**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**

**IMPACTO DEL MANEJO FORESTAL INTENSIVO SOBRE
LA DIVERSIDAD DE LOS HONGOS ECTOMICORRÍZICOS
EN UN BOSQUE DE CONÍFERAS EN LA REGIÓN DE
CHIGNAHUAPAN, PUEBLA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**

PRESENTA

Biól. Ana María Guarneros Hernández

BAJO LA DIRECCIÓN DE

M. en C. Gema L. Galindo Flores

Dr. Hector. S. Luna Zendejas

TUTORES

Dra. Citlalli Castillo Guevara

Dr. Roberto Garibay Orijel

IXTACUIXTLA, TLAXCALA, OCTUBRE DE 2017

El presente proyecto se realizó con apoyo a estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (beca número 584712) en el programa de Maestría en Ciencias en Sistemas del Ambiente del Centro de Investigación en Genética y Ambiente con registro en el Programa Nacional de Posgrado-CONACyT (004056) bajo la codirección de la M. en C. Gema Lilia Galindo Flores y el Dr. Hector Santos Luna Zendejas en los Laboratorios de Micorrizas del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (CICB), Laboratorio de Biología Molecular del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta (CTBC) de la UATx y el Laboratorio de Sistemática Molecular de Hongos Ectomicorrízicos del Instituto de Biología de la UNAM. También se recibió la beca mixta de movilidad nacional del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (291211).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

Código: 505-RGE-04

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE

Publicación: Mayo 2016

MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

Revisión: 01
9001 2015

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

ANA MARÍA GUARNEROS HERNÁNDEZ
CANDIDATO A MCSA
PRESENTE

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de titulación ha revisado el trabajo de investigación titulado: "Impacto del manejo forestal intensivo sobre la diversidad de los hongos ectomicorrizicos en un bosque de coníferas en la región de Chignahuapan, Puebla", realizado bajo la dirección del Dr. Héctor Santos Luna Zendejas y de la M. en C. Gema Lilia Galindo Flores. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

Dr. Oscar Gumersindo Vázquez Cuécuecha

Dr. Héctor Santos Luna Zendejas

Dr. Roberto Garibay Orijel

Dra. Citlalli Castillo Guevara

M. en C. Gema Lilia Galindo Flores

Dra. Aline López López

Dr. Jorge Alberto Rubio Piña

[Handwritten signatures on horizontal lines]

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"
Ixtacuixtla, Tlax., 18 de octubre de 2015

[Handwritten signature of Patricia Limón Huitrón]

MSP. Patricia Limón Huitrón
COORDINADORA DE L
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

c.c.p. Expediente

Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

Esta tesis formó parte del proyecto **“Influencia de la química, morfología y área foliar de tres especies arbóreas sobre la productividad, descomposición y respiración del suelo en bosques templados del centro de México”**. Financiado por: **DGAPA-PAPIIT-UNAM Clave: IN104515** del cual es responsable el Dr. Leopoldo Galicia Sarmiento

Agradecimientos

Agradezco al posgrado en Ciencias en Sistemas del Ambiente por la formación profesional.

Agradezco al financiamiento proporcionado por DGAPA-PAPIIT-UNAM Clave: IN10451 que hizo posible la realización de este trabajo.

Agradezco al CONACYT por la beca número 584712 que me fue otorgada durante mis estudios de maestría y el apoyo económico de becas mixtas 2017 para movilidad nacional (291211).

Doy gracias al Comité del Comisariado Ejidal de Llano Grande por las facilidades y entusiasmo mostrado para la realización de este trabajo.

Agradezco al laboratorio de Biología Molecular del CTBC de la UATx en particular a la Dra. Yendi Navarro Noya por permitirme realizar parte de este trabajo en este laboratorio.

Agradezco al laboratorio de Sistemática Molecular de Hongos Ectomicorrízicos del IB-UNAM en particular al Dr. Roberto Garibay Orijel y la Dra. Noemí Matias Ferrer por su guía y apoyo en la realización de este trabajo.

Agradezco a mi comité tutorial la M. en C. Gema Lilia Galindo Flores, Dr. Hector Santos Luna Zendejas, la Dra. Citlalli Castillo Guevara y el Dr. Roberto Garibay Orijel por que bajo su dirección, apoyo y colaboración, hicieron posible la realización y conclusión de mi maestría.

Agradecimientos personales

A la vida por permitirme realizar cada meta que me he propuesto durante este trayecto y darme la satisfacción de desarrollarme profesionalmente al concluir mi maestría.

Al Centro de Investigación en Genética y Ambiente por permitirme llevar cabo mis estudios de posgrado bajo su cobijo.

A los ejidatarios de Llano Grande por haberme permitido realizar mi trabajo de campo y por el cuidado y compromiso que tienen con su bosque.

Al Dr. Roberto Garibay Orijel por permitir que realizara más de una estancia en su laboratorio, cada una fue una experiencia académica y personal muy gratificante, muchas gracias doctor.

A la Dra Noemí Matias Ferrer, por su ayuda en el procesamiento de las muestras y hacer de cada tarde más amena, gracias Noemí.

A la M. en C. Gema L. Galindo por su dirección, apoyo y cariño durante todos estos años, es una persona muy importante en mi vida, gracias por creer en mí.

A la Dra. Citlalli Castillo Guevara por su dirección, guía, apoyo, cariño y por enseñarme que puedo dar lo mejor de mí en cada paso que doy.

Al Ing. José Luis Cruz Arias por enseñarme los fundamentos del manejo forestal y los recorridos en el ejido de Llano Grande.

Al Dr. Leopoldo Galicia Sarmiento, por confiar en mí para la realización de este trabajo y tener una perspectiva integral del manejo forestal.

Agradezco al laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología, por haber secuenciado las muestras de esta tesis.

Agradezco a cada uno de los miembros de mi jurado, Dr. Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha. Dr. Héctor Santos Luna Zendejas, Dr. Roberto Garibay

Orijel, Dra. Citlalli Castillo Guevara, M. en C. Gema L. Galindo Flores, Dra. Aline López López y Dr. Jorge Alberto Rubio Piña, por sus valiosas observaciones y comentarios para conformar esta tesis.

Agradezco a mi familia por todo el apoyo, cariño, y amor que siempre me han dado, por creer en mí y por su ayuda en las salidas a campo, los amo con todo el corazón, muchas gracias.

Agradezco a mis compañeros de generación Miriam, Alberto, Rogelio, Eduardo, Sinaí, Mercedes, Patricia y Zita, lo dije antes y lo repito, formamos lazos increíbles de amor y amistad, por hacer más ameno el recorrido, los quiero mucho.

A mis compañeros de biología molecular de hongos Azucena, Lorena, Nalle, Naara, Emmanuel, Norberto, porque juntos comenzamos en el camino de la biología molecular de hongos, por tantas tardes de PCR y su valiosa amistad.

A mis compañeros del laboratorio de micorrizas, Eduardo, Brenda, Vianney y Yarelí por los días en el laboratorio que sin ustedes no serían lo mismo.

A mis amigos de toda la vida, Margarita, Elizabeth, Susana, Griselda, Esther, Miguel Ángel, Amado y Alberto, por sus palabras siempre de aliento y sincera amistad, los quiero mucho.

Agradezco a José Mario Torres Servin por su apoyo, amor incondicional y creer en mí por ser siempre entusiasta a aprender más de los hongos y los bosques.

Agradezco a cada una de las personas que permitieron que realizara esta tesis.

Dedicatoria

Dedico esta tesis a todas las personas que tengan respeto y amor por los bosques y los hongos y su maravillosa interacción, las ectomicorrizas.

Dedico esta tesis a mi madre Cipriana Hernández Mozo, la mujer más valiente y fuerte que conozco, porque no conozco a una persona más tenaz y audaz que tu, te amo mamá. A mi padre José Pedro I. Guarneros, a mis hermanos Pedro Rene, Néstor Israel y Rafael, a mi cuñada Thania Teloxa y a mi amado sobrino Axel Said, por todo su amor y apoyo, por acompañarme en cada salida a campo y colecta de muestras, por permitirme compartir con ustedes esta gran aventura. Los amo con todo el corazón.

Dedico esta tesis a la M. en C. Gema L. Galindo Flores y la Dra. Citlalli Castillo Guevara, porque son un ejemplo para mí y sin ustedes no lo habría logrado. Las quiero y admiro mucho.

Dedico esta tesis a los ejidatarios de Llano Grande, porque admiro su compromiso y dedicación con el cuidado del bosque, son un gran ejemplo para México.

Dedico esta tesis José Mario Torres Servin, por su amor y apoyo incondicional por creer en mí siempre y por ser el amor de mi vida TE AMO.

Quizás...

¡Vos sos yo! y ¡yo soy vos!

Somos simbiosis que se eterniza

en la Vía Láctea...

y sin embargo tan independientes,

que tus detalles aun me sorprenden...

Oxwell L-bu

Contenido

RESUMEN	18
ABSTRACT	19
1. Introducción	20
1.1. Hongos micorrízicos	22
1.2. Hongos ectomicorrízicos	24
1.3. Sucesión de hongos ectomicorrízicos	25
1.4. Manejo forestal.....	27
2. Antecedentes.....	32
2.1. Impacto del manejo forestal sobre la diversidad de hongos ectomicorrízicos	32
2.2. Evaluación del impacto del manejo forestal en la diversidad de HECM mediante análisis moleculares	35
3. Justificación	40
4. Objetivos.....	41
4.1. Objetivo general	41
4.1.1. Objetivos específicos.....	41
5. Hipótesis	41
6. Metodología.....	42
6.1. Zona de estudio	42
6.2. Selección de tratamientos silvícolas.....	45
6.3. Muestreo	47
6.4. Procesamiento de Muestras e identificación de morfotipos de ECM	48
6.5. Procesamiento molecular	49
6.6. Identificación molecular de especies.....	52
6.7. Análisis estadísticos	52
6.7.1. Frecuencia de morfotipos por tratamiento del MDS.....	52
6.7.2. Diversidad alfa (α) de HECM	53
6.7.3. Recambio de especies de HECM: Diversidad beta (β).....	53
6.7.4. Relación con las variables estructurales, edáficas, y ambientales	54

7.	Resultados.....	55
7.1.	Identificación de morfotipos.....	55
7.2.	Identificación molecular de especies de HECM	73
7.3.	Estructura de la comunidad de HECM	76
7.3.1.	Riqueza de HECM en los tratamientos del MDS	78
7.4.	Diversidad alfa (α) de HECM en los tratamientos del MDS.....	81
7.5.	Recambio de especies: Diversidad beta (β) de HECM en los tratamientos silvícolas	82
7.6.	Efecto de las variables arbóreas, herbáceas, edáficas y ambientales sobre la riqueza y diversidad de HECM	85
8.	Discusión	88
9.	Conclusión.....	95
10.	Perspectivas	97
11.	Recomendaciones.....	98
12.	Literatura citada.....	99
13.	Anexos	107

Índice de tablas

Tabla I. Principales familias y géneros de HECM.....	25
Tabla II. Ubicación de los SPED en el ejido de Llano Grande.....	46
Tabla III. Fórmula de la reacción maestra para la PCR de la región ITS de DNA fúngico	50
Tabla IV. Valores de referencias para la condición de la diversidad	53
Tabla V. Abundancia de morfotipos de ECM en los tratamientos del MDS.....	55
Tabla VI. Caracterización macroscópica de los morfotipos de las ectomicorrizas	57
Tabla VII. Porcentaje de eficiencia del procesamiento de ECM.....	73
Tabla VIII. Identificación molecular de HECM en el ejido de Llano Grande	74
Tabla IX. Listado de géneros y especies de HECM identificados en los tratamientos del MDS	76
Tabla X. Abundancia de especies de HECM en los tratamientos del MDS.....	78
Tabla XI. Índice de diversidad de Shannon-Wiener y de dominancia de Simpson para HECM en los tratamientos silvícolas.	81
Tabla XII. Valores con diferencias significativas para la prueba de T de Hutchenson aplicada a los índices de diversidad de Shannon-Wiener por tratamientos del MDS.	81
Tabla XIII. Índice de similitud de Jaccard para HECM en el ejido de Llano Grande	82
Tabla XIV. Índice de similitud de Sorensen para HECM en el ejido de Llano Grande.....	83
Tabla XV. Especies fúngicas compartidas en los tratamientos silvícolas del MDS.	84
Tabla XVI. Variables edafológicas, estructurales y ambientales en los SPED'S del ejido de Llano Grande.....	85

Índice de figuras

Figura 1. Tipos de micorriza.....	23
Figura 2. Método de desarrollo silvícola (MDS).....	31
Figura 3. Ubicación del ejido de Llano Grande.....	43
Figura 4. Ubicación de los SPED´s dentro del ejido de Llano Grande	47
Figura 5. Representación esquemática del gen ribosomal 18s rDNA de hongos y regiones ITS.	50
Figura 6. Programa de PCR para la amplificación de la región ITS de DNA fúngico	51
Figura 7. Dendrograma de coeficiente de Jaccard para HECM en los tratamientos del MDS	82
Figura 8. Dendrograma de coeficiente de Sorensen para HECM en los tratamientos del MDS	83
Figura 9. Grafico del análisis de componentes principales	87

Índice de abreviaturas

2ACF: Segundo aclareo

ACP: Análisis de componentes principales

AT: Altura del arbolado

C: Carbón

CD: Cobertura del dosel

CLF: Corta de Liberación Final

CRT: Corta de Regeneración Total

DA: Densidad del arbolado

DN: Diámetro normal

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DR: Densidad de regeneración del arbolado

ECM: Ectomicorriza

H': Diversidad

HAB: Diversidad árboles

HAR: Diversidad arbustos

HECM: Hongos ectomicorrízicos

HHECM: Diversidad hongos ectomicorrízicos

HH: Diversidad de hierbas

ITS: Espaciador Transcrito Interno

Jl: Índice de similitud de Jaccard

MDS: Método de Desarrollo Silvícola

MF: Morfotipo

Mm: Micromolar

mm: Milímetros

msnm: Metros sobre nivel del mar

MOTU: Unidad Taxonomica Operacional Molecular

N: Nitrógeno

No. seq: Número de secuencias

OTU: Unidad Taxonómica Operacional

P: Fosfóro

PC1: Componente 1

PC2: Componente 2

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

pH: Potencial de hidrogeno

pHKCl: Potencial de hidrogeno en cloruro de potasio

P: Porcentaje de fósforo

SA: Riqueza de árboles

RL: Volumen de residuos leñosos

SAR: Riqueza de arbustos

SI: Índice de similitud de Sorensen

SH: Riqueza de hierbas

SHECM: Riqueza hongos ectomicorrízicos

SPED: Sitio permanente de evaluación de la diversidad

T°max: Temperatura máxima

T°med: Temperatura media

T°min: Temperatura mínima

μl: Microlitros

RESUMEN

El método de desarrollo silvícola (MDS) es un plan de aprovechamiento forestal usado en los bosques templados del centro de México. Pero se desconoce si el MDS modifica la diversidad de especies de flora, fauna y hongos de los bosques. En particular, hay poca información que aborde el efecto de este tipo de manejo en las comunidades de hongos ectomicorrízicos (HECM) asociados a los árboles que son aprovechados. El objetivo del trabajo fue evaluar el impacto del MDS sobre la diversidad de HECM en un bosque de coníferas en el ejido de Llano Grande en Chignahuapan, Puebla, México. Esto se logró recolectando muestras de raíces micorrizadas en tres etapas de manejo del MDS y utilizando técnicas de biología molecular, amplificando y secuenciando la región ITS. La asignación taxonómica de las secuencias se hizo utilizando la base de datos de Gen Bank. Se recolectaron 3405 ectomicorrizas que correspondieron a 47 morfotipos, se realizó el análisis molecular de 380 ectomicorrizas obteniendo 67 unidades taxonómicas operacionales moleculares (MOTU's). La comunidad estuvo representada por 12 familias, las más diversas fueron Inocybaceae, Russulaceae y Thelephoraceae. Las especies correspondieron a 23 géneros, los más diversos fueron *Inocybe* (13), *Tomentella* (11) y *Russula* (9). En cuanto al efecto del MDS en la diversidad α de HECM está relacionada con la etapa del ciclo en el MDS. La primera fase en donde se corta todo el arbolado, la diversidad fue baja (1.09) y se incrementó en las siguientes etapas conforme aumentó la edad de los árboles (3.71). La tasa de recambio de especies de HECM es alta, ya que los grados de similitud entre tratamientos silvícolas son bajos (2.3-12.1%). La riqueza y diversidad de HECM se encontró principalmente relacionada con las variables estructurales de la vegetación esto muestra de que la diversidad de HECM, es un buen indicador para evaluar el efecto del MDS para que resulte ser un método sostenible para el aprovechamiento de los bosques templados.

Palabras clave: Ectomicorrizas, diversidad α , diversidad β , ITS, morfotipo.

ABSTRACT

Silvicultural method development (SMD) is a forest management program used in temperate forests of central Mexico. However, it is unknown whether the MDS modifies the species diversity. In particular, the effect of this type of management in the communities of ectomycorrhizal fungi (ECMF) associated to the trees that are harvested. The objective of this work was to evaluate the impact of the MDS on the diversity of ECMF in a conifer forest in the ejido de Llano Grande in Chignahuapan, Puebla, Mexico. This was achieved by collecting samples of mycorrhizal roots in three stages of MDS management and using molecular biology techniques, amplifying and sequencing the ITS region. Taxonomic assignment of the sequences was done using the database GenBank. In Russulaceae total 3405 ectomycorrhizae were collected, corresponding to 47 morphotypes. A molecular analysis of 380 ectomycorrhizae was performed, obtaining 67 molecular operational taxonomic units (MOTU's). The HECM community was represented by 12 families, the most diverse were Inocybaceae, Russulaceae and Thelephoraceae. The species correspond to 23 genera; the most diverse were *Inocybe* (13), *Tomentella* (11) and *Russula* (9). The results indicate that the HECM diversity is related to the cycle stage in the MDS. The first phase where all the trees were cut, the diversity was low (1.09) and increased in the following stages as the age of the trees increased (3.71). The replacement rate of HEC species is high, since the degrees of similarity between silvicultural treatments are low (2.3 -12.1%). The richness and diversity of HECM was mainly related to the structural variables of the vegetation, this shows that the diversity of HECM, is an indicator to evaluate the effect of MDS to be a sustainable method for the use of temperate forests.

Key words: Ectomycorrhizae, α diversity, β diversity, ITS, morphotypes.

1. Introducción

Los bosques boreales y templados del mundo son los principales proveedores de recursos forestales para innumerables industrias, entre las que se incluyen aquellas implicadas en el procesamiento de la madera, en la conversión de la biomasa en energía y otras proveedoras de productos no madereros (Toribio *et al.*, 2005). Históricamente, los aprovechamientos forestales han tenido un carácter extractivo con el objetivo de obtener productos maderables para satisfacer las demandas del mercado sin considerar la implementación de medidas específicas de manejo para conservar la biodiversidad (Vargas-Larreta, 2013), particularmente de aquellos grupos funcionales del suelo que son indispensables en la dinámica y establecimiento de ecosistemas forestales. Estos grupos apoyan a los servicios del ecosistema, contribuyendo al mantenimiento y a la productividad de los mismos, por su influencia en la calidad y salud del ecosistema.

Un grupo importante para el mantenimiento de los bosques templados son los hongos ectomicorrízicos, que forman asociaciones de mutualismo con especies de coníferas que son ampliamente aprovechadas en los bosques templados. El papel de los HECM, es formar la asociación mutualista conocida como ectomicorriza (ECM).

La función de la ECM es mejorar la absorción de elementos esenciales, principalmente nitrógeno, fósforo y agua (Heijden *et al.*, 2015); la protección contra patógenos y proporcionar a la planta más tolerancia al estrés ambiental, lo que determina en gran medida, la conservación y el mantenimiento ecológico de las comunidades forestales (Quiñonez-Martínez *et al.*, 2008, Tedersoo *et al.*, 2010, Goldmann *et al.*, 2015, Jardel-Peláez, 2015).

Asimismo, las ectomicorrizas intervienen directamente en las relaciones de competencia que se establecen entre las plantas por la captación de nutrientes y agua. Por un lado, son capaces de movilizar y traslocar al vegetal elementos nutritivos que de otra forma le serían inaccesibles y, por otro, a través de los

cordones miceliares y los rizomorfos de las ECM se puede producir una transferencia de elementos minerales entre árboles vecinos.

La función de las ectomicorrizas es significativa en los ecosistemas forestales, además es relevante el papel que desempeñan las especies de hongos con los hospederos para el establecimiento de las plántulas, crecimiento de los árboles e interconexiones entre las raíces. Todo ello, en conjunto influye de manera importante en la transferencia de nutrientes en el suelo, mantenimiento del bosque y regulación de la coexistencia de diferentes elementos de la comunidad vegetal y fúngica (Heijden *et al.* 2015). Esta interconexión subterránea a través del simbionte fúngico actuaría como un factor equilibrador del ecosistema (Camargo-Ricalde *et al.*, 2012).

Con el desarrollo de las técnicas de biología molecular, se ha avanzado en el reconocimiento del hongo (micobionte) y de la planta (fitobionte) involucrados en la simbiosis a nivel de raíz, y se ha generado información valiosa basada en características morfológicas y anatómicas de las ectomicorrizas así como con datos moleculares (Agerer, 1991; Agerer y Rambold, 2004–2015; Heijden *et al.*, 2015).

Actualmente se tienen registradas alrededor de 6,000 especies de HECM relacionados con cerca de 25,000 especies de plantas pertenecientes a 336 familias. No obstante, esto representa una pequeña fracción dentro de los supuestos 220,000 a 420,000 especies de plantas que habitan el planeta, con los aproximadamente 1,500,000 especies de hongos, donde queda incluido un alto número de especies de plantas y hongos hipotéticamente micorrízicos aún no investigados (Tedersoo *et al.*, 2012). Por lo que la utilización de métodos moleculares es una herramienta valiosa para estimar el impacto del manejo forestal intensivo sobre diversidad de HECM en bosques templados.

1.1. Hongos micorrízicos

Los hongos micorrízicos establecen asociaciones simbióticas mutualistas con las plantas, formando las denominadas micorrizas. Las micorrizas (del griego *myces*, hongo y *rhiza*, raíz) representan la asociación entre algunos hongos (micobiontes) y las raíces de las plantas (fitobiontes).

El término “micorriza” fue acuñado por Frank, patólogo forestal alemán, en 1885, al estudiar las raíces de algunos árboles forestales, las micorrizas en términos funcionales y estructurales, como “órganos de absorción dobles que se forman cuando los hongos simbiontes viven dentro de los órganos de absorción sanos (raíces, rizomas o talos) de las plantas terrestres, acuáticas o epífitas”. En esta asociación, la planta le proporciona al hongo carbohidratos (azúcares, producto de su fotosíntesis) y un microhábitat para completar su ciclo de vida; mientras que el hongo, a su vez, le permite a la planta una mejor captación de agua y nutrientes minerales con baja disponibilidad en el suelo (principalmente fósforo), así como defensas contra patógenos. Ambos, hongo y planta, salen mutuamente beneficiados (Molina y Trappe, 1994).

