

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**Centro de Investigación en Genética y Ambiente**  
**Maestría en Ciencias en Sistemas del Ambiente**



**HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS ASOCIADOS  
CON RAÍCES DE QUERCUS GLAUROIDES Y Q.  
POTOSINA EN UN BOSQUE TEMPLADO DEL  
CENTRO DE MÉXICO**

**TESIS**

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

PRESENTA

**Eduardo Juárez Zacarías**

BAJO LA DIRECCIÓN DE

Dra. Citlalli Castillo Guevara  
Dr. Héctor Santos Luna Zendejas

TUTORES

M. en C. Gema Lilia Galindo Flores  
Dr. Roberto Garibay Orijel



IXTACUIXTLA, TLAXCALA, OCTUBRE DE 2019



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE**  
**MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**  
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

Código: 505-RGE-04  
 Publicación: Febrero 2019  
 Revisión: 9001:2015 03

LIC. EDUARDO JUÁREZ ZACARÍAS  
 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: "Hongos ectomicorrizógenos asociados con raíces de *Q. glaucoides* y *Q. potosina* en un bosque templado del centro de México", realizado bajo la dirección de la **Dra. Citlalli Castillo Guevara** y el **Dr. Héctor Santos Luna Zendejas**. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

Dra. Citlalli Castillo Guevara

Dr. Héctor Santos Luna Zendejas

Dr. Oscar G. Vázquez Cuecuecha

Dra. Laura Verónica Hernández Cuevas

Dr. José Luis Martínez y Pérez

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"  
 Ixtacuixtla, Tlax., 05 de septiembre de 2019.



DRA. EDELMIRA GARCÍA NIETO  
 COORDINADORA GENERAL DEL CIG  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE**  
**MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**

c.c.p. Expediente



El presente proyecto se realizó con apoyo a estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (beca número 584862) 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 Dra. Citlalli Castillo Guevara 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 y Ecología de Micorrizas del Instituto de Biología de la UNAM. También se recibió la beca mixta de movilidad nacional del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (No. de Convocatoria 291211).

## **Agradecimientos**

Al posgrado en Ciencias en Sistemas del Ambiente del Centro de Investigación en Genética y Ambiente de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por la formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (No. de becario 584862) durante mis estudios de maestría y el apoyo económico de becas mixtas 2017 para movilidad nacional (291211).

Al Laboratorio de Biología Molecular del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala en particular a la Dra. Yendi Navarro Noya por permitirme realizar parte de este trabajo en su Laboratorio.

Al Laboratorio de Sistemática y Ecología de Micorrizas del IB-UNAM en particular en particular al Dr. Roberto Garibay Orijel por la estancia realizada en su laboratorio y por compartir sus conocimientos.

## **Agradecimientos personales**

Al Dr. Roberto Garibay Orijel por su apoyo en la realización del trabajo de tesis y la oportunidad de realizar la estancia en su laboratorio, compartiendo sus conocimientos y facilitando el material necesario para cumplir con los objetivos del trabajo.

Al la Dra. Noemí Matias Ferrer del IB-UNAM por su valioso apoyo en el procesamiento de las muestras.

Al M. en C. Rodolfo Angeles Argáiz y al M. en C. Andrés Argüelles Moyao por sus apoyos y conocimientos compartidos durante mi estancia en el IB-UNAM.

A la Dra. Citlalli Castillo Guevara por su paciencia, seguimiento y apoyo para la culminación de este trabajo. Gracias por todo.

A la M. en C. Gema L. Galindo por su valioso apoyo durante todos estos años, por sus conocimientos, por su gran paciencia y ánimo. Muchas gracias.

A mi comité tutorial la Dra. Citlalli Castillo Guevara, Dr. Hector Santos Luna Zendejas, la M. en C. Gema Lilia Galindo Flores y el Dr. Roberto Garibay Orijel que hicieron posible la realización y culminación de mi maestría.

A los sinodales Dr. Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha, a la M. en C. Laura Verónica Hernández Cuevas y al Dr. José Luis Martínez y Pérez por sus valiosas observaciones y comentarios para mejorar el trabajo.

A mi familia por todo el apoyo.

A mis compañeros de generación y a cada una de las personas que permitieron que realizara esta tesis.

### **Dedicatoria**

A Dios por permitirme concluir una etapa más de mi formación profesional.

A mis padres Aparicio Juárez y Florencia Zacarías y a mis hermanos Dagoberto,  
Griselda y Carlos Manuel por todo su apoyo y cariño.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS.....	III
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción general de <i>Quercus glaucooides</i> y de <i>Q. potosina</i> .....	3
1.1.1 <i>Quercus glaucooides</i> M. Martens & Galeotti.....	3
1.1.2 <i>Quercus potosina</i> Trel.....	4
1.2 Importancia de los bosques de encinos.....	6
1.3 Hongos micorrízicos.....	7
1.4 Importancia de las ectomicorrizas (ECM) en sistemas forestales.....	8
II. ANTECEDENTES.....	10
III. JUSTIFICACIÓN.....	13
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
V. OBJETIVOS.....	14
5.1 General.....	14
5.2 Específicos.....	15
VI. METODOLOGÍA.....	15
6.1 Área de estudio.....	15
6.2 Clima.....	15
6.3 Vegetación.....	16
6.4 Muestreo.....	16
6.5 Procesamiento de las muestras.....	17
6.5.1 Caracterización morfológica de las micorrizas.....	17
6.6 Análisis molecular.....	18
6.6.1 Obtención de secuencias de ADN.....	18
6.6.2 Análisis de las secuencias de ADN.....	19
6.7 Comparación de morfotipos ectomicorrízicos (caracterizados molecularmente y morfológicos) con los esporomas reportados en el sitio de estudio.....	19
6.8 Análisis estadístico.....	20
VII. RESULTADOS.....	21
7.1 Diversidad morfológica de ectomicorrizas.....	21
7.2 Características macro y micro morfológicas de las ectomicorrizas encontradas en raíces de <i>Quercus glaucoide</i> y de <i>Q. potosina</i> .....	22
7.2.1 Descripción morfológicas de las ectomicorrizas.....	22
7.3 Identificación molecular de los morfotipos de ectomicorriza.....	83
7.4 Comparación de géneros de morfotipos ectomicorrízicos identificados con los esporomas reportados en el sitio de estudio.....	84

7.5 Análisis de datos de los morfotipos ectomicorrízicos.....	85
7.4.1 Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos.....	85
7.4.2 Riqueza y diversidad alfa .....	86
VIII. DISCUSIÓN.....	87
8.1 Diversidad morfológica de ectomicorrizas.....	87
8.2 Características morfológicas y molecular de las ectomicorrizas encontradas en raíces de <i>Q. glaucoides</i> y de <i>Q. potosina</i> .....	90
8.3 Comparación morfológica de especies identificadas con morfotipos no identificados.....	103
8.4 Análisis de datos de los morfotipos ectomicorrízicos, riqueza y diversidad alfa.....	105
IX. CONCLUSIONES.....	108
X. LITERATURA CITADA .....	109
XI. ANEXOS.....	116

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Distribución de plantas latifoliadas en el estado de Tlaxcala...	2
Figura 2	Morfología de ramas de <i>Q. glaucoides</i> y <i>Q. potosina</i> .....	5
Figura 3	Características estructurales de la micorriza arbuscular y de la ectomicorriza en raíces de angiospermas y de gimnospermas .....	8
Figura 4	Morfotipos encontrados en raíces de <i>Q. glaucoides</i> y <i>Q. potosina</i> y morfotipos que se comparten en ambas especies de <i>Quercus</i> .....	21
Figura 5	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 1.....	23
Figura 6	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 2.....	25
Figura 7	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 3.....	27
Figura 8	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 4.....	29
Figura 9	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 5.....	31
Figura 10	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 6.....	33
Figura 11	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 7.....	35
Figura 12	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 8.....	37
Figura 13	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 9.....	39
Figura 14	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 10.....	41
Figura 15	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 11.....	43
Figura 16	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 12.....	45
Figura 17	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 13.....	47
Figura 18	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 14.....	49
Figura 19	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 15.....	51
Figura 20	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 16.....	53
Figura 21	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 17.....	55
Figura 22	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 18.....	57
Figura 23	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 19.....	58
Figura 24	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 20.....	60
Figura 25	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 21.....	62
Figura 26	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 21.....	64
Figura 27	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 22.....	66
Figura 28	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 23.....	68
Figura 29	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 24.....	70
Figura 30	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 25.....	72
Figura 31	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 25.....	74
Figura 32	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 26.....	76
Figura 33	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 27.....	78
Figura 34	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 28.....	80
Figura 35	Estructura de ectomicorriza: Morfotipo 29.....	82
Figura 36	Electroforesis en gel de agarosa de muestras ectomicorrízicas de <i>Q. glaucoides</i> y <i>Q. potosina</i> .....	83
Figura 38	Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos de <i>Q. glaucoides</i> .....	85
Figura 39	Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos de <i>Q. potosina</i> .....	85

## ÍNCIDE DE TABLAS

Tabla I	Valores de referencia de Shannon-Wiener.....	20
Tabla II	Identificación de los taxones fúngicos asociados a las raíces de <i>Q. glaucoides</i> y <i>Q. potosina</i> por similitud de secuencias en GenBank.....	84
Tabla III	Riqueza de morfotipos de HECM estimada y nivel de intercalo para <i>Q. glaucoides</i> y <i>Q. potosina</i> .....	86
Tabla IV	Abundancia de los morfotipos ectomicorrízicos de <i>Q. glaucoides</i> y de <i>Q. potosina</i> .....	86
Tabla V	Diversidad alfa de los morfotipos ectomicorrízicos.....	87
Tabla VI	Características generales de <i>Tomentella</i> spp.....	92
Tabla VII	Características generales de <i>Inocybe</i> spp.....	94
Tabla VIII	Características generales de <i>Russula</i> spp.....	97
Tabla IX	Características generales de <i>Tuber</i> spp.....	99
Tabla X	Características generales de <i>Sebacina</i> spp.....	102

