. jeffreyi*. Se colectaron un total de 30 muestras de raíz (las cuales se etiquetaron indicando la zona, el número de árbol, número de muestra y la fecha de colecta).

Las raíces colectadas fueron lavadas con agua destilada estéril y conservadas en una solución de alcohol-formol-ácido acético (en proporción 1:1:1) para su preservación y observación posterior al microscopio estereoscópico con la finalidad de identificar las estructuras ectomicorrícicas ó morfotipos (Garza *et al.*, 2002). Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de microbiología del Instituto de Ciencias Agrícolas de la UABC, para su posterior estudio. En el caso de cuerpos fructíferos de HE, los ejemplares colectados se identificaron mediante un análisis de las características macro y microscópicas basadas en el concepto de morfoespecie.

## **Identificación de morfotipos ectomicorrícicos.**

Para la identificación de la asociación ectomicorrizica se colectaron raíces de 5 muestras de arboles de cada zona de estudios. Posteriormente se seleccionaron raíces secundarias usando pinzas de disección de punta fina y colocándolas en una caja de Petri previamente dividida en cuadrículas de un cm<sup>2</sup>. Posteriormente, las estructuras ectomicorrícicas fueron identificadas bajo el estereoscopio usando las lentes de aumento de 20X y 40X. Las estructuras ectomicorrícicas se apreciaron como un cambio en el desarrollo radicular, “deformación”. Para la identificación de los morfotipos se emplearon claves establecidas, en este caso se utilizaron las publicadas en el sistema de Información para la caracterización y determinación de ectomicorrizas (Agerer y Rambold, 2009). La presencia de estructuras ectomicorrícicas se determino mediante el método de intersección de cuadrantes y el porcentaje de raíz colonizada se calculo contando las raíces colonizadas y sin colonizar mediante la fórmula propuesta por Jha *et al.* (2008).

$$\% \text{ Micorrización} = \frac{\text{Longitud colonizada}}{\text{Longitud total}}$$

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

El conocimiento de los hongos ectomicorrizicos en México y principalmente en Baja California es limitado. Muchas zonas del estado no han sido suficientemente exploradas micológicamente, una de ellas es el parque nacional constitución 1857 a pesar de la importancia que estos organismos tienen para los ecosistemas forestales (Aguilar-Aguilar *et al.*, 2009). En el presente trabajo se realizaron cuatro colectas lográndose colectar 25 ejemplares de macromicetos en las diferentes zonas evaluadas del PNC1857 (Cuadro 1).

Donde los porcentajes de cuerpos fructíferos encontrados en las colectas fueron *Geastrum* (76%), *Laccaria* (4%) y género *Suillus* (20%), respectivamente. Además, de las especies de *Suillus* y *Laccaria*, se identificaron cuatro diferentes especies de cuerpos fructíferos del genero *Geastrum*: *Lycoperdon perlatum* Pers; *Geastrum floriforme* Vittad.; *Astraeus hygrometricus* Pers. y *Mycenastrum corium* Guers (Figura 2). De los cuales las especies de *Suillus*, *Laccaria*, son

ectomicorrícicos y con propiedades medicinales en el caso de *Mycenastrum corium* Guers (Werner y Zadworny, 2003; Martínez 2010). Esto contrasta con lo reportado por Chávez-León *et al.* (2009) quienes identificaron 52 hongos ectomicorrizógenos en el Parque Nacional Barranca del Cupatitzio, Michoacán, México, cifra muy por arriba a lo registrado en este estudio. En este sentido, es importante considerar que las zonas abordadas en el presente estudio del PNC 1857, tienen características ambientales propias que influyen de manera importante en la distribución y riqueza fúngica (estrés salino, heladas, prolongadas sequías, etc.). Lo cual resulta evidente al comparar nuestros resultados con los obtenidos en otras zonas del País.

