

CARACTERIZACIÓN DE LAS ECTOMICORRIZAS FORMADAS POR *LACCARIA TRICHODERMOPHORA* Y *SUILLUS TOMENTOSUS* EN *PINUS MONTEZUMAE*

GEMA GALINDO-FLORES¹, CITLALLI CASTILLO-GUEVARA^{1*}, ALBERTO CAMPOS-LÓPEZ² Y CARLOS LARA¹

¹Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, San Felipe Ixtacuixtla, Tlaxcala, México

²Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México

*Autor para correspondencia: guevaracc@yahoo.com.mx

Resumen: Las especies del género *Pinus* tienen una gran dependencia ecológica hacia la asociación ectomicorrízica. Sin embargo, a pesar de la importancia de la ectomicorriza en los ecosistemas forestales las descripciones morfológicas disponibles de estas asociaciones son escasas. En el presente trabajo se realizó la primera caracterización morfológica macroscópica y microscópica de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. La síntesis de las micorrizas estudiadas se efectuó mediante la inoculación con esporas en un sustrato estéril, bajo condiciones de invernadero. *Laccaria trichodermophora* presentó ramificación de tipo coraloide con un grosor del manto de 46.05 μm ; una longitud del sistema radical de 0.4 a 2.9 mm; sin rizomorfos. *Suillus tomentosus* presentó ramificación de tipo coraloide con un grosor del manto de 48.03 μm ; una longitud del sistema radical entre 0.4 a 1.6 mm; sin rizomorfos. La mayoría de las características descritas concuerdan con las publicadas para los géneros *Suillus* y *Laccaria*. El conocimiento de la morfología permitirá hacer una mejor detección rápida en estudios *in vitro* y *ex situ* de la micorriza formada por hongos útiles para la producción de inoculantes con fines de manejo y conservación de sistemas forestales.

Palabras clave: descripción morfológica, ecosistemas forestales, hongos ectomicorrizógenos, micorriza.

Abstract: Species of the genus *Pinus* have a great ecological dependence on the ectomycorrhizal association. However, despite the importance of ectomycorrhiza in forest ecosystems morphological descriptions available of these associations are rare. In this paper the first macroscopic and microscopic morphological characterization of ectomycorrhiza formed by *Laccaria trichodermophora* and *Suillus tomentosus* in *Pinus montezumae* was performed. The synthesis of the studied mycorrhiza was performed by inoculation with spores in a sterile substrate under greenhouse conditions. *Laccaria trichodermophora* presented coralloid branch type, mantle with a thickness of 46.05 μm ; length of the root system from 0.4 to 2.9 mm; without rhizomorphs. *Suillus tomentosus* presented coralloid branch type, mantle with a thickness of 48.03 μm ; length of the root system from 0.4 to 1.6 mm; without rhizomorphs. Most of the characteristics described are consistent with those published for genus *Suillus* and *Laccaria*. Morphological knowledge will allow to perform a fast detection in *in vitro* and *ex situ* studies of the useful mycorrhiza formed to produce inoculants management and conservation of forest systems.

Keywords: ectomycorrhizal fungi, forest ecosystems, morphological description, mycorrhiza.

La ectomicorriza es una forma de relación simbiótica entre las raíces de árboles o arbustos autotróficos y un hongo cuyas hifas forman un manto alrededor de éstas (Buscot *et al.*, 2000; Brundrett, 2004). En esta asociación el hongo también desarrolla una estructura laberíntica a través del apoplasto del córtex de la raíz, llamada red de Hartig, donde se lleva a cabo la transferencia de nutrientes entre las células fúngicas y vegetales (Brundrett, 2004). Este tipo de micorriza se puede establecer entre hongos de las clases Basidio-

mycetes y Ascomycetes y diversos grupos angiospermas o gimnospermas (Buscot *et al.*, 2000). Las ectomicorrizas son comunes en suelos moderadamente ácidos y ricos en materia orgánica, tanto en regiones boreales y templadas como tropicales (Sylvia, 1999; Nava-Gutiérrez y Hernández-Cuevas, 2003; Pérez-Moreno y Read, 2004).

Laccaria trichodermophora G.M. Muell. y *Suillus tomentosus* (Kauffman) Singer son especies de hongos ectomicorrizógenos (HECM) que se asocian a los árboles juveniles,

particularmente en bosques templados (Dahlberg y Finlay, 1999; Kropp y Mueller, 1999). Estos hongos favorecen el establecimiento, supervivencia y desarrollo de la planta en esta etapa temprana al facilitar la absorción y el transporte de nutrientes tales como P, K, NH₄, NO₃, y agua (Brundrett, 2004; Finlay, 2004; Jones y Smith, 2004).

Estas especies de hongos ectomicorrizógenos han sido previamente utilizadas como inoculantes con distintas especies de árboles del género *Pinus*, y los resultados indican efectos positivos tanto en la capacidad de colonización del hongo como en el crecimiento de la planta (Xicohténcatl-Ahuatzin, 1998; Santiago-Martínez, 2002; Hernández, 2003; Muñoz, 2003). Entre estas especies destaca *Pinus montezumae* Lamb., una conífera micorrizica obligada (Brundrett *et al.*, 1996; Dahlberg y Finlay, 1999), por su amplia distribución en México y extendido uso en la reforestación de los bosques templados del país.