## RESUMEN

Los bosques de encino son comunidades de gran importancia ecológica, donde una gran diversidad de organismos interactúa entre sí aportando un beneficio para sostenibilidad de todo el ecosistema. Tal es el caso de los hongos ectomicorrizógenos (HECM) y las raíces de los árboles que forman las ectomicorrizas, éstas son una forma de interacción mutualista que juega un papel crucial en el mantenimiento de estos ecosistemas, en particular de los bosques de *Quercus*. Sin embargo, existe poco conocimiento de la diversidad de hongos ectomicorrizógenos asociados con las raíces de árboles de este género. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar los hongos ectomicorrizógenos asociados a raíces de *Quercus glaucoides* M. Martens & Galeotti y de *Q. potosina* Trel en un bosque templado del centro de México. Las micorrizas se obtuvieron del muestreo directo de la raíz de las dos especies de encinos. Se realizó la caracterización macro y micro-morfológica de las ectomicorrizas. Además, se secuenció la región de los ITS para la identificación de especies de HECM asociadas a *Q. glaucoides* y *Q. potosina*. La identidad taxonómica de los hongos se obtuvo por su similitud nucleotídica contra las secuencias depositadas en GenBank mediante el programa BLAST. Se encontraron 29 morfotipos diferentes, 15 específicos para *Q. glaucoides*, tres para *Q. potosina* y 11 morfotipos se presentaron en ambas especies. Se realizó el análisis molecular de 300 puntas ectomicorrízicas y como resultado se obtuvieron nueve unidades taxonómicas operacionales moleculares (MOTU's) agrupadas en cinco géneros. El género con mayor número de especies fue *Tomentella* con tres, seguido de *Inocybe* y *Russula* con dos cada uno y *Sebacina* y *Tuber* con una especie. Solamente *Sebacina epigaea* y *Tuber castilloi* sus secuencias coincidieron con 97 % de similitud con las reportadas en GenBank, las especies restantes podrían ser nuevos registros. Se realizó la comparación de especies, de morfotipos y esporomas de HECM. Al comparar los resultados con los obtenidos mediante el análisis molecular con las 31 especies de HECM reportadas con base en esporomas en el mismo sitio de estudio, se encontraron especies no citadas, como es el caso de *Tomentella*, *Sebacina*, *Tuber* y *Cenococcum geophilum*. Los

resultados obtenidos de las especies asociadas a las dos especies de *Quercus* son indicativos de la importancia de realizar estudios en dichos ecosistemas.

**Palabras clave:** Diversidad  $\alpha$ , ectomicorrizas, morfotipos, análisis molecular.

## ABSTRACT

The oak forests are communities of great ecological importance; where a wide variety of organisms interact with each other providing a benefit for sustainability of the entire ecosystem. Such is the case of ectomycorrhizal fungi (ECMF) and the roots of trees that form ectomycorrhizae which are a form of mutualistic interaction that plays a crucial role in maintaining these ecosystems. However, there is little knowledge related to the diversity of ECMF associated with the oak roots. The objective of this work was to determine the ectomycorrhizal fungi associated with *Quercus glaucoides* M. Martens & Galeotti and *Q. potosina* Trel roots in a temperate forest in central Mexico. Mycorrhizae were obtained by sampling directly at the root of the two oak species. The macro and micro-morphological characterization of ectomycorrhizae was performed. In addition, the ITS region of ribosomal DNA was sequenced for the identification of ECMF species associated with *Q. glaucoides* and *Q. potosina*. The taxonomic identity of the ectomycorrhizal fungi was achieved by their nucleotide similarity against sequences deposited in GenBank database through the BLAST program. We found 29 different morphotypes, 15 specific for *Q. glaucoides*, three for *Q. potosina* and 11 morphotypes were present in both species. Molecular analysis of 300 ectomycorrhizal tips was performed and as a result nine molecular operational taxonomic units (MOTU's) grouped in five genera. The genus with the highest number of species was *Tomentella* with three, followed by *Inocybe* and *Russula* with two each and *Sebacina* and *Tuber* with one tree species. Only *Sebacina epigaea* and *Tuber castilloi* their sequences coincided with 97% similarity to those reported in GenBank database, the remaining species might be new records. When comparing the results with those obtained from the ECMF species by molecular analysis with the 31 species of ECMF reported based on sporomas at the same study site, non-cited species were found, such as *Tomentella*, *Sebacina*, *Tuber* and *Cenococcum geophilum*. The results obtained from the species associated with the two *Quercus* species are indicative of the importance of conducting studies in these ecosystems.

**Key words:**  $\alpha$ -diversity, ectomycorrhizae, morphotypes, molecular analysis.

## I. INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica de México ha sido ampliamente reconocida, particularmente por el número de especies de vertebrados y de plantas que habitan su territorio, así como por los ecosistemas presentes (Challenger y Soberón, 2008). Ejemplo de ello son los bosques templados, los cuales presentan una alta diversidad biológica y son considerados ecosistemas con gran potencial para el almacenamiento de carbono, el reciclaje del agua y la liberación de oxígeno (Olivera-Morales *et al.*, 2011; Ignacio-Ruiz *et al.*, 2014).

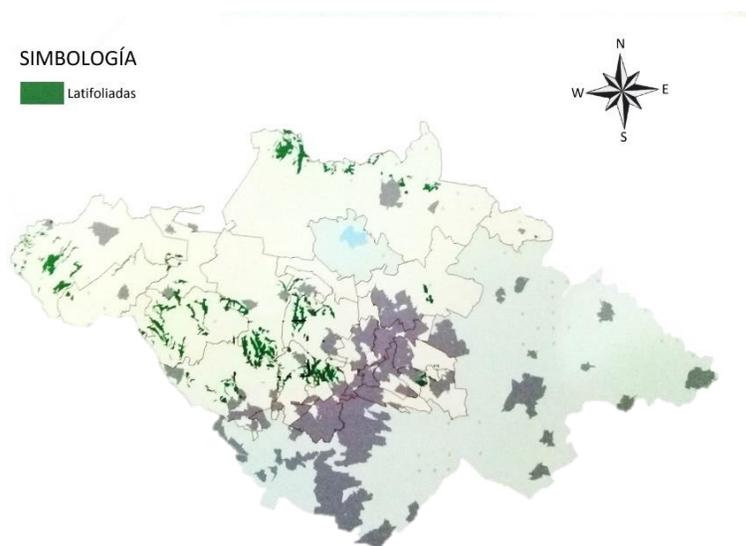
Los bosques templados ocupan aproximadamente el 16.6 % de la superficie en nuestro país, lo que equivale aproximadamente a unos 32 millones de hectáreas. Uno de los tipos de vegetación que se engloban dentro de éstos son los bosques de encino dominados por el género *Quercus* (Fagáceas) (Ignacio-Ruiz *et al.*, 2014).

A nivel mundial, el género *Quercus* se desarrolla ampliamente y de manera natural no sólo en los bosques templados (Challenger y Soberón, 2008) sino también en los bosques tropicales, en los semitropicales y en los matorrales de clima seco del hemisferio norte. Los árboles de *Quercus* se han clasificado en dos grandes áreas o centros de diversidad, el primero se localiza en el sureste de Asia, con alrededor de 125 especies, mientras que el segundo está en América, con cerca de 250 especies que se distribuyen desde Canadá hasta Colombia (Arizaga *et al.*, 2009).

En México, la diversidad de *Quercus* está representada con alrededor de 161 especies registradas, lo que implica que sea el mayor centro de diversidad en el continente americano y que equivalga a casi una tercera parte con respecto a la mundial (Valencia, 2004, Flores-Maya *et al.*, 2006, Arizaga *et al.*, 2009). Como resultado, los encinos constituyen el principal tipo de plantas de los sistemas vegetales montañosos de México, es decir, de los bosques templados de encino, de pino-encino, mesófilos de montaña, tropicales caducifolios, de galería (Romero-Rangel *et al.*, 2002) y de zonas con climas xéricos con un hábito de crecimiento comúnmente arbustivo a llegar a establecer matorrales, hasta regiones con

condiciones méxicas, donde se desarrolla en forma arbórea (Encina-Domínguez y Villarreal-Quintanilla, 2002, Arizaga *et al.*, 2009) y ocupa el 5.5 % de la superficie total del país presentándose la mayor diversidad de especies en un intervalo altitudinal que va de los 1 200 a los 2 800 m s. n. m. (Santacruz y Espejel, 2004, Arizaga *et al.*, 2009). La formación de latifoliadas que comprenden los bosques de encino prosperan en altitudes desde el nivel del mar hasta los 3 500 m s. n. m., sobre suelos profundos o someros, en áreas en que llueve 700 a 1 200 mm en promedio anual con un hábitat similar a los bosques de *Pinus* (Valencia, 2004; Rzedowski, 2006).

Los estados con mayor riqueza de encinos son Nuevo León, Veracruz y Oaxaca, sin embargo, las entidades con mayor información científica sobre este tipo de plantas son Jalisco, Guerrero, México y Michoacán mientras que el único estado sin encinos es Quintana Roo (Arizaga *et al.*, 2009). En el estado de Tlaxcala los encinares ocupan aproximadamente el 5 % de la superficie estatal (Figura 1), distribuidos principalmente sobre cerros y lomeríos de la porción centro y norte de la entidad, y en el Parque Nacional La Malinche, entre 2200 y 3000 m s. n. m. (Santacruz y Espejel, 2004). Particularmente, para el municipio de Ixtacuixtla de Mariano Matamoros que se localiza al sureste del estado de Tlaxcala se ha reportado para un total de 279.26 ha de bosque primario y 673.71 ha de bosque secundario (SEMARNAT, 2015).