#### *Morfotipos de ectomicorrizas y porcentaje de micorrización en raíces de Pinus jeffreyi*

El estudio de frecuencia morfortipos de HEM en raíces de *Pinus jeffreyi* en las tres zonas de muestreo (Figura 3) mostraron las siguientes distribución de morfortipos de acuerdo a las claves DEEMY: a) el morfortipo dicotómico se encontró en todas las muestras analizadas; b) el morfortipo irregular pinnado se encontró en las muestras de ocho sitios de cada una de las zonas evaluadas, lo que hace a este morfortipo el segundo mas frecuente asociado con *P. jeffreyi* dentro del PNC 1857; c) seguido por el morfortipo monopodial pinnado que se encontró en una baja frecuencia en las tres zonas; d) los morfortipos de tipo ausente y digitiforme (*Cenococcum geophilum*) se encontraron en las muestras de dos zonas únicamente, zonas 1, 2 y 1, 3 respectivamente; y e) el morfortipo coraloide se encontró solamente en las muestras de la zona 2.

Debido a que la mayoría de las especies encontradas en la zona de estudio pertenecen al género *Geastrum* podemos suponer que a una de estas especies pertenece el morfortipo Dicotómico en este caso podemos señalar a *Astraeus hygrometricus* que es considerado ectomicorrícico (Fangfuk *et al.*, 2010). Por otra parte, el porcentaje de micorrización encontrado fue proporcional al contenido de materia orgánica de las zonas ubicadas (Cuadro 2 y Figura 4). En el porcentaje de micorrización por zona se observa que en la zona tres se encontraron las raíces con mayor porcentaje de micorrización con un 37% mientras que en la zona dos se encontró un 29% y en la zona uno un 34%, respectivamente.

Esto concuerda con las características propias de los hongos, los cuales son especies que necesitan cierta humedad para que sus hifas se dispersen por el suelo condición que proporciona el acolchado de materia orgánica acumulada en el suelo. (Pérez-Moreno y Read., 2004). Similares, resultados han sido mencionados con anterioridad en plantas de *Pinus palustris* cuando son plantados en lugares con una cantidad adecuada de humedad a diferencia de cuando se encuentran en estrés por falta de humedad (Valdez *et al.*, 2006). Finalmente, la conservación de los macromicetos presente en este sistema forestal debe ser una de las principales metas de manejo en el Parque Constitución de 1857, por tres razones: la importancia ecológica de la simbiosis ectomicorrizógena, el incremento de la explotación de los hongos silvestres comestibles y el usos potencial biotecnológico que podrían tener las especies de hongos ectomicorrizicos en los programas de reforestación en los bosques de Baja California. Adicionalmente, se deben realizar trabajos de taxonomía molecular de los morfotipos asociados a *Pinus jeffreyi* para comprobar las especies de hongos ectomicorrícicos asociadas a esta especie forestal en el Parque Constitución de 1857, por la gran importancia de ésta en los bosques de Baja California y debido a la escasez de información en este sentido.

#### **AGRADECIMIENTOS.**

Se agradece el apoyo al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), por los apoyos recibos en la Convocatoria de Incorporación de Nuevos Profesores de Tiempo Completo convocatoria 2008 y a la Comisión Nacional Forestal por su apoyo a través de su programa de apoyos directos (PE07.01).

## LITERATURA CITADA

- AGERER, R; y RAMBOLD, G. 2004–2009 [first posted on 2004-06-01; most recent update: 2009-01-26]. DEEMY. An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. www.deemy.de – München, Germany
- AGUILAR-AGUILAR, S.; PÉREZ-MORENO, J.; FERRERA-CERRATO, R.; GRIMALDO-JUÁREZ, O.; CERVANTES-DÍAZ, L.; y GONZÁLEZ-MENDOZA, D. 2009. Hongos ectomicorrícicos y la tolerancia a la salinidad en plantas. Rev. Chil. Hist. Nat. 82 (1): 163-168.
- CHÁVEZ-LEÓN, G.; GÓMEZ-REYES V. M.; y GÓMEZ-PERALTA M.2009.Riqueza de macromicetos del Parque Nacional Barranca del Cupatitzio, Michoacán, México Rev. Cien. For. Mex. 34 (105): 73-93
- DELGADILLO, R. J. 2004. El bosque de coníferas de la Sierra de San Pedro Mártir, Baja California. Secretaria de Medio Ambiente y recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 160. p.p.
- FANGFUK, W.; OKADA, K.; PETCHANG, R., TO-ANUN, C.; FUKUDA, M.; y YAMADA, A.2010.In vitro mycorrhization of edible *Astraeus* mushrooms and their morphological characterization Mycoscience 51 (3): 234-241.
- GARZA, F.; GARCÍA, J.; ESTRADA, E.; y VILLALÓN, H. 2002. Macromicetos, Ectomicorrizas y Cultivos de *Pinus culminicola* en Nuevo León. Ciencia UANL. 2 (5): 204-210.