Pese a la importancia no sólo ecológica sino económica que denota el conocimiento de la interacción entre hongos ectomicorrizicos y especies de plantas maderables del género *Pinus*, es evidente la poca información generada sobre la caracterización morfológica de sus ectomicorrizas. Por ejemplo, a la fecha se han descrito 107 morfotipos de ectomicorrizas asociadas al género *Pinus*, de los cuales únicamente siete corresponden al género *Suillus* y dos al género *Laccaria* (Tabla 1). Sin embargo, a pesar de que existen descripciones para otras especies de *Laccaria* y *Suillus* asociadas con *Pinus*, no hay descripciones de ectomicorrizas de

L. trichodermophora ni de *S. tomentosus* asociadas con *P. montezumae*.

La caracterización morfológica es el método que ha sentado las bases para la descripción de las ectomicorrizas y continúa siendo ampliamente utilizado en estudios de campo y laboratorio (Agerer y Rambold, 2004–2015; Brundrett *et al.*, 1996). Este método presenta la ventaja de poder identificar macroscópicamente los tipos ectomicorrizicos a nivel de género, y a través de observación microscópica determinar aspectos de la ectomicorriza como forma, color y estructura del manto (Agerer, 1995; Agerer y Rambold, 2004–2015). A pesar de la indudable efectividad de las actuales técnicas moleculares, la caracterización morfológica sigue siendo un complemento importante en el estudio de la asociación micorrizica (Horton y Bruns, 2001).

En el presente estudio se realiza la primera caracterización morfológica macroscópica y microscópica realizada a las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. La caracterización morfológica de estas ectomicorrizas nos permitirá confirmar la identidad del HECM inoculado al menos a nivel de género y facilitar su seguimiento durante la formación de la asociación.

Materiales y Métodos

Obtención e inoculación de plántulas. Las semillas de *Pinus montezumae* provenían de San Andrés Hueyacatitla, Puebla

Tabla 1. Lista de las ectomicorrizas caracterizadas morfológicamente pertenecientes a los géneros *Laccaria* y *Suillus*.

Hongo ectomicorrizógeno	Planta hospedera	Referencias
<i>Laccaria amethystina</i> Cooke	<i>Betula</i> sp.	Cuvelier, 1991
	<i>Fagus</i> sp.	Brand, 1988
	<i>Quercus</i> sp.	Palfner, 1994
<i>Laccaria bicolor</i> (Maire) P.D. Orton	<i>Pinus montezumae</i> Lamb.	Santiago-Martínez <i>et al.</i> , 2003; Carrasco-Hernández <i>et al.</i> , 2010
<i>Laccaria proxima</i> (Boud.) Pat.	<i>Betula</i> sp.	Ingleby <i>et al.</i> , 1990
	<i>Picea</i>	Ingleby <i>et al.</i> , 1990
	<i>Pinus</i> sp.	Danielson <i>et al.</i> , 1984; Ingleby <i>et al.</i> , 1990
<i>Laccaria tortilis</i> (Bolton) Cooke	<i>Betula</i> sp.	Ingleby <i>et al.</i> , 1990; Agerer, 1995
	<i>Picea</i> sp.	Ingleby <i>et al.</i> , 1990; Agerer, 1995
<i>Suillus bovinus</i> (L.) Roussel	<i>Pinus</i> sp.	Mleczo y Ronikier, 2007
<i>Suillus collinitus</i> (Fr.) Kuntze	<i>Pinus</i> sp.	Uhl, 1988
<i>Suillus flavus</i> (Qué.) Singer	<i>Larix</i> sp.	How, 1942; Kottke, 1986; Samson y Fortin, 1988; Treu, 1993a
<i>Suillus laricinus</i> (Berk.) Kuntze	<i>Larix</i> sp.	Samson y Fortin, 1988; Treu, 1990a, 1993b
<i>Suillus plorans</i> (Rolland) Singer	<i>Pinus</i> sp.	Agerer, 1990; Treu, 1990b, Mleczo y Ronikier, 2007
<i>Suillus pseudobrevipes</i> A.H. Sm. & Thiers	<i>Pinus montezumae</i>	Garibay-Origel <i>et al.</i> , 2013
<i>Suillus pungens</i> Thiers & A.H. Sm.	<i>Pinus montezumae</i>	Garibay-Origel <i>et al.</i> , 2013
<i>Suillus sibiricus</i> (Singer) Singer	<i>Pinus</i> sp.	Agerer, 1990; Treu, 1990c
<i>Suillus tridentinus</i> (Bres.) Singer	<i>Larix</i> sp.	Treu, 1990a
<i>Suillus variegatus</i> (Sw.) Richon & Roze	<i>Pinus</i> sp.	Mleczo y Ronikier, 2007

y fueron donadas por el banco de germoplasma del vivero de San Luis Tlaxiatalmalco en Xochimilco, D. F. Todas las semillas fueron desinfectadas y escarificadas de la siguiente manera: (1) se agitaron por un lapso de 1 h en una mezcla

de peróxido de hidrógeno al 30 %, se lavaron con agua destilada y por último se colocaron en una solución fungicida (Benomil 1g/l); (2) se mantuvieron en refrigeración por 24 h con la finalidad de romper el estado de latencia de las