Esta asociación resulta ser de gran importancia, debido al papel que desempeñan, tanto en ecosistemas naturales, como en los sistemas biológicos creados por el hombre (Cabo, 2012). Peterson *et al.*, (2004) proponen una clasificación de las micorrizas basada en las características morfológicas de la colonización y en los taxones de los simbiontes, distinguiendo seis tipos: ectomicorrizas, arbusculares, arbutoides, monotropoides, ericoides y orquidoides (Figura 1).

Figura 1. Tipos de micorriza. Tomado y modificado de Selosse y Le Tacon (1998).

↳

Sin embargo, habitualmente, se consideran dos grandes grupos de micorrizas: ectomicorrizas y endomicorrizas. En las primeras, las hifas de los hongos recubren las paredes de las células de la raíz de los vegetales sin penetrar en su interior, mientras que en las segundas, las hifas invaden el interior de las células de la raíz (Heijden *et al.*, 2015). Entre el 85 % y el 95 % (Trappe, 1977; Trappe, 1987, Hawksworth *et al.*, 1995) de las especies de plantas vasculares forman micorrizas. Sin embargo, sólo el 2% dichas plantas establecen asociaciones de tipo ectomicorrízico (Brundrett, 2009).

1.2. Hongos ectomicorrízicos

La simbiosis ectomicorrízica es un componente esencial de la mayoría de comunidades forestales, ya que las especies vegetales dominantes en bosques de coníferas en regiones alpinas y boreales, en muchos bosques de ecosistemas templados y mediterráneos, en grandes áreas tropicales y subtropicales son especies arbóreas ectomicorrízicas. Para muchos árboles, tales como los pertenecientes a las familias Pinaceae, Fagaceae y Betulaceae, está comprobado que su crecimiento y supervivencia están determinados por la colonización de hongos ectomicorrízicos (Smith y Read 1997). Estos simbioses fúngicos juegan un papel crucial en la salud de los árboles, favoreciendo la adquisición de nutrientes minerales como el N y P, mejorando la captación de agua, mediando la respuesta de sus hospederos a factores de estrés como la sequía, aumentando la resistencia frente a los patógenos e influenciando la dinámica de los organismos epigeos y los procesos del ecosistema como conjunto (Heijden *et al.*, 2015). Por su parte, los hospederos autótrofos proporcionan carbohidratos a los simbioses heterótrofos, necesarios para su desarrollo y supervivencia (Finlay, 2004). Dentro de la amplia diversidad de géneros que conforman el reino fungí una considerable cantidad de ellos son ectomicorrízicos (Tabla I), llegándose a estimar que existen más de 6,000 especies de HECM a nivel mundial (Molina y Trappe, 1992).

Gran parte de las especies de HECM producen cuerpos fructíferos conspicuos y visibles a simple vista que hasta mediados de la década de 1990 eran usados para estudiar la estructura de las comunidades de los HECM. Sin embargo, el estudiar únicamente los esporomas de los HECM conlleva una serie de limitantes, como la restricción de las evaluaciones a la temporada de lluvias y a las especies visibles durante los muestreos, lo cual implica dejar fuera especies ectomicorrízicas de hábito hipogeo y las especies que no producen estructuras macroscópicas (Schmit y Lodge, 2005). Esto aunado al desarrollo de las herramientas moleculares y los recientes estudios que demuestran la pobre correspondencia entre la composición de especies de esporomas y los hongos que colonizan las raíces de las plantas provocó que surgieran dudas sobre la

validez de los estudios que describen la estructura de una comunidad fúngica basándose en el muestreo de esporomas (Taylor, 2002, Campos-López, 2015).

Tabla I. Principales familias y géneros de HECM. Modificada de Kirk *et al.*, (2008).

Clase	Orden	Familia	Género		
Ascomycetes	Elaphomycetales	Elaphomycetaceae	<i>Elaphomyces</i> <i>Cenococcum</i>		
		Leotiales	Geoglassaceae	<i>Cudonia</i> <i>Geoglossum</i> <i>Spathularia</i> <i>Trichoglossum</i>	
	Leotiaceae		<i>Leotia</i>		
	Pezizales		Balsamiaceae	<i>Balsamia</i>	
		Helvellaceae	<i>Gyromitra</i> <i>Helvella</i>		
			<i>Hydnotrya</i>		
		Otideaceae	<i>Geopora</i> <i>Humaria</i>		
	Basidimycetes	Agaricales	Pezizaceae	<i>Sarcosphaera</i>	
			Terfeziaceae	<i>Terfezia</i>	
			Amanitaceae	<i>Amanita</i> <i>Limacella</i>	
				Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i> <i>Hebeloma</i> <i>Inocybe</i> <i>Naucaria</i> <i>Rozites</i>
					Entolomataceae
			Tricholomataceae		<i>Floccularia</i> <i>Hydnangium</i> <i>Laccaria</i> <i>Tricoloma</i>
					Boletales
Suillaceae				<i>Suillus</i>	
Gomphidiaceae			<i>Chroogomphus</i> <i>Gomphidius</i>		
			Gyrodontaceae	<i>Gyrodon</i> <i>Gyroporus</i>	
	Rhizopogonaceae	<i>Rhizopogon</i>			
Strobilomycetaceae	<i>Chalciporus</i>				

1.3. Sucesión de hongos ectomicorrízicos

La sucesión, definida como el cambio dirigido en la composición, abundancia relativa y distribución espacial de las especies de una comunidad, puede ser aplicada tanto a plantas como a hongos. Del mismo modo que se producen

estadios sucesionales en las comunidades vegetales, también ocurre con las los HECM asociados, habiéndose descrito cambios importantes en la estructura de la comunidad fúngica durante el desarrollo de una plantación forestal (Fernández-Toirán *et al.*, 2006, Martínez-Peña, 2008, Parladé *et al.*, 2017). Los cambios que ocurren en el suelo provocan variaciones, en el nivel de nutrimentos de las raíces, en la temperatura, la capacidad de retención de agua y la porosidad (Jones *et al.*, 2004). Todos estos cambios tienen una influencia notable sobre los organismos del suelo, provocando variaciones en la abundancia y diversidad fúngica (Martínez-Peña, 2008).

La comunidad de hongos ectomicorrízicos asociados a una comunidad forestal en su fase inicial, se suele caracterizar por una pequeña selección de especies capaces de establecer simbiosis con un amplio espectro de hospedantes. Estos hongos llamados pioneros (early seral fungi), pertenecen sobre todo a los géneros *Hebeloma*, *Inocybe*, *Laccaria*, *Thelephora*, *Paxillus*, *Suillus*, *Scleroderma*, *Pisolithus*, *Tuber*. Se trata de especies de estrategia (r), presentan cuerpos fructíferos pequeños y se desarrollan en los primeros años bajo árboles jóvenes, los cuerpos fructíferos y las ectomicorrizas son visibles cerca de la periferia del sistema radicular, colonizan suelos pobres en materia orgánica, resisten condiciones ambientales adversas, presentan una baja demanda de azúcar para el crecimiento micelial, la colonización no se ve afectada negativamente por un bajo contenido de fósforo en el suelo, presentan propágulos y esporas de resistencias en ausencia de hospederos (Deacon, 1992, Martínez-Peña, 2008, Campos-López, 2015).

Una vez que la estación forestal madura, la comunidad ectomicorrízica se diversifica en cuanto al rango de especies, pero también hay una tendencia al aumento de su especificidad en la elección de los hospedantes. Predominan géneros como *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Cortinarius*, *Lactarius*, *Russula*, *Leccinum* que representan a especies de estrategia (k), los cuerpos fructíferos presentan ciclos de vida largos, los cuerpos fructíferos y las ectomicorrizas se

observan principalmente en las zonas radicales más antiguas, la colonización es a partir de esporas o micelios añadidos al suelo, presentan poca persistencia en suelos pobres de nutrimentos, tienen una alta demanda de azúcar para el crecimiento micelial, la colonización se ve afectada negativamente por un bajo contenido de fósforo en el suelo y presentan poca resistencia a condiciones ambientales adversas (Deacon y Fleming, 1992, Martínez-Peña, 2008. Campos-López, 2015).

1.4. Manejo forestal

El manejo forestal es el proceso que comprende el conjunto de acciones y procedimientos que tienen por objeto la ordenación, el cultivo, la protección, la conservación, la restauración y el aprovechamiento de los recursos y servicios ambientales de un ecosistema forestal, considerando los principios ecológicos, respetando la integralidad funcional e interdependencia de recursos y sin que merme la capacidad productiva de los ecosistemas y recursos existentes en la misma (LGDFS, D.O.F. 2012).

A principios de los años 80 en México, se estableció el Método Mexicano de Ordenación de Bosques Irregulares (MMOBI) que se basa en la corta selectiva, una intensidad de corta variable según el incremento corriente de volumen de cada predio o rodal y un ciclo de corta fijo, respetando la intensidad máxima de corta 30-40% de las existencias y el diámetro mínimo de corta (Hernández-Salas, 2014).

La corta selectiva no es adecuada para la silvicultura de especies intolerantes a la sombra como en bosques densos de pino y en masas mezcladas donde las especies intolerantes, como muchos encinos y latifoliadas, tienden a ocupar los claros abiertos por la extracción de los pinos (Jardel, 2012). La aplicación del MMOBI produjo una reducción de las existencias de pino y su reemplazo por los encinos y las latifoliadas o la formación de rodales con pobre crecimiento, debido a que se estaban dejando los árboles suprimidos que no respondían bien a la

liberación de la competencia con los árboles dominantes que eran los que se estaban cortando (Hernández-Salas, 2014).

Ante las cortas intensivas que se realizaban en el MMOBI apareció como alternativa de manejo de los bosques de coníferas el Método de Desarrollo Silvícola (MDS) (Figura 2), como respuesta a la necesidad de incrementar la producción forestal para satisfacer una demanda nacional creciente de madera, así como una alternativa de manejo del bosque que realmente atienda su cultivo (Santillán, 1986). En este sistema se tratan de establecer masas regulares y se aplican varias cortas de aclareo en la etapa de crecimiento rápido del bosque y al final del turno se aplica una corta intensiva llamada “Corta de regeneración” La corta de regeneración en la cual está basada el MDS, es un proceso en el cual la masa forestal existente se sustituye por una nueva. Los métodos de regeneración son procedimientos ordenados que incluyen la corta parcial o total de la masa forestal existente, y el establecimiento de una nueva (Hernández-Salas, 2014).

Al implementar la corta de regeneración se puede tener el control sobre ciertos parámetros que influyen en la calidad de la madera como son:

1. Regular el microclima del rodal.
2. Regular la competencia por agua, luz y nutrimentos entre los árboles.
3. Controlar la densidad de las masas forestales y favorecer el crecimiento y desarrollo de un grupo de árboles selectos.
4. Controlar la productividad del sitio.
5. Controlar la composición de la masa forestal.
6. Alterar las condiciones ambientales para favorecer o propiciar el proceso de reproducción natural de la masa forestal.

La corta de regeneración tiene dos variantes la primera; “Corta de regeneración con árboles padre” este tratamiento consiste en la remoción de las masas maduras en una sola corta, con excepción de algunos árboles aislados o en grupos “llamados árboles padres” o “árboles semilleros” que se dejan en pie para

asegurar el abastecimiento de semilla y lograr la regeneración natural, después de la cual se cortan y rara vez se dejan en pie (Hernández-Salas, 2014). Los árboles padres que se eligen son aquellos con características fenotípicas deseables según los objetivos del aprovechamiento. En general los árboles padres deben tener las siguientes características fenotípicas:

- Deben formar parte del estrato dominante o codominante.
- Los árboles padres deben estar ser maduros y producir semilla.
- Deben tener un fuste recto y sin bifurcaciones.
- Copa bien desarrollada pero reducida.
- Ramas cortas e insertadas en ángulo recto.
- Capas de follaje abierto.
- Libre de plagas y enfermedades.
- Un sistema radical (radicular) bien desarrollado y ser resistente al viento.
- Independientemente de la variante, los árboles padres deben estar bien distribuidos sobre el área de corta.

En éste método se aplican dos cortas: La principal o de regeneración donde se elimina el 60 o 80 % de la masa y la corta de liberación que es el periodo de regeneración natural que va de 5 a 15 años, donde se elimina el 40 o 20 % restante (árboles padres).

La segunda variante es la corta total o matarraza que consiste en la remoción completa de las masas forestales que van llegando al final del turno en una sola corta y regeneración natural o artificial. En este caso la nueva masa forestal puede tener su origen de la semilla de los árboles cortados o de los árboles de rodales adyacentes, o bien de siembra directa o de plantaciones (Hernández-Salas, 2014).

En este tipo de corta, los factores que más se toman en cuenta antes de la corta, son la época de maduración de los frutos y la dirección del viento, ya que el abastecimiento de semilla es algo fundamental para asegurar la regeneración. Por ello la corta debe coincidir con un buen año semillero. Adicionalmente los rodales

se distribuyen por todo el bosque, tratando de que siempre deben estar contiguos a rodales con árboles que producen semillas. En el caso de la variante en fajas, estas deben ser perpendiculares a la dirección del viento a fin de favorecer el abastecimiento de semillas. Este método se puede aplicar en bosques coetáneos o multiecoetáneos, pero la regeneración siempre es coetánea (Hernández- Díaz, *et al.*, 2008).

Siendo esta práctica la que determina la dinámica y crecimiento de la masa forestal que es aprovechada en el tiempo del turno de corta entre tratamientos silvícolas en un sistema de manejo forestal de tipo intensivo, el cual influye en la dinámica de las comunidades microbianas y fúngicas del suelo forestal.

Método de Desarrollo Silvícola (MDS)

Figura 2. Método de Desarrollo Silvícola (MDS). Corta de Regeneración Total; se elimina el arbolado mediante corta matarraza, Regeneración artificial; se realiza una reforestación con plántulas producidas localmente. Corta de liberación; se eliminan árboles padre, primer, segundo y tercer aclareo; limpieza de rodales mediante podas y derribe de árboles que no cumplen características comerciales.

2. Antecedentes

2.1. Impacto del manejo forestal sobre la diversidad de hongos ectomicorrízicos

Los suelos, son hábitat de microorganismos, incluidos los hongos, los cuales proporcionan muchas funciones a los ecosistemas forestales y desempeñan un papel importante en la descomposición y reciclaje de nutrientes, los principales grupos de hongos son los saprobios y los hongos formadores de ectomicorriza (ECM) (Deacon, 2009).

Los árboles, como uno de los elementos principales en los ecosistemas forestales, tienden a influir en la comunidad de hongos ectomicorrízicos y saprobios, ya que influyen en la regulación de la temperatura del suelo, la humedad, estructura de la vegetación del sotobosque (Gömöryová *et al.*, 2013) y son determinantes en la arquitectura de las raíces y los patrones de exudación (Alekklett y Hart, 2013; Bakker *et al.*, 2014), también impactan en las concentraciones de nutrientes en el suelo (Jones *et al.*, 2004) y pH (Hartmann *et al.*, 2008), todo esto en conjunto afecta directamente a la composición de la comunidad de hongos en el suelo forestal.

El manejo forestal, para la producción de madera, pueden cambiar la composición original de un bosque a través de la eliminación y / o sustitución de las especies de árboles, y mediante la alteración de la estructura de clases de edad, la exportación de biomasa y modificando la proporción de madera muerta (Paillet *et al.*, 2010). Tales cambios inician una serie de modificaciones en los factores bióticos y abióticos, que influye por encima y por abajo del suelo (Paillet *et al.* 2010), entre los que destacan las comunidades de grupos funcionales de los bosques templados.

En respuesta a las prácticas de gestión forestal, se altera la estructura de la vegetación y del suelo afectando a las comunidades microbianas y fúngicas presentes en el suelo forestal. Sin embargo, es poco lo que se sabe sobre el efecto de los regímenes de manejo forestal en el suelo, y en las comunidades de

hongos en los bosques templados (Lang *et al.*, 2011; Teste *et al.*, 2012; Goldmann *et al.*, 2015; Urbanová *et al.*, 2015,).

La implementación del manejo forestal, trae consecuencias sobre la dinámica y diversidad de la asociación ectomicorrízica en los ecosistemas forestales, no obstante, los estudios al respecto aún son escasos en México y el mundo. La mayoría de los estudios que se han hecho evalúan la diversidad y producción de esporomas de hongos ectomicorrízicos y saprobios en sistemas forestales bajo algún tratamiento silvícola. En el caso particular de México, las investigaciones sobre el impacto que tienen las prácticas silvícolas sobre la diversidad de esporomas de hongos ectomicorrízicos concluyen que hay un efecto negativo sobre la composición de la comunidad fúngica.

Valdés-Córdoba y colaboradores (2003) evaluaron tres masas de *Pinus oaxacana* en Oaxaca, México cuyo objetivo fue determinar si existía una regeneración del pinar, la vegetación del sotobosque, y la producción de esporomas ectomicorrízicos cinco años después de la aplicación de tratamientos silvícolas. La estructura de la comunidad de HECM fue evaluada mediante la identificación morfoanatómica de los esporomas y esclerocios. La abundancia y la riqueza de los hongos HECM no difirieron entre los diferentes sitios, pero la composición de especies fue diferente. *Cenococcum geophilum*, *Laccaria laccata*, *Russula emetica* y las especies *Lactarius chrysorrheus* se encontraron en los tres sitios, aunque, el número de esporomas de *L. laccata* disminuyó con el aumento de la perturbación tras aplicar un tratamiento silvícola. Los esporomas de *Clavariadelphus truncatus*, *Craterellus fallax*, *Helvella crispa*, *Hydnum repandum* se encontraron sólo en el sitio control, y *Amanita gemmata*, *Lactarius chrysorrheus*, *L. volemus* sólo en los sitios tratados.

Por otra parte, Villanueva-Jiménez y colaboradores (2006) evaluaron la diversidad del género *Amanita* en dos áreas con diferente condición silvícola en Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México. Ellos obtuvieron un total de 107 ejemplares que correspondieron a 36 especies, de las cuales 21 pertenecieron al subgénero

Amanita y 15 al subgénero *Lepidella*. Catorce fueron nuevos registros para el estado de Oaxaca y 19 para la comunidad de Ixtlán en particular. La abundancia de las especies estuvo correlacionada con la precipitación y condiciones ecológicas de ambas áreas, enmarcando una pérdida de la diversidad fúngica tras la corta selectiva de especies de interés forestal.

Si bien estos estudios han sido útiles para conocer la diversidad de esporomas de hongos ectomicorrízicos en la comunidad de Ixtlán de Juárez, Oaxaca, ambos estudios sólo se enfocaron en la evaluación de la diversidad mediante esporomas con el fin de lograr la certificación forestal del Estado, desconociendo si la asociación ectomicorrízica se ve afectada por la intervención silvícola.

Los estudios para evaluar el efecto de tratamientos silvícolas sobre las poblaciones fúngicas implican largos periodos de estudio, esto con fin de establecer modelos de manejo forestal que consideren las asociaciones simbióticas entre árboles y hongos (Martínez-Peña, 2008).

En México estos estudios aún no se han realizado, sin embargo, en países europeos la dinámica fúngica es de amplio interés en bosques bajo manejo forestal. Martínez-Peña (2008) estudió la producción otoñal de esporomas de hongos macroscópicos epigeos en plantaciones bajo ordenamiento forestal de *Pinus sylvestris* del Sistema Ibérico Norte (Soria) en España con el objetivo de obtener criterios básicos de gestión forestal para la conservación de la diversidad y la mejora de la producción de estas especies de gran importancia para el funcionamiento del bosque y desarrollo socioeconómico de las comunidades rurales. Se registró un total de 119 taxa de macromicetos epigeos, de los que el 60.5% fueron micorrízicos y el 39.5% saprobios. La producción y diversidad de esporomas micorrízicos registró un descenso significativo tras la corta de regeneración, recuperándose entre los 16-30 años posteriores a niveles no significativamente diferentes de los obtenidos en plantaciones maduras. Los esporomas saprobios, no mostraron diferencias significativas con respecto a la

edad del arbolado, en el contexto de gestión forestal de las plantaciones estudiadas.

Por otra parte, Cabo (2012) estudió la influencia de la edad de una plantación forestal bajo ordenamiento forestal de *Pinus pinaster* en la producción de hongos silvestres comestibles en Soria, España con el objetivo de conocer la estructura de la comunidad fúngica, su dinámica y la producción de esporomas de hongos comestibles incluidos los micorrízicos. Mediante la aplicación de un muestreo aleatorio estratificado en función de la edad del arbolado, se establecieron estableció 21 parcelas de 150 m², por clase de edad del arbolado. Se registraron un total de 153 especies pertenecientes a 56 géneros, de éstos, el 48.2 % fueron especies micorrízicas, el 48.2 % especies saprobias y el 3.6 % especies parásitas. La producción de esporomas comestibles y micorrízicos mostró un descenso importante durante los 10 años posteriores a la corta de regeneración, mientras que en edades maduras del arbolado se presentó mayor producción de especies de hongos comestibles y micorrízicos y en las clases posteriores hubo un descenso en la producción de esporomas.

Tanto Martínez-Peña (2008) como Cabo (2012) concluyeron que hay un efecto sobre la productividad y sucesión fúngica en plantaciones forestales bajo un manejo forestal intensivo. Sin embargo, al igual que en México, estos estudios se centran en esporomas, desconociéndose si hay un efecto sobre las ectomicorrizas que se forman entre árboles y hongos a lo largo de un ciclo de 50 años del método de desarrollo silvícola.

2.2. Evaluación del impacto del manejo forestal en la diversidad de HECM mediante análisis moleculares

El estudio de los esporomas que fructifican y la producción de esporomas, no refleja la estructura micorrízica existente en el suelo. Por este motivo, se desarrollaron criterios morfológicos para identificar los hongos a nivel de sus micorrizas. 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 permite la identificación macroscópica de los tipos ectomicorrízicos a nivel de género (Galindo-Flores, 2015), sin embargo, no permiten identificar a nivel especie los HECM involucrados en la asociación (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004).

Para evaluar la biodiversidad de los hongos es necesario hacer primero su identificación de especie (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004). En los últimos años el desarrollo de las herramientas moleculares ha permitido conocer la estructura, dinámica y variabilidad genética de la población fúngica de HECM en su hábitat, la herramienta más útil para el estudio de las comunidades ha sido la utilización de código de barras genético; siendo la región del interespaciador transcrito interno (ITS) el marcador molecular específico para hongos y lograr la identificación de especies de interés (Gardes *et al.*, 1991). Esta región ha sido analizada con el par de iniciadores ITS1F e ITS4 (Bruns y Gardes, 1993); estos iniciadores fueron diseñados para amplificar el gene 5.8S y las regiones ITS 1 e ITS2 de HECM (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004).