**Figura 1** Distribución de plantas latifoliadas en el estado de Tlaxcala (SEMARNAT, 2015).

Maximino Martínez realizó una revisión sobre los encinos de México entre los años 1952 a 1974, describió las especies más frecuentes en el país, con 176 especies, 10 variedades y dos formas. De ellas, 23 especies se reportaron para Tlaxcala, entre las cuales se encontraron *Quercus candicans* Née, *Q. castanea* Née, *Q. esperanzae* Trel., *Q. glabrescens* Benth., *Q. mexicana* Humb. & Bonpl., *Q. rugulosa* M. Martens & Galeotti, *Q. laurina* Humb. & Bonpl., *Q. magnoliifolia* Née, *Q. greggii* (A. DC.) Trel., *Q. microphylla* Née, *Q. dysophylla* Benth., *Q. sartorii* Liebm. (Santacruz García y Espejel Rodríguez, 2004), *Q. acutifolia* Née, *Q. affinis* Scheidw. (Pérez-Olvera y Dávalos-Sotelo, 2008), *Q. crassifolia* Humb. & Bonpl., *Q. rugosa* Née, *Q. crassipes* Humb. & Bonpl. (Luna *et al.*, 2003, Ramírez-Albores, 2013; Loranca-Bravo *et al.*, 2013), *Q. frutex* Trel., *Q. laeta* Liebm., *Q. obtusata* Humb. & Bonpl., *Q. potosina* Trel., *Q. glaucoides* M. Msrrens & Galeotti y *Q. desertícola* Trel. (Campos-López, 2015).

## 1.1 Descripción general de *Quercus glaucoides* y de *Q. potosina*

### 1.1.1 *Quercus glaucoides* M. Martens & Galeotti

Las descripciones se tomaron de los trabajos de, Luna *et al.* (2003), Rzedowski y Rzedowski (2005), Arizaga *et al.* (2009), Campos-López (2015).

**Nombre común:** Encino blanco, encino negro, roble, tocuz, encino prieto, encino chaparro.

**Tamaño:** Árbol de 3 a 13 m de altura y con diámetro del fuste de 17 a 50 cm, ramillas de 1 a 2 mm de diámetro, tomentosas al principio, después glabras; estípulas linear-subuladas, de 6 a 9 mm de largo, pilosas.

**Corteza:** Gris a gris oscuro y escamosa.

**Pecíolo:** De 2 a 6 mm de largo.

**Hoja:** Coriáceo, oblanceolada de 3.7 a 15.5 cm de largo por 1.5 a 7.0 cm de ancho; **margen** algo engrosado, generalmente ondulado con 3 a 6 dientes a cada lado, a veces casi entero; **ápice** obtuso o redondeado; **base** cordada o redondeada, nervios laterales 6 a 12 pares; **haz** verde grisáceo y opaco, en

ocasiones algo lustroso; **envés** más pálido, glauco-ceroso, **amentos** masculinos de 2 a 3 cm de largo, pilosos, flores femeninas 1 a 20, por lo general 5 o 6, en un pedúnculo hasta de 5 cm de largo (Figura 2a).

**Fruto:** Anual, solitario o generalmente en grupos de 2 o 3; **cúpula** hemisférica, de 12 a 18 mm de diámetro con las escama cubiertas de tomento de color café, engrosadas en la base, **bellota** ovoide, de 12 a 18 mm de largo incluido un tercio o hasta la mitad de su largo.

**Aprovechamiento:** Leña, carbón, construcción rural o mangos de herramientas diversas, fabricación de horcones, cabos y puertas de golpe, medicinal, forraje.

**Mecanismo de propagación:** Por bellotas

**Hábitat:** Laderas, en bosques de encino y bosques tropical caducifolio entre 830 a 2000 m s. n. m. y sobre suelos pedregosos y someros.

**Distribución geográfica:** En Estados Unidos y México; se distribuye en Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Zacatecas y Tlaxcala.

### 1.1.2 *Quercus potosina* Trel.

Las descripciones se tomaron de los trabajos de, Rzedowski y Rzedowski (2005), Campos-López (2015).

**Tamaño:** Árbol de 3 a 7 m de altura, fuste de 15 a 30 cm de diámetro, ramillas de 1.5 a 5 mm de diámetro, con tomento rojizo formado de pelos estrellados y glandulares; estípulas filiformes a subuladas de 6 a 10 mm de largo, pilosas, escamosas.

**Corteza:** Gris a gris oscuro y escamosa.

**Pecíolo:** De 3 a 6 mm de largo, cubierto de tomento rojizo

**Hoja:** Coriácea, obovada, suborbicular, oblonga u oblanceolada, de 2 a 9 cm de largo por 0.8 a 7 cm de ancho; **ápice** redondeado u obtuso, **margen** engrosado y algo revoluto, entero o con 4 a 13 dientes mucronados de cada lado, **base**

cordada, **venas** laterales 7 a 10 pares, **haz** con algunos pelos estrellados, **envés** con la epidermis pálida, casi lisa, a veces algo papilosa, cubierta de pelos estrellados sésiles y pelos glandulares de color ámbar, **amentos masculinos** de 3 a 5 cm de largo o más, **flores femeninas** 2 a 10, en un pedúnculo de 1 a 3 cm de largo (Figura 2b).

En algunos casos las hojas son un poco más pequeñas, el ápice es algo agudo y la bellota es un poco más pequeña; sin embargo, el aspecto general de las ramas y la pubescencia del envés de las hojas, corresponden a las mencionadas.

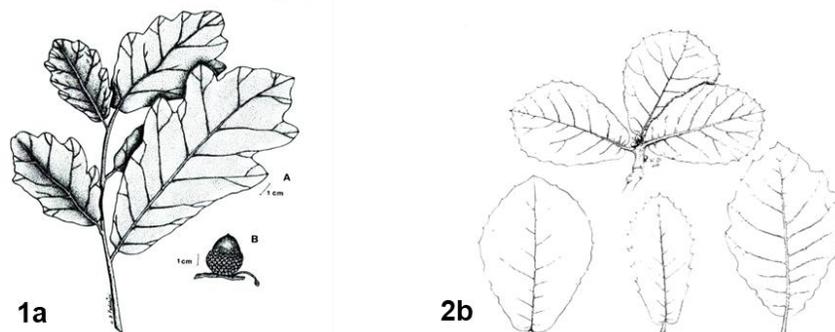
**Fruto:** Solitario o agrupados por pares, situados a 1 cm o menos de la base del pedúnculo, **cúpula** hemisférica, de 12 a 20 mm de diámetro, con las escamas gruesas y canescentes en la base, **bellota** ovoide, de 15 a 18 mm de largo, incluida hasta la mitad de su largo.

**Aprovechamiento:** Leña, carbón, construcción rural o mangos de herramientas diversas, fabricación de horcones, cabos y puertas de golpe.

**Mecanismo de propagación:** Por bellotas

**Hábitat:** Laderas, en bosques de encino y bosques tropical caducifolio entre 830 a 2000 m s. n. m. y sobre suelos pedregosos y someros.

**Distribución geográfica:** Se extiende desde el sur de Chihuahua, Jalisco e Hidalgo, Durango, Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco, Aguascalientes, Guanajuato, Estado de México y Tlaxcala.



**Figura 2.** Morfología de ramas de *Q. glaucooides* (1a) y *Q. potosina* (2b) (tomado de [http://oaks.of.the.world.free.fr/quercus\\_glaucooides.htm](http://oaks.of.the.world.free.fr/quercus_glaucooides.htm))

## 1.2 Importancia de los bosques de encinos

Los bosques de encinos, entre otros ecosistemas forestales llevan a cabo funciones ecológicas muy importantes, generan hábitats que propician el crecimiento de plantas terrestres y epífitas; refugio y alimento de aves, mamíferos, reptiles y artrópodos, así como de microorganismos de la rizósfera; son generadores y formadores de suelo, modificadores de condiciones de microambientes, producen oxígeno, capturan bióxido de carbono. Además, reducen la susceptibilidad del suelo a la erosión, infiltran el agua al subsuelo, en ellos prosperan numerosas interacciones simbióticas, entre ellas las mutualistas, así como el flujo de nutrimentos entre su biota (Reyes, 2006, Arizaga *et al.*, 2009, Romero-Rangel y Rojas-Zenteno, 2009). Aunado a ello, su contribución en la recarga de mantos acuíferos es de vital importancia en muchas regiones del país (Alvarado-Rosales, 2007).

Asimismo, como parte de su significado cultural, se encuentra el hecho de que en el Escudo Nacional de México se encuentre plasmada una guirnalda hecha con hojas de encino y de laurel (Santacruz y Espejel, 2004).

El bosque de encino como un recurso natural ha servido como fuente de alimento para el hombre y es utilizado para diversas aplicaciones en el sector industrial. Por ejemplo, los frutos constituyeron una fuente alimenticia importante para el humano, aunque su uso ha disminuido, actualmente las bellotas son empleadas como alimento para el ganado (principalmente porcino). Además, existen ciertas especies (encinos de miel) que son productoras de sustancia azucaradas que son recolectadas por las abejas y almacenadas en forma de miel (Arizaga *et al.*, 2009). También la corteza es ampliamente utilizada en trabajos de peletería debido a su alta concentración de taninos (Arizaga *et al.*, 2009).

A nivel mundial, la madera de los encinos es considerada de alta calidad, por lo que resulta importante para la economía de algunos países europeos como Inglaterra, Francia, Alemania, asimismo, en estados unidos de Norteamérica y de Canadá (Pérez-Olvera *et al.*, 2000, Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo, 2009). En

México, el aprovechamiento del encino se destina a la elaboración de mangos de diversas herramientas, confección de artesanías y elaboración de muebles siendo estos los usos más frecuentes (Pérez-Olvera *et al.*, 2000, Arizaga *et al.*, 2009), respecto a su potencial de uso, es muy común que se considere la mayor parte de la madera principalmente para celulosa, escuadría, leña y carbón (De La Paz Pérez *et al.*, 2000, Pérez-Olvera *et al.*, 2000, Arizaga *et al.*, 2009).