- JHA, B.N.; SHARMA, G.D.; y SHUKLA, A.K. 2008. Effect of ectomycorrhizal development on growth in pine seedlings. *J. Plant Sci.*, 3 (1): 77-84.
- MARTÍNEZ, J. G. 2010. Los remedios naturales en la prevención y cuidado de la salud oral de los tobos del Chaco Central (Argentina) *BLACPMA*. 9 (2), 109 – 122
- PÉREZ-MORENO, J.; y READ, D. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *INCI*. 29 (5): 239-247.
- REYES-COCA, S.; y ROJO-SALAZAR, P. 1985. Variabilidad de la precipitación en la península de Baja California. *Revista Geofísica*. 22-23:111-128.
- RZEDOWSKI, J. 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp. Página [http://www.conabio.gob.mx/institucion/centrodoc/doctos/vegetacion\\_de\\_mexico.html](http://www.conabio.gob.mx/institucion/centrodoc/doctos/vegetacion_de_mexico.html).
- VALDEZ, M.; ASBJORNSEN, H.; GÓMEZ-CÁRDENAS, M.; JUÁREZ, M.; y VOGT K, A. 2006. Drought effects on fine-root and ectomycorrhizal-root biomass in managed *Pinus oaxacana* Mirotov stands in Oaxaca, Mexico. *Mycorrhiza* 16 (2): 117–124.
- WERNER, A.; y ZADWORNÝ, M. 2003. In vitro evidence of mycoparasitism of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* against *Mucor hiemalis* in the rhizosphere of *Pinus sylvestris*. *Mycorrhiza* 13(1):41-47.

Cuadro 1. Ejemplares de los géneros ectomicorrícicos encontrados en el Parque Constitución de 1857, su zona y ubicación geográfica.

Zona	Género	Coordenadas Geográficas		MSNM
1	<i>Geastrum</i>	32°03'14.7''	115°54'36.5''	1623
1	<i>Geastrum</i>	32° 02'59.7''	115°54'44.3''	1625
2	<i>Geastrum</i>	32° 02' 05.8''	115° 54'57.2''	1526
2	<i>Geastrum</i>	32° 02' 26.8''	115°54'44.6''	1570
2	<i>Geastrum</i>	32°02'22.8''	115°54'24.6''	1599
2	<i>Geastrum</i>	32°02'19.6''	115° 54'10.0''	1614
2	<i>Geastrum</i>	32° 02'23.9''	115° 53'48.2''	1622
2	<i>Geastrum</i>	32°02'49.1''	115°53'40.9''	1633
3	<i>Geastrum</i>	32°02'31.4''	115°55'36.8''	1630
3	<i>Geastrum</i>	32°02'13.0''	115°55'34.3''	1629
3	<i>Geastrum</i> ,	32° 02'14.4''	115° 55'11.5''	1631
3	<i>Geastrum</i> , <i>Suillus</i>	32° 02'35.6''	115° 55'37.5''	1615
3	<i>Suillus</i> , <i>Laccaria</i>	32° 02' 29''	115° 55' 36.6''	1620

Cuadro 2. Cuantificación del porcentaje de micorrización de acuerdo al método de intersección de cuadrantes.

Sitio	Raíces Colonizadas (cm)	Raíces sin colonizar (cm)	Longitud radical total (cm)	Micorrización %
1	10	30	40	25.0
2	38	29	67	56.7
3	16	21	37	43.2
4	6	11	17	35.2
5	43	37	80	47.7
6	39	32	71	54.9
7	24	19	43	72.7
8	47	30	77	61.0
9	25	17	42	59.5

## Leyendas de figuras

Figura 1. Mapa con la Ubicación de los sitios de muestreo (a) y (b) Clasificación de zonas con diferencias en el contenido de materia orgánica dentro del Parque Nacional de 1857: Zona 1 capa de materia orgánica de 5 cm; Zona 2: capa de materia orgánica de 10 cm; Zona 3: capa de materia orgánica mayor a 10 cm.