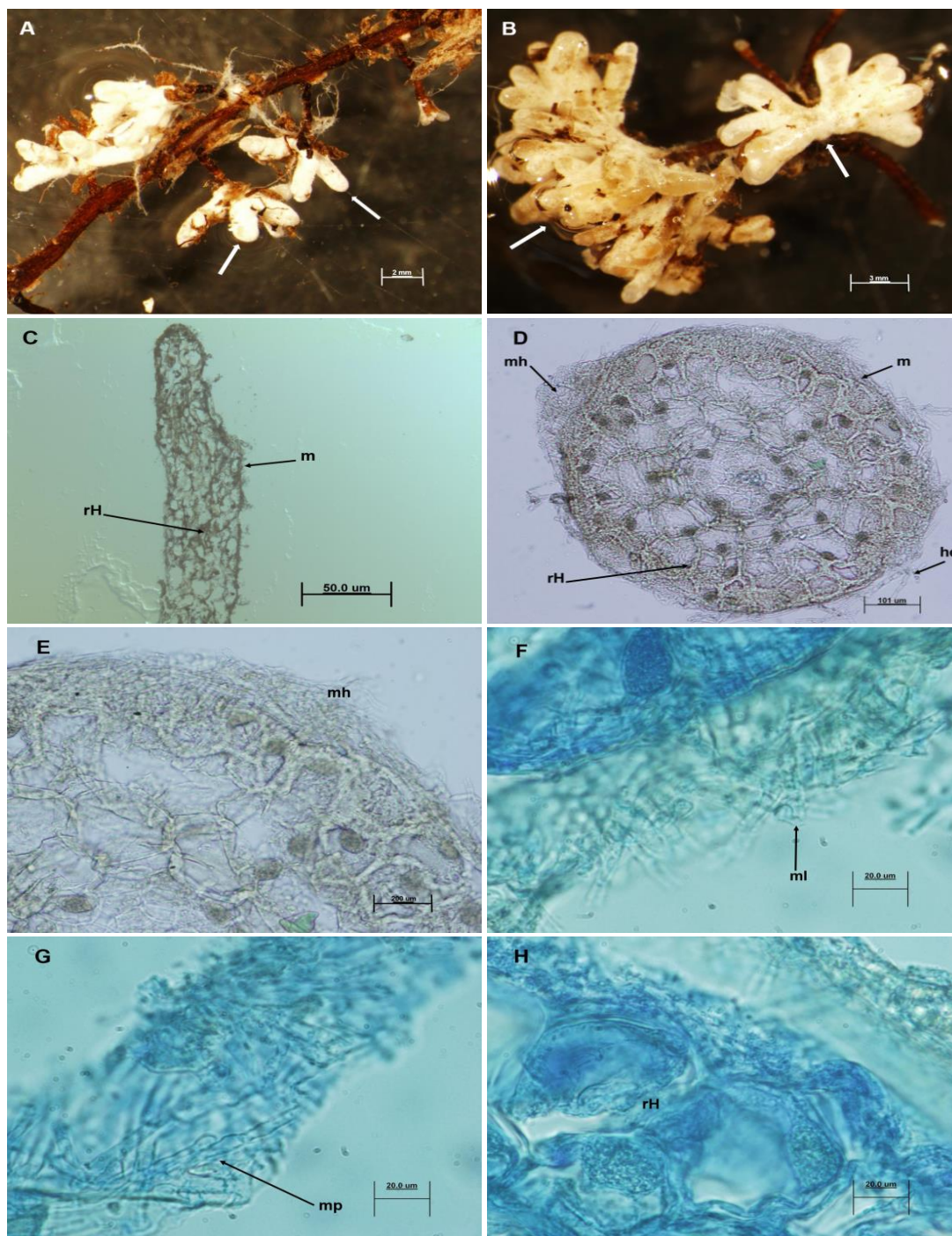


Figura 1. Ectomicorriza de *Lacaria trichodermophora* en *Pinus montezumae*. A) Etapa juvenil donde se observa la formación de ramificaciones dicotómicas. B) Etapa madura con una morfología coraloides. C) Corte longitudinal donde se observa el manto (m) y la red de Hartig (rH). D) Corte transversal de la micorriza mostrando el manto (m) con micelio hialino (mh), hifas emanantes (he) y la red de Hartig (rH). E) Presencia de micelio hialino (mh) alrededor del manto. F) Manto laxo (ml) de 45.6 μm de grosor. G) Manto de tipo plectenquimatoso (mp) de tipo B de acuerdo con Agerer (1991). H) Red de Hartig (rH) circundando dos capas de células corticales.

semillas; y (3) se lavaron con agua destilada, se colocaron en una solución bactericida (cloranfenicol 30 mg/l) por 30 min; y se lavaron una última vez con agua destilada para eliminar el rastro de cualquier sustancia (Galindo-Flores *et al.*, 2001).

Las semillas preparadas fueron sembradas por métodos convencionales usados en los viveros (Peñuelas y Ocaña, 2000), utilizando bandejas de germinación de poliestireno (Modelo CH-101 con 200 cavidades de 28 ml de volumen, Polietilenos del Sur®) y una mezcla de vermiculita/turba en una proporción 2:1 como sustrato. Las semillas germinaron a los 30 días después la siembra y a los 50 días fueron trasplantadas a contenedores forestales de plástico con capacidad de 250 ml (Modelo G2, Polietilenos del Sur®). Trece días después, cuando las plántulas desarrollaron raíces secundarias, se inocularon 120 plántulas con 5 ml de una solución con 10^6 esporas procedentes de los hongos frescos de *Laccaria trichodermophora* y 120 plántulas con *Suillus tomentosus*. Ambas especies de hongos fueron recolectados en Cañada Grande del Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala. Para garantizar una inoculación exitosa se llevó a cabo una reinoculación 1 mes después usando el mismo volumen de la solución.

Caracterización morfológica. El sistema radical de 13 plántulas, por cada especie de hongo inoculado, fue caracterizado morfológicamente a los 4, 6, 8 y 12 meses posteriores a la inoculación. Las raíces micorrizadas fueron fijadas en formaldehído, alcohol y ácido acético (FAA),

en proporción 3:1:1 (Agerer, 1986). Las puntas micorrizadas se sometieron a un proceso de deshidratación en una serie etanólica gradual durante 1 h en cada solución (30-100 %). Posteriormente fueron incluidas en Paraplast® de forma gradual mediante mezclas de alcohol absoluto-xilol y paraplast (Modificado de López-Curto *et al.*, 2005). Finalmente se realizaron cortes de 5 a 10 μm de grosor con un micrótopo de rotación (Leica modelo 820-II). Para la eliminación de la parafina en el tejido, los cortes se sumergieron en xilol puro, después en soluciones graduales de alcohol-xilol (100-30 %), y por último en agua destilada. Para su estudio bajo el microscopio, los cortes se tiñeron con azul de toluidina que hace posible la observación de estructuras características de las ectomicorrizas. Se tomaron fotografías del manto y de la red de Hartig utilizando una cámara (Infinity 1) acoplada al microscopio de campo claro (Zeiss Axioscop 2).