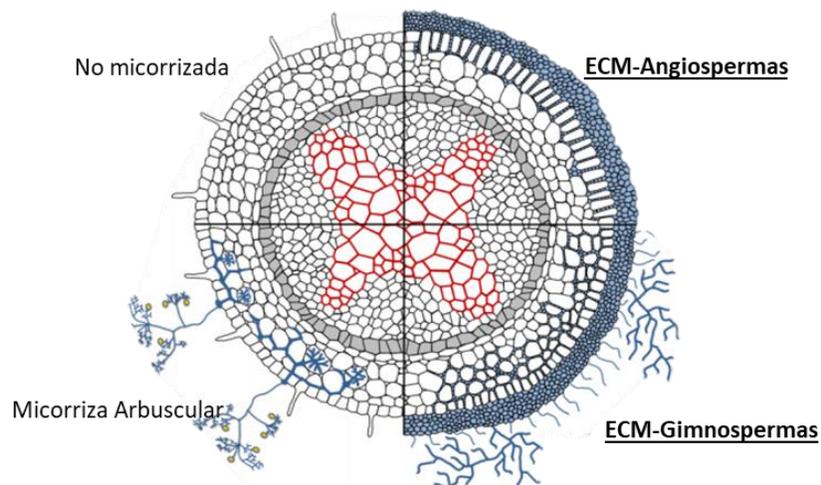
Sin embargo, este tipo de vegetación puede desaparecer como consecuencia de las actividades antrópicas que alteran factores abióticos como el pH del suelo, el contenido de materia orgánica y la riqueza de la microbiota (Requena *et al.*, 2001), la temperatura, la humedad del suelo, la humedad del aire y las condiciones lumínicas del entorno (Sánchez-Montes de Oca, 2015). Para ello, la microbiota del suelo desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas terrestres ya que favorecen la formación del suelo, influyen en la productividad, diversidad y estructura de las comunidades vegetales (Martínez y Pugnaire, 2009). Así mismo, los microorganismos del suelo se pueden emplear para prevenir la degradación y la recuperación del funcionamiento normal del ecosistema en una restauración o rehabilitación ecológica (Requena *et al.*, 2001). Para ello existen algunos grupos de organismos, como los hongos que forman relaciones simbióticas mutualistas denominadas micorrizas en la que ambos organismos involucrados resultan beneficiados.

### **1.3 Hongos micorrízicos**

Los dos tipos de micorrizas con mayor distribución en el planeta son la micorriza arbuscular (MA) y la ectomicorriza (ECM) (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004). Ambos tipos difieren significativamente en sus características estructurales, así como en las especies de plantas y de hongos que interactúan en la relación (Figura 3) (Bücking *et al.*, 2012), el principal beneficio para ambos simbioses es el intercambio nutrimental (Perea-Estrada *et al.*, 2005). Cabe mencionar que muchos de los árboles de familias como las Pináceas (pinos), Fagáceas (haya, encino, roble), Betuláceas, y los Dipterocarpacea (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004) son dependientes de la asociación micorrízica para su supervivencia y crecimiento

normal (Smith y Read, 1997). Asimismo, esta asociación simbiótica es un factor principal para mantener la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas (Valdés, 2011).

En particular, las comunidades de hongos ectomicorrízicos son ricas en especies y se conocen más de 5 000 agrupadas dentro de 15 familias pertenecientes a los llamados hongos verdaderos (Rodríguez-Tovar *et al.*, 2004). La simbiosis ECM se establece entre las raíces secundarias de árboles pertenecientes a angiospermas y gimnospermas leñosas y hongos Basidiomycetes y Ascomycetes principalmente, tanto de regiones tropicales como en zonas templadas y boreales. Esta simbiosis es característica de grupos importantes de árboles y de arbustos, incluyendo a las familias Pinaceae, Cupressaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae (Horton y Bruns, 2001, Pérez-Moreno y Read, 2004, Courty *et al.*, 2010).



**Figura 3.** Características estructurales de la micorriza arbuscular y de la ectomicorriza en raíces de angiospermas y de gimnospermas (Bücking *et al.*, 2012).

#### 1.4 Importancia de las ectomicorrizas en sistemas forestales

Estas asociaciones proveen a las plantas una mayor superficie para absorber N, P y K, así como micronutrientes como Fe, Mn, Cu y Zn y agua del suelo, lo cual se refleja en un incremento de supervivencia y biomasa. Además, les confieren mayor capacidad para tolerar organismos patógenos, altas temperaturas, sequía, acidez del suelo y altas concentraciones de metales tóxicos (Egerton-Warburton y

Griffen, 1995, Boling *et al.*, 2006, Carrasco-Hernández *et al.*, 2010, Olivera-Morales *et al.*, 2011, Garibay-Orijel *et al.*, 2013) al inmovilizar los metales en las raíces, impidiendo que éstos pasen a la parte aérea de la planta (Navarro *et al.*, 2007) aunado a las características genotípicas del árbol los resultados de supervivencia aumentan significativamente. Reciclan materia orgánica mediante su mineralización, solubilizan fosfatos a través de la excreción de ácidos orgánicos, influyen en la estructura del suelo y en el almacenamiento de carbono en el mismo (Ruiz *et al.*, 2011, Huang *et al.*, 2014) aunado a las características genotípicas del árbol el porcentaje de crecimiento y desarrollo aumenta. Debido a lo anterior, la ausencia de los hongos ectomicorrízicos en las diversas comunidades vegetales puede comprometer su buen funcionamiento (Chung, 2005), ya que son determinantes en gran parte del mantenimiento ecológico de las comunidades forestales (Quiñónez-Martínez *et al.*, 2009). No obstante, a pesar de la importancia ecológica de estos hongos, se calcula que existe para México un número cercano a 10000 taxones de los que se solo se han descritos menos del 5 % (Rodríguez Alcántar *et al.*, 2019).

Aunque en México existen estudios sobre las diferentes asociaciones ectomicorrízicas con los diferentes tipos de vegetación, como el de Aguilar-Aguilar *et al.* (2011) quienes identificaron la presencia de hongos ectomicorrízicos asociados con las raíces de *Pinus jeffreyi* Balf en el Parque Nacional Constitución de 1857 en Baja California, México; asimismo, Córdova-Chávez *et al.* (2014) evaluaron cuantitativamente especies pertenecientes a hongos ectomicorrízicos del grupo basidiomicetos en seis localidades de la región del Cofre de Perote, con vegetación de bosque de *Abies*, *Pinus* y ecotono con bosque de *Abies-Pinus*.

Galindo-Flores *et al.* (2015) realizaron una caracterización morfológica macro y microscópica de ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* G.M. Muell. y *Suillus tomentosus* (Kauffman) Singer en *Pinus montezumae* Lamb.. De igual manera, Baeza-Guzmán *et al.* (2017) hicieron una caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. Por otro

lado, Álvarez-Manjarrez (2012) y Juárez-Barradas (2015) caracterizaron los morfotipos de ectomicorrizas asociados con *Coccoloba uvifera* (L.) L. Sin embargo, se tiene poca información en lo que respecta a los hongos ectomicorrízicos (HECM) asociados específicamente con raíces de encinos, por esta razón es importante conocer la diversidad y la abundancia de los HECM en bosques de encinos e identificar y conocer las especies al momento de implementar la inoculación micorrízica para actividades de restauración o reforestación de estos bosques de encino.

## II. ANTECEDENTES

A nivel mundial existen estudios que aportan información sobre la identificación de ectomicorrizas en raíces de plantas de *Quercus* spp.; destaca el de He *et al.* (2007) quienes determinaron la transferencia de nitrógeno a partir de dos fuentes ( $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4$ ) en tres especies de *Quercus* ectomicorrizadas (*Q. douglasii* Hokk. & Arn., *Q. garryana* Douglas ex Hook. y *Q. agrifolia* Née). Dichos autores reportaron que la transferencia de N a las raíces fue mayor en plántulas de *Q. agrifolia* que en *Q. douglasii* y *Q. garryana*. En cuanto a los morfotipos de ectomicorriza de las tres especies se observaron cinco, los cuales pertenecieron a las familias Boletaceae, Cortinariaceae, Thelephoraceae y Elaphomycetaceae; asimismo, evidenciaron la presencia de micorriza arbuscular con porcentajes de valores mínimos de colonización.

En México, Morris *et al.* (2008b) realizaron un estudio sobre la diversidad de hongos ectomicorrízicos asociados con *Q. crassifolia* del Parque Huixteco en Guerrero y encontraron un total de 44 especies asociadas de las familias Russulaceae, Inocybaceae y Thelephoraceae.

Las especies de HECM que se han reportado a través de la identificación de esporomas para el estado de Tlaxcala pertenecen a los géneros *Suillus*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Boletus* (Nava-Gutiérrez y Hernández-Cuevas, 2003), *Inocybe* (Estrada-Torres, 2003), *Amanita*, *Ramaria*, *Gomphus*, *Helvella*, *Entoloma*, *Chroogomphus*, *Hygrophorus*, *Russula*, *Cantharellus*, *Clitocybe*, *Paxina*, *Ramaria*

(Montoya, 2003), y particularmente, para los bosques de *Quercus* géneros como *Amanita* y *Boletus* (Montoya, 2003). Altamirano (2000) estudió la diversidad de géneros de macromicetos, mixomicetos y líquenes de un bosque de *Quercus* spp. en el municipio de Ixtacuixtla, Tlaxcala, reportó la presencia de siete géneros de HECM *Lactarius*, *Russula*, *Leccinum*, *Tylophillus*, *Scleroderma*, *Amanita* y *Boletus*. A su vez, Campos-López (2015) en el mismo bosque encontró los géneros *Inocybe*, *Tylophillus*, *Lactarius*, *Amanita* y *Russula*.

Para definir la diversidad micorrízica asociada a las raíces de los árboles, se han utilizado los morfotipos ectomicorrízicos (He *et al.*, 2007). Sin embargo, estudios recientes han hecho posible su caracterización no sólo a partir de los esporomas y de los caracteres morfológicos, sino también por puntas micorrizadas con métodos basados en técnicas moleculares para la determinación de las especies y así aumentar el conocimiento sobre la diversidad y composición de sus comunidades (Horton y Bruns, 2001., He *et al.*, 2007, Morris *et al.*, 2008).