Considerando que la ectomicorriza, es la asociación de HECM con las raíces del fitobionte, esta se encuentra bajo el suelo forestal, por lo que no es posible definir fácilmente los HECM asociados a las raíces (Álvarez-Manjarres, 2014). De esta manera, el estudio de la diversidad de hongos mediante análisis moleculares es de gran valor para la identificación no sólo de esporomas, incluso de la propia ectomicorriza (Gardes *et al.*, 1991; Henrion *et al.*, 1992; Bruns y Gardes, 1993).

Sin embargo, son pocas las investigaciones enfocadas a la evaluación del impacto que tiene el manejo forestal sobre la diversidad de HECM asociados a raíces mediante técnicas moleculares. Siendo países con una importante demanda de recursos forestales los pioneros en realizar las primeras exploraciones del posible impacto del manejo forestal y los efectos del manejo forestal sobre la diversidad biológica del suelo mediante la utilización de técnicas de biología molecular.

Hartmann y colaboradores (2012) evaluaron los cambios en la estructura de la comunidad microbiana del suelo resultante de perturbaciones por el manejo forestal en seis sitios en La Columbia Británica en Canadá, obtuvieron 306 muestras de suelo a las cuales extrajeron el DNA genómico y mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplificaron la región ITS utilizando la combinación de primers ITS3 e ITS4 los productos de la PCR fueron secuenciados mediante pirosecuenciación 454. Obtuvieron 2 224 307 secuencias de hongos y la comunidad fúngica fue dominada por el phylum Ascomycota (64.0 %) y Basidiomycota (31.1%), y en menor proporción Zygomycota y Chytridiomycota (2.2%). El 51% de las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU's) de hongos, se identificaron a nivel de género. Los cinco géneros más abundantes fueron *Oidiodendron* (10.5%), *Wilcoxina* (6.5%), *Piloderma* (4.2%), *Suillus* (4.0%) e *Hygrocybe* (3.7%). El 58% del total de pyrotags fúngicos, fueron identificados a nivel de especie. Las cinco especies más abundantes de hongos fueron *Wilcoxina rehmii* (6.4%), *Oidiodendron chlamydosporicum* (6.2%), *Piloderma fallax* (3.3%), *Hygrocybe conica* (3.0%) y *Suillus brevipes* (2.1%). En cuanto al efecto del manejo forestal sobre la comunidad fúngica, la remoción de materia orgánica y la compactación del suelo tuvieron un efecto sobre la estructura de la comunidad fúngica, reportando que el aprovechamiento forestal provoca cambios ambientales y altera las comunidades microbianas incluso diez años después de aplicar la corta de regeneración; sin embargo, reportan que las comunidades fúngicas del suelo poseen un alto potencial de resiliencia o tolerancia después de la cosecha intensiva del arbolado y al restablecerse las condiciones del arbolado.

Lim y Berbee (2013) evaluaron la comunidad de HECM en cinco bosques de coníferas en Vancouver, Canadá. De cada bosque evaluaron tres parcelas con cuatro muestras de suelo por parcela. Evaluaron tres bosques con 24 años de edad donde aplicaron una corta de regeneración y que fueron fertilizados, los tratamientos fueron (control, CH) fertilizado con nitrógeno (N CH) y fertilizado con nitrógeno y fósforo (N+P CH). Los dos restantes diferían en edad, un bosque de coníferas con 300 años de edad (CH), otro con de 100 años de edad (HA), de las

muestras de suelo extrajeron el DNA genómico y mediante PCR amplificaron la región ITS utilizando la combinación de primers ITS1F e ITS4. Obtuvieron 147 OTU's de hongos ectomicorrízicos. La diversidad fúngica de ectomicorrizas fue uniformemente alta en los cinco sitios, sin embargo, fue más alta en las parcelas HA y más baja en las fertilizadas y no fertilizadas (CH). La composición de la comunidad de HECM fue diferente entre sitios y desde la perspectiva del manejo forestal, no encontraron evidencia de una reducción a largo plazo en la riqueza de especies pero si una evidencia limitada de que hay una ganancia de especies características en los bosques más antiguos, esto sustentado a otros factores como son: la productividad del árbol y la concentración de N, el follaje y el volumen de residuos, los cuales pueden influir en las especies de ectomicorrizas que se establecen en sitios particulares, por lo que la comunidad de HECM respondió a otros factores estructurales de la vegetación y ambientales como las especies dominantes de árboles, la humedad y productividad foliar.

Goldman y colaboradores (2015) analizaron el impacto de cuatro estrategias de manejo forestal sobre la diversidad fúngica del suelo y la composición de la comunidad de hongos en tres localidades de Alemania. La composición de vegetación fue en bosques *Fagus sylvatica* L. con un edad aproximada de 30 años (B30) y con una edad de aproximadamente 70 años (B70), un bosque no manejado y un bosque de *Pinus sylvestris* L y *Picea abies* Karst, establecieron 48 parcelas experimentales de las cuales tomaron 14 núcleos de suelo de los cuales extrajeron el DNA ribosomal y mediante PCR amplificaron la región ITS utilizando la combinación de primers ITS1F e ITS4, los productos de la PCR fueron secuenciados mediante pyrosecuenciación Roche 454, obtuvieron 5333 OTU's de hongos. La asignación taxonómica mostró que el phylum más diverso fue Basidiomycota, con 858 OTU's (53%), seguido de Ascomycota (405 OTU's, 25%), Zygomycota (68 OTU's, 4.2%), Chytridiomycota (10 OTU's, 0.6%), Glomeromycota (10 OTU's, 0.6%) de acuerdo a la función ecológica, el 38.1% (618 OTU's) fueron HECM y 18.9% (306 OTU) de hongos no mutualistas (saprobios, parásitos y patógenos, así como endófitos). El efecto de la gestión

forestal en OTU's de hongos fue evaluado mediante el índice de Diversidad de Shannon, ellos reportaron que la riqueza y diversidad fúngica estaban significativamente influenciadas por el tipo de manejo forestal, pero no por el tipo de vegetación, en el caso particular de los HECM, la diversidad fue menor en los bosques de coníferas que han sido intervenidos a los que la edad del arbolado supera los 70 años, mientras que el bosque no intervenido mostró la diversidad más alta para la comunidad de hongos en el suelo.

Con base en lo anterior la utilización de las herramientas moleculares para identificar la estructura de la comunidad fúngica de HECM en estos estudios, revelan que hay un efecto del manejo forestal sobre la riqueza y diversidad de HECM, especialmente tras aplicar la corta de regeneración, por lo que la utilización de dichas herramientas resulta eficaz para monitorear y evaluar el manejo forestal de los bosques templados y su impacto sobre grupos funcionales.

Siendo este trabajo pionero en México para evaluar el impacto del método de desarrollo silvícola (MDS) con la utilización de herramientas moleculares y así incrementar el conocimiento sobre el manejo forestal y la dinámica de las comunidades de HECM.

3. Justificación

La creciente demanda de recursos forestales ha tenido como consecuencia implementar planes de manejo forestal de tipo intensivo que provocan un cambio en la composición y estructura natural de los bosques al aprovecharse especies específicas. Contribuyendo a la alteración de los factores bióticos y abióticos de los ecosistemas, provocando pérdidas en la diversidad de grupos funcionales.

La asociación ectomicorrízica, cumple un papel ecológico imprescindible en los ecosistemas forestales, particularmente al establecerse la asociación mutualista con familias de plantas vasculares que son ampliamente aprovechadas en el país y que requieren de dicha asociación para su establecimiento, crecimiento y desarrollo.

El Método de Desarrollo Silvícola está fundamentado en la aplicación de la corta de regeneración, cuando el arbolado ha alcanzado ciertos parámetros silvícolas para su aprovechamiento, la aplicación de este método tiende a disminuir la diversidad de HECM, ya que las raíces de los fitobiontes mueren y hay cambios en los factores bióticos y abióticos que condicionan el establecimiento de la ECM.

Para establecer un método de manejo forestal sostenible, es necesario considerar el mantener, mejorar o restaurar las condiciones biológicas, las funciones e interacciones ecológicas de los bosques, y todos los grupos de organismos que se desarrollan en éste (plantas, animales, hongos, microbios, etc.). Sin embargo, los actuales métodos de manejo forestal aún no incluyen prácticas y estrategias de conservación de especies clave que intervienen en la dinámica del ecosistema forestal como son los HECM.

Los estudios realizados en México en materia de diversidad de hongos ectomicorrízicos bajo la influencia de prácticas forestales, son escasos, por lo que investigaciones que determinen la diversidad de HECM en áreas que están sometidas al método de desarrollo silvícola permitirá conocer el efecto a corto

plazo que tienen los tratamientos silvícolas de este sistema de manejo forestal en la diversidad de HECM. Esto con el fin de contribuir al desarrollo de un manejo forestal más sustentable, que favorezca y contribuya al mantenimiento de la diversidad fúngica, que es primordial en el desarrollo y permanencia de los ecosistemas forestales de nuestro país para su aprovechamiento.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

- Evaluar el impacto del método de desarrollo silvícola (MDS) sobre la diversidad de HECM en un bosque de coníferas en el ejido de Llano Grande en Chignahuapan, Puebla, México.

4.1.1. Objetivos específicos

- Comparar la diversidad de HECM entre tratamientos del MDS.
- Determinar la diversidad beta (recambio de especies) de HECM entre tratamientos del MDS.
- Determinar si hay una relación entre las diferencias estructurales de la vegetación (altura, diámetro normal, dosel, diversidad y riqueza), parámetros químicos del suelo (pH, C, N, P) y la temperatura ambiental con la diversidad de HECM en los tratamientos del MDS.

5. Hipótesis

- Los tratamientos silvícolas del MDS modificarán la estructura del bosque, tales cambios afectarán negativamente a la comunidad de HECM asociados a las raíces del arbolado.

Predicciones:

- La diversidad de HECM será diferente entre los tratamientos silvícolas.
- El tratamiento de corta de regeneración total presentará una baja diversidad de HECM.
- La diversidad de HECM estará altamente relacionada con la estructura de la vegetación y la temperatura ambiental

6. Metodología

6.1. Zona de estudio

El ejido de Llano grande está ubicado en la localidad El Aserradero en el municipio de Chignahuapan, Puebla. Se ubica dentro del macizo forestal que comprende la Sierra Madre Oriental y pertenece a la de la UMAFOR (Unidad de Manejo Forestal) número 2108 Región Zacatlán-Chignahuapan. El ejido de Llano Grande se encuentra entre las coordenadas geográficas de 19° 39' 42" y 19° 58' 48" de latitud norte y 97° 57' 18" y 98° 18' 06" de longitud oeste, la localidad se encuentra a una altura de 2 680 metros sobre el nivel del mar (Figura 3). La zona de estudio consta de una superficie total de 2 345 hectáreas, de las cuales 1 700 son forestales que se encuentran bajo el régimen forestal de aprovechamiento con el Método de Desarrollo Silvícola y 199.91 hectáreas con alto valor de conservación. El volumen de extracción autorizado es de 19 258 m³ y el reparto de utilidades es 13 millones de pesos, en promedio 130 000 pesos por ejidatario al año siendo un total de 100 ejidatarios (CONAFOR, 2016).

El ejido de Llano Grande fue constituido el 4 de agosto de 1937 y tiene un historial de aprovechamiento forestal que inició en el año de 1970 (40 años de aprovechamiento), considerando que los ciclos de corta del MDS son de 50 años, aún conserva zonas que no han sido intervenidas para su aprovechamiento.

Este ejido está certificado internacionalmente y dentro de las actividades necesarias para la certificación, en el ejido se realizó un estudio que definiera las áreas de alto valor de conservación (AAVC), dentro de las cuales se ubican manantiales, refugios de fauna y bosques relictos de encino.

Para incorporar prácticas de conservación en estas zonas de alto valor de conservación, el prestador de servicios técnicos forestales aplicó el Manual de Mejores Prácticas de Manejo Forestal para la Conservación de la Biodiversidad.

Mediante el establecimiento de 40 Sitios Permanentes para la Evaluación de la Diversidad (SPED) los cuales tienen una dimensión de 20x20 m cuyo objetivo es el monitoreo de la biodiversidad a diversos niveles e implementación de modelos de crecimiento del arbolado de acuerdo al tratamiento silvícola en turno en cada rodal.

Ejido Llano Grande

Figura 3. Ubicación del ejido de Llano Grande. Tomado de CONAFOR, 2016.

Vegetación. La carta de vegetación de INEGI y del Inventario Nacional Forestal (CONAFOR, 2009) reporta que existe el bosque mesófilo de montaña, los bosques de pino y encino, y que sobreviven algunos manchones de bosques de galería. Todos estos tipos de vegetación se encuentran altamente perturbados, por lo que quedan muy pocos relictos donde no se encuentren en combinación con vegetación secundaria.

Bosque de pino: Lo constituye el bosque donde el género predominante es *Pinus* spp. Algunas de las especies más destacadas son: *Pinus ayacahuite* var. *Veitchii* Ehren, *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham., *Pinus. Moctezumae* Lamb, *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham, *Pinus pseudostrobus* Lindl (dos subespecies), *Pinus rudis* Lindl, y *Pinus teocote*. Schiede ex Schltdl. & Cham. Se trata de comunidades forestales con una fisonomía bien definida, dada por la morfología de las hojas de los árboles dominantes, aunque ecológicamente éstas presentan notables diferencias, como es común en lugares de climas ríos, templados y semicálidos. Esta vegetación ocupa las partes más altas, en altitudes superiores a los 2,200 metros sobre el nivel del mar, en macizos bien definidos siendo las principales especies aprovechadas.

Bosque de oyamel: Estos bosques de coníferas puros en la región se localizan en las partes más altas del municipio de Chignahuapan y está conformando masas puras de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. Los bosques de oyamel cubren áreas de laderas o barrancas profundas en los cerros, donde están protegidos de la acción del viento y la insolación, se distribuyen en forma de cinturón discontinuo entre los 2,500 y 3,200 msnm, en climas ligeramente húmedos sin estaciones frías y calientes bien diferenciadas, con una temperatura entre 7 y 15 ° C y precipitación media anual de 1,000 mm. A altitudes por arriba de los 3000 metros sobre el nivel del mar, los manchones de oyamel son más frecuentes y el encino ya no se encuentra, convirtiendo la mezcla en oyamel pino, y por consiguiente, a menos de los 3,000 metros de altura en bosques mezclados con pino y encino, frecuentemente tiene dominancia el pino.

Bosque de encino: se distingue porque es el bosque en donde el género predominante es *Quercus*. Las especies más representativas son: *Quercus sororia* Liebm, *Quercus furfuracea* Liebm, *Quercus excelsa* Liebm y *Quercus polymorpha* Schltdl. & Cham. Los encinares, junto con los pinares, constituyen las comunidades vegetales más extendidas de las zonas de climas templados o

semifríos del país. Fisonómicamente en esta comunidad vegetal pueden distinguirse diversas variantes como formas de matorrales, árboles bajos, medianos y altos. Algunos siempre verdes, otros parcial o totalmente caducifolios y pueden predominar plantas de hojas pequeñas, de tamaño medio o muy grande al igual en dureza y grosor. Este tipo de vegetación rara vez se presenta pura, debido a la afinidad ecológica que comparte con otras comunidades, generalmente domina *Quercus* y se encuentran mezclados elementos como: *Pinus*, *Alnus*, *Prunus*, *Nyssa* y *Ostria* entre otras; en el ejido de Llano Grande se encuentran relictos de bosque de encino que están sometidos a protección como parte de la cuenca de abasto de la Región Chignahuapan-Zacatlán.

6.2. Selección de tratamientos silvícolas

Para este trabajo se seleccionaron tres tratamientos silvícolas de los seis que comprende el MDS, esto con el fin de analizar los tratamientos y edades representativas del arbolado para poder establecer un efecto del manejo forestal en la diversidad de HECM. Los tratamientos fueron “Corta de Regeneración Total” (CRT), “Corta de Liberación Final” (CLF) y “Segundo Aclareo Final” (2ACF).

Los tratamientos seleccionados tienen las siguientes características: corta de regeneración total; en este tratamiento se implementó la corta a matarraza en los años 2014-2015, presenta una asociación vegetal de Pino con edad de 1-5 años, producto de una regeneración artificial. Corta de Liberación Final intervenido en los años 2007-2008, donde se eliminaron los árboles padre, la asociación vegetal de este tratamiento es Pino-Oyamel con edad de 7-32 años y Segundo Aclareo Etapa Final, intervenido en los años 2009-2010 donde se realizó un segundo aclareo, la asociación vegetal es Pino-Encino y Pino-Oyamel, presentan un arbolado de 13-97 años de edad; este tratamiento fue considerado como el control, pues aún no se ha realizado la corta de regeneración y conserva parte de la estructura vegetal original del bosque, antes de comenzar a ser aprovechado en el ejido de Llano Grande. De cada tratamiento se seleccionaron dos SPED ubicados en diferentes puntos del ejido de Llano Grande en Chignahuapan,

Puebla (Tabla II y Figura 4).

Tabla II. Ubicación de los SPED en el ejido de Llano Grande

Tratamiento Silvícola	SPED	ALTITUD (msnm)	Coordenadas Geográficas		Edad promedio del arbolado (Intervalo en años)	Año De Intervención
			Latitud	Longitud		
Corta de Regeneración Total	1	2742	19°41'54.5"	98°09'36.0"	4 (1-4)	2014-2015
	3	2804	19°41'46.6"	98°09'40.8"	4 (1-4)	
Corta de Liberación Final	16	2758	19°42'06.9"	98°09'10.7"	21 (9-33)	2017-2018
	18	2745	19°42'13.2"	98°09'05.1"	17(7-25)	
Segundo Aclareo Final (Control)	39	2767	19°42'03.6"	98°09'35.0"	19(13-29)	2018-2019
	40	2841	19°42'00.6"	98°09'12.9"	61(11-97)	2016-2017

SPED: Sitio Permanente de Evaluación de la Diversidad

Figura 4. Ubicación de los SPED´s dentro del ejido de Llano Grande, los triángulos color azul muestran la ubicación de los SPED´s con el tratamiento CRT, los círculos rojos los SPED' con el tratamiento CLF y los rombos amarillos el tratamiento 2ACF (control).

6.3. Muestreo

El muestreo se realizó durante la temporada de lluvia del año 2016 (septiembre-noviembre). Los muestreos consistieron en la selección al azar de seis árboles de *Pinus patula* en los SPED ubicados en los tratamientos de manejo forestal, en el tratamiento de 2AC (control) se incluyeron árboles adultos (individuos de la vegetación original con un rango de 11 a 97 años de edad) y de regeneración avanzada (individuos con un rango de edad de 19 a 29 años producto de la regeneración natural). A una distancia de 150 cm del fuste del árbol, se tomaron

muestras de suelo mediante nucleadores de PVC de 30 x 5 cm, excepto en los tratamientos de CRT donde el nucleador se colocó a 50 cm de los árboles, las distancias se consideraron por lo reportado en investigaciones previas, tomando en cuenta que los tipos ectomicorrizas predominantes de los bosques templados cambian con la distancia del sistema radicular de su hospedero (Reverchon *et al.*, 2010, Kennedy *et al.*, 2011). El suelo fue colocado en papel aluminio y transportado en una hielera con bolsas de gel al Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas (C.I.C.B.) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

6.4. Procesamiento de Muestras e identificación de morfotipos de ECM

De cada núcleo de suelo se seleccionaron todas las raicillas secundarias, el suelo fue tamizado con tamiz de malla fina (0.04 y 0.074 mm) las raíces fueron separadas usando pinzas de disección de punta fina y colocándolas en una caja Petri con agua destilada fría. Posteriormente las estructuras ectomicorrízicas fueron identificadas con un microscopio estereoscopio a 40x. Las ectomicorrizas se apreciaron como un cambio en la morfología del sistema radicular considerando el tipo de ramificación, color del manto, la morfología del micelio externo y rizomorfos, agrupándolas por morfotipos (Agerer, 1991, 1995, 2006). Cada morfotipo de ECM fue fotografiado con una cámara Olympus modelo DP70 acoplada a un microscopio estereoscópico Olympus, modelo SZX7 con el programa de digitalización de imágenes Image-Pro Plus 4.5.

Posteriormente, se cuantificaron (una por una) todas las puntas micorrizadas de cada morfotipo para obtener la abundancia de puntas micorrizadas por morfotipo y tratamiento silvícola.

Por último, las puntas de ECM fueron colocadas en tubos Eppendorf de 500 µl con agua destilada fría estéril y almacenada a 4 °C durante dos días para preservar el DNA (Argüelles–Moyao, 2013).

6.5. Procesamiento molecular

De las puntas micorrizadas de cada núcleo de suelo se seleccionaron 10 puntas que presentaran características morfológicas distintas, dando un total de 60 muestras de raíces por tratamiento y un total de 360 muestras de ECM que fueron sometidos al procesamiento molecular.

Extracción de DNA

De cada una de las puntas de ectomicorriza seleccionadas para el análisis molecular, con el Kit REDExtract-N-Amp Plant PCR kits Catalog Numbers XNAP R4775 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) se extrajo el DNA y amplificó la región de los espaciadores transcritos internos (ITS) del ADN ribosomal, (Garibay-Orijel *et al.*, 2013).

La extracción de DNA se realizó de acuerdo a la siguiente metodología.

1. Se colocaron 10 µl de solución de extracción (ES) en tubos Eppendorf de 150 µl
2. En los tubos con ES se colocaron aproximadamente 2 mm de ECM fresca.
3. En el termociclador se realizó un ciclo de 10 minutos a 65 °C y 10 minutos a 95 °C.
4. Al terminar el ciclo se agregaron 30 µl de solución de disolución (DS) en cada tubo con muestra y se dejó reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Se transfirió el sobrenadante de cada muestra y se colocó en un tubo Eppendorf limpio y estéril de 150 µl los tubos fueron almacenados a -80 °C para evitar la desnaturalización del DNA.

PCR de la región ITS del DNA fúngico

Se amplificó la región ITS rDNA (ITS1, 5.8S e ITS2) (Figura 5) de todas las ectomicorrizas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con la combinación de iniciadores ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) (Gardes y

Bruns, 1993) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) además se utilizó agua destilada estéril y 2 µl de DNA de cada muestra (Tabla III).

Figura 5. Representación esquemática del gen ribosomal 18S rDNA de hongos y regiones ITS con localizaciones de unión de cebadores. ITS.

Tabla III. Fórmula de la reacción maestra para la PCR de la región ITS de DNA fúngico. Para la preparación de la mezcla se siguió el orden de los reactivos tal como se muestra en la tabla de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Reactivo	Volumen por reacción de PCR
dH ₂ O	7.6 µl
ITS1F (50µM)	0.2 µl
ITS4 (50 µM)	0.2 µl
REExtract-N-Amp	
PCR ReadyMix	10µl
DNA	2 µl
TOTAL	20 µl

Las muestras fueron procesadas en el termociclador 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, NY, EU), con los ciclos específicos para los primers usados (Figura 6).