Figura 2. Especies localizadas en Parque Constitución de 1857, Baja California, México.

Figura 3. Frecuencia de morfotipos de HEM en raíces de *Pinus jeffreyi* en las tres zonas de estudio.

Figura 4. Porcentaje de micorrización con respecto al contenido de materia orgánica en las tres zonas de estudio.

Figura 1

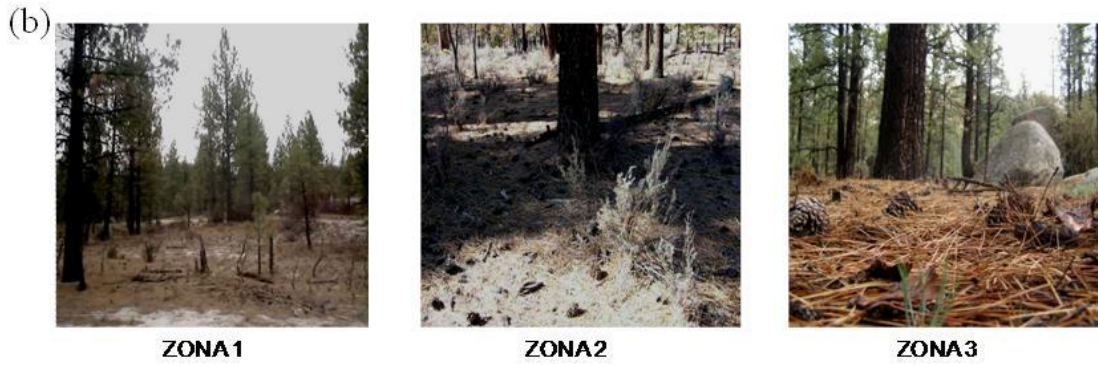
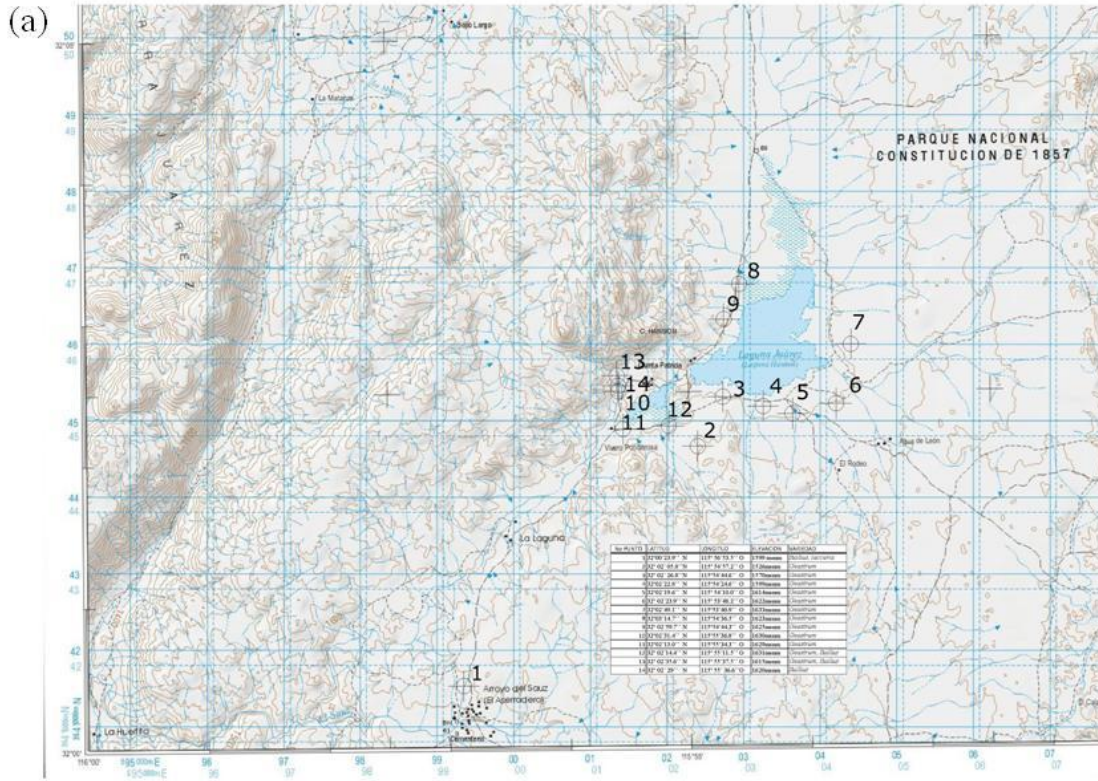