Entre los estudios con técnicas moleculares encontramos el, de Morris *et al.* (2008a) quienes al estudiar la diversidad de comunidades ectomicorrízicas en *Q. douglasii* y en *Q. wislizeni* A. DC. se identificó un total de 140 taxa, de las cuales se identificaron 57 sobre la base de secuencias que coinciden con las de cuerpos fructíferos de *Cenococcum* y una a nivel especie (*Amanita phalloides* (Vaill.: Fries)). Los 82 taxones restantes se identificaron a nivel de género (40), de familia (34) y de orden (8). Entre los géneros encontrados están *Amanita*, *Boletus*, *Clavariadelphus*, *Clavulina*, *Entoloma*, *Gautieria*, *Hebeloma*, *Hygrophorus*, *Hysterangium*, *Laccaria*, *Melanogaster* y *Octavianina*.

Por su parte, Leski *et al.* (2010) evaluaron la diversidad de morfotipos de HECM en *Q. robur* L. y en *Q. petraea* (Matt.) Liedl. procedentes de cinco viveros forestales. De la observación morfológica y molecular los autores reportaron un total de 23 especies, pertenecientes al Orden Pezizales, y a las familias Tricholomataceae, Inocybaceae, Hymenogastraceae, Thelephoraceae, Tuberaceae, Atheliaceae, Gloniaceae, Hydnangiaceae, Paxillaceae y

Sclerodermataceae. Hynes *et al.* (2010) en un estudio se utilizaron hifas ectomicorrízicas extraídas de un bosque de *Q. douglasii*, *Q. wislizeni* A. DC. y *Pinus sabiniana* Douglas ex D. Don, reportaron un total de 32 especies, 29 de ellas son ectomicorrízicas. Sin embargo, especies asociadas particularmente con *Q. douglasii* y *Q. wislizeni* sólo fueron 19 ectomicorrízicas pertenecientes a géneros como *Melanogaster*, *Xerocomus*, *Tomentella*, *Inocybe*, *Lactarius*, *Tricharina* y del orden Sebaciales.

Por otra parte, Hynes *et al.* (2010) realizaron un estudio molecular con hifas ectomicorrízicas en un bosque de *Quercus-Pinus* de Browns Valley, CA, EUA, para hacer una relación entre esporomas y puntas ectomicorrizadas presentes en el sitio de estudio. Registraron 33 taxa en total con las muestras procesadas de hifas ectomicorrízicas, de los cuales el 58 % (19 taxa) se encontraban asociadas a las raíces y sólo el 18 % de las especies detectadas (seis taxa) se encontraron en esporomas y quince taxa no se detectaron previamente en este sitio con muestras de puntas micorrizadas. La división fúngica dominante en el estudio fueron Basidiomicetos, siendo los taxa dominantes los Thelephorales y Boletales, se registro solo dos taxa para Ascomicetos.

Trocha *et al.* (2011) describieron 31 morfotipos ectomicorrízicos asociados a cuatro especies de árboles, dos de ellas fueron *Q. rubra* y *Q. robur*. Posteriormente, cada morfotipo fue sometido a un análisis molecular, se determinó los diferentes morfotipos de ECM por coincidencia de similitud del 97 % con las secuencias de GenBank. Se reportó para las dos especies de *Quercus* 18 morfotipos, cuatro a nivel familia y 14 a nivel especies (*Paxillus involutus* (Batsch: Fr.) Fr., *Cortinarius cf. vibratilis*, *Lactarius quietus* (Fr.) Fr., *Russula ochroleuca* (Pers.) Fr., *Boletus edulis* Bull.: Fr., etc.)

Lancellotti y Franceschini (2013), en un estudio de la comunidad ectomicorrízica asociada con *Q. suber* L. determinaron 57 morfotipos, 51 de los cuales se identificó molecularmente; 11 a nivel especie (*Cortinarius rubricosus* (Fr.) Fr., *Inocybe hirtella* Bres., *Amanita rubescens* Pers., etc.), 30 a nivel de género

(*Cortinarius*, *Laccaria*, etc), siete a nivel de familia (Amanitaceae, Pyronemataceae, Russulaceae, etc.) y tres a nivel de orden. Asimismo, los seis morfotipos restantes se caracterizaron sólo sobre una base morfológica y anatómica ya que no tuvieron resultados del análisis molecular.

Huang *et al.* (2014) a través de la determinación molecular de morfotipos ectomicorrízicos asociados a *Q. fabri* Hance, reportaron un total de 20 especies pertenecientes a géneros como *Amanita*, *Cenococcum*, *Pisolithus*, *Suillus*, *Thelephora*, *Tomentella*, *Tuber*, *Phialocephala*, algunos solo se determinaron a como *Ascomycota* sp, a nivel familia (Atheliaceae, Inocybaceae) y orden (Helotiales).

García-Guzmán *et al.* (2014), en un estudio de la diversidad genética de hongos ectomicorrízicos asociados con encinos, en términos de riqueza el total de Unidades Taxonomicas Operacionales Moleculares (MOTUs) de HECM reportaron 170 taxa, el filum mejor representado fue Basidiomycota con 132 MOTUs, seguido de Ascomycota con 38. Los géneros más diversos dentro de la comunidad fueron *Russula* (26 especies) *Tomentella* (24 especies), *Sebacina* (23 especies), *Inocybe* (14 especies) y *Pachyphloeus* (9 especies) y los que presentaron una mayor abundancia junto con *Genea*, *Clavulina* y *Cortinarius* representaron el 76.4 % de las micorrizas de la comunidad.

### III. JUSTIFICACIÓN

La pérdida de bosques de encino por actividades antrópicas como el cambio de uso de suelo y el aprovechamiento de sus maderas como leña o carbón principalmente, ha conllevado a un cambio en su hábitat que afecta en el desarrollo de las nuevas generaciones de plantas, no solamente la especie involucrada sino en los diversos organismos que interactúan entre sí. La asociación ectomicorrízica resulta indispensable en estos tipos de ecosistemas debido a los beneficios que ofrece hacia las especies de árboles involucrados. Por esta razón es importante saber que especies de hongos están asociadas con las especies de árboles del bosque.

En México es aún escasa la información que se tiene sobre la diversidad de hongos ectomicorrízicos asociados al bosque de encino, por esta razón el presente estudio de HECM asociados a *Q. glaucoides* y *Q. potosina* ayuda a complementar información de las especies de hongos involucrados en estos tipos de ecosistemas y en particular en las dos especies citadas, que a su vez resultan importantes al implementar alternativas de reforestación de estas especies.

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los bosques de *Quercus* spp. en el estado de Tlaxcala se encuentran fuertemente perturbados por diferentes actividades humanas como la ganadería, el pastoreo y el cambio de uso de suelo destinado a actividades como la agricultura, lo que ha provocado la fragmentación de los bosques y con ello la erosión de los suelos y la pérdida de organismos importantes para el establecimiento de nuevos árboles en el sitio, como son los hongos micorrízicos, consideradas como órganos de absorción, producto de la asociación entre el micelio de los hongos y raíces de las plantas terrestres generando así una simbiosis benéfica. Por lo que el conocimiento de las interacciones micorrízicas es importante para el establecimiento y la conservación de los bosques.

Se desconoce cuáles son las especies de hongos ectomicorrízicos asociados al sistema radical de *Q. glaucoides* y de *Q. potosina* en un bosque templado del municipio San Felipa Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala.

#### **V. OBJETIVOS**

##### **5.1 General**

Determinar la diversidad de los hongos ectomicorrízicos asociados con las raíces de *Quercus glaucoides* y de *Q. potosina* en un bosque templado del centro de México.

## 5.2 Específicos

- Caracterizar morfológicamente las ectomicorrizas formadas con *Quercus glaucoides* y con *Q. potosina*
- Identificar molecularmente las especies de HECM asociados al sistema radical de plantas adultas de *Quercus glaucoides* y de *Q. potosina*.
- Comparar la diversidad de morfotipos de ectomicorrizas asociados con las raíces de *Q. glaucoides* y de *Q. potosina* con la diversidad de esporomas de HECM.

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1 Área de estudio

Se encuentra en el municipio de San Felipe Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala, el cual se ubica al suroeste del estado que colinda con el estado de Puebla, entre los paralelos 19° 16' y 19° 25' de latitud norte y los meridianos 98° 17' y 98° 29' de longitud oeste con una altitud que va de los 2 100 a los 2 700 msnm. Comprende un bosque de *Quercus-Juniperus* de cuatro hectáreas con una altitud de 2268 m s. n. m., la vegetación arbórea predominante es *Quercus* spp. con pocos individuos del género *Juniperus* (INEGI, 1998, 2009).

### 6.2 Clima

Es templado subhúmedo con un régimen de lluvias en los meses de mayo y septiembre, con un porcentaje de lluvia invernal menor a 5 mm. La precipitación media anual está entre 500 a 700 mm; la máxima incidencia de lluvia se presenta en junio y julio con un intervalo que va de 120 a 135 mm, en tanto que el período más seco se presenta en los meses de diciembre a enero con un valor promedio de 7 mm. Los meses más cálidos son abril, mayo y junio, con una temperatura de 17 a 18 °C y los meses más fríos son diciembre y enero con una temperatura de 11 a 12 °C (INEGI, 1986).

### 6.3 Vegetación

La vegetación está compuesta principalmente por bosque de *Quercus-Juniperus*, el cual en la mayoría de los casos se encuentra fuertemente perturbado o bien ha sido desplazado por la agricultura. El género *Quercus* es el dominante en la zona en conjunto con algunos individuos pertenecientes a *Juniperus deppeana*. Se asocian otras especies de árboles, arbustos e hierbas como el pirúl (*Schinus molle* L.), el tepozán (*Buddleia cordata* Kunth), la uña de gato (*Mimosa biuncifera* Benth.), el chicalote blanco (*Argemone platyceras* Link & Otto), la lengua de vaca (*Reseda luteola* L.), el maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm.), varias especies de cactáceas (*Opuntia* spp.), la gobernadora (*Brickellia veronicifolia* (Kunth) A. Gray), el abrojo (*Adolphia infesta* (Kunth)) y el capulín (*Prunus serótina* Ehrh.), así como el zacate lobero (*Lycurus phleoides* Kunth). Es muy común encontrar este bosque asociado a elementos propios del matorral xerófilo (INEGI, 1998).