Figura 6. Programa de PCR para la amplificación de la región ITS de DNA fúngico.

Los productos de PCR se observaron en un gel de agarosa al 1%, teñido previamente con GelRed Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, CA, EU). Se cargó el gel con 4 μ l del producto de PCR y se corrió en una cámara de electroforesis a 90 volts durante 45 minutos. El gel se observó en una cámara de rayos UV (Kodak Eastman) para revelar las bandas.

Al hacer el primer proceso de amplificación de la región ITS se obtuvieron muestras que amplificaron eficazmente y otras se observaron con una amplificación débil, otras con dos bandas amplificadas y algunas en las que no se logró amplificación.

Limpieza de productos de PCR

Los productos de la PCR con buena amplificación se limpiaron con el kit USB-ExoSAP-IT PCR Product Cleanup (Affymetrix). Se realizó una mezcla de agua ultrapura con ExoSAP 1:1, en tubos Eppendorf de 100 μ l se colocaron 2 μ l de mezcla y 3.5 μ l del producto de PCR amplificado, se incubó en el termociclador durante un ciclo a 37 °C durante 45 minutos y 15 minutos a 80 °C.

Secuenciación por electroforesis capilar

Los productos de PCR purificados se sometieron a la reacción de secuenciación mediante un secuenciador BigDye Terminator v3.1 (24 capilares) en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Todas las muestras se secuenciaron con los dos iniciadores usados en la PCR obteniéndose dos secuencias (600-800 pb) para cada muestra amplificada.

6.6. Identificación molecular de especies

Las secuencias obtenidas se editaron en el paquete informático Geneious Pro 9.1.5 (Biommaters®) y se agruparon en Unidades Taxonómicas Operaciones Moleculares por sus siglas en inglés (MOTU's) al 97% de similitud ya que es la media de asociación utilizada por consenso para hongos (Blaxter *et al.*, 2005, Peay *et al.*, 2008, Argüelles-Moyao, 2013) la edición consistió en verificar la longitud de la secuencias, eliminar la región de los iniciadores, detectar y/o corregir errores en los nucleótidos, las secuencias que no se agruparon se consideraron como secuencias únicas, para delimitar la identidad taxonómica de las especies se basó en un análisis de similitud genética de los MOTU's al compararlas contra la base de datos del GenBank (NCBI ®) mediante BLASTn (Altschul *et al.*, 1990).

La identificación molecular se realizó buscando el mayor porcentaje de similitud considerando solo aquellas que tuvieran más del 97% de similitud, este porcentaje se considera adecuado para hongos ya que permite diferenciar de la variación intraespecífica y la divergencia interespecífica entre especies (Nilsson *et al.*, 2010, Setaro y Kron., 2011, Álvarez-Manjarrez, 2014).

6.7. Análisis estadísticos

6.7.1. Frecuencia de morfotipos por tratamiento del MDS

Para determinar si la frecuencia de colonización de cada uno de los morfotipos de ectomicorriza identificados en las raíces del arbolado bajo manejo intensivo dependen o no del tratamientos silvícola, los datos de las frecuencias de

morfotipos se analizaron con la prueba de X^2 , (Zar, 1999). Para evaluar si hubo diferencias en las abundancias de morfotipos entre tratamientos, los datos se analizaron con tablas de contingencia (r-k).

6.7.2. Diversidad alfa (α) de HECM

Una vez identificado cada MOTU (Unidad Taxonómica Molecular Operacional), se calculó la diversidad α de HECM por tratamiento del MDS, se elaboró la lista de taxones de cada tratamiento silvícola enlistando las secuencias por familia y género. Para analizar la diversidad alfa de la comunidad de HECM se calculó el Índice de diversidad de Shannon-Wiener y de Dominancia de Simpsons (Moreno, 2001) con el software Species Diversity and Richness (v. 4.1.2) se consideró la tabla de referencia de Ramírez-González (2006) como primer estimador de la diversidad entre tratamientos silvícolas (Tabla IV).

Tabla IV. Valores de referencias para la condición de la diversidad tomado de Ramírez-González, 2006.

Valor del Índice de diversidad de Shanon-Wiener	Condición de la diversidad
0-1	Muy baja
>1-1.8	Baja
>1.8-2.1	Media
>2.1-2.3	Alta
>2.3-5	Muy alta

Para comparar estadísticamente los índices de Shannon-Wiener entre tratamientos, se empleó una T de Student modificada por Hutcheson (1970), conocida como T Hutcheson (Zar, 1999).

6.7.3. Recambio de especies de HECM: Diversidad beta (β)

La diversidad beta es el grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades en un paisaje (Whittaker, 1972). Los índices de similitud expresan el grado en el que dos muestras son semejantes por las especies presentes en ellas, por lo que son una medida inversa de la

diversidad beta, que se refiere al cambio de especies entre dos muestras (Magurran, 1988; Baev y Penev, 1995; Pielou, 1975, Moreno, 2008).

El recambio de especies es el cambio en la composición y estructura de las comunidades de una unidad de muestreo a otra a lo largo de un gradiente espacial, temporal o ambiental (Vellend, 2001; Moreno y Rodríguez, 2010; Anderson *et al.*, 2011). Para evaluar la similitud de especies entre tratamientos silvícolas, se calcularon los coeficientes de similitud de Jaccard y Sorensen, con el software Multivariate Statistics *MVSP* 3.22 (Magurran, 2004). El intervalo de valores para estos índices va de 0 cuando no hay especies compartidas entre ambos sitios, hasta 1 cuando los dos sitios tienen la misma composición de especies (Magurran, 1988).

6.7.4. Relación con las variables estructurales, edáficas, y ambientales

Se realizó un análisis multivariado con extracción de componentes principales (ACP) de las variables arbóreas y herbáceas (densidad de regeneración, densidad de adultos, regeneración de arbolado, arbolado adulto, biomasa de regeneración, biomasa de adultos, altura, diámetro, volumen de residuos leñosos, cobertura del dosel, riqueza árboles, riqueza arbustos, riqueza hierbas, diversidad árboles, diversidad arbustos y diversidad hierba), variables edáficas (pH KCl, %C %N y %P lábil) y la temperatura máxima, media y mínima y su relación con la riqueza y diversidad de HECM en los tratamientos silvícolas, el análisis se realizó con el programa estadístico IBM SPSS Statistic 22. Las bases de datos de variables arbóreas, herbáceas y edáficas fueron otorgadas de los trabajos realizados de manera simultánea a este por colaboradores del Instituto de Geografía y la Facultad de Ciencias de Universidad Nacional Autónoma de México.

7. Resultados

7.1. Identificación de morfotipos

Se disectaron un total de 3209 puntas micorrizadas de los tres tratamientos del método de desarrollo silvícola, de las cuales 391 fueron utilizadas para el análisis molecular. La abundancia de las puntas micorrizadas (Tabla V) presentó diferencias significativas entre tratamientos, para la CRT hubo 196, para la CLF 1225 y para el tratamiento 2ACF (control) 1788. Se obtuvieron 47 morfotipos, el tratamiento 2ACF (control) presentó mayor número de morfotipos (33), seguido del tratamiento CLF (23), en el tratamiento de CRT (11) hubo un gran número de raíces micorrizadas muertas que no cumplieron con los estándares para realizar el análisis molecular.

Solo cuatro morfotipos fueron compartidos en los tres tratamientos evaluados y son: a) morfotipo 1 (MF1), b) morfotipo 7 (MF7), c) morfotipo 8 (MF8) y morfotipo 19 (MF19).

Tabla V. Abundancia de morfotipos de ECM en los tratamientos del MDS

Morfotipo	Micorrizas por tratamiento		
	CRT	CLF	2ACF
MF 1	20	68	125
MF 2	-	112	172
MF 3	-	38	211
MF 4	-	-	44
MF 5	-	-	22
MF 6	-	146	131
MF 7	4	41	205
MF 8	34	313	80
MF 9	-	17	1
MF 10	-	-	1
MF 11	-	-	142
MF 12	-	6	2
MF 13	-	-	4
MF 14	-	4	107
MF 15	-	2	22
MF 16	-	-	54
MF 17	-	-	12
MF 18	-	-	6
MF 19	103	270	103
MF 20	-	-	14
MF 21	-	-	64
MF 22	-	-	61

MF 23	-	-	37
MF 24	-	-	1
MF 25	-	-	9
MF 26	-	-	2
MF 27	2	-	22
MF 28		3	2
MF 29	-	-	7
MF 30	-	2	-
MF 31	-	28	-
MF 32	-	25	-
MF 33	10	-	6
MF 34	-	-	4
MF 35	-	12	-
MF 36	-	37	-
MF 37	-	94	-
MF 38	-	1	-
MF 39	1	1	-
MF 40	3	-	-
MF 41	-	1	-
MF 42	-	1	-
MF 43	-	3	47
MF 44	5	-	-
MF 45	5	-	-
MF 46	9	-	-
MF 47	-	-	68
TOTAL DE ECM	196	1225	1788

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

La abundancia de morfotipos por tratamiento silvícola fue estadísticamente diferente ($X^2=20.704$, g.l.=2, $P=0.00003$). El tratamiento CRT fue estadísticamente diferente, CRT y 2ACF (Control) ($X^2=16.68$ g.l.=1, $P=0.00004$); CRT y CLF ($X^2=16.68$, g.l.=1, $P=0.00004$) y los tratamientos CLF vs 2ACF (Control) ($X^2=24.45$, g.l.=1, $P=0.0000007$), presentaron diferencias estadísticas significativas

En la Tabla VI se muestran las descripciones de los 47 morfotipos de ECM que se identificaron en el ejido de Llano Grande.

Tabla VI. Caracterización macroscópica de los morfotipos de las ectomicorrizas encontradas en los diferentes tratamientos del MDS.

Morfotipo (Tratamiento)	Descripción de la Ectomicorriza
	Ramificación dicotómica simple, terminaciones rectas no ramificadas, textura lanosa, presentan rizomorfos en forma de abanico e hifas emanantes. Color negro (7.5YR 2/0).
	Ramificación dicotómica de color blanco (5Y 8/2) y en las puntas no ramificadas, presenta micelio extramatricial, se observan rizomorfos que asemejan grandes mechones de color blanco (5Y 8/2).
	Ramificación dicotómica de color café rojizo claro (2.5YR 6/4) presenta micelio extramatricial. Se observan rizomorfos que asemejan grande mechones de color blanco (5Y 8/2).

MF4 (2ACF)

Ramificación dicotómica recta de color amarillo rojizo (5YR 6/6) cubierta de micelio extramatricial de color blanco (5Y 8/2) muy abundante con presencia de rizomorfos.

MF5 (2ACF)

Ramificación coraloide de color gris (2.5YR 5/0) en las puntas no ramificadas de color gris olivo claro (5Y 6/2). Hifas emanantes de color blanco (5Y 8/2) con rizomorfos y micelio externo.

MF6 (CLF y 2ACF)

Ramificación simple y dicotómica, de color café rojizo claro (2.5YR 6/4) en las puntas no ramificadas al igual que los ejes.

MF7 (CRT, CLF, y 2ACF)

Ramificación coraloide, de color rojo (2.5 YR 4/8) con abundante micelio extramatricial y cordones miceliares.

MF8 (CRT, CLF y 2ACF)

Ramificación coraloide, de color amarillento oscuro (10 YR 3/6) los ápices son de color blanco (5YR 8/2), de textura lisa, en las partes viejas presenta micelio extramatricial.

MF9 (CLF y 2ACF)

Ramificación dicotómica-coraloide con las puntas rectas, de color rosa (5YR 7/3) en todo el sistema, posee brillo metálico en la base y en la punta.

MF10 (2ACF)

Ramificación irregular pinada con puntas tortuosas superficie del manto lisa, color blanco rosado (5YR 8/2).

MF11 (2ACF)

Ramificación dicotómica, de color rojo (10 YR 4/6) en las puntas no ramificadas, los ápices de puntas son amarillo rojizo (7.5 YR 8/6), las partes viejas son de color negro (7.5YR 2/0), la superficie del manto es fibrosa.

MF12 (CLF y 2ACF)

Ramificación dicotómica, terminaciones no ramificadas rectas, superficie del manto lisa, color verde-azulado (4/10Y), posee un brillo metálico en todo el sistema.

MF13 (2ACF)

Ramificación coraloide, de color rojo claro (2.5YR 6/6), puntas no ramificadas y rectas, los ápices de puntas color rojo pálido (2.5YR 6/8, los ejes son rojo claro (5YR 6/6).

MF14 (CLF y 2ACF)

Ramificación coraloide, de color café oscuro (7.5YR 2.5/2), puntas no ramificadas, superficie del manto reticulada.

MF15 (CLF y 2ACF)

Ramificación monopodial pinada, de color café rojizo claro (2.5YR 6/4) puntas no ramificadas, de textura lisa y presenta cordones miceliarios.

MF16 (2ACF)

Ramificación coraloide, de color café rojizo claro (2.5YR 6/4 y color gris (2.5YR 5/0) puntas rectas no ramificadas, superficie del manto reticulada posee un brillo metálico en los ejes.

MF17 (2ACF)

Ramificación monopodial pinada, de color rosa (7.5 YR 8/4), puntas rectas no ramificadas, superficie del manto lisa.

MF18 (2ACF)

Ramificación irregular pinada, de color blanco (5Y 8/2) terminaciones tortuosas.

MF19 (CRT, CLF y 2ACF)

Ramificación dicotómica-coraloide, con brillo metálico gris, las puntas son rectas, y de textura lisa, color rojo oscuro (10R 3/6, los ápices de puntas son de color gris claro (5Y 7/1), los ejes tiene un color rojo claro (10R 3/6).

MF20 (2ACF)

Ramificación coraloide, de color café rojizo rojo (10R 4/8) a rojo oscuro (10R 3/4) con micelio extramatrical de color blanco (5Y 8/2) terminación recta.

MF21 (2ACF)

No ramificada, de color café rojizo rojo (10R 4/8), en las partes viejas de color negro (7.5YR 2/0) puntas no ramificadas, con rizomorfos de color blanco (5Y 8/2).

MF22 (2ACF)

Ramificación irregular pinada de color rojo claro (2.5YR 6/8) en las puntas no ramificadas, los ápices de puntas son de color blanco (10YR 8/1),

MF23 (2ACF)

Ramificación coraloide de color rojo (2.5 YR 4/8) los ápices de puntas son rojo (2.5 YR 4/8), los ejes son rojo (2.5 YR 6/8), con abundante micelio extramatricial y cordones miceliares.

MF24 (2ACF)

Ramificación tuberculada, de color blanco rosado (5YR 4/6), textura lisa, tortuosa, ápices de color blanco (5Y 8/2) terminaciones no ramificadas.

MF25 (2ACF)

Ramificación dicotómica de color verde-azulado (4/10Y), posee un brillo metálico en todo el sistema rizomorfo de color verde-azulado (4/10Y) textura lisa y terminaciones no ramificadas

MF26 (2ACF)

Ramificación coraloide de color amarillo rojizo (7.5 YR 6/8) con puntos color negro (7.5YR 2/0), textura granulosa, puntas rectas no ramificadas.

MF27 (CRT y 2ACF)

Ramificación coraloide de color rojo pálido (10R 4/2) puntas ramificadas moniliformes. Los ápices de puntas tiene un color gris rojizo (10R 6/1), textura fibrosa.

MF28 (CLF y 2ACF)

Ramificación dicotómica de color gris rojizo (10R 6/1) textura lisa, puntas rectas no ramificadas.

MF29 (2ACF)

Ramificación dicotómica de color blanco (5Y 8/2) puntas no ramificadas torcidas a ligeramente tortuosas, textura lisa y con rizomorfos color negro (7.5YR 2/0).

MF30 (CLF)

Ramificación dicotómica a coraloide de color rojo (10YR 4/6), los ápices de las puntas son de color blanco (5Y 8/2), los ejes son de color rojo oscuro (10 YR 3/6), las partes viejas son de color rojo (10R 4/6). Tiene brillo metálico, textura lisa, las puntas van de retas a ligeramente torcidas.

MF31 (CLF)

Ramificación dicotómica a coraloide con puntas rectas. Color rojo pálido (10R 4/2) en el centro y gris rojizo (10R 6/1) en el contorno en las puntas no ramificadas rectas, presenta rizomorfos.

MF32 (CLF)

Ramificación de coraloide a dicotómica de color rojo (10 YR 4/6) en las puntas no ramificadas, los ápices de puntas son amarillo rojizo (7.5 YR 8/6), presenta micelio extramatricial y de este se forman rizomorfos de color blanco (5Y 8/2).

MF33 (CRT y 2ACF)

Ramificación monopodial pinada de color rosa (7.5 YR 8/4) a café claro (7.5YR 5/6) en las puntas no ramificadas, los ápices de puntas no ramificadas rectas son de color blanco rosado (7.5YR 8/2), textura lisa.

MF34 (2ACF)

Tipo de ramificación monopodial pinada de color blanco (10 YR 8/1) en las puntas no ramificadas al igual que los ápices de puntas, los ejes son de color rosa (7.5YR 8/4), abundante micelio extramatricial.

MF35 (CLF)

Ramificación coraloide de color gris (2.5YR 5/0) en las puntas no ramificadas, café rojizo oscuro (2.5 YR 3/4) en los ápices de las punta, posee un brillo metálico, textura lisa, las terminaciones de las puntas son rectas y abundante micelio extramatricial.

MF36 (CLF)

Ramificación coraloide de color rojo pálido (10R 4/2) los ápices de puntas un color rojo claro (2.5YR 6/8) con abundante micelio extramatricial y cordones miceliares. Puntas no ramificadas textura algodonosa.

MF37 (CLF)

Tipo de ramificación simple de color negro (7.5YR 2/0) con un brillo metálico, textura fibrosa presentan rizomorfos.

MF38 (CLF)

Ramificación simple a dicotómica de color rojo (2.5 YR 5/8) en las puntas no ramificadas con rizomorfos, textura lanosa.

MF39 (CRT y CLF)

Ramificación simple de color café rojizo rojo (10R 4/8) a rojo oscuro (10R 3/4) punta no ramificada, con hifas emanantes.

MF40 (CRT)

Ramificación monopodial pinada de color rosa (7.5 YR 8/4) con ápices negros en las partes más viejas, puntas no ramificadas, textura fibrosa.

MF41 (CLF)

Ramificación dicotómica de color gris (2.5YR 5/0) en las puntas no ramificadas, café rojizo oscuro (2.5 YR 3/4) en los ápices de las punta, posee un brillo metálico. Textura lisa, las terminaciones de las puntas son rectas.

MF42 (CLF)

Ramificación dicotómica a coraloide de color amarillo rojizo en las puntas ramificadas (7.5 YR 8/6), los ápices de puntas son rojo (10 YR 4/6), de textura lisa.

MF43 (CLF y 2ACF)

Ramificación coraloide de color blanco (10 YR 8/1) puntas torcidas no ramificadas los ejes son de color blanco (10 YR 8/1) textura lisa posee brillo metálico en todo el sistema.

MF44 (CRT)

Ramificación dicotómica de color rojo oscuro (10R 3/6), puntas no ramificadas de textura lisa y apariencia seca.

MF45 (CRT)

Tipo de ramificación coraloide a ligeramente tuberculada de color rojo oscuro (10R 3/6), puntas no ramificadas, con brillo metálico, presenta rizomorfos.

MF46 (CRT)

Ramificación dicotómica de color rojo oscuro (10R 3/6), puntas no ramificadas de textura granulosa presenta pequeños puntos color negro (7.5YR 2/0) en todo el sistema.

MF47 (2ACF)

Ramificación monopodial pinada de color café rojizo rojo (10R 4/8) a rojo oscuro (10R 3/4) con abundantes rizomorfos color rojo oscuro (10R 3/6)., puntas ligeramente torcidas y textura lanosa

7.2. Identificación molecular de especies de HECM

La identificación molecular de los micobiontes permitió corroborar la existencia de la asociación ectomicorrízica en el arbolado bajo manejo forestal intensivo del ejido de Llano Grande, Chignahuapan, Puebla. Un total de 156 productos de PCR, fueron secuenciados en los sentidos *forward* (*f*) y *reverse* (*r*) de los cuales se obtuvieron 304 secuencias, las cuales fueron agrupadas en Unidades Taxonómicas Operacionales Moleculares (MOTU) al 97% de similitud (Nilsson *et al.*, 2010, Setaro y Kron, 2011).

En la Tabla VII se presentan el número MOTU's obtenidos, la cantidad de secuencias, el número de ectomicorrizas procesadas molecularmente y el porcentaje de eficiencia de cada tratamiento.

Tabla VII. Porcentaje de eficiencia del procesamiento de ECM

Tratamiento	No. de ECM que se extrajo ADN	ADN amplificado	Porcentaje de amplificación	Secuencias útiles	No MOTU's	Porcentaje de eficiencia de ECM a secuencias
CRT	120	24	20	9	3	37.50
CLF	123	62	50.4	57	33	53.22
2ACF	148	74	50	72	41	55.40

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo

Se obtuvieron 67 MOTU's que se consideraron como especies de HECM, de las cuales 44 se identificaron a nivel de género y 23 a nivel de especie (Tabla VIII).

De los 67 MOTU's que se compararon con la base de datos GenBank se obtuvieron 21 que tenían un porcentaje de similitud menor al 97%.

El número de especies identificadas molecularmente es mayor al de los morfotipos encontrados (47) y solo 10 especies son compartidas en los tratamientos.