Figura 2



*Suillus* sp. Gray



*Mycenastrum corium* Guers.



*Lycoperdon perlatum* Pers



*Astraeus hygrometricus* Pers



*Geastrum floriforme* Vittad



*Laccaria laccata* Peck.

Figura 3

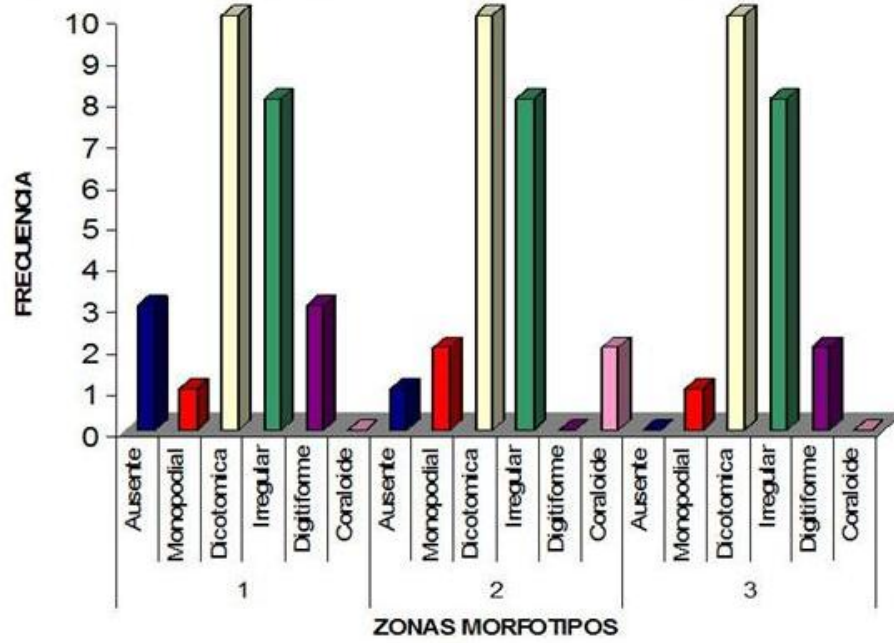