### 6.4 Muestreo

En la zona de estudio se establecieron cuatro cuadros de 50 x 50 m se consideró en cuenta la mayor abundancia de los encinos, éstos representan en conjunto un área total de 10,000 m<sup>2</sup>. Se marcaron las unidades de muestreo (UM) representadas por los árboles adultos de *Quercus* que se encontraron en los cuadros (Rossman *et al.* 1998). Para este estudio se consideraron las especies más abundantes *Q. glaucoides* y *Q. potosina*, de las ocho especies reportadas para este sitio (*Q. crassipes*, *Q. mexicana*, *Q. glabrescens*, *Q. laeta*, *Q. obtusata*, *Q. frutex*) (Campos-López, 2015).

Durante la época de lluvias se realizó un muestreo dirigido, para obtener muestras de suelo rizosférico de doce árboles adultos. De cada árbol se obtuvieron dos núcleos de suelo, con un total de 24. Para la toma de la muestra de suelo rizosférico se trazó una circunferencia de 1 m alrededor del árbol y se recolectó ésta utilizando un tubo de PVC de 5 cm de diámetro x 50 cm de largo a una profundidad de 30 cm. Los núcleos se transportaron en bolsas de polipapel

(Brundrett *et al.* 1996) al Laboratorio de Micorrizas del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx) para su procesamiento.

## **6.5 Procesamiento de las muestras**

### **6.5.1 Caracterización morfológica de las micorrizas**

Para determinar las características morfológicas de las ectomicorrizas los núcleos del muestreo fueron rotulados con los datos de recolecta (número de árbol, cuadro de muestreo y la especie, posteriormente los núcleos de suelo se lavaron cuidadosamente con agua de la llave para retirar las partículas de suelo adheridas a las raíces de las plantas para extraer la micorriza. Las raíces limpias se colocaron en cajas Petri con agua destilada-estéril, para separar las raíces ectomicorrizadas con la ayuda de un estereomicroscopio (modelo NIKON SMZ-2T), mismas que se colocaron en frascos con FAA (formaldehído-alcohol-ácido acético-agua, en proporciones de: 10:50:5:35 respectivamente, de unidades de volumen (ml), para su posterior caracterización microscópica. Se consideraron características como tipos de ramificación (dimensión, formas, superficie del manto, rizomorfos y cordones miceliares, la unión de los rizomorfos en la punta o en la base de la raíz hospedera. Además, la existencia de algún tipo de conexión entre el manto y los rizomorfos, así como de ramificaciones y de márgenes del rizomorfo (Agerer, 1991), tipo y color de manto, este último se determinó con la ayuda de la tabla de colores Munsell (U.S. Department of Agriculture, 1975). Todas las características se describieron de acuerdo con el sistema de clasificación de Agerer (1986,1987-1993) y Agerer y Rambold (2004–2019) (<http://www.deemy.de>). Una vez caracterizada la parte macro y micromorfológica de cada morfotipo (Anexo I) éste fue fotografiado con un microscopio de campo claro (modelo NIKON OPTIPHOT-2) y con la ayuda de una cámara ajustable (marca TOUPCAM, UCMOS02000KPB).

Asimismo, se realizaron cortes transversales de las raíces ectomicorrizadas con la finalidad de observar las características estructurales (Red de Hartig, micelio

externo, pelos radicales, etc.) de los diferentes morfotipos ectomicorrízicos para cada una de las especies de *Quercus*, se utilizó un microscopio (modelo NIKON SMZ-2T), pinzas y navajas. Los cortes se colocaron en portaobjetos con agua destilada para ser fotografiados en un microscopio con campo claro (modelo NIKON OPTIPHOT-2) y microscopía diferencial de contraste de interferencia (DIC) (Nomarski).

Para realizar los análisis moleculares se tomaron puntas de raíces micorrizadas que estuvieran en buenas condiciones (turgentes y con manto), se obtuvieron un total de 300 puntas micorrizadas, mismas que se colocaron en agua destilada-estéril y CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamino) para preservar el ADN (Garibay-Orijel *et al.*, 2013, Baeza-Guzmán *et al.*, 2017).

## **6.6 Análisis molecular**

### **6.6.1 Obtención de secuencias de ADN**

De cada uno de los morfotipos ectomicorrízicos asociados con las raíces de las plantas adultas de *Quercus*, se extrajo y se amplificó la región del espaciador transcrito interno (ITS) del ADN ribosomal, usando el Kit REExtract-N-Amp Plant PCR kits Catalog Numbers XNAP R4775 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) con algunas modificaciones para organismos fúngicos. Para ello se cortaron fragmentos de aproximadamente 2 mm de puntas micorrizadas y cada uno se colocó en un tubo Eppendorf estéril añadiendo 10 µl de solución de extracción, luego las muestras se colocaron en un termociclador con la siguiente secuencia: 10 min a 65 °C y 10 min a 95 °C, una vez terminado este paso se dejó enfriar durante 10 min. Posteriormente, se agregaron 30 µl de solución de dilución para neutralizar sustancias inhibitoras. Al terminar, se dejaron reposar las muestras por 30 min a temperatura ambiente y se almacenaron a 4 °C (Garibay-Orijel *et al.*, 2013).

Para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se utilizó el kit REExtract-N-Amp (Sigma-Aldrich) siguiendo las instrucciones del fabricante, se le adicionaron 5.6 µl de agua, 0.2 µl del Primer ITS1F y 0.2 µl del ITS4, obteniéndose

un volumen total para la PCR de 20 µl. Los Primers que se utilizaron fueron los ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) e ITS4 (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA) son específicos para amplificar dicha región ya que discriminan el ADN fúngico del de la planta (Gardes y Bruns, 1993). Los tubos estuvieron cerrados herméticamente para evitar la evaporación de las soluciones durante el procesamiento en el termociclador. El ADN amplificado se cargó directamente en un gel de agarosa al 1% y se corrió en una cámara de electroforesis para su observación a través de un transiluminador de rayos UV y se fotografió con el programa Larch.

El ADN se purificó usando el kit USB-ExoSAP-IT (PCR Product Cleanup (Affymetrix), en una mezcla 1:1 del kit y agua, poniendo en un tubo Eppendorf 2 µl de la mezcla más 3.5 µl de la PCR. El ADN purificado se sometió a la reacción de secuenciación con Big Dye Terminator Kit (Applied Biosystems) bajo las condiciones recomendadas por los fabricantes.

### **6.6.2 Análisis de las secuencias de ADN**

Las secuencias se editaron y se alinearon a 97 % de similitud para formar secuencias consenso en el programa Geneious Pro 9.0.4. (Peay *et al.*, 2008, 2011a). La identidad taxonómica de los morfotipos de ectomicorriza de *Quercus* spp. se determinó por similitud de sus secuencias consenso al compararlas contra las bases de datos de GenBank y de UNITE (exclusiva de secuencias genómicas de hongos) mediante el programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul *et al.*, 1997) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) aceptando como de la misma especie aquella cuya similitud fue igual o mayor al 97 %.

### **6.7 Comparación de los géneros de HECM identificados en las raíces micorrizadas con los identificados a través de esporomas.**

Se realizó una comparación de los géneros de HECM identificados mediante el análisis de las secuencias de ADN obtenidas de las raíces micorrizadas en *Q. glaucooides* y *Q. potosina* con respecto a los géneros identificados a partir de los

esporomas, esto tomando como referencia el trabajo de Campos-López (2015) en el mismo sitio de estudio.

## 6.8 Análisis de datos

Para determinar el nivel de eficiencia de muestreo de los morfotipos obtenidos a partir de las recolectas de las puntas micorrizadas de ambas especies arbóreas en la temporada de muestreo, se construyeron curvas de acumulación de especies de morfotipos de ECM al considerar el número de recolectas como unidad del esfuerzo de muestreo, empleando el estimador de riqueza de especies Chao 1 basando en las abundancias. Este es un estimador del número de especies y sus abundancias en una comunidad basado en el número de especies raras en la muestra (Moreno, 2001). Estos datos fueron obtenidos con ayuda del programa EstimateS ver. 9.1.0 (Villarreal *et al.*, 2006).

Asimismo, se realizó el análisis de diversidad alfa de los morfotipos de especies de hongos ectomicorrizógenos presentes en el sistema radical de *Q. glaucooides* y de *Q. potosina* a través del Índice de Shannon-Wiener (Krebs, 1999, Moreno, 2001), se consideraron los valores de referencia de Ramírez-González (2006) para hongos ectomicorrizógenos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de referencia de Shannon-Wiener (Ramírez-González, 2006).