Tabla VIII. Identificación molecular de HECM en el ejido de Llano Grande

No. Seq	Especie identificada usando GenBank	Cobertura %	Error	Similitud %	No. De acceso de GenBank
10	<i>Amphinema</i> sp.	100	0	99	KP814243
9	<i>Clavulina aff. cinerea</i>	100	0	99	KT874986
6	<i>Russula</i> sp. 3	99	0	93*	AB848588
5	<i>Cortinarius</i> sp.	96	0	97	AB848457
5	<i>Tylospora</i> sp.	100	0	99	KP814347
4	<i>Gymnomyces fallax</i>	100	0	99	AY239329
4	<i>Tomentella</i> sp. 6	95	0	99	AB848642
3	<i>Tomentella</i> sp. 4	98	0	97	AB848688
3	<i>Tomentella</i> sp. 5	98	0	94*	KX438352
3	<i>Inocybe</i> sp. 5	87	1.00E-149	84*	KY462486
3	<i>Tomentella</i> sp. 7	100	0	93*	KP814173
3	<i>Russula</i> sp. 4	100	0	94*	KU928163
3	<i>Tomentella terrestris</i>	87	0	99	AF272901
2	<i>Inocybe</i> sp. 4	94	0	95*	JF908252
2	<i>Lactarius aff. deliciosus</i>	100	0	99	KT875049
2	<i>Byssocorticium</i> sp.	93	0	92*	KM576308
2	<i>Inocybe</i> sp. 6	97	0	95*	JF908193
2	<i>Inocybe malenconii</i>	100	0	97	KX602259
2	<i>Inocybe</i> sp. 7	96	0	88*	JF908230
2	<i>Russula cf. brevipes</i>	100	0	100	KT875098
2	<i>Inocybe</i> sp. 8	93	0	93*	KU359779
2	<i>Inocybe subnudipes</i>	99	0	97	AM882809
2	<i>Tomentella</i> sp. 8	100	0	93*	KT353048
2	<i>Pseudotomentella</i> sp. 2	95	0	94*	AJ889968
2	<i>Tomentella</i> sp. 9	100	0	100	AJ534917
2	<i>Peziza</i> sp.	79	0	99	JX030287
2	<i>Cortinarius sertipes</i>	100	0	99	GQ159875
2	<i>Wilcoxina rehmii</i>	100	0	99	KT800250
2	<i>Piloderma</i> sp. 2	79	8.00E-132	91*	AB848558
2	<i>Rhizopogon</i> sp.	65	4.00E-142	99	AJ493247
2	<i>Piloderma byssinum</i>	99	0	99	KP814363
2	<i>Inocybe nitidiuscula</i>	100	7.00E-177	97	HG796970
2	<i>Piloderma</i> sp. 3	100	0	99	KP814544
2	<i>Sphaerosporella</i> sp.	100	8.00E-157	98	JQ711781
2	<i>Piloderma</i> sp. 4	100	2.00E-157	99	KP814525
2	<i>Piloderma</i> sp. 5	99	6.00E-64	97	KP814518
2	<i>Sebacina</i> sp. 3	96	0	97	HG796954
2	<i>Russula</i> sp. 5	100	2.00E-138	99	KJ834627

2	<i>Sebacina</i> sp. 4	100	0	96*	HG796954
2	<i>Hydnellum conrescens</i>	99	0	99	EU293832
1	<i>Inocybe lanatodisca</i>	98	0	99	JQ408760
1	<i>Sebacina dimitica</i>	100	0	97	KF061273
1	<i>Tomentella</i> sp. 1	99	0	99	AJ534913
1	<i>Russula nauseosa</i>	99	0	99	KT933985
1	<i>Piloderma</i> sp. 1	100	6.00E-152	99	KP814486
1	<i>Tomentella</i> sp. 2	96	0	99	HQ215816
1	<i>Clavulina</i> sp	100	0	94*	EU569245
1	<i>Russula aff. integra</i>	99	1.00E-84	96*	KM085365
1	<i>Inocybe</i> sp. 1	100	2.00E-107	95*	JF908230
1	<i>Genea</i> sp.	100	0	99	FN669199
1	<i>Sebacina epigaea</i>	92	0	98	JQ665490
1	<i>Russula</i> sp. 1	100	0	99	EU819515
1	<i>Thelephora</i> sp.	100	2.00E-108	94*	HQ215832
1	<i>Inocybe</i> sp. 2	91	3.00E-112	93*	KM576457
1	<i>Tomentella aff. badia</i>	98	0	97	JX030293
1	<i>Sebacina</i> sp. 1	100	0	99	FN669251
1	<i>Inocybe geophylla</i> var. <i>Lilacina</i>	100	0	99	EU525951
1	<i>Inocybe</i> sp. 3	100	0	94*	AB848498
1	<i>Russula</i> sp. 2	100	0	99	EU569271
1	<i>Sebacina</i> sp. 2	100	2.00E-177	98	JF273542
1	<i>Tricholoma terreum</i>	100	0	99	JN389295
1	<i>Russula globispora</i>	100	0	98	KP226186
1	<i>Tomentella</i> sp. 3	99	6.00E-171	92*	U83482
1	<i>Cenococcum geophilum</i>	100	0	99	LC095057
1	<i>Cortinarius uraceus</i>	100	2.00E-63	99	KJ206526
1	<i>Laccaria aff.</i> <i>vinaceobrunnea</i>	100	0	99	KC152136
1	<i>Pseudotomentella</i> sp. 1	93	1.00E-155	88	KP814390

* Secuencias que estuvieron por debajo del 97% de identidad con la base de datos de GENBANK, en negritas son especies que se comparten en dos tratamientos

7.3. Estructura de la comunidad de HECM

La estructura de la comunidad de HECM asociados al arbolado bajo el método de desarrollo silvícola está representada por dos phylum: Ascomycota (4 MOTU's) y Basidiomycota (63 MOTU's) siendo este phylum el más representativo de la comunidad con 12 familias, de las cuales las más diversas fueron Inocybaceae, Russulaceae y Thelephoraceae. Las especies de HECM correspondieron a 23 géneros, los más diversos fueron *Inocybe* (13), *Tomentella* (11) y *Russula* (9) (Tabla IX).

Tabla IX. Listado de géneros y especies de HECM identificados en los tratamientos del MDS

División	Orden	Familia	Género	Especie	Hábito
Ascomycota	Mytilinidiales	Gloniaceae	<i>Cenococcum</i>	<i>geophilum</i>	E
	Pezizales	Pezizaceae	<i>Peziza</i>	sp	S/E
		Pyronemataceae	<i>Genea</i>	sp	E
			<i>Sphaerosporella</i>	sp	S/E
Basidiomycota	Agaricales	Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i>	sp. 1	E
			<i>Cortinarius</i>	sp. 2	E
			<i>Cortinarius</i>	<i>uraceus</i>	E
		Inocybaceae	<i>Inocybe</i>	<i>geophylla var. lilacina</i>	E
			<i>Inocybe</i>	<i>lanatodisca</i>	E
			<i>Inocybe</i>	<i>malenconii</i>	E
			<i>Inocybe</i>	<i>nitidiuscula</i>	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 1	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 2	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 3	E
			<i>Inocybe</i>	sp.4	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 5	E
			<i>Inocybe</i>	sp.6	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 7	E
			<i>Inocybe</i>	sp. 8	E
			<i>Inocybe</i>	<i>subnudipes</i>	E
		Tricholomataceae	<i>Laccaria</i>	<i>aff. vinaceobrunnea</i>	E
			<i>Tricholoma</i>	<i>terreum</i>	E
		Atheliales	Atheliaceae	<i>Amphinema</i>	sp
<i>Byssocorticium</i>	sp			S/E	

		<i>Piloderma</i>	<i>byssinum</i>	E
		<i>Piloderma</i>	sp. 1	E
		<i>Piloderma</i>	sp. 2	E
		<i>Piloderma</i>	sp.3	E
		<i>Piloderma</i>	sp. 4	E
		<i>Piloderma</i>	sp.5	E
		<i>Tylospora</i>	sp.	S/E
		<i>Wilcoxina</i>	<i>rehmii</i>	E
Boletales	Rhizopogonaceae	<i>Rhizopogon</i>	sp	E
Cantharellales	Clavulinaceae	<i>Clavulina</i>	<i>aff. cinérea</i>	S/E
		<i>Clavulina</i>	sp	S/E
Russulales	Russulaceae	<i>Gymnomyces</i>	<i>fallax</i>	E
		<i>Lactarius</i>	<i>aff. deliciosus</i>	E
		<i>Russula</i>	<i>aff. integra</i>	E
		<i>Russula</i>	<i>cf. brevipes</i>	E
		<i>Russula</i>	<i>globispora</i>	E
		<i>Russula</i>	<i>nauseosa</i>	E
		<i>Russula</i>	sp. 1	E
		<i>Russula</i>	sp. 2	E
		<i>Russula</i>	sp. 3	E
		<i>Russula</i>	sp. 4	E
		<i>Russula</i>	sp. 5	E
Sebacinales	Sebacinaceae	<i>Sebacina</i>	<i>dimitica</i>	E
		<i>Sebacina</i>	<i>epigaea</i>	E
		<i>Sebacina</i>	sp. 1	E
		<i>Sebacina</i>	sp. 2	E
		<i>Sebacina</i>	sp.3	E
		<i>Sebacina</i>	sp.4	E
Thelephorales	Thelephoraceae	<i>Hydnellum</i>	<i>concrescens</i>	E
		<i>Pseudotomentella</i>	sp. 1	E
		<i>Pseudotomentella</i>	sp. 2	E
		<i>Thelephora</i>	sp	S/E
		<i>Tomentella</i>	<i>aff. badia</i>	E
		<i>Tomentella</i>	sp. 1	E
		<i>Tomentella</i>	sp. 2	E
		<i>Tomentella</i>	sp. 3	E
		<i>Tomentella</i>	sp. 4	E

<i>Tomentella</i>	sp. 5	E
<i>Tomentella</i>	sp. 6	E
<i>Tomentella</i>	sp.7	E
<i>Tomentella</i>	sp. 8	E
<i>Tomentella</i>	sp. 9	E
<i>Tomentella</i>	terrestres	E

E: Ectomicorrízico, S: Saprobio.

7.3.1. Riqueza de HECM en los tratamientos del MDS

En el ejido de Llano Grande se obtuvo una riqueza específica de 67 especies de HECM. La riqueza de especies por tratamiento silvícola es distinta (Tabla X), para la CRT hay tres especies, 33 en la CLF y en tratamiento 2ACF (Control) 41 especies.

En la Tabla X se muestran las abundancias de las especies de HECM asociados al arbolado en los diferentes tratamientos del MDS, el tratamiento con mayor riqueza de especies de HECM es 2ACF (Control) con 48 especies de HECM, seguido de CLF con 38 especies de HECM y por último la CRT con 3 especies de HECM.

Tabla X. Abundancia de especies de HECM en los tratamientos del MDS

ESPECIE	CRT	CLF	2ACF
<i>Amphinema</i> sp.	1	2	0
<i>Byssocorticium</i> sp.	0	0	1
<i>Cenococcum geophilum</i>	0	0	1
<i>Clavulina</i> aff. <i>cinerea</i>	0	2	2
<i>Clavulina</i> sp	0	1	0
<i>Cortinarius</i> sp. 1	0	0	2
<i>Cortinarius</i> sp. 2	0	0	1
<i>Cortinarius uraceus</i>	0	0	1
<i>Genea</i> sp.	0	1	0
<i>Gymnomyces fallax</i>	0	0	1
<i>Hydnellum concrescens</i>	0	0	1
<i>Inocybe geophylla</i> var. <i>lilacina</i>	0	0	1
<i>Inocybe lanatodisca</i>	1	0	0
<i>Inocybe malenconii</i>	0	0	1
<i>Inocybe nitidiuscula</i>	0	1	0
<i>Inocybe</i> sp. 1	0	1	0
<i>Inocybe</i> sp. 2	0	0	1

<i>Inocybe</i> sp. 3	0	0	1
<i>Inocybe</i> sp. 4	1	0	1
<i>Inocybe</i> sp. 5	0	0	1
<i>Inocybe</i> sp. 6	0	0	1
<i>Inocybe</i> sp. 7	0	0	1
<i>Inocybe</i> sp. 8	0	1	0
<i>Inocybe subnudipes</i>	0	0	1
<i>Laccaria</i> aff. <i>vinaceobrunnea</i>	0	0	1
<i>Lactarius</i> aff. <i>deliciosus</i>	0	1	1
<i>Peziza</i> sp.	0	1	0
<i>Piloderma byssinum</i>	0	1	1
<i>Piloderma</i> sp. 1	0	1	0
<i>Piloderma</i> sp. 2	0	0	1
<i>Piloderma</i> sp. 3	0	1	0
<i>Piloderma</i> sp. 4	0	1	0
<i>Piloderma</i> sp. 5	0	1	0
<i>Pseudotomentella</i> sp. 1	0	0	1
<i>Pseudotomentella</i> sp. 2	0	0	1
<i>Rhizopogon</i> sp.	0	1	1
<i>Russula</i> aff. <i>integra</i>	0	1	0
<i>Russula</i> cf. <i>brevipes</i>	0	0	1
<i>Russula globispora</i>	0	0	1
<i>Russula nauseosa</i>	0	1	0
<i>Russula</i> sp. 1	0	0	2
<i>Russula</i> sp. 2	0	1	0
<i>Russula</i> sp. 3	0	0	1
<i>Russula</i> sp. 4	0	1	2
<i>Russula</i> sp. 5	0	0	1
<i>Sebacina dimitica</i>	0	1	0
<i>Sebacina epigaea</i>	0	1	0
<i>Sebacina</i> sp. 1	0	0	1
<i>Sebacina</i> sp. 2	0	0	1
<i>Sebacina</i> sp. 3	0	1	0
<i>Sebacina</i> sp. 4	0	1	0
<i>Sphaerosporella</i>	0	0	2
<i>Thelephora</i> sp.	0	0	1
<i>Tomentella</i> aff. <i>badia</i>	0	0	1
<i>Tomentella</i> sp. 1	0	1	0
<i>Tomentella</i> sp. 2	0	1	0
<i>Tomentella</i> sp. 3	0	0	1
<i>Tomentella</i> sp. 4	0	1	1
<i>Tomentella</i> sp. 5	0	1	1
<i>Tomentella</i> sp. 6	0	1	0
<i>Tomentella</i> sp. 7	0	3	0
<i>Tomentella</i> sp. 8	0	0	1
<i>Tomentella</i> sp. 9	0	1	0
<i>Tomentella terrestris</i>	0	2	0

<i>Tricholoma terreum</i>	0	0	1
<i>Tylospora</i> sp.	0	1	3
<i>Wilcoxina rehmii</i>	0	1	0
Total	3	38	48

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo.

7.4. Diversidad alfa (α) de HECM en los tratamientos del MDS

La diversidad α de HECM por tratamiento silvícola con el índice de diversidad de Shannon-Wiener y con los parámetros de estimación de Ramírez-González (2006) la diversidad del tratamiento CRT (1.099) es baja en comparación a los tratamientos CLF (3.441) y 2ACF (Control) (3.658) que presentan una diversidad muy alta. Este primer parámetro muestra el efecto negativo del tratamiento CRT sobre la diversidad de HECM, siendo el tratamiento 2ACF (Control) el que presentó la diversidad más alta (Tabla XI).

Tabla XI. Índice de diversidad de Shannon-Wiener y de Dominancia de Simpson para HECM en los tratamientos silvícolas.

Tratamientos	No. de especies	Índice de Shannon-Wiener H'	Índice de Simpson	Condición H'
CRT	3	1.099	3	Baja
CLF	33	3.441	117.2	Muy alta
2ACF	41	3.658	141	Muy alta

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

Al comparar la diversidad α por tratamientos del MDS a través de la prueba estadística T de Hutchenson ($p \leq 0.05$) pudo observarse que la diversidad α de todos los tratamientos es estadísticamente diferente (Tabla XII).

Tabla XII. Valores con diferencias significativas para la prueba de t de Hutchenson aplicada a los índices de diversidad de Shannon-Wiener por tratamientos del MDS.

Tratamientos a comparar	T
2ACF vs CRT	T ₌ 13.59*
2ACF vs CLF	T ₌ 44.06*
CLF vs CRT	T ₌ 12.80*

*Valores estadísticamente significativos. CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

7.5. Recambio de especies: Diversidad beta (β) de HECM en los tratamientos silvícolas

La diversidad β fue diferente entre tratamientos, los valores obtenidos mediante el índice de Similitud de Jaccard (Tabla XIII) indica que los grados de similitud entre tratamientos silvícolas son bajos, los tratamientos CLF y 2ACF (Control) son 12.1% similares en la composición de especies mientras que los de menor similitud son la CRT y 2ACF (Control) con el 2.3%.

Tabla XIII. Índice de similitud de Jaccard para HECM en el ejido de Llano Grande

	Coefficiente de Similitud de Jaccard (J)	% de similitud
CRT y 2ACF (Control)	0.0230	2.3
CRT y CLF	0.0290	2.9
CLF y 2 ACF(Control)	0.1210	12.1

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

En la Figura 7 se muestra cómo los tratamientos se separaron en dos grupos, el grupo uno (2ACF y CLF) los más similares en composición de especies y el grupo dos (CRT) con una composición distinta de especies indicando el efecto negativo de este tratamiento.

Figura 7. Dendrograma de Coeficiente de Jaccard para HECM en los tratamientos del MDS. CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

Los valores obtenidos mediante el índice de Similitud de Índice de Sorensen (Tabla XIV) indican que los grados de similitud entre tratamientos silvícolas fueron bajos, siendo los tratamientos CLF y 2ACF (Control) más similares (21.6%) mientras que los de menor similitud fueron la CRT y 2ACF (Control) (4.5%).

Tabla XIV. Índice de similitud de Sorensen para HECM en el ejido de Llano Grande

	Índice de similitud de Sorensen (SI)	% de Similitud
CRT y 2ACF (Control)	0.0450	4.5
CRT y CLF	0.0560	5.6
CLF y 2 ACF(Control)	0.2160	21.60

CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

En la Figura 8 se muestra como los tratamientos se separaron en dos grupos, el grupo uno (2ACF y CLF) más similares en composición de especies y el grupo dos (CRT) con una composición distinta de especies indicando el efecto de este tratamiento.

Figura 8. Dendrograma de Coeficiente de Sorensen para HECM en los tratamientos del MDS. CRT: corta de regeneración total, CLF: corta de liberación final, 2ACF (Control) segundo aclareo final.

De acuerdo con los coeficientes de Similitud de Jaccard y Sorensen hubo una baja similitud entre los tratamientos silvícolas al presentar valores bajos en ambos índices, la tasa de recambio de especies entre tratamientos silvícolas fue alta, sin embargo, hubo 10 especies (Tabla XV) que estuvieron compartidas en los tratamientos silvícolas, pero ninguna se presentó en los tres tratamientos, *Amphinema* sp (CRT y CLF) *Inocybe* sp 4 (CRT y 2ACF), *Clavulina aff. cinerea* (CLF y 2ACF). *Tomentella* sp.4 (CLF y 2ACF), *Tomentella* sp. 5 (CLF y 2ACF), *Lactarius aff. deliciosus* (CLF y 2ACF), *Tylospora* sp. (CLF y 2ACF), *Russula* sp. 3 (CLF y 2ACF), *Rhizopogon* sp. (CLF y 2ACF) y *Piloderma byssinum* (CLF y 2ACF) siendo los tratamientos CLF y 2ACF (Control) los que compartieron más especies de HECM (8 especies).

Tabla XV. Especies fúngicas compartidas en los tratamientos silvícolas del MDS.

ESPECIE	TRATAMIENTO		
	CRT	CLF	2ACF
<i>Amphinema</i> sp	+	+	-
<i>Clavulina aff. cinerea</i>	-	+	+
<i>Inocybe</i> sp 4	+	-	+
<i>Lactarius aff. deliciosus</i>	-	+	+
<i>Piloderma byssinum</i>	-	+	+
<i>Rhizopogon</i> sp	-	+	+
<i>Russula</i> sp 3	-	+	+
<i>Tomentella</i> sp 4	-	+	+
<i>Tomentella</i> sp 5	-	+	+
<i>Tylospora</i> sp	-	+	+

Nota: (+) especie presente, (-) especie ausente

7.6. Efecto de las variables arbóreas, herbáceas, edáficas y ambientales sobre la riqueza y diversidad de HECM

En la Tabla XVI se muestran los valores promedio de diferentes variables medidas del estrato arbóreo de la Corta de Liberación Etapa Final (SPED's 16 y 18) y del Segundo Aclareo etapa Final (control, SPED's 39 40), el tratamiento de Corta de Regeneración Total no contó con datos, dada la condición del arbolado que ha sido recientemente intervenido y no pueden considerarse las variables del estrato arbóreo sólo el arbustivo y herbáceo (Anexo 1).

Tabla XVI. Variables edafológicas, estructurales y ambientales en los SPED's del ejido de Llano Grande

	Tratamiento Silvícola	CRT		CLF		2ACF (Control)	
	No. de SPED	4	5	16	18	39	40
Variables edafológicas	ph KCl	4.87	5.5	5.52	5.3	5.13	5.77
	%C	14.04	14.28	12.4	12.11	14.57	10.75
	%N	0.77	0.84	0.78	0.63	0.83	0.55
	%P lábil	0.001	0.002	0.002	0.003	0.001	0.002
Variables estructurales	Densidad regeneración (individuos ha ⁻²)	-	-	250	900	700	1350
	Densidad adulto (individuos ha ⁻²)	-	-	775	675	1100	450
	Altura (m)	-	-	14.69	8.10	11.89	12.88
	Diámetro (cm)	-	-	19.80	12.49	13.46	18.16
	Volumen de residuos leñosos (m ³ ha ⁻¹)	1,24	1,24	0,19	0,65	3,32	0,44
	Cobertura del dosel (%)	-	-	88	88	86	86
	Riqueza árboles	-	-	5	5	7	7

	Riqueza arbustos	13	13	19	19	15	15
	Riqueza hierbas	17	17	18	18	17	17
	Diversidad árboles	-	-	0.71	0.71	1.46	1.46
	Diversidad arbustos	2.27	2.27	2.6	2.6	1.42	1.42
	Diversidad hierbas	2.2	2.2	2.52	2.52	2.26	2.26
Variables Ambientales Temperatura °C	Máxima	29.02	29.02	22.75	22.75	21.68	21.68
	Media	13.21	13.21	10.92	10.92	12.82	12.82
	Mínima	-5.28	-5.28	2.75	2.75	5.56	5.56

El análisis de componentes principales se llevó a cabo utilizando las variables de la Tabla XIII, con la riqueza y diversidad de HECM. Los componentes principales PC1 y PC2 en conjunto explicaron el 80.89% de la variación de los datos, con un 58.818 % y 22.072 %, respectivamente (Anexo 2). La riqueza y diversidad de HECM se encontró más relacionada con la T° Min (temperatura mínima), DR (densidad de regeneración), DA (densidad del arbolado), SAB (Riqueza de árboles) y HAB (Diversidad árboles), DN (Diámetro Normal), CD (% de Cobertura de Dosel) y AT (Altura) (Figura 9).

Figura 9. Gráfico del análisis de componentes principales

PC1 explica el 58.818 % de la varianza y el PC2 el 22.072 %. Variables estructurales de la vegetación DR: densidad de regeneración (individuos ha-1) DA: densidad arbolado (individuos ha-2), AT: altura del arbolado (m), DN: diámetro normal (cm), RL: volumen de residuos leñosos (ha-1), CD: cobertura del dosel (%), SAB: riqueza árboles, SA: riqueza arbustos, SH: riqueza hierbas, HAB: diversidad árboles, HAR: diversidad arbustos, HH: diversidad hierbas, SHECM: riqueza hongos ectomicorrízicos, HHECM: diversidad hongos ectomicorrízicos, T°max: temperatura máxima, T°med: temperatura media, T°min: temperatura mínina, N: porcentaje de nitrógeno, PLábil: porcentaje de fósforo, pH: pH en cloruro de potasio.