Para la descripción morfológica de las ectomicorrizas se realizó la caracterización y medición de las estructuras propuestas por Agerer (1986; 1987-1993) y Agerer y Rambold (2004-2015). Macroscópicamente se consideró el tipo de ramificación, longitud total del sistema ramificado y de las ramificaciones de segundo y tercer orden, diámetro de los ejes y de las puntas no ramificadas, y presencia de rizomorfo. Las mediciones microscópicas incluyeron el grosor del manto, de la red de Hartig y el diámetro de las hifas. El programa de digitalización de imágenes Image-pro Express versión 6.3 (Media Cybernetics Inc., 1993-2002) fue utili-

Tabla 2. Características morfológicas de las ectomicorrizas producidas por especies de los géneros de hongos *Laccaria* y *Suillus* en árboles de *Pinus montezumae*^{pm} y de otras especies del género *Pinus*^{psp}: (Danielson *et al.*, 1984¹; Uhl, 1988²; Agerer, 1990³; Ingleby *et al.*, 1990⁴; Treu, 1990⁵; Santiago-Martínez *et al.*, 2003⁶; Mleczko y Ronikier, 2007⁷; Carrasco-Hernández *et al.*, 2010⁸; Garibay-Origel *et al.*, 2013⁹). En negritas se resaltan las descripciones de este trabajo. ND: Datos no disponibles en las descripciones morfológicas.

Especies de hongos	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Ramificación	Rizomorfo	Visibilidad del manto	Transparencia del manto	Carbonización del manto	Tubos lactíferos
<i>L. trichodermophora</i>^{pm}	0.4 a 2.9	0.3	Dicotómica a coraloide	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>L. bicolor</i> ^{pm, 6, 8}	2.5 a 3.6	0.4 a 0.5	Simple a dicotómica	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>L. proxima</i> ^{psp, 1, 4}	0.8	0.6	Dicotómica	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. tomentosus</i>^{pm}	0.4 a 1.6	0.1	Dicotómica a coraloide	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. bovinus</i> ^{psp, 7}	12 a 15	ND	Coraloide	Presentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. collinitus</i> ^{psp, 2}	3 a 5	ND	Dicotómica a coraloide	Presentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. plorans</i> ^{psp, 3, 7}	10 a 20	ND	Tuberculada	Presentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. pseudobrevipes</i> ^{pm, 9}	ND	ND	Dicotómica	Ausentes	Presente	ND	ND	ND
<i>Suillus pungens</i> ^{pm, 9}	ND	ND	Dicotómica, Coraloide, Tuberculada	Presentes	Presente	ND	ND	ND
<i>S. sibiricus</i> ^{psp, 3, 5}	7.3	ND	Coraloide	Presentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes
<i>S. variegatus</i> ^{psp, 7}	2 a 10	ND	Tuberculada	Presentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausentes

Tabla 2. Continuación.

Especies de hongos	Superficie del manto	Coloración	Terminación de puntas	Esclerocios	Hifas emanantes	Cristales	Organización del manto	Grosor del manto (µm)
<i>L. trichodermophora</i> ^{Pm}	Ligeramente algodonosa hialina	Blanca a amarilla pálida	Rectas a ligeramente torcidas	Ausentes	Presentes	Ausentes	Plectenquimatoso tipo B	14.4 a 81.5
<i>L. bicolor</i> ^{Pm, 6, 8}	Lisa o granulosa, con brillo metálico distribuida irregularmente	Café clara, naranja café y café a café oscuro	Sinuosas	Ausentes	Presentes	Ausentes	Plectenquimatoso	23.5 a 31.4
<i>L. proxima</i> ^{Psp, 1, 4}	Brillante, ligeramente algodonosa	Café o blanca a café, naranja, gris	Dobladas o sinuosas	Ausentes	Presentes	Ausentes	Plectenquimatoso tipo B	15 a 40
<i>S. tomentosus</i> ^{Pm}	Lisa	Café rojizo a rojo muy oscuro	Rectas a ligeramente torcidas	Ausentes	Presentes	Presentes	Plectenquimatoso tipo F	21.4 a 88.8
<i>S. bovinus</i> ^{Psp,7}	Lisa ligeramente lanosa	Ocre o café amarillento, amarillento, rojizo (rosado)	ND	Ausentes	Presentes	Presentes	Plectenquimatoso tipo F	ND
<i>S. collinitus</i> ^{Psp, 2}	No lisa, ligeramente lanosa	Rojo o lila, azul claro rojizo a café oscuro, café, rojo	Rectas	Ausentes	ND	ND	Plectenquimatoso tipo A y F	N.D
<i>S. plorans</i> ^{Psp, 7, 3, 7}	Plateada	Ocre, café amarillento o blanquecina con puntos y venas rosadas o rojizas a café rojizo	Rectas o Dobladas	Ausentes	ND	ND	Plectenquimatoso tipo F	60 a 160
<i>S. pseudovrevipes</i> ^{Pm,9}	Felposa	Blanco, café y gris	Rectas	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Suillus pungens</i> ^{Pm,9}	Algodonosa	Blanco, café rojizo a gris	Recta	ND	ND	ND	ND	ND
<i>S. sibiricus</i> ^{Psp, 3, 5}	Lisa	Café o violeta, azul oscuro rojizo	Rectas	Ausentes	Presentes	ND	Plectenquimatoso tipo F	86 a 138
<i>S. variegatus</i> ^{Psp,7}	Lisa, fibrosa, lanosa	Ocre, café amarillento (cubierto con puntos y cuerdas más oscuras)	Cilíndricas no infladas	Ausentes	Presentes	Presentes	Plectenquimatoso tipo F	ND

zado para llevar acabo la observación y medición de todas la estructuras de interés. Los rasgos morfológicos de las ectomicorrizas descritas en este trabajo fueron comparados con los existentes en la literatura para otras especies de los géneros *Laccaria* y *Suillus* en *Pinus* (ver Tabla 2).