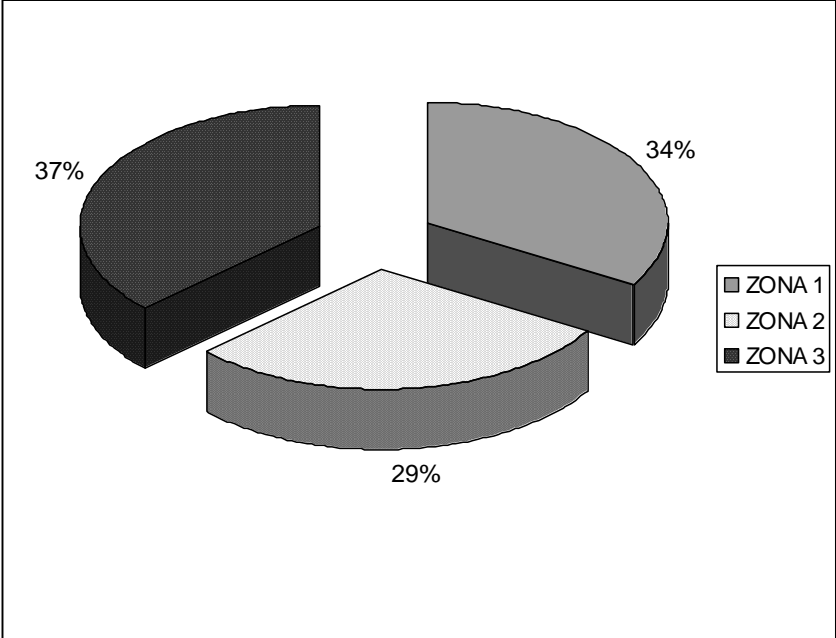
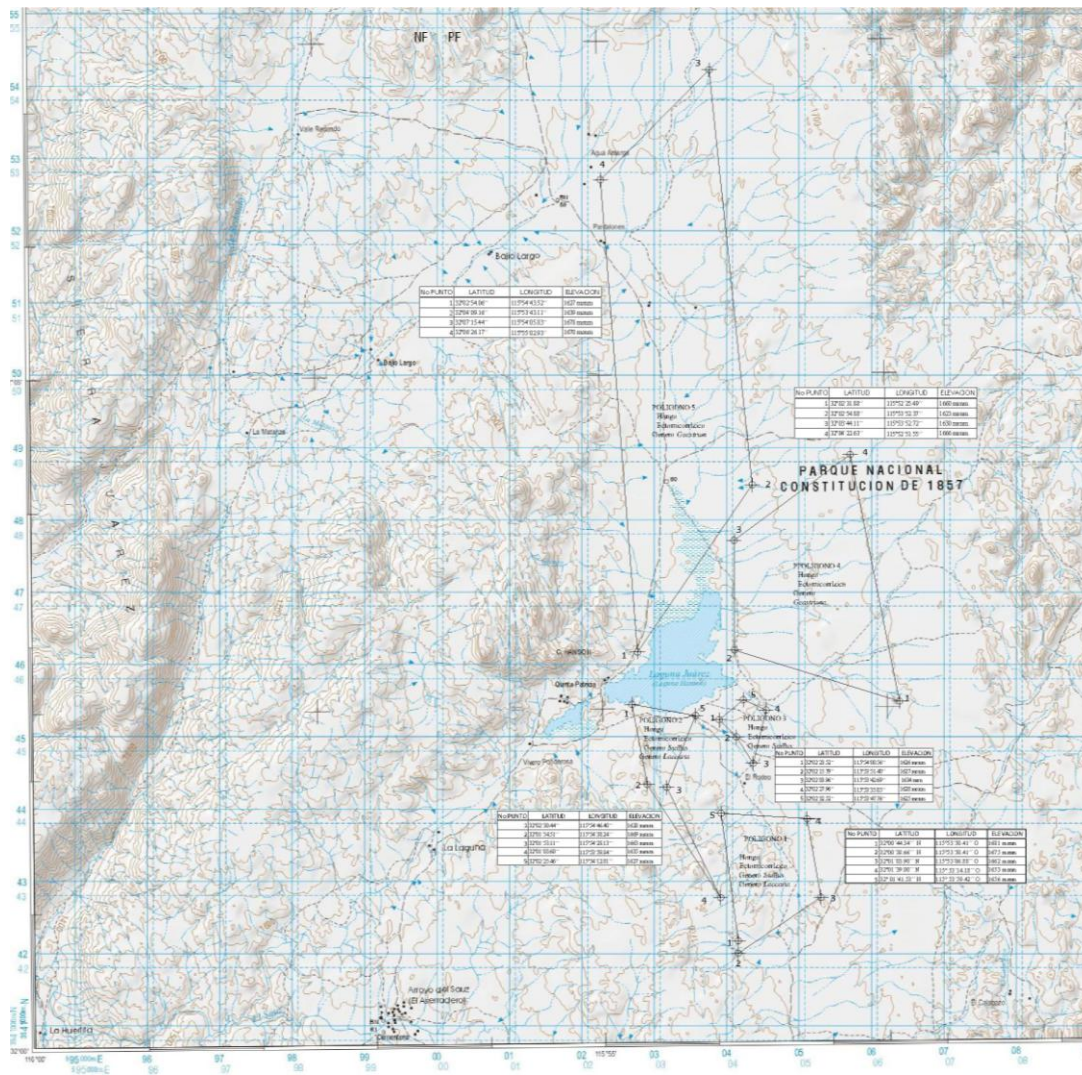


Figura 4







2. Mapa con polígonos proyectados de las posibles zonas donde se pueden encontrar hongos ectomicorrícicos.