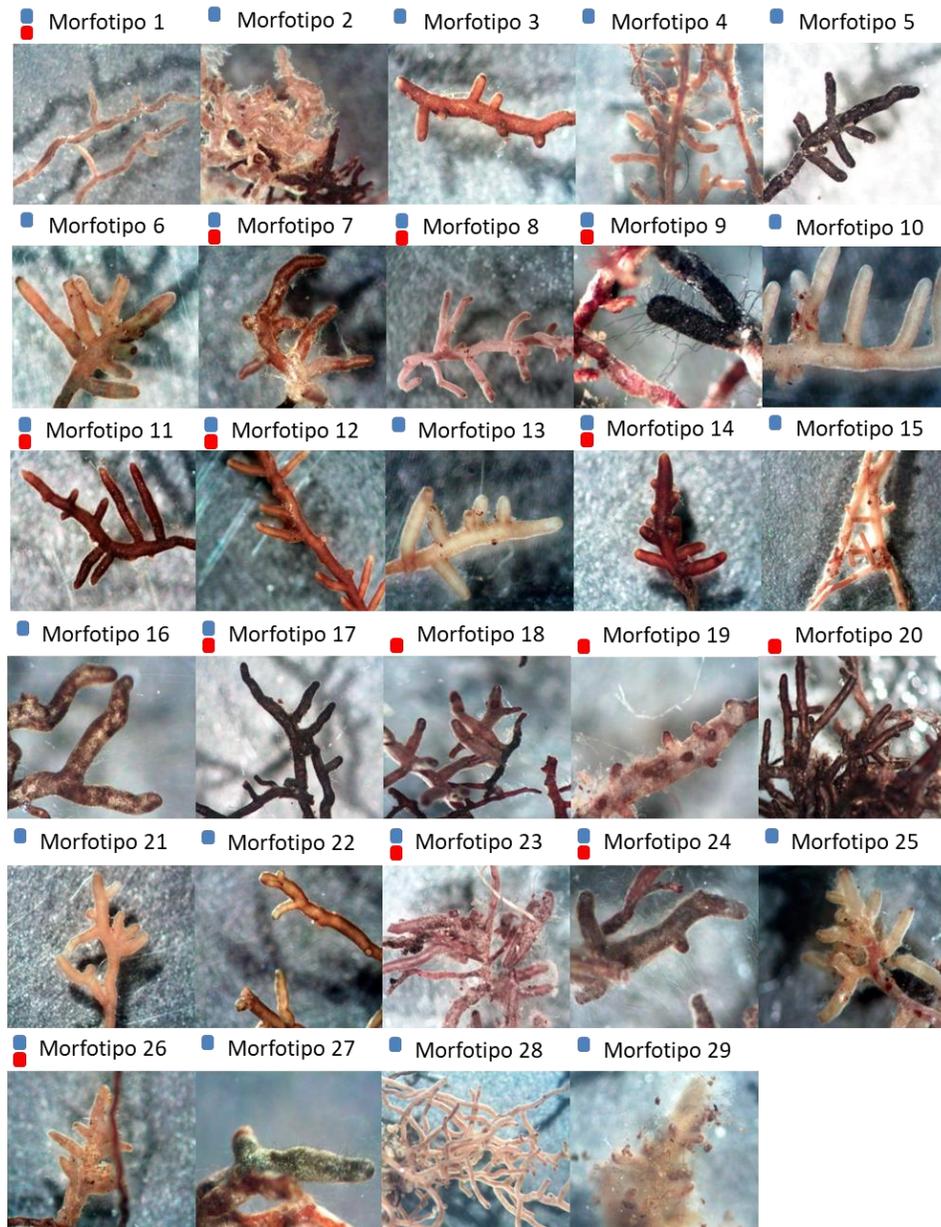
Valor de diversidad alfa de Shannon Wiener	Condición de la diversidad
0 - 1	Muy baja
> 1 – 1.8	Baja
> 1.8 – 2.1	Media
> 2.1 – 2.3	Alta
> 2.3	Muy alta

Además, se recurrió al Índice de Dominancia de Simpson (Magurran, 1988, Moreno, 2001) para determinar los morfotipos dominantes con base en su abundancia. Los valores de cada uno de los índices se obtuvieron mediante el programa Species Diversity and Richness 4.1.2 (Seaby y Henderson, 2006).

## VII. Resultados

### 7.1 Diversidad morfológica de ectomicorrizas

Se identificaron 29 morfotipos ectomicorrízicos en total; 15 fueron específicos para *Q. glaucoides* (Figura 4), 3 para *Q. potosina* y 11 estuvieron presentes en ambas especies (Figura 5).



**Figura 4.** Morfotipos encontrados en raíces de *Q. glaucoides* (marcado con punto azul) y en *Q. potosina* (marcado con punto rojo) y morfotipos que se comparten en ambas especies de *Quercus* (punto rojo y azul) observados bajo agua con luz amarilla y fondo negro.

## **7.2 Características macro y micro morfológicas de las ectomicorrizas encontradas en raíces de *Quercus glaucoides* y de *Q. potosina***

A continuación se presentan las descripciones de los 29 morfotipos encontrados en *Q. glaucoides* y *Q. potosina*, se indican aquellos que se lograron obtener sus secuencias de ADN y señalando a su respectivo hospedero.

### **7.2.1 Descripción morfológica de las ectomicorrizas**

#### **Morfotipo 1**

##### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

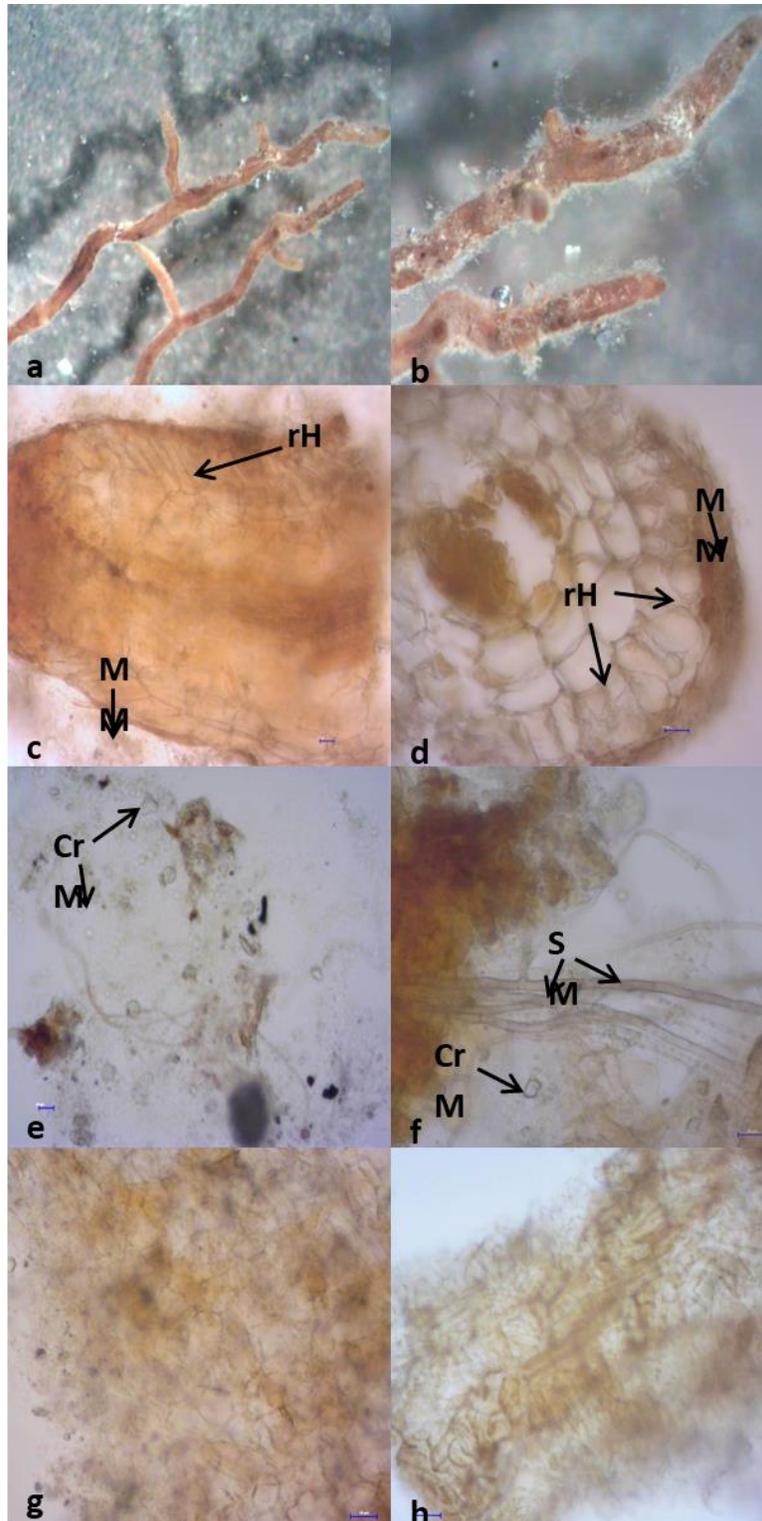
Sistema micorrízico simple a irregular-pinado, el eje principal fue de tonalidad rosado (5YR 8/2) a color amarillo rojizo (5YR 6/6), y un color rojo amarillento (5YR 4/6) en otros sistemas. Las terminaciones no ramificadas fueron rectas a ligeramente tortuosas color

Con ápices redondeados y ligeramente en amarillo rojizo (7.5YR 6/6) y amarillo (2.5Y 8/6), en otros un marrón rojizo oscuro (2.5YR 2.5/4).

Se observó micelio lanoso a laxo-algodonoso blanquecino (5Y 8/1), con partículas de suelo y raíces lisas en algunas ramificaciones del sistema. Por su parte, las raíces viejas presentaron un color rojo oscuro (2.5YR 3/6).

Las hifas emanantes fueron hialinas con septos y hubo fragmentos de cristales en la superficie del manto. Se observó un manto externo plectenquimátoso tipo L y un manto interno plectenquimátoso tipo A.

En cuanto al corte longitudinal, el manto fue plectenquimátoso con micelio laxo. La Red de Hartig abarcó de una a una capa y media de células corticales. En corte transversal el manto fue plectenquimátoso, con un grosor de (14.15)-24.06-(38.37)  $\mu\text{m}$  y la Red de Hartig abarcó de uno a dos células corticales, la forma de las células corticales fueron redondeadas (Figura 5).