Resultados

Laccaria trichodermophora G.M. Muell.

Sistema micorrízico.- Los valores citados corresponden al promedio de 46 mediciones. La ectomicorriza presentó una

longitud de 0.4 mm en etapas jóvenes de desarrollo de la micorriza (Figura 1A) llegando a los 2.9 mm en etapas maduras de la micorriza y 0.3 mm de diámetro en promedio (Tabla 2); con ramificaciones de tipo dicotómico de segundo orden (0.7 × 0.2 mm) y de tercer de orden (0.2 × 0.1 mm) en etapas jóvenes de la micorriza y coraloide en etapas maduras de la micorriza; sin presencia de rizomorfo (Figura 1B).

Terminaciones no ramificadas.- El manto presentó visibilidad media, con ausencia de transparencia, oscurecimiento y tubos lactíferos; con superficie de textura algodonosa en gran parte de la micorriza; coloración blanca (5Y8/2) ligera-

mente brillante (en zonas libres de micelio) en etapas jóvenes de desarrollo de la micorriza y amarilla pálida (5Y7/3) ligeramente brillante (nuevamente determinado por la presencia/ausencia de micelio) en etapas maduras de la micorriza; con terminaciones no ramificadas, predominantemente rectas a ligeramente torcidas (Tabla 2, Figura 1A,B).

Esclerocios.- No presentó esclerocios.

Anatomía.- Micorriza.- Presencia de micelio hialino, ligeramente denso, alrededor del manto (Tabla 2, Figura 1C-E).

Manto.- Los valores citados corresponden al promedio de 130 mediciones. El manto presentó organización plectenquimatosa de tipo B (Figura 1G) según la clasificación de Agerer (1991), es caracterizado por la disposición irregular de las hifas sobre la superficie de la raíz, con grosor de (14.48)-46.5-(81.52) μm (Figura 1F), conformado por hifas de 7.1 μm en promedio de diámetro. La ectomicorriza presentó desarrollo de una red de Hartig con 142.3 μm de grosor total en promedio que abarcó 2 capas de células corticales (Tabla 2, Figura 1E, H).

Suillus tomentosus (Kauffman) Singer

Sistema micorrízico.- Los valores citados corresponden al promedio de 108 mediciones. La ectomicorriza presentó una longitud de 0.4 mm en etapas jóvenes de desarrollo (Figura 2A) llegando a 1.6 mm en etapas maduras de la micorriza y de 0.1 mm de diámetro en promedio (Tabla 2); con ramificaciones de tipo dicotómico de segundo orden (0.6 \times 0.1 mm) y de tercer orden (0.3 \times 0.1 mm) en etapas jóvenes de la micorriza y coraloide en etapas maduras de la micorriza; sin presencia de rizomorfos (Figura 2B, C).

Terminaciones no ramificadas.- El manto presentó buena visibilidad, con ausencia de transparencia, carbonización y tubos lactíferos; con superficie generalmente lisa; coloración café rojizo (2.5YR4/4) ligeramente brillante en etapas jóvenes de desarrollo de la micorriza, a rojo muy oscuro (2.5YR2.5/2) ligeramente brillante en etapas maduras de la micorriza; con terminaciones no ramificadas principalmente rectas a ligeramente torcidas (Tabla 2, Figura 2A-D).

Esclerocios.- No presentó esclerocios.

Anatomía.- Micorriza.- Presencia de hifas emanantes ocasionales y cristales (Tabla 2, Figura 2D-E).

Manto.- Los valores citados corresponden al promedio de 50 mediciones. El manto presentó organización plectenquimatosa de tipo F (Figura 2H) según la clasificación de Agerer (1991), caracterizado por la presencia de células redondas sobre manto de hifas entrelazadas, con grosor de (21.49)-48.03-(88.87) μm , conformado por hifas de 10.4 μm de diámetro en promedio. La ectomicorriza presentó el desarrollo de una red de Hartig con 140.6 μm de grosor total en promedio (Tabla 2, Figura 2E, I). Las células corticales que se encontraban en contacto con el manto interno presentaron coloración café oscuro debido a la producción de taninos y abarcaron una y media capa de células corticales (Figura 2I).

Discusión

Los resultados obtenidos permiten documentar por primera vez la caracterización de las ectomicorrizas formadas por los hongos *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en el sistema radical de *Pinus montezumae*. *Laccaria trichodermophora* presentó una ramificación de tipo coraloide a diferencia de *L. bicolor* y *L. próxima* que presentan una ramificación tipo dicotómica (Tabla 2; Danielson *et al.*, 1984; Ingleby *et al.*, 1990; Santiago-Martínez *et al.*, 2003; Carrasco-Hernández *et al.*, 2010). Otro rasgo significativo de la ectomicorriza formada por *L. trichodermophora* es que el rango en el grosor del manto—14.4 a 81.5 μm — es más amplio que el producido por *L. bicolor* (23.5 a 31.4 μm) y *L. proxima* (15 a 40 μm) (Tabla 2; Danielson *et al.*, 1984; Ingleby *et al.*, 1990; Santiago-Martínez *et al.*, 2003; Carrasco-Hernández *et al.*, 2010).