8. Discusión

De acuerdo con la ENAIPROS (Estrategia Nacional de Manejo Forestal Sustentable para el Incremento de la Producción y Productividad) de los 34.2 millones de hectáreas de bosques de clima templado del país, 24.3 millones tienen el potencial natural para dedicarlos a la producción maderera, para ello es necesario la implementación de métodos de manejo forestal de tipo intensivo como lo es el MDS y que predios y ejidos se certifiquen internacionalmente para incrementar los ingresos económicos derivados del aprovechamiento forestal y contribuir al desarrollo social, económico, ecológico y ambiental del país, mediante el manejo integral sustentable de los recursos forestales. Ante esta situación es de suma importancia evaluar el impacto del manejo forestal intensivo sobre la diversidad de los bosques templados del país, para que no se atente contra la biodiversidad de los ecosistemas, particularmente en los grupos funcionales de organismos que intervienen en la dinámica forestal como lo son los HECM.

Identificación de morfotipos de ECM

En este estudio se identificaron 47 morfotipos de ECM, la abundancia de morfotipos presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del MDS, disminuyendo el número de morfotipos con respecto al tratamiento. La CRT fue el tratamiento con menor número de morfotipos respecto al tratamiento 2ACF (control) que aún no ha sido aprovechado de manera intensiva, esto evidencia que hay un efecto negativo en la presencia de raíces micorrizadas al aplicar el tratamiento de corta de regeneración total, puesto que en este tratamiento hubo gran cantidad de raíces micorrizadas muertas y pocos morfotipos de ECM, sin embargo, como la condición del arbolado se restituye por la regeneración artificial la asociación ectomicorrízica se restablece y comienzan a incrementar el número de morfotipos ectomicorrízicos a lo largo del tiempo, ya que en el tratamiento CLF la abundancia de morfotipos incrementó, esto concuerda con lo reportado por Hartmann et al. (2012) y Parlade *et al.*, (2017) quienes reportaron que la corta intensiva de arbolado, reduce la biomasa del micelio de

HECM, provocando una pérdida en la comunidad fúngica de los bosques, ante esta situación Martínez-Peña (2008) y Garibay-Orijel *et al.*, (2013) señala que el suelo forestal tiene el potencial de inoculación, es decir la capacidad del suelo para formar nuevas micorrizas, por lo que se sustenta la utilización del suelo de la zona aprovecha de forma intensiva tras aplicar la CRT, esto para la producción de plantulas ya que existe propagulos de resistencia de los HECM que servirían de nuevos colonizadores a las plántulas que se produzcan en este ejido y asegurar la continuidad de la asociación ectomicorrízica, otra alternativa al decenso de la presencia de morfotipos es realizar cortas de regeneración con árboles padre que puedan servir de refugio de inóculo de micorrizas y otros propágulos fúngicos, para promover de forma natural la micorrización del nuevo arbolado que allí se establezcan de forma natural o artificial y así evitar la pérdida de la asociación de ECM.

Identificación molecular de especies de HECM

Conocer la identidad taxonómica de las especies de HECM que se asocian a las raíces de árboles de interés comercial, es fundamental en estudios de ecología y así poder estimar la riqueza, composición de la comunidad fúngica y la diversidad (Frank *et al.*, 2010). El consentimiento universal para la identificación de especies de hongos con criterios moleculares ha determinado la utilización de la región 18S del rDNA la cual está formada por dos regiones no codificantes (ITS1- ITS2) y una región conservada codificante (5.8S) (White *et al.*, 1990, Gardes y Bruns, 1993).

El porcentaje de similitud para delimitar las especies de HECM para este trabajo fue del 97%, porcentaje que se reporta en otros trabajos para estimar la diversidad fúngica (Smith *et al.*, 2007). Bajo este criterio se conformaron 67 MOTU's que pertenecieron a los phylum Ascomycota y Basidiomycota, se conoce que en los bosques templados la asociación ectomicorrízica está predominantemente dada por HECM pertenecientes a estos phylum y en mayor proporción a Basidiomycota (Smith y Read, 2008, Heijden *et al.* 2015).

De los MOTU's identificados a nivel género, 64 pertenecen a la clase Basidiomycota y solo 3 pertenecen a Ascomycota. La composición de la comunidad de HECM en función al número de especies por género concuerda con otros trabajos que han evaluado la estructura de la comunidad de HECM en bosques templados, resultando los géneros *Tomentella*, *Russula* e *Inocybe* los más representativos en este estudio. Se ha reportado que estos géneros tienen una amplia distribución en los bosques de coníferas (Gardes y Bruns, 1993, Kirk *et al.*, 2008, Amend *et al.*, 2010, Tedersoo *et al.*, 2010, Ihrmark *et al.*, 2012, Wubet *et al.*, 2012, Argüelles-Moyao, 2013, Goldman *et al.*, 2015).

Del total de las secuencias que fueron comparadas con la base de datos, aquellas que estuvieron por debajo del 97% de similitud, no especifica que sean especies nuevas pero evidencia la carencia de información de grupos de HECM a partir de la identificación de la asociación ectomicorrízica y esporomas procedentes de muestras ambientales, particularmente en los bosques templados bajo manejo forestal intensivo en la región centro de México, por lo que es de suma importancia la caracterización de especímenes de herbario y su análisis molecular lograr la identificación de especies de HECM con criterios moleculares.

Impacto del manejo forestal intensivo en la diversidad de HECM

La estructura de las comunidades de grupos funcionales de un ecosistema forestal aprovechado de forma intensiva es un buen indicador de la diversidad del sistema, y si las prácticas silvícolas y regímenes de manejo forestal modifican o deterioran el hábitat, así como la composición de las comunidades (Hartmann *et al.*, 2012).

En este estudio se cuantificaron 67 especies de HECM asociados a las raíces del arbolado bajo aprovechamiento forestal de tipo intensivo, sin embargo la diversidad de HECM se ha visto afectada por la implementación del manejo forestal, principalmente tras aplicar la CRT, tratamiento silvícola donde se aplica la corta a matarraza del arbolado adulto, para establecer una nueva regeneración que será aprovechada en aproximadamente 50 años, este tratamiento tuvo consecuencias inmediatas sobre la riqueza (3 especies) y diversidad de HECM (H'

=1.099), con diferencias estadísticas significativas respecto la diversidad del tratamiento 2ACF (Control) ($H' = 3.658$; riqueza de 41 especies) que aun conserva parte de la estructura natural del bosque en el ejido de Llano Grande.

La disminución en la biodiversidad de HECM asociados a raíces tras aplicar la CRT, se atribuye a que en este tratamiento se modifica el microhabitat, pues al eliminar al fitobionte, las micorrizas dejan de ser funcionales y, por tanto, se produce un descenso en la diversidad de HECM, ya que este grupo funcional muestra una respuesta mucho más sensible a los cambios en la estructura de la vegetación derivadas de las actividades de la corta de regeneración, pues se impide que las redes de micorrizas e hifas establezcan nuevamente la ECM provocando una alteración en la estructura de la comunidad fúngica y una distribución desigual, haciéndolos más propensos a las perturbaciones de su hábitat y en consecuencia provocar cambios en el potencial funcional de este grupo de organismos. por lo que se sostiene la hipótesis de que la diversidad de HECM se vio afectados negativamente por la corta de regeneración total (Kardell y Eriksson, 1987; Ohenoja, 1988, Vucetich *et al.* 2000 Martínez-Peña, 2008, Cabo, 2012 Hartmann *et al.* 2012, Lim y Berbee, 2013, Goldmann *et al.*, 2015, Paillet *et al.*, 2017 y Parladé *et al.*, 2017).

En este estudio el género *Inocybe* estuvo presente en los tres tratamientos evaluados. De acuerdo con Dighton y Mason, (1985) las especies de este género se caracterizan por asociarse al arbolado en su fase inicial y son llamados hongos pioneros (*early seral fungi*) que se caracterizan por presentar una estrategia (r), que combinan una demanda de carbohidratos relativamente baja, con un crecimiento micelial rápido, una generación de esporomas de pequeño tamaño y su adaptación a los suelos pobres en materia orgánica, en específico la especie *Inocybe* sp 4, que estuvo presente en el tratamiento CRT y 2ACF, fue la única especie que muestra que tras aplicarse la corta total del arbolado sus propágulos fueron resistentes a las condiciones ambientales adversas, permitiendo que fuera la única especie que colonizó nuevamente las raíces de los nuevos hospederos

ectomicorrízicos tras la regeneración artificial y continuó con la función ecológica de mantener la ECM activa aún después de la corta a mataraza del arbolado, y promover el crecimiento y desarrollo del fitobionte, sin embargo de acuerdo a la estructura de la vegetación en los tratamientos CLF y 2ACF, el arbolado presenta una estructura que corresponde a una etapa madura del bosque y los géneros de HECM asociados no corresponden totalmente a esta etapa del bosque, lo que se atribuye a la gestión del manejo forestal y los tratamientos previos a la CRT.

En este sentido Hartmann *et al.* (2012), sostienen, que el impacto negativo de la corta de regeneración no debe generalizarse a todas las especies de HECM, ya que algunas, como especies del género *Suillus* e *Inocybe* tienen una alta especificidad del huésped, bajo este criterio en el MDS la regeneración de las especies arbóreas que son aprovechadas de forma intensiva conforma masas forestales completamente coetáneas de una o dos especies de fitobiontes, lo que facilita el mantenimiento de ciertas especies de HECM, como el género *Inocybe*.

Los resultados de este estudio mostraron que las comunidades fúngicas del suelo podrían poseer un alto potencial de resiliencia o tolerancia después de la cosecha intensiva al restablecerse las condiciones del arbolado, en el caso del tratamiento CLF (con arbolado de 18 años de edad) la diversidad de HECM aumentó, probablemente a que en este tratamiento había árboles padre que permitieron la presencia de redes miceliarias activas a diferencia de la corta total donde la riqueza de especies disminuyó radicalmente tras aprovecharse de manera intensiva, Con base en lo anterior se concluye que la comunidad fúngica es un excelente indicador para evaluar el impacto del manejo forestal en los ecosistemas forestales que son aprovechados bajo planes de manejo intensivo.

Recambio de especies de HECM en los tratamientos del MDS

La diversidad beta (JI= 2.3- 12.1 % y SI= 4.5-21.6 %) indicó que la tasa de recambio de especies de HECM entre tratamientos silvícolas fue muy alta y la similitud entre tratamientos fue baja, esto concuerda con diversos trabajos que han evaluado la similitud de la comunidad de hongos, principalmente macromicetos

bajo diferentes condiciones bióticas. Natel y Neumann (1992) indican que las especies de hongos micorrízicos, solo se distribuyen en una parte del gradiente abiótico sobre el que su fitobionte es más abundante por consiguiente la composición de especies de HECM cambiaba a pesar de la presencia del fitobionte. Kujawa y Kujawa (2008) llevaron a cabo un estudio en el oeste de Polonia para evaluar el efecto de áreas reforestadas en la estructura de la comunidad fúngica, ellos reportaron que a pesar de que la vegetación tenía una alta similitud (60-80%) la composición de la comunidad fúngica diferían significativamente con una similitud cercana al 40%.

Por su parte Gómez- Hernández (2009) evaluó la estructura del bosque mesófilo de montaña a dos altitudes y su relación con la diversidad α y β de macromicetos, reportando que la tasa de recambio de macromicetos es muy alta y la similitud entre sitios fue baja de 14-46% por lo que la composición de especies de hongos no estuvo relacionada con la similitud de la vegetación.

Con lo anterior se afirma que el manejo forestal intensivo modifica la estructura de la vegetación en rodales monoespecíficos por lo que los hospederos de los HECM son de la misma especie. Sin embargo, la composición de especies de HECM se vio modificada y su tasa de recambio se elevó por las acciones antropogénicas que se vinculan al aprovechamiento de recursos forestales, ya que se modificó la similitud de la comunidad de HECM asociados a raíces a pesar de que la vegetación que es aprovechada es similar entre tratamientos. Con lo anterior se concluye que es de suma importancia establecer medidas que permitan preservar los recursos fúngicos, ya que si la riqueza de especies fúngicas difiere tanto en rodales monoespecíficos, entonces la conservación de la diversidad funcional de HECM requiere una mayor protección para conservar la vegetación a la que están asociados (Gómez- Hernández, 2009, O'Dell *et al.*, 1994) y que están siendo aprovechadas de forma intensiva. Por ello se recomienda, implementar la corta de regeneración con árboles padres de pie, que además de representar un recurso genético importante en la regeneración natural, se asegura la permanencia de las

redes miceliales de HECM y que no haya una disminución de la diversidad de este grupo funcional de los bosques templados.

Efecto de las variables arbóreas, herbáceas, edáficas y ambientales sobre la riqueza y diversidad de HECM

Como pudo observarse en el gráfico del análisis de componentes principales (Figura 9), la riqueza y diversidad de HECM se encontró principalmente relacionada con las variables estructurales de la vegetación. Este patrón concuerda con lo reportado en diferentes investigaciones, en las cuales se ha observado que la diversidad de hospederos puede ser una fuerte influencia para la comunidad fúngica asociada (Kernaghan, 2005). Tedersoo *et al.*, (2014) reportaron que la riqueza de HECM respondió positivamente a la proporción relativa y la riqueza de especies de hospederos ectomicorrízicos a escala global. Aunado a esto, el tipo de manejo forestal puede influir en la estratificación de los bosques ya que se consideran ciertas características dasométricas del arbolado, como lo son la altura, el diámetro normal y el diámetro de la copa para realizar las cortas intensivas del arbolado, lo que provoca cambios en el estrato arbóreo y herbáceo y en consecuencia, afectar negativamente la microbiota del suelo (Goldmann *et al.*, 2015). Además, otros estudios realizados en diferentes partes del mundo confirman que alteraciones en la diversidad de los fitobiontes, como la reducción de diversidad o el cambio de especies de hospederas a rodales monoespecíficos, como sucede en el MDS, se convierte en un factor que afecta negativamente a la comunidad de hongos ectomicorrízicos asociados (Buée *et al.*, 2011, Campos-López, 2015), por lo que este estudio aporta evidencia acerca de la estrecha relación que existe entre los HECM y sus plantas hospederas.

9. Conclusiones

- El presente estudio constituye uno de los pocos trabajos en México que evalúan el impacto de método de desarrollo silvícola sobre la diversidad de HECM asociados a las raíces de especies de interés comercial que son aprovechados de manera intensiva en el centro del país. Se obtiene información que soporta la importancia de monitorear el impacto del manejo forestal sobre la diversidad de HECM que son un grupo funcional de los bosques templados importante mediante herramientas de biología molecular.
- Se identificaron 47 morfotipos de ECM demostrando que hay un efecto de los tratamientos silvícolas sobre la abundancia de raíces micorrizadas.
- Se obtuvieron 67 MOTU´s a partir de raíces micorrizadas de los cuales 21, estuvieron por debajo del porcentaje de similitud del 97%, lo que significa que podrían ser especies potencialmente endémicas de la región o nuevos registros de especies de HECM para México.
- Se identificaron 67 especies de HECM a partir de muestras de raíces micorrizadas, distribuidas en 12 familias y 23 géneros de los cuales *Inocybe*, *Russula* y *Tomentella* son los más abundantes.
- Hay un impacto negativo del tratamiento CRT sobre la riqueza y diversidad de HECM.
- La tasa de recambio de especies es muy alta entre tratamientos del MDS, a pesar de que los rodales comparten la vegetación, la comunidad de HECM es muy diferente entre tratamientos.

- La riqueza y diversidad de HECM estuvo principalmente relacionada al componente biótico, analizado en este estudio, específicamente a la altura, diámetro normal y cobertura de dosel, condiciones que son determinadas por las etapas del manejo forestal implementado.

10. Perspectivas

Este trabajo sienta las bases para estudios posteriores sobre el impacto del manejo forestal en la diversidad de los bosques templados que son aprovechados en el país utilizando las herramientas de la biología molecular.

- Se recomienda evaluar el impacto de los tratamientos restantes del MDS en el ejido de Llano Grande los cuales son primer aclareo, tercer aclareo, corta de liberación inicial para tener la comunidad completa de HECM.
- Realizar un listado taxonómico de los esporomas de HECM y hongos saprobios en los tratamientos del MDS.
- Evaluar el impacto del manejo irregular sobre la diversidad HECM asociados a las raíces.

11.Recomendaciones

De acuerdo a lo reportado en este estudio se realizan las siguientes recomendaciones para preservar la diversidad fúngica de los ecosistemas forestales aprovechados de forma intensiva:

- La corta de regeneración total permite tener el control sobre la densidad de las masas forestales y favorecer el crecimiento y desarrollo de un grupo de árboles selectos, sin embargo se ha demostrado que ésta práctica es la que más afecta la diversidad de HECM, por lo que se recomienda, implementar la corta de regeneración con árboles padres de pie, que además de representar un recurso genético importante en la regeneración natural, asegura la permanencia de las redes miceliares de HECM y que no haya una disminución de la diversidad de este grupo funcional de los bosques templados.
- Este ejido se caracteriza por tener el control sobre la regeneración artificial de los rodales, produciendo ellos mismos las plántulas destinadas a la reforestación, sin embargo no tienen el conocimiento sobre el potencial funcional de los HECM, por lo que con la información recabada a partir de este trabajo se puede realizar una lista de HECM que sean potenciales para la elaboración de inóculos fúngicos para las plántulas a nivel vivero los cuales incrementarían la supervivencia de las plántulas en los rodales aprovechados y de esta manera incluso se reducirían las reforestaciones y por tanto los costos de producción de plántula.

12. Literatura citada

- Agerer, 1991. Characterization of Ectomycorrhiza. Methods in microbiology, volume 23. Techniques for the study of mycorrhiza. 25-73. Academic, London.
- Agerer R. y Rambold G. 2004–2015. DEEMY. An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae.<www.deemy.de>. (Consultada mayo de 2016).
- Agerer, R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. Mycological Progress, 5(2), 67-107.
- Aleklett, K., y Hart, M. 2013. The root microbiota a fingerprint in the soil. Plant Soil, 370(1-2), 671-686.
- Álvarez-Manjarrez. J. 2014. Diversidad de ectomicorrizas en la selva tropical de Chamela, Jalisco. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Amend, A. S., Seifert, K. A., Samson, R., y Bruns, T. D. 2010. Indoor fungal composition is geographically patterned and more diverse in temperate zones than in the tropics. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(31), 13748-13753.
- Anderson, M. J., Crist, T. O., Chase, J. M., Vellend, M., Inouye, B. D., Freestone, A. L., y Harrison, S. P. 2011. Navigating the multiple meanings of β diversity: a roadmap for the practicing ecologist. Ecology letters, 14(1), 19-28.
- Argüelles-Moyao.A. 2013. Efecto del suelo del bosque de *Abies religiosa* en la comunidad de hongos ectomicorrízicos en el Zarco, San Pedro Atlapulco, Estado de Mexico. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bakker, M. G., Schlatter, D. C., Otto-Hanson, L., y Kinkel, L. L. 2014. Diffuse symbioses: roles of plant–plant, plant–microbe and microbe–microbe interactions in structuring the soil microbiome. Molecular Ecology. 23, 1571–1583.
- Baev, P. V., y Penev, L. D. 1995. BIODIV: program for calculating biological diversity parameters, similarity, niche overlap, and cluster analysis. Pensoft, Sofia, Bulgaria.
- Blaxter, M., Mann, J., Chapman, T., Thomas, F., Whitton, C., Floyd, R., y Abebe, E. 2005. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 360(1462), 1935-1943.

- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., y Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research.
- Brundrett, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1-2), 37-77.
- Buée M, Maurice J P, Zeller B, Andrianarisoa S, Ranger J, Courtecuisse R, Marçais B y Le Tacon F. 2011. Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecology*. 4: 22-31.
- Cabo, T. Á. 2012. Influencia de la edad de la masa en la fructificación de hongos silvestres comestibles en un bosque de *Pinus pinaster* Ait. de Soria. Tesis de Doctorado en Recursos Forestales. Universidad de Valladolid, Campus de Palencia, España.
- Calderón-Patrón, J. M., Moreno, C. E., y Zuria, I. 2012. La diversidad beta: medio siglo de avances. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(3), 879-891.
- Camargo-Ricalde S.L., Montañó N.M., De la Rosa-More C.J. y Montañó S.A. 2012. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*. 3 (17).
- Campos-López, A. 2015. Diversidad de esporomas de hongos ectomicorrizógenos asociados con *Quercus* spp. en un bosque templado de Ixtacuixtla, Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- CONAFOR. 2010. El Inventario Nacional Forestal y de Suelos de México 2004-2009. Una herramienta que da certeza a la planeación, evaluación y el desarrollo forestal de México. Primera edición. México.
- CONAFOR. 2016. Conservación de biodiversidad en el ejido Llano Grande. México.
- Deacon, J. W. 1992. Interactions of Ectomycorrhizal Fungi JW Deacon and LV Fleming. *Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process*, 1249.
- Diario Oficial de la Federación. 2012. Ley General de Desarrollo Forestal Sustentable
- Dighton, J., y Mason, P. A. 1985. Mycorrhizal dynamics during forest tree development. In *Symposium series-British Mycological Society*.
- Fernández-Toirán, L. M., Ágreda, T., y Olano, J. M. 2006. Stand age and sampling year effect on the fungal fruit body community in *Pinus pinaster* forests in central Spain. *Botany*, 84(8), 1249-1258.
- Finlay R D. 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*. 18: 91-96.

- Frank, J., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Oertel, B., Hyde, K. D., Phengsintham, P., y Schroers, H. J. 2010. *Microcyclospora* and *Microcyclosporella*: novel genera accommodating epiphytic fungi causing sooty blotch on apple. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 24(1), 93-105.
- Galindo-Flores, G., Castillo-Guevara, C., Campos-López, A., y Lara, C. 2015. Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences*, 93(4), 855-863.
- Gardes, M., White, T. J., Fortin, J. A., Bruns, T. D., y Taylor, J. W. 1991. Identification of indigenous and introduced symbiotic fungi in ectomycorrhizae by amplification of nuclear and mitochondrial ribosomal DNA. *Canadian Journal of Botany*, 69(1), 180-190.
- Gardes, M., y Bruns, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular ecology*, 2(2), 113-118.
- Garibay-Orijel, R., Córdova, J., Cifuentes, J., Valenzuela, R., Estrada-Torres, A. y Kong, A. 2009. Integrating wild mushrooms use into a model of sustainable management for indigenous community forests. *Forest Ecology and Management*, 258(2), 122-131.
- Garibay-Orijel, R., Morales-Marañón, E., Domínguez-Gutiérrez, M., y Flores-García, A. 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(1), 153-169.
- Goldmann K, Schöning I, Buscot and Wubet T. 2015. Forest Management Type Influences Diversity and Community Composition of Soil Fungi across Temperate Forest Ecosystems. *Front. Microbiol.* 6:1300.
- Gómez-Hernández, M. A. 2009. Diversidad de macromicetes en relación a estructura, especies arbóreas y microclima del bosque mesófilo de montaña en el centro de Veracruz, México Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto de Ecología, Xalapa.
- Gömöryová, E., Ujházy, K., Martinák, M., y Gömöry, D. 2013. Soil microbial community response to variation in vegetation and abiotic environment in a temperate old-growth forest. *Applied soil ecology*, 68, 10-19.
- Harley, J. L., y Smith, S. E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press Inc. No. 04; QK604, H3
- Hartmann, A., Schmid, M., Tuinen, D. V., y Berg, G. 2008. Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil* 321, 235–257.