En *Suillus tomentosus* puede resaltarse que tiene una longitud del sistema radical de 0.4 a 1.6 mm que en comparación con *S. bovinus* (12 a 15 mm), *S. collinitus* (3 a 5 mm), *S. plorans* (10 a 20 mm), *S. sibiricus* (7.3 mm) y *S. variegatus* (2 a 10 mm) es la más pequeña. Otro rasgo importante para esta ectomicorriza es la ausencia de rizomorfos que es una constante en las cinco especies antes mencionadas (Tabla 2; Uhl, 1988; Agerer, 1990; Treu, 1990c; Mleczko y Ronikier, 2007). El grosor del manto para *S. tomentosus* fue de 21.4 a 88.8 μm siendo el rango más reducido en comparación con *S. plorans* que presenta un rango de 60 -160 μm y *S. sibiricus* de 86 -138 μm . Sin embargo, la mayoría de las características descritas para *S. tomentosus* concuerdan con las otras descripciones para el género *Suillus* (Tabla 2).

Las discrepancias encontradas entre algunas características como tipo de ramificación, longitud del sistema radical, presencia de rizomorfos y grosor del manto de las dos especies de hongos ectomicorrizógenos pueden atribuirse a que éstas son reguladas por propiedades del huésped, del hongo, o por interacciones que involucran a ambos y al ambiente (Brundrett, 2004). Sin embargo, los mecanismos por los cuales operan estos procesos aún no han sido esclarecidos, por lo que se requieren estudios detallados al respecto.

Desde el punto de vista fisiológico, en la red de Hartig, específicamente en la zona de interface, hay modificaciones en la organización y estructura de las células corticales, que facilitan el intercambio bidireccional de nutrimentos lo cual está estrechamente relacionado con la habilidad de explotar, traslocar y optimizar el recurso disponible entre ambos interactuantes (Brundrett, 2004; Peterson y Massicotte, 2004). La realización de estudios morfológicos más detallados de la estructura de las micorrizas formadas por diferentes especies de hongos y plantas permitirá entender algunos aspectos fisiológicos fundamentales como el intercambio de nutrimentos.

En el contexto ecológico el conocimiento de los distintos morfotipos de ectomicorrizas, contribuye a la comprensión

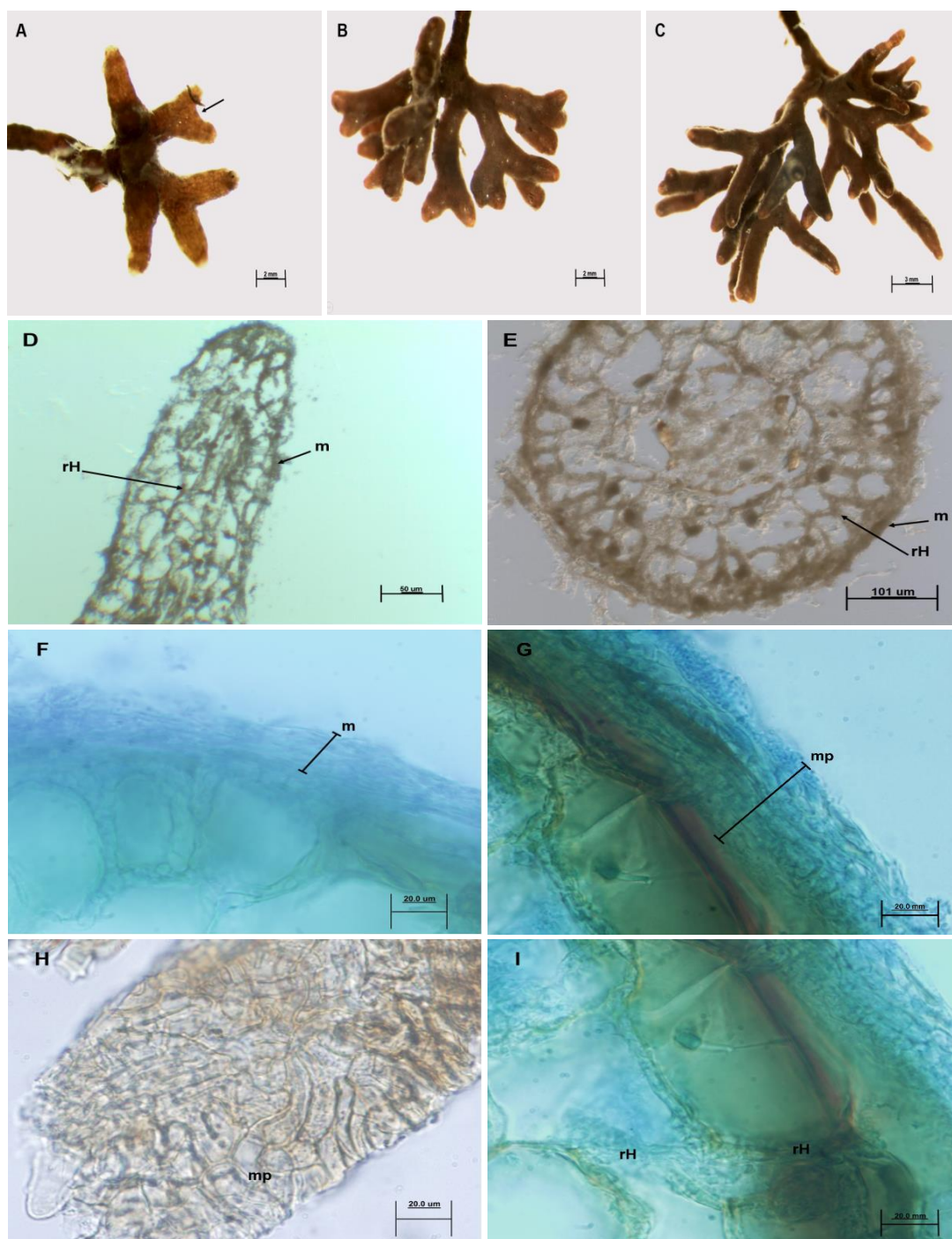


Figura 2. Ectomicorrizaza de *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. A) Etapa juvenil en donde se observa la formación de ramificaciones dicotómicas. B) y C) Etapa madura con una morfología coraloides. D) Corte longitudinal en donde se observa el manto (m) y la red de Hartig (rH). E) Corte transversal de la micorriza que muestra el manto (m) y la red de Hartig (rH). F) Manto (m) compacto de 47.8 μm de grosor. G) y H) Manto de tipo plectenquimatoso (mp) de tipo F de acuerdo con Agerer (1991). I) Red de Hartig (rH) circundando dos capas de células corticales. Se observa coloración café debido a la producción de taninos.

de los procesos de sucesión o recambio de especies de hongos micorrizógenos en el sistema radical del hospedero a lo largo de su ciclo de vida. Estos procesos repercuten en el establecimiento y supervivencia de la planta hospedera

bajo distintas condiciones ambientales (Finlay, 2004; Kernaghan, 2005).

Actualmente numerosas especies de hongos ectomicorrizicos son cultivados en laboratorio y utilizados en mico-

rrizaciones controladas de plantas en vivero. Para ello, es necesario determinar las condiciones y técnicas culturales que permitan la optimización de esta simbiosis hongo-planta. De esta manera, la adecuada selección e identificación de las especies de hongos micorrízicos como simbiosites 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 (Honrubia *et al.*, 1992; Pereira *et al.*, 2007). Dado que existen diferencias morfológicas entre las raíces ectomicorrizadas con diferentes especies de hongos, la caracterización morfológica de las ectomicorrizas es fundamental para un manejo adecuado en vivero de inoculaciones controladas. El presente trabajo contribuye en este sentido, posibilitando la implementación de técnicas silviculturales de inoculación micorrízica controlada con *L. trichodermophora* y *S. tomentosus* para su uso en *P. montezumae* y reforzar de forma adecuada los programas de reforestación en nuestro país.

Agradecimientos

A Francisco Pérez Flores por el apoyo en la realización del trabajo de campo y laboratorio y a Alejandro Kong Luz por la identificación de las especies. La investigación recibió financiamiento por parte del CACyPI-UATx-2014 a los Cuerpos Académicos Biodiversidad y Ecología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Agradecemos a los revisores anónimos por su valiosa contribución para la mejora de este trabajo.

Literatura citada

- Agerer R. 1986. Studies on ectomycorrhizae II. Introducing remarks on characterization and identification. *Mycotaxon* **26**:473-492.
- Agerer R. 1987-1993. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Agerer R. 1990. Studies on ectomycorrhizae XXIV. Ectomycorrhizae of *Chroogomphus helveticus* and *C. rutilus* (Gomphidiaceae, Basidiomycetes) and their relationship to those of *Suillus* and *Rhizopogon*. *Nova Hedwigia* **50**:1-63.
- Agerer R. 1991. Characterization of ectomycorrhiza. En: Norris J.R., Read D.J. y Varma A.K. Eds. *Methods in microbiology*, volume 23: Techniques for the study of mycorrhiza., pp. 25-73, Academic, London.
- Agerer R. 1995. Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas: an attempt towards a natural classification. En: Varma A.K. y Hock B. Eds. *Mycorrhiza: Structure, function, molecular biology and biotechnology*, pp. 685-734, Springer, Berlin.
- Agerer R. y Rambold G. 2004-2015. DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. <www.deemy.de >. Consultada 2 de junio de 2014.
- Brand F. 1988. *Laccaria amethystina*. En: Agerer R. Ed. *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grovet T. y Malajczuck N. Eds. 1996. *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Brundrett M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews* **79**:473-495.
- Buscot F., Munch J.C., Charcosset J.Y., Gardes M., Nehls U. y Hampp R. 2000. Recent advances in exploring physiology and biodiversity of ectomycorrhizas highlight the functioning of these symbioses in ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* **24**:601-614.
- Carrasco-Hernández V., Pérez-Moreno J., Espinosa-Hernández V., Almaraz-Suárez J., Quintero-Lizaola R. y Torres-Aquino M. 2010. Caracterización de micorrizas establecidas entre dos hongos comestibles silvestres y pinos nativos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **1**:567-577.
- Cuvelier J.-J. 1991. Characterization of birch ectomycorrhizae (II): *Laccaria amethystes* and *Russula ochroleuca*. *Belgian Journal of Botany* **124**:195-203.
- Dahlberg A. y Finlay R.D. 1999. *Suillus*. En: Cairney J.W.G. y Chambers S.M. Eds. *Ectomycorrhizal Fungi Key Genera in Profile*, pp. 33-64. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Danielson R.M., Visser S. y Parkinson D. 1984. Production of ectomycorrhizae on container-grown jack pine seedlings. *Canadian Journal of Research* **14**:33-36.
- Finlay R.D. 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist* **18**:91-96.
- Galindo-Flores G., García-Campusano F., Monjarás G.G., y Chávez-Ávila V.M. 2001. Regeneración *in vitro* de *Pseudotsuga macrolepis* Flous a partir de embriones maduros. *Investigación para el Desarrollo Regional*, pp. 165-169, SEP-CONACYT, México D.F.
- Garibay-Origel R., Morales-Marañón E., Domínguez-Gutiérrez M. y Flores-García D. 2013. Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad* **84**:153-169.
- Hernández F.M. 2003. Evaluación de la efectividad e infectividad del inóculo esporal de diferentes hongos ectomicorrizógenos en *Pinus montezumae* y *P. pseudostrobus*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlaxcala. 64 pp.
- Honrubia M., Torres P., Díaz G. y Cano A. 1992. *Manual para micorrizar plantas en viveros forestales*. Proyecto Lucdeme VIII. Monografías no. 54, ICONA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- Horton T.R. y Bruns T.D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* **10**:1855-1871.
- How J.E. 1942. The mycorrhizal relations of larch. III. Mycorrhiza formation in nature. *Annals of Botany* **6**:103-129.
- Ingleby K., Mason P.A., Last F.T. y Fleming L.V. 1990. *Identification of ectomycorrhizas*. Institute of Terrestrial Ecology Research Publication no. 5, HMSO, Edinburgo.
- Jones M.D. y Smith S.E. 2004. Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualism? *Canadian Journal of Botany* **82**: 1089-1109.
- Kernaghan G. 2005. Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia* **49**: 511-520.
- Kottke I. 1986. Charakterisierung und Identifizierung von Mykorrhizen. En: Einsele G. Ed. *Das landschaftsökologische*