- Hartmann, M., Howes, C. G., VanInsberghe, D., Yu, H., Bachar, D., Christen, R., y Mohn, W. W. 2012. Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *The ISME journal*, 6(12), 2199-2218.
- Hawksworth, D. L. (Ed.). 1995. *Biodiversity: measurement and estimation* (Vol. 345). Springer Science & Business Media.
- Heijden, M. G., Martin, F. M., Selosse, M. A., y Sanders, I. R. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423.
- Hernández-Díaz J., Corral-Rivas J., Quinones-Chávez A., Bacon-Sobbe J. y Vargas-Larreta B. 2008. Evaluación del manejo forestal regular e irregular en bosques de la Sierra Madre Occidental. *Madera y Bosques*. 14(3) 25-41.
- Hernández-Salas. 2014. *Ordenación forestal. Curso regional: regulación, manejo y salud forestal*. Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, Universidad Autónoma de Chihuahua. México.
- Hutcheson, K. 1970. A test for comparing diversities based on the Shannon formula. *Journal of theoretical Biology*, 29(1), 151-154.
- Ihrmark, K., Bödeker, I. T., Cruz-Martinez, K., Friberg, H., Kubartova, A., Schenck, J., y Lindahl, B. D. 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region—evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS microbiology ecology*, 82(3), 666-677.
- Jardel, E. J. 2012. El manejo forestal en México: estado actual y perspectivas. *Estado de los Bosques en México* (69-115). México: Consejo Civil Mexicano para la Silvicultura Sostenible.
- Jardel Peláez E. 2015. *Criterios para la conservación de la biodiversidad en los programas de manejo forestal*. CONAFOR. Primera Edición. México.
- Jones, D. L., Hodge, A., y Kuzyakov, Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New phytologist*, 163(3), 459-480.
- Kardell, L., y Eriksson, L. 1987. The effect of forest operations on the production of edible mushrooms. *Sveriges Skogsvarvdsförbunds Fidskrift*, 2(87), 3-24.
- Kernaghan, G. 2005. Mycorrhizal diversity: cause and effect?. *Pedobiologia*, 49(6), 511-520.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., y Stalpers, J. A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. Wallingford, CAB International (p. 719).

- Kujawa, A., y Kujawa, K. 2008. Effect of young midfield shelterbelts development on species richness of macrofungi communities and their functional structure. *Polish Journal of Ecology*, 56(1), 45.
- Lang, C., Seven, J., y Polle, A. 2011. Host preferences and differential contributions of deciduous tree species shape mycorrhizal species richness in a mixed Central European forest. *Mycorrhiza*, 21(4), 297-308.
- Lauber, C. L., Strickland, M. S., Bradford, M. A., y Fierer, N. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2407-2415.
- Lim, S., y Berbee, M. L. 2013. Phylogenetic structure of ectomycorrhizal fungal communities of western hemlock changes with forest age and stand type. *Mycorrhiza*, 23(6), 473-486.
- Magurran, A. E. 1988. Why diversity?. In *Ecological diversity and its measurement* (pp. 1-5). Springer Netherlands.
- Martínez- Peña F. 2008. Producción de carpóforos de macromicetos epigeos en masas ordenadas de *Pinus sylvestris*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
- Molina, R., y Trappe, J. M. 1994. Biology of the ectomycorrhizal genus, *Rhizopogon*. *New Phytologist*, 126(4), 653-675.
- Molina R, Massicote H y Trappe J M. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. En: *Mycorrhizal functioning: An integrative plant-fungal process*. Allen M F (ed.). Chapman and Hall. Nueva York. 357-423.
- Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad M&T–Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza, 84 pp.
- Moreno, C. E., y Rodríguez, P. 2010. A consistent terminology for quantifying species diversity?. *Oecologia*, 163(2), 279-282.
- Natell, P., y Neumann, P. 1992. Ecology of Ectomycorrhizal-Basidiomycete Communities on a Local Vegetation Gradient. *Ecology*, 73(1), 99-117.
- Nilsson, R. H., Veldre, V., Hartmann, M., Unterseher, M., Amend, A., Bergsten, J., ... y Abarenkov, K. 2010. An open source software package for automated extraction of ITS1 and ITS2 from fungal ITS sequences for use in high-throughput community assays and molecular ecology. *Fungal Ecology*, 3(4), 284-287.

- O'Dell, T., J. Smith, M. Castellano y D. Luoma, D. 1994. Diversity and conservation of forest fungi. In *Managing forest ecosystems to conserve fungus diversity and sustain wild mushroom harvests*, D. Pilz y R. Molina (eds.). U.S. Department of Agriculture, Forest Service, General Technical Report PNW-GTR-371, Portland, Oregon. p. 5-18
- Ohenoja, E. 1988. Effect of forest management procedures on fungal fruit body production in Finland. *Acta Botanica Fennica*[ACTA BOT. FENN.]. 1988.
- Paillet, Y., Bergès, L., Hjältén, J., Ódor, P., Avon, C., Bernhardt-Römermann, M. A. R. K. U. S., y Kanka, R. 2010. Biodiversity differences between managed and unmanaged forests: meta-analysis of species richness in Europe. *Conservation biology*, 24(1), 101-112.
- Paillet, Y., Archaux, F., Boulanger, V., Debaive, N., Fuhr, M., Gilg, O., y Guilbert, E. 2017. Snags and large trees drive higher tree microhabitat densities in strict forest reserves. *Forest Ecology and Management*, 389, 176-186.
- Parladé, J., Martínez-Peña, F., y Pera, J. 2017. Effects of forest management and climatic variables on the mycelium dynamics and sporocarp production of the ectomycorrhizal fungus *Boletus edulis*. *Forest Ecology and Management*, 390, 73-79.
- Peterson, R. L., y Massicotte, H. B. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1074-1088.
- Pielou, E. C. E. C. 1975. *Ecological diversity*. Wiley Interscience. Nueva York. 165 p.
- Ramírez González, A. 2006. *Ecología: Métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades*. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá Colombia.
- Reverchon, F., Ortega-Larrocea, M. D. P., Pérez-Moreno, J., Peña-Ramírez, V. M., y Siebe, C. 2010. Changes in community structure of ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus montezumae* across a volcanic soil chronosequence at Sierra Chichinautzin, Mexico. *Canadian journal of forest research*, 40(6), 1165-1174.
- Rodríguez-Tovar, A., Xoconostle Cásarez, B., y Valdés, M. 2004. Ecología molecular de los hongos ectomicorrízicos. *Revista Fitotécnica Mexicana*, 27(3).
- Selosse, M. A., y Le Tacon, F. 1998. The land flora: a phototroph-fungus partnership?. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(1), 15-20.
- Setaro, S. D., y Kron, K. A. (2011). Neotropical and North American Vaccinioideae (Ericaceae) share their mycorrhizal Sebaciniales - an indication for concerted migration? *PLoS Currents*, 3, RRN1227.

- Simard, S. W., Beiler, K. J., Bingham, M. A., Deslippe, J. R., Philip, L. J., y Teste, F. P. 2012. Mycorrhizal networks: mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, 26(1), 39-60.
- Smith, M. E., Douhan, G. W., y Rizzo, D. M. 2007. Intra-specific and intra-sporocarp ITS variation of ectomycorrhizal fungi as assessed by rDNA sequencing of sporocarps and pooled ectomycorrhizal roots from a *Quercus* woodland. *Mycorrhiza*, 18(1), 15-22.
- Schmit J P y Longe D J. 2005. Classical methods and modern analysis for studying fungal diversity. En: *The Fungal Community: its organization and role in the ecosystem*. Dighton J, White J F y Oudemans P (Eds.). Taylor & Francis. Boca Raton, FL. 193-214.
- Smith S E y Read D J. 1997. *Mycorrhizal symbioses*. Academic Press. Londres
- Smith, S. E., y Read, D. J. 2008. Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. *Mycorrhizal symbiosis*, 3, 145-18.
- Sustentable, L. G. D. D. F. 2012. *Diario Oficial de la Federación*. México, DF, 7, 12.
- Taylor A. 2002. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection. *Plant and Soil*. 244: 19-28.
- Tedersoo, L., May, T. W., y Smith, M. E. 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*, 20(4), 217-263.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Toots, M., Diedhiou, A. G., Henkel, T. W., Kjäller, R., ... y Polme, S. 2012. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Molecular Ecology*, 21(17), 4160-4170.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N. S., Wijesundera, R., y Smith, M. E. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *science*, 346(6213).
- Toribio, M., Celestino, C., Hernandez, I., Carneros, E., y Lopez-Vela, D. 2005 La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología forestal. *Forest Systems*, 14(3), 345-357.
- Trappe, J. M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint.
- Trappe, J. M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Review of Phytopathology*, 15(1), 203-222.

- Urbanová, M., Šnajdr, J., y Baldrian, P. 2015. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 53-64.
- Valdes, M., Córdova, J., Gómez, M., y Fierros, A. M. 2003. Understory vegetation and ectomycorrhizal sporocarp diversity response to pine regeneration methods in Oaxaca, Mexico. *Western Journal of Applied Forestry*, 18(2), 101-108.
- Valdés, M., y Galicia, M. C. 1997. Interaction between actinorrhizal and mycorrhizal associations on *Alnus acuminata* ssp. *glabrata*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 22(82), 3-14.
- Vargas-Larreta B. 2013. Manual de mejores prácticas de manejo forestal para la conservación de la biodiversidad en ecosistemas templados de la región norte de México. CONAFOR. Impresos Florida S.A. de C.V. Primera Edición.
- Vellend, M. 2001. Do commonly used indices of β -diversity measure species turnover?. *Journal of Vegetation Science*, 12(4), 545-552.
- Villanueva-Jiménez, E., Villegas-Ríos, M., Cifuentes-Blanco, J., y León-Avendaño, H. 2006. Diversidad del género *Amanita* en dos áreas con diferente condición silvícola en Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 77(1), 17-22.
- Vucetich, J. A., Reed, D. D., Breymeyer, A., Degórski, M., Mroz, G. D., Solon, J., y Noble, R. 2000. Carbon pools and ecosystem properties along a latitudinal gradient in northern Scots pine (*Pinus sylvestris*) forests. *Forest Ecology and Management*, 136(1), 135-145.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., y Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Whittaker, R. H. (1972). Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*, 21, 213-51.
- Wubet, T., Christ, S., Schöning, I., Boch, S., Gawlich, M., Schnabel, B., y Buscot, F. 2012. Differences in soil fungal communities between European beech (*Fagus sylvatica* L.) dominated forests are related to soil and understory vegetation. *PloS one*, 7(10), e47500.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th ed Prentice-Hall. India. 663 p.

13. Anexos

Anexo 1. Estrato arbóreo SPED´S 16, 18, 39 Y 40 del Ejido de Llano Grande

CLAVE SPED	PREDIO	SITIO	CUADRANTE	No. ÁRBOL	ESPECIE	DN	DIAM TOCON	GCORT	AT	AFL	DC1	DC2	OBSERVACIÓN	EDAD	INC 5	TP	VIGOR	DANO	CONDICIÓN	ORIGEN
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	1	<i>Pinus montezumae</i>	7.5	8.6	0.5	4.25	2.25	1.7	1.1	ARBOL ADULTO	9	1	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	2	<i>Pinus patula</i>	30	32	1.8	20.25	6.75	3.6	3.5	ARBOL ADULTO	32	1.3	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	3	<i>Pinus patula</i>	23.4	13.5	1.1	18.75	6.75	1.8	1.7	ARBOL ADULTO	27	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	4	<i>Pinus ayacahuite</i>	28.5	19.7	0.5	10.75	4.25	2.8	2.2	ARBOL ADULTO	20	1.1	10	1	3	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	5	<i>Pinus ayacahuite</i>	11.3	15.6	1	7.25	3	2.6	2.3	ARBOL ADULTO	12	1.5	8	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	1	6	<i>Pinus ayacahuite</i>	6.2			7.5				REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	1	<i>Pinus patula</i>	29	36.2	2	20.75	7	2.8	2.6	ARBOL ADULTO	25	1.1	10	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	2	<i>Pinus patula</i>	27.6	32.3	1.2	20.75	7	2.9	2.6	ARBOL ADULTO	26	1.2	8	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	3	<i>Abies religiosa</i>	24.7	32	1	14.5	6.75	4.1	3.1	ARBOL ADULTO	27	1.4	11	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	4	<i>Pinus patula</i>	24.9	28.7	1.5	19.25	6.25	1.9	1.6	ARBOL ADULTO	25	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	5	<i>Pinus patula</i>	23	26.2	1.7	19.75	7.25	1.7	1.6	ARBOL ADULTO	20	1.4	10	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	6	<i>Pinus patula</i>	20.6	23.1	1.8	18.25	4.75	1.7	1.5	ARBOL ADULTO	22	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	7	<i>Abies religiosa</i>	20.4	24.7	0.5	13.75	4.25	2.1	1.9	ARBOL ADULTO	18	1.1	10	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	8	<i>Abies religiosa</i>	30.1	35.8	1.4	20.75	5.25	2.4	2.3	ARBOL ADULTO	26	1.6	10	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	9	<i>Pinus patula</i>	7.8	23.2	1.2	19.25	6.25	1.5	1.4	ARBOL ADULTO	21	1.5	10	1	1	2	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	10	<i>Pinus patula</i>	19.8	24.1	1.6	19.5	6.25	1.5	1.3	ARBOL ADULTO	22	1.3	10	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRANDE	16	2	11	<i>Pinus ayacahuite</i>	2.2			1.75				REGENERACION AVANZADA					1	1	1

TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	1	<i>Pinus patula</i>	14.4	19.3	1.2	11.75	4.25	1.4	1.3	ARBOL ADULTO	24	1.4	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	2	<i>Pinus patula</i>	15.5	20.8	1.5	10.25	4.25	2	1.9	ARBOL ADULTO	18	1.2	9	2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	3	<i>Pinus patula</i>	27.6	28.1	1.8	20.25	5.25	2.2	1.8	ARBOL ADULTO	25	1.4	8	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	4	<i>Pinus patula</i>	17.7	18.1	1.8	15	4.75	1.6	1.4	ARBOL ADULTO	17	1.4	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	5	<i>Pinus patula</i>	13.7	15.2	2.3	14.25	5.25	1.4	1.3	ARBOL ADULTO	17	1.5	10	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	6	<i>Pinus patula</i>	28.3	33.9	1.3	21.25	5.75	2.3	2.2	ARBOL ADULTO	26	1.5	8	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	7	<i>Pinus patula</i>	24.8	28.9	2	19	5.25	1.8	1.6	ARBOL ADULTO	27	1.5	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	8	<i>Pinus patula</i>	22.8	25.1	1.9	19.25	5.25	1.7	1.7	ARBOL ADULTO	23	1.1	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	9	<i>Pinus ayacahuite</i>	2			2				REGENERACION AVANZADA						1	1	1
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	3	10	<i>Pinus ayacahuite</i>	2			2				REGENERACION AVANZADA						1	1	1
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	1	<i>Pinus ayacahuite</i>	12.2	15.2	0.6	7.25	2.75	1.9	1.7	ARBOL ADULTO	14	1.1	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	2	<i>Pinus Montezumae</i>	26.2	32.4	2	18.7	5	1.8	1.6	ARBOL ADULTO	19	1.4	8	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	3	<i>Pinus patula</i>	13.8	17.3	1	8.25	2.75	1.9	1.7	ARBOL ADULTO	13	1.5	9	2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	4	<i>Pinus patula</i>	32.7	39.7	2	19.5	4.75	2.9	2.5	ARBOL ADULTO	27	1.2	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	5	<i>Pinus patula</i>	23.8	29.7	1.8	19.75	5.25	1.7	1.5	ARBOL ADULTO	25	1.4	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	6	<i>Pinus patula</i>	26	32.9	1.7	20	6.25	1.9	1.7	ARBOL ADULTO	23	1.3	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	7	<i>Abies religiosa</i>	39.6	48.1	1	24	6	3.9	3.8	ARBOL ADULTO	33	1.2	11	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	8	<i>Pinus patula</i>	26.7	28.1	1.1	13.25	5	1.5	1.6	ARBOL ADULTO	13	1.5	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG16	EJIDO_LLANO_GRADE	16	4	9	<i>Pinus ayacahuite</i>	6			6.25				REGENERACION AVANZADA						1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	1	<i>Pinus pseudostrobus</i>	18.3	1.5	9.75	2.25	2.40	2.2	2.2	ARBOL ADULTO	16	1.1	9	1	3	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	2	<i>Pinus patula</i>	33.9	2	15.75	3.25	3.3	3.2	3.2	ARBOL ADULTO	23	1.5	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	3	<i>Pinus patula</i>	17.8	1.3	9.75	3.25	2.1	2	2	ARBOL ADULTO	17	1.4	8	2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	4	<i>Pinus patula</i>	13.2	1.2	6.25	2.25	2	1.6	1.6	ARBOL ADULTO	11	1.2	9	2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	5	<i>Pinus patula</i>	29.1	1.6	15.75	4.25	3.2	3	3	ARBOL ADULTO	19	1.4	10	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	6	<i>Pinus patula</i>	24.9	1.6	10.25	3.75	2.8	2.7	2.7	ARBOL ADULTO	15	1.3	8	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	7	<i>Pinus patula</i>	17.2	1	7.75	3.25	2.7	2.2	2.2	ARBOL ADULTO	14	1.3	9	2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	8	<i>Pinus patula</i>			5.75					REGENERACION AVANZADA						1	1	1

TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	9	<i>Pinus patula</i>			5.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	10	<i>Pinus patula</i>			5.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	1	11	<i>Abies religiosa</i>			1.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	1	<i>Pinus patula</i>	21.1	1.7	9.75	3.5	2.6	2.5	2.5	ARBOL ADULTO	12	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	2	<i>Pinus pseudostrobus</i>	14.1	1.7	5.5	1.75	1.5	1.3	1.3	ARBOL ADULTO	19	0.9	9	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	3	<i>Pinus pseudostrobus</i>	22.8	1.5	9.75	3.25	2.7	2.4	2.4	ARBOL ADULTO	18	1.2	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	4	<i>Pinus pseudostrobus</i>	27	2.3	9.5	2.75	3.1	2.8	2.8	ARBOL ADULTO	20	1.3	8	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	5	<i>Pinus patula</i>	33	2.3	17.25	4.25	5.5	5.4	5.4	ARBOL ADULTO	23	1.3	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	6	<i>Pinus patula</i>	25.3	1.8	17.75	3.25	2.9	3.8	3.8	ARBOL ADULTO	16	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	7	<i>Pinus patula</i>	4.25							REGENERACION AVANZADA					3	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	8	<i>Pinus patula</i>	6.25							REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	2	9	<i>Pinus montezumae</i>	2.25							REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	1	<i>Pinus pseudostrobus</i>	12.4	1.2	5.25	2.25	2.7	2.6	2.6	ARBOL ADULTO	7	0.9	7	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	2	<i>Pinus patula</i>	22.5	1.1	11.75	3.25	2.6	2.5	2.5	ARBOL ADULTO	17	1.3	8	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	3	<i>Pinus pseudostrobus</i>	30.2	1.9	10.75	4.75	4.9	4.8	4.8	ARBOL ADULTO	24	1.3	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	4	<i>Pinus pseudostrobus</i>	14	1.4	5.75	3.75	2.4	1.9	1.9	ARBOL ADULTO	10	1.3	8	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	5	<i>Pinus patula</i>	12.5	1	5.75	2.25	2.2	1.5	1.5	ARBOL ADULTO	7	1.4	7	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	6	<i>Pinus patula</i>	29.7	1.1	15.5	4.25	2.4	1.7	1.7	ARBOL ADULTO	24	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	7	<i>Pinus patula</i>			5.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	8	<i>Pinus montezumae</i>			1.35					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	9	<i>Pinus patula</i>			4.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	10	<i>Pinus patula</i>			1.4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	11	<i>Pinus patula</i>			3.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	3	12	<i>Pinus montezumae</i>			1.3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	1	<i>Pinus pseudostrobus</i>	21.7	1.5	8.75	3.5	3	2.9	2.9	ARBOL ADULTO	21	1.1	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	2	<i>Pinus patula</i>	32.4	1.5	12.25	4.25	6.5	6.4	6.4	ARBOL ADULTO	25	1.4	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	3	<i>Pinus patula</i>	27.3	1.8	15.25	4.75	5	4.9	4.9	ARBOL ADULTO	19	1.4	9	1	1	1	

TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	4	<i>Pinus patula</i>	33.1	1.2	12.25	4.25	2.7	2.6	2.6	ARBOL ADULTO	24	1.5	8	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	5	<i>Pinus patula</i>	17.2	1.4	6.25	3.5	2.8	2.5	2.5	ARBOL ADULTO	12	0.6	10	2	3	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	6	<i>Pinus patula</i>	30.3	1.8	17.25	5.75	3.2	3.2	3.2	ARBOL ADULTO	24	1.4	8	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	7	<i>Pinus patula</i>	14.5	2	11.5	6	1.7	1.6	1.6	ARBOL ADULTO	16	1.1	9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	8	<i>Pinus pseudostrabus</i>	18.8	1.3	8.75	4.75	2.3	2.2	2.2	ARBOL ADULTO	16	0.7	11	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	9	<i>Pinus patula</i>			3.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	10	<i>Pinus montezumae</i>			5.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	11	<i>Pinus montezumae</i>			1.3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	12	<i>Pinus montezumae</i>			1.35					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG18	EJIDO_LLANO_GRADE	18	4	13	<i>Pinus montezumae</i>			1.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	1	<i>Quercus laurina</i>	59.9	0.8	21.75	7.25	8.5	4.5	4.5	ARBOL ADULTO				1	3	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	2	<i>Pinus patula</i>	13.2	0.6	13.25	9.25	1.7	0.9	0.9	ARBOL ADULTO	20	0.8	14	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	3	<i>Quercus rugosa</i>	17.4	0.8	3.75	8.5	3.6	3.3	3.3	ARBOL ADULTO				2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	4	<i>Quercus laurina</i>	35.9	0.7	16.5	6.25	5.5	5.4	5.4	ARBOL ADULTO				2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	5	<i>Lonicera</i>			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	6	<i>Quercus laurina</i>			3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	7	<i>Quercus laurina</i>			4.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	8	<i>Quercus laurina</i>			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	9	<i>Quercus laurina</i>			5.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	10	<i>Quercus laurina</i>			5.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	11	<i>Quercus laurina</i>			3.25					REGENERACION AVANZADA					2	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	12	<i>Quercus laurina</i>			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	1	13	<i>Quercus laurina</i>			5.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	1	<i>Pinus patula</i>	11.1	0.4	12.75	8.5	2.7	0.9	0.9	ARBOL ADULTO	20	0.8	14	2	2	2	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	2	<i>Quercus laurina</i>	36.9	0.5	18.5	7.75	3.7	3	3	ARBOL ADULTO				1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	3	<i>Quercus laurina</i>	17.2	0.3	13.25	5.5	2.8	2.4	2.4	ARBOL ADULTO				1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	4	<i>Quercus rugosa</i>	13.1	0.3	12.25	4.5	2.3	1.8	1.8	ARBOL ADULTO				2	1	1	

TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	5	<i>Quercus laurina</i>	14.7	0.4	11.25	4.5	2.5	1.8	1.8	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	6	<i>Quercus laurina</i>	36.7	1	16.25	3.75	2.3	2	2	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	7	<i>Quercus laurina</i>	36.7	1	16.25	3.25	2.5	2.1	2.1	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	8	<i>Quercus laurina</i>	11.1	0.6	10.75	3.25	1.7	1.6	1.6	ARBOL ADULTO				2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	9	<i>Quercus laurina</i>	13	0.5	11.25	4.25	2.4	1.8	1.8	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	10	<i>Quercus laurina</i>	13.7	0.3	12.25	3.25	3.6	2.7	2.7	ARBOL ADULTO				2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	11	<i>Quercus laurina</i>	31.1	0.5	13.75	4.75	5.3	3.7	3.7	ARBOL ADULTO				1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	12	<i>Pinus patula</i>			8.5					REGENERACION AVANZADA					3	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	13	<i>Quercus laurina</i>			3.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	14	<i>Quercus laurina</i>			5.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	15	<i>Quercus laurina</i>			5.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	2	16	<i>Lonicera</i>			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	1	<i>Quercus rugosa</i>	25.7	0.8	7.75	2.75	2.1	1.9	1.9	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	2	<i>Quercus rugosa</i>	25.7	0.7	8.75	3	3.4	3.1	3.1	ARBOL ADULTO					1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	3	<i>Abies religiosa</i>	22.6	1.2	18.5	8.75	3.4	2.8	2.8	ARBOL ADULTO	29	0.4	10	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	4	<i>Alnus arguta</i>	27.2	2.5	17.25	8	3.9	3.2	3.2	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	5	<i>Alnus arguta</i>	16.7	1.4	8.25	4.25	3.8	3.2	3.2	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	6	<i>Quercus laurina</i>	14.6	0.4	8.75	2.25	2	1.4	1.4	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	7	<i>Quercus laurina</i>	10.3	0.4	8.25	2	1.7	0.9	0.9	ARBOL ADULTO				2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	8	<i>Pinus patula</i>	34.8	2.1	18.5	9	4.5	3.6	3.6	ARBOL ADULTO	26	1	9	1	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	9	<i>Quercus laurina</i>	15.8	0.5	7.75	2.75	2.6	2.5	2.5	ARBOL ADULTO				2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	3	10	<i>Quercus rugosa</i>	15.8	0.4	7.75	2.75	2.1	1.2	1.2	ARBOL ADULTO				2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	1	<i>Pinus patula</i>	11.9	0.6	6.25	4.25	1.5	1.3	1.3	ARBOL ADULTO	18	0.7	12	2	1	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	2	<i>Pinus patula</i>	16.9	1.1	20.25	8.75	2.5	1.5	1.5	ARBOL ADULTO	21	0.6	13	2	3	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	3	<i>Quercus laurina</i>	15	1.4	14.75	10.25	2.4	2	2	ARBOL ADULTO				2	3	1		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	4	<i>Quercus laurina</i>	12.4	0.9	8.5	4.25	2.5	1.9	1.9	ARBOL ADULTO				2	1	2		
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	5	<i>Pinus patula</i>	18	0.6	14.5	8.5	2.3	1.6	1.6	ARBOL ADULTO	17	0.7	14	2	1	1		

TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	6	<i>Abies religiosa</i>	31.4	1.4	22.75	12.75	3.3	2.8	2.8	ARBOL ADULTO	26	1.1	10	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	7	<i>Pinus patula</i>	18.4	1.1	22.75	13.25	2.3	1.9	1.9	ARBOL ADULTO	21	0.5	16	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	8	<i>Pinus patula</i>	16.3	1.4	17.5	10.75	2	1.3	1.3	ARBOL ADULTO	19	0.6	12	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	9	<i>Pinus patula</i>	17.7	1.4	15.75	13.25	2.4	1.8	1.8	ARBOL ADULTO	21	1.1	12	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	10	<i>Pinus patula</i>	17.6	1.1	20.25	10.75	2.5	2	2	ARBOL ADULTO	28	1.3	13	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	11	<i>Pinus patula</i>	20.9	1.7	21.25	12.75	1.6	1.4	1.4	ARBOL ADULTO	17	0.6	12	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	12	<i>Pinus patula</i>	10.2	1.1	2.75	12.75	3	2.8	2.8	ARBOL ADULTO	17	1.4	11	2	1	2	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	13	<i>Pinus patula</i>	16.4	1.1	17.75	11.75	0.7	0.6	0.6	ARBOL ADULTO	15	0.7	15	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	14	<i>Pinus patula</i>	13.5	0.4	17.25	13.25	1.4	1	1	ARBOL ADULTO	13	0.7	12	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	15	<i>Pinus patula</i>	9.4	9	14.75	8.5	1.3	0.9	0.9	ARBOL ADULTO	15	0.5	13	2	1	2	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	16	<i>Pinus patula</i>	11.1	0.5	12.75	8.75	1.7	1.1	1.1	ARBOL ADULTO	16	0.6	13	2	1	2	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	17	<i>Pinus patula</i>	13.2	0.4	17.75	9.25	2.2	1.6	1.6	ARBOL ADULTO	19	0.9	11	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	18	<i>Pinus patula</i>	25.5	1.5	21.75	12.25	2.5	1.8	1.8	ARBOL ADULTO	16	1.2	0.8	1	3	1	
TUNAC 2108 TLLG39	EJIDO_LLANO_GRADE	39	4	19	<i>Pinus patula</i>	20	1.1	18.25	9.75	1.9	1.3	1.3	ARBOL ADULTO	22	1.1	0.9	1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	1	<i>Abies religiosa</i>	73.8	2.2	36.75	20.25	8.60	8.4	8.4	ARBOL ADULTO	67	1.4	14	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	2	<i>Quercus laurina</i>	24.3	1.3	11.25	2	6	4.6	4.6	ARBOL ADULTO				2	2	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	3	<i>Abies religiosa</i>	33.5	1.1	20.5	14.25	6	4.15	4.15	ARBOL ADULTO	43	0.5	19	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	4	<i>Pinus patula</i>	66.2	3.3	35.5	15.5	9.5	6.5	6.5	ARBOL ADULTO	71	0.4	16	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	5	<i>Pinus patula</i>	63.2	2.4	36.75	19.25	9.1	8.5	8.5	ARBOL ADULTO	84	0.5	18	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	6	<i>Abies religiosa</i>			3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	7	<i>Abies religiosa</i>			3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	8	<i>Abies religiosa</i>			4.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	9	<i>Abies religiosa</i>			5					REGENERACION AVANZADA					2	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	1	10	<i>Abies religiosa</i>			3.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	2	1	<i>Quercus laurina</i>	52.2	4	27.75	8.25	9.3	8.7	8.7	ARBOL ADULTO				1	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	2	2	<i>Quercus laurina</i>	13.8	2	3.75	1.5	6.5	3.2	3.2	ARBOL ADULTO				2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	2	3	<i>Abies religiosa</i>	10.4	0.9	9	2.75	3.5	3	3	ARBOL ADULTO	11	1	11	2	1	2	

TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	4	Salix	13.2	0.9	9.5	4	2.7	2.5	2.5	ARBOL ADULTO				2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	5	Abies religiosa			3.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	6	Abies religiosa			3.75					REGENERACION AVANZADA					2	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	7	Abies religiosa			4.5					REGENERACION AVANZADA					2	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	8	Pinus patula			6.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	2	9	Abies religiosa			5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	1	Pinus patula	81.2	2.9	38.75	14.25	16.5	14.01	14.01	ARBOL ADULTO	65	0.4	17	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	2	Pinus patula	75.3	2.1	35.5	22.25	12.9	11.3	11.3	ARBOL ADULTO	97	0.3	24	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	3	Abies religiosa	55.4	2.7	30.75	20	9.6	7.3	7.3	ARBOL ADULTO	60	0.4	21	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	4	Abies religiosa	12.8	0.6	11.75	4.25	3.5	3.25	3.25	ARBOL ADULTO	14	0.8	11	2	1	1	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	5	Pinus patula	72.4	1.8	35.5	19.75	11.8	9.9	9.9	ARBOL ADULTO	71	0.5	22	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	6	Abies religiosa			3					REGENERACION AVANZADA					3	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	7	Abies religiosa			4.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	8	Abies religiosa			3.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	9	Abies religiosa			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	10	Abies religiosa			6.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	11	Abies religiosa			3					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	12	Abies religiosa			3.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	3	13	Abies religiosa			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	1	Salix	9.2	0.4	9.25	3.75	3.3	3.1	3.1	ARBOL ADULTO				2	1	2	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	2	Abies religiosa	68.7	1.8	37.75	25.5	4.8	4.6	4.6	ARBOL ADULTO	69	0.3	19	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	3	Abies religiosa	54.7	1.9	34.25	12.75	7.1	6.4	6.4	ARBOL ADULTO	78	0.3	20	1	1	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	4	Abies religiosa	53.1	1.8	34.5	23.25	4.8	4.3	4.3	ARBOL ADULTO	74	0.3	21	1	3	3	
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	5	Pinus patula			6.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	6	Pinus patula			8.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	7	Abies religiosa			6.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRANDE	40	4	8	Abies religiosa			5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1

TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	4	9	<i>Abies religiosa</i>			3.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	4	10	<i>Abies religiosa</i>			4.25					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	4	11	<i>Abies religiosa</i>			4					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	4	12	<i>Abies religiosa</i>			3.5					REGENERACION AVANZADA					1	1	1
TUNAC 2108 TLLG40	EJIDO_LLANO_GRADE	40	4	13	<i>Abies religiosa</i>			3.75					REGENERACION AVANZADA					1	1	1

Anexo 2 Analisis de componentes principales en SPSS

Get

```
FILE='C:\Users\Alberto\Documents\Sin título2.sav'.  
DATASET NAME Conjunto_de_datos1 WINDOW=FRONT.  
FACTOR  
/VARIABLES ph C N P DR DA AT DN RL CD SAB SA SH HAB HAR HH T°Max T°Med T°Min SHECM HHECM  
/MISSING LISTWISE  
/ANALYSIS ph C N P DR DA AT DN RL CD SAB SA SH HAB HAR HH T°Max T°Med T°Min SHECM HHECM  
/PRINT UNIVARIATE INITIAL CORRELATION SIG DET KMO EXTRACTION  
/PLOT EIGEN ROTATION  
/CRITERIA FACTORS(2) ITERATE(25)  
/EXTRACTION PC  
/ROTATION NOROTATE  
/SAVE REG(ALL)  
/METHOD=CORRELATION.
```

Análisis factorial

[Conjunto_de_datos1] C:\Users\Alberto\Documents\Sin título2.sav

Estadísticos descriptivos

	Media	Desviación estándar	N de análisis
ph KCl	5.3483	.31909	6
%C	13.0250	1.50969	6
%N	.7333	.11708	6
%P lábil	.00217	.000408	6
DR	533.33	543.752	6
DA	500.00	440.170	6
AT	7.93	6.507	6
DN	10.65	8.698	6
RL	118.00	113.096	6

%CD	58.00	44.936	6
S árboles	4.00	3.225	6
S arbustos	15.67	2.733	6
S hierbas	17.33	.516	6
H arboles	.72	.653	6
H arbustos	2.0967	.54452	6
H hierbas	2.327	.1521	6
T° Max	24.48967	3.546322	6
T° Med	12.32267	1.097638	6
T° Min	1.01033	5.035668	6
S HECM	25.67	17.918	6
H HECM	2.77000	1.297984	6

Matriz de correlaciones^{ab}

	ph KCl	%C	%N	%P lábil	DR	DA	AT	DN	RL	%CD	S árboles	S arbustos	S hierbas	H arboles	H arbustos	H hierbas	T° Max	T° Med	T° Min	S HECM	H HECM
Correlación ph KCl	1.000	-.687	-.465	-.074	.479	.071	.478	.541	-.523	.395	.396	.263	.150	.369	-.152	.213	-.400	-.207	.398	.400	.400
%C	-.687	1.000	.909	-.297	-.723	-.128	-.560	-.675	.730	-.585	-.526	-.519	-.395	-.438	.027	-.467	.561	.461	-.534	-.547	-.572
%N	-.465	.909	1.000	-.432	-.821	-.038	-.358	-.470	.543	-.473	-.471	-.321	-.187	-.436	.172	-.262	.478	.256	-.473	-.476	-.477
%P lábil	-.074	-.297	-.432	1.000	.330	.195	.013	.104	-.230	.327	.152	.598	.632	-.010	.453	.623	-.239	-.624	.170	.200	.274
DR	.479	-.723	-.821	.330	1.000	.484	.639	.678	-.073	.752	.833	.332	.059	.842	-.546	.207	-.803	-.194	.828	.818	.785
DA	.071	-.128	-.038	.195	.484	1.000	.834	.773	.360	.879	.859	.632	.396	.781	-.266	.529	-.879	-.517	.865	.872	.881
AT	.478	-.560	-.358	.013	.639	.834	1.000	.987	-.079	.942	.926	.669	.413	.845	-.299	.557	-.944	-.544	.931	.938	.946
DN	.541	-.675	-.470	.104	.678	.773	.987	1.000	-.221	.949	.907	.728	.489	.805	-.217	.625	-.938	-.613	.914	.926	.945
RL	-.523	.730	.543	-.230	-.073	.360	-.079	-.221	1.000	-.053	.121	-.409	-.521	.261	-.549	-.468	-.037	.473	.104	.075	.002

%CD	.395	-.585	-.473	.327	.752	.879	.942	.949	-.053	1.000	.955	.769	.517	.848	-.227	.660	-.988	-.648	.963	.976	.996
S																					
árboles	.396	-.526	-.471	.152	.833	.859	.926	.907	.121	.955	1.000	.545	.240	.967	-.506	.408	-.989	-.393	1.000	.997	.979
S																					
arbustos	.263	-.519	-.321	.598	.332	.632	.669	.728	-.409	.769	.545	1.000	.945	.312	.448	.988	-.661	-.985	.569	.610	.705
S																					
hierbas	.150	-.395	-.187	.632	.059	.396	.413	.489	-.521	.517	.240	.945	1.000	-.016	.716	.984	-.378	-.987	.268	.317	.434
H																					
arboles	.369	-.438	-.436	-.010	.842	.781	.845	.805	.261	.848	.967	.312	-.016	1.000	-.709	.161	-.920	-.145	.959	.943	.894
H																					
arbustos	-.152	.027	.172	.453	-.546	-.266	-.299	-.217	-.549	-.227	-.506	.448	.716	-.709	1.000	.582	.375	-.595	-.481	-.435	-.318
H																					
hierbas	.213	-.467	-.262	.623	.207	.529	.557	.625	-.468	.660	.408	.988	.984	.161	.582	1.000	-.536	-1.000	.434	.479	.586
T° Max	-.400	.561	.478	-.239	-.803	-.879	-.944	-.938	-.037	-.988	-.989	-.661	-.378	-.920	.375	-.536	1.000	.522	-.993	-.998	-.998
T° Med	-.207	.461	.256	-.624	-.194	-.517	-.544	-.613	.473	-.648	-.393	-.985	-.987	-.145	-.595	-1.000	.522	1.000	-.419	-.465	-.573
T° Min	.398	-.534	-.473	.170	.828	.865	.931	.914	.104	.963	1.000	.569	.268	.959	-.481	.434	-.993	-.419	1.000	.999	.984
S HECM	.400	-.547	-.476	.200	.818	.872	.938	.926	.075	.976	.997	.610	.317	.943	-.435	.479	-.998	-.465	.999	1.000	.992
H HECM	.400	-.572	-.477	.274	.785	.881	.946	.945	.002	.996	.979	.705	.434	.894	-.318	.586	-.998	-.573	.984	.992	1.000

a. Determinante = .000

b. Esta matriz no es cierta positiva.

Comunalidades

	Inicial	Extracción
ph KCl	1.000	.227
%C	1.000	.511
%N	1.000	.322
%P lábil	1.000	.449
DR	1.000	.725
DA	1.000	.691
AT	1.000	.896
DN	1.000	.923
RL	1.000	.493
%CD	1.000	.985
S árboles	1.000	.995
S arbustos	1.000	.959
S hierbas	1.000	.955
H arboles	1.000	.998
H arbustos	1.000	.978
H hierbas	1.000	.956
T° Max	1.000	.991
T° Med	1.000	.956
T° Min	1.000	.994
S HECM	1.000	.993
H HECM	1.000	.989

Método de extracción: análisis de componentes principales.

Varianza total explicada

Componente	Autovalores iniciales			Sumas de extracción de cargas al cuadrado		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
1	12.352	58.818	58.818	12.352	58.818	58.818
2	4.635	22.072	80.890	4.635	22.072	80.890
3	2.492	11.866	92.756			
4	1.183	5.635	98.391			
5	.338	1.609	100.000			
6	6.304E-16	3.002E-15	100.000			
7	5.326E-16	2.536E-15	100.000			
8	3.345E-16	1.593E-15	100.000			
9	3.180E-16	1.514E-15	100.000			
10	1.010E-16	4.810E-16	100.000			
11	6.038E-17	2.875E-16	100.000			
12	3.099E-17	1.476E-16	100.000			
13	8.299E-18	3.952E-17	100.000			
14	-1.877E-17	-8.938E-17	100.000			
15	-4.643E-17	-2.211E-16	100.000			
16	-1.451E-16	-6.910E-16	100.000			
17	-1.819E-16	-8.660E-16	100.000			
18	-2.745E-16	-1.307E-15	100.000			
19	-3.270E-16	-1.557E-15	100.000			
20	-5.225E-16	-2.488E-15	100.000			
21	-6.031E-16	-2.872E-15	100.000			

Método de extracción: análisis de componentes principales.

Gráfico de sedimentación

Matriz de componente^a

	Componente	
	1	2
ph KCl	.476	-.008
%C	-.680	.222
%N	-.563	.072
%P lábil	.335	-.580
DR	.792	.313
DA	.813	.173
AT	.938	.130
DN	.961	.022
RL	-.156	.685
%CD	.992	.030
S árboles	.945	.320
S arbustos	.769	-.606
S hierbas	.521	-.827
H arboles	.836	.547
H arbustos	-.216	-.965
H hierbas	.662	-.720
T° Max	-.979	-.182
T° Med	-.650	.730
T° Min	.953	.293
S HECM	.966	.245
H HECM	.987	.123

Método de extracción: análisis de componentes principales.

a. 2 componentes extraídos.

Constancias

**CIRF2015
SOMERFO**

La Sociedad Mexicana de Recursos Forestales A.C.
la Comisión Nacional Forestal,
la Universidad Autónoma Chapingo
e instituciones convocantes
Otorgan la presente

CONSTANCIA

a ANA MARÍA GUARNEROS HERNÁNDEZ

Por su participación como

ASISTENTE

En el marco del CONGRESO INTERNACIONAL DE RECURSOS FORESTALES
La sociedad y los ecosistemas: Hacia un manejo sostenible de los bosques
Ixtapan de la Sal, Estado de México del 23 al 27 de noviembre 2015.

Dr. Eduardo Treviño Garza
Presidente de la SOMERFO

M.C. Carlos Mallén Rivera
Coordinador General

Dr. Jorge A. Torres Pérez
Presidente del Comité Local

**Centro de Investigación en Genética y Ambiente
Maestría en Ciencias en Sistemas del Ambiente**

Otorgan la presente

Constancia

A la Biol. Ana María Guarneros Hernández

Por su asistencia al curso teórico-práctico intitulado

“Determinación de COPs por Cromatografía de gases-masas”

Del 02 al 06 de mayo del 2016, con una duración de 50 horas.

“POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL”
Ixtacuixtla, Tlax., 06 de mayo de 2016

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE

MSP. Patricia Limón Huitrón
Coordinadora del CIGyA

Dr. Rogelio Costilla Salazar
Ponente

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
SEMINARIO ACADÉMICO

Otorga la presente

Constancia

A: Ana María Guarneros Hernández

Por participar como ponente con el tema:

“Diversidad génica de ectomicorrizas en un bosque de coníferas bajo manejo forestal intensivo en la región de Chignahuapan, Puebla”

Celebrado el 24 de junio de 2016, en el salón de Seminarios del CICB, UAT.

Dra. Mercedes Rodríguez Palma

Coordinadora de seminarios
Centro de Investigación en Ciencias Biológicas

Dr. Gerardo Díaz Godínez

Coordinador General
Centro de Investigación en Ciencias Biológicas

Universidad Autónoma de Tlaxcala
Centro de Investigación en Ciencias Biológicas
Maestría en Biotecnología y Manejo De Recursos Naturales

Universidad Nacional Autónoma de México
Instituto de Geografía

Otorgan la presente Constancia

A : Ana María Guarneros Hernández

Por participar como ponente con el tema:

“Impacto del manejo forestal intensivo (MDS) sobre la diversidad de los hongos ectomicorrízicos en un bosque de coníferas en la región de Chignahuapan, Puebla”

En el1er. Foro de Avances del proyecto " Influencia de la Química, Morfología y Área Foliar De Tres Especies Arbóreas Sobre la Productividad, Descomposición y Respiración del Suelo en Bosques Templados del Centro De México.

Gerardo Díaz Godínez
Coordinador del CICB

Ixtacuixtla, Tlaxcala a19 Octubre

Leopoldo Galicia Sarmiento
Responsable del Proyecto PAPIIT

Gema L. Galindo Flores
Laboratorio de Micorrizas

The 9th International Workshop
on Edible Mycorrhizal Mushrooms (IWEMM9)
"Mushrooms, humans and nature in a changing world"

Grants the following certificate to:

Ana María Guarneros Hernández

Due to her/his attendance to the Poster Presentation:

"Impact of forest management on the ectomycorrhizal fungi diversity in a conifer forest in the region Chignahuapan, Puebla, Mexico" whose authors are Ana María Guarneros Hernández, Gema L. Galindo Flores, Citlalli Castillo Guevara, Héctor Santos Luna Zendejas, Roberto Garibay Orijel and Yendi E. Navarro Noya.

Texcoco, Mexico, July 10-14, 2017.

Dr. Jesús Pérez-Moreno
Chairman Organizing Committee