- Forschungsprojekt Naturpark Schönbuch. Wasser- und Stoffhaushalt, bio-, geo-, und forstwirtschaftliche Studien in Südwestdeutschland*, pp 463-485. VHC, Weinheim.
- Kropp B.R. y Mueller G.M. 1999. *Laccaria*. En: Cairney J.W.G. y Chambers S.M. Eds. *Ectomycorrhizal Fungi Key genera in Profile*, pp 65-88. Springer-Verlag, Heidelberg.
- López-Curto M.A., Márquez-Guzmán J. y Murguía-Sánchez G. 2005. Técnicas para el Estudio del Desarrollo en Angiospermas. 2ª ed. Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Media Cybernetics Inc., 1993-2002. Image-pro Express version 6.3 for windows 98/NT/ME/2000XP Prof.
- Mleczko P. y Ronikier M. 2007. Features of ectomycorrhizae confirm molecular phylogenetics of *Suillus* (Boletales) rather than carpophore-based systematics: insights from studies on *Suillus variegatus*, *S. plorans* and related species. *Nova Hedwegia* **84**:1-20.
- Muñoz G. J.C. 2003. Inoculación esporal en *Pinus pseudostrobus* y *P. montezumae* con diferentes hongos ectomicorrizógenos, bajo condiciones de vivero. Tesis de Licenciatura, Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, Tlaxcala. 66 pp.
- Nava-Gutiérrez Y. y Hernández-Cuevas L. 2003. Aspectos generales de la asociación micorrizica. En: Estrada-Torres A. y Santiago-Martínez M.G. Eds. *Avances en el Estudio de la Ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México*, pp. 1-10, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala.
- Palfner G. 1994. Charakterisierung und Identifizierung einiger Ektomykorrhizen an Eiche (*Quercus robur* L.) in Slowenien. Diplom Thesis Ludwing-Maximilians Universität München, München.
- Peñuelas R.J.L. y Ocaña B.L. 2000. Cultivo de plantas forestales en contenedor. 2ª. ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación-Mundiprensa, Madrid, España.
- Pereira C.G., Herrera S.J., Machuca H.A. y Sánchez O.M. 2007. Efecto del pH sobre el crecimiento *in vitro* de hongos ectomicorrizicos recolectados de plantaciones de *Pinus radiata*. *Bosque* **28**:215-217.
- Pérez-Moreno J. y Read J.D. 2004. Los hongos ectomicorrizicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* **29**:239-247.
- Peterson R.L. y Massicotte H.B. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany* **82**:1074-1088.
- Samson J. y Fortin J.A. 1988. Structural characterization of *Fuscoboletinus* and *Suillus* ectomycorrhizae synthesized on *Larix laricina*. *Mycologia* **80**:382-392.
- Santiago-Martínez M.G. 2002. Pruebas de crecimiento, descripción e identificación de cultivos de hongos ectomicorrizógenos e inoculación controlada con esporas. Tesis de Doctorado, Doctorado en Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 133 pp.
- Santiago-Martínez G., Estrada-Torres A., Varela L. y Herrera T. 2003. Crecimiento en siete medios nutritivos y síntesis *in vitro* de una cepa de *Laccaria bicolor*. *Agrociencia* **37**:575-584.
- Sylvia D.M. 1999. Mycorrhizal symbiosis. En: Sylvia D.M., Fuhrmann J.J., Hartel P.G. y Zuberer D.A. Eds. *Principles and Applications of Soil Microbiology*, pp. 408-426, Prentice Hall, Nueva Jersey.
- Treu R. 1990a. *Charakterisierung und Identifizierung von Ektomykorrhizen aus dem Nationalpark Berchtesgaden*. Bibliotheca Mycologica no. 134. Cramer, Berlin.
- Treu R. 1990b. *Suillus plorans*. En Agerer R. Ed. *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Treu R. 1990c. *Suillus sibiricus*. En Agerer R. Ed. *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Treu R. 1993a. *Suillus flavus*. En Agerer R. Ed. *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Treu R. 1993b. *Suillus laricinus*. En Agerer R. Ed. *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*, Einhorn-Verlag, Schwäbisch Gmünd.
- Uhl M. 1988. Identifizierung und Charakterisierung von Ektomykorrhizen an *Pinus silvestris* und von Ektomykorrhizen aus der Gattung *Tricholoma*. Dissertation, Ludwing Maximilians Universität München, München.
- Xicohténcatl-Ahuatzin A., Santiago-Martínez G. y Estrada-Torres A. 1998. La ectomicorriza de *Pinus cembroides* y *Suillus tomentosus*. En: Zulueta-Rodríguez R., Escalona-Aguilar M.A. y Trejo-Aguilar D. Eds. *Avances de la Investigación Micorrizica en México*, pp. 260-265, Universidad Veracruzana, Xalapa.

Recibido: 17 de julio de 2014

Aceptado: 10 de octubre de 2014