**Figura 5.** Morfotipo 1: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte longitudinal que muestra el Manto (M) laxo y la Red de Hartig (rH) (40x) (d). Corte transversal (63x) (e). Partículas de cristal (Cr) (40x) (f). Hifas emanantes con septos (S) (63x) (g). Manto externo (63x) tipo L: Pseudoparenquimátoso. (h). Manto interno (63x) tipo A: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 2**

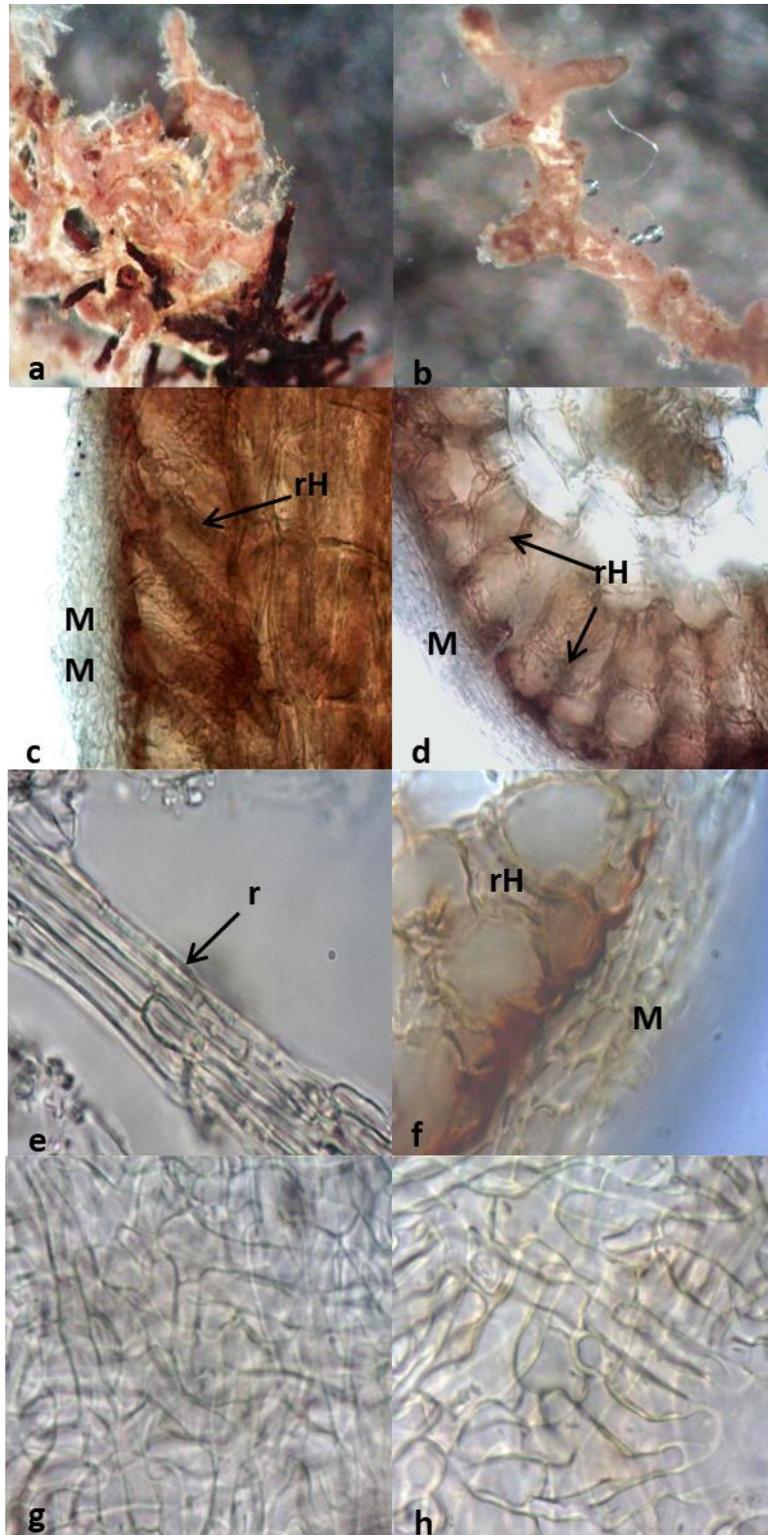
### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Sistema micorrízico simple a irregular-pinado con una tonalidad rojo claro (2.5YR 7/6). Las terminaciones no ramificadas fueron dobladas a ligeramente tortuosos de un rojo pálido (10R 6/4) a rojo débil (10R 4/4), con ápices redondeados rojo claro (2.5YR 7/6) y en otro un rojo oscuro (2.5YR 3/6).

Presento micelio ligeramente algodonoso y tomentoso, así como micelio blanquecino como parches y con rizomorfos tipo B de tonalidad blanco rosado (5YR 2.5/2). En cuanto a las micorrizas viejas fueron rectas a dobladas con una tonalidad rojo muy oscuro (10R 2.5/2).

Se observó un manto externo plectenquimátoso tipo A y un manto interno plectenquimátoso tipo H con septos en ambos mantos.

En corte transversal, el manto presentó células redondeadas a ovaladas tipo pseudoparenquimátoso a plectenquimátoso en el margen con una textura laxa-gelatinosa con un grosor (19.54)-27.74-(48.85)  $\mu\text{m}$ , estas células no presentaron un arreglo uniforme y hay presencia de células taníferas, además, se observaron hifas emanantes son septos. La Red de Hartig abarcó de dos a tres células corticales de apariencia redondeada (Figura 6).



**Figura 6.** Morfotipo 2: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte longitudinal que muestra el Manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (d). Corte transversal (40x) (e). Rizomorfos (r) (100x) (f). Estructura del manto (M) y capa de taninos (cT) (100x) (g). Manto externo (40x) tipo A: Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo H: Plectenquimátoso.

### **Morfotipo 3. Ectomicorriza de *Tomentella aff. stiposa***

**Hospedero: *Q. glaucoides***

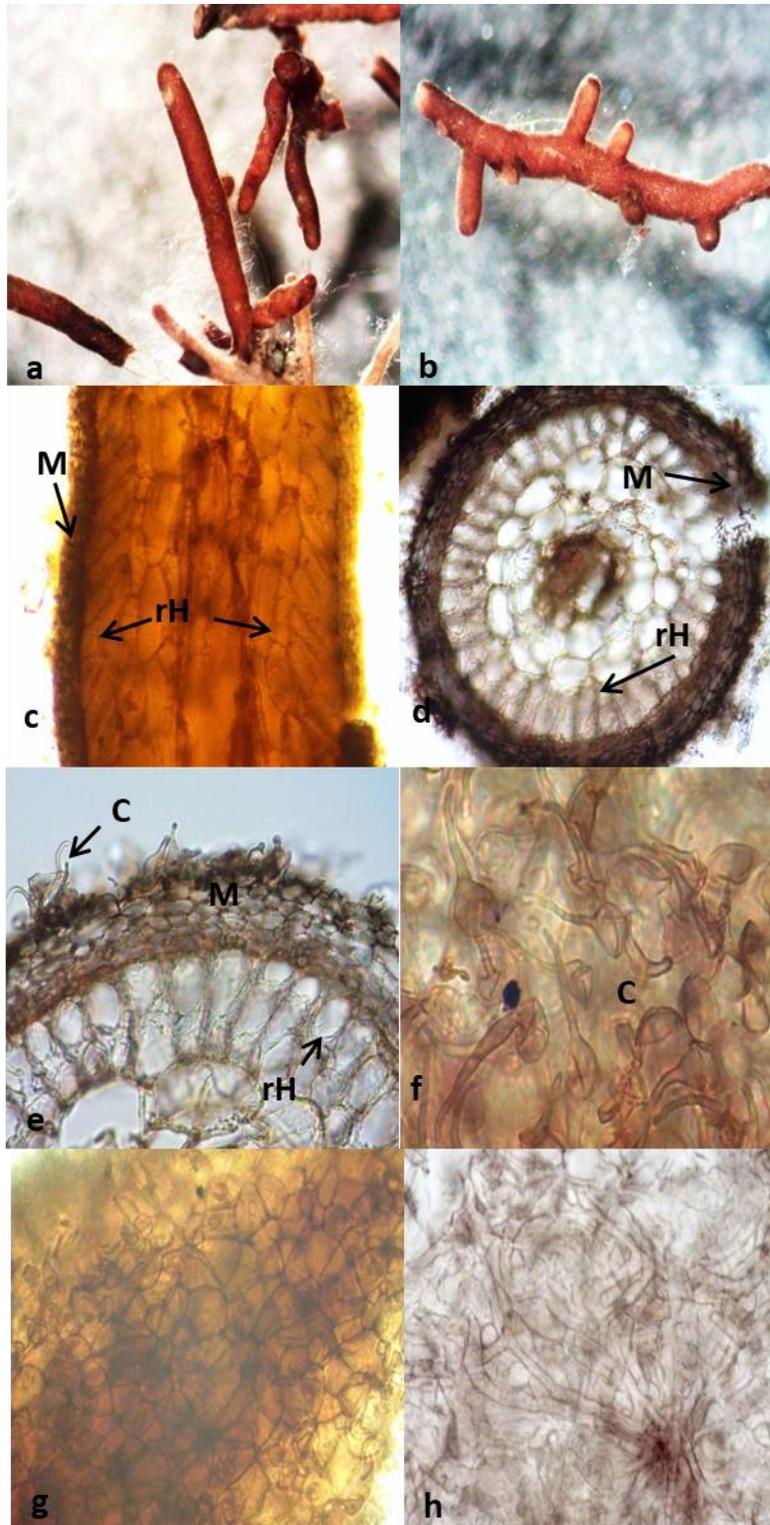
**Secuencia molecular (Anexo IV)**

El sistema micorrízico presentó una ramificación que va de simple a monopodial-pinada, superficie del manto en su mayoría lisa a ligeramente lanosa con micelio blanco (5Y 8/2). El eje principal tuvo una coloración de rojo (2.5YR 4/6) a rojo pálido (10R 5/4). Ramificaciones rectas y en algunos casos ligeramente torcidas.

Las puntas no ramificadas presentaron una tonalidad de rojo (2.5YR 4/6) a café rojizo (2.5YR 4/4) y en otros un rojo muy oscuro (2.5YR 2.5/2), los ápices un café rojizo (2.5YR 4/4), amarillo (10YR 7/6) y rojo oscuro (10R 3/6). El color de las micorrizas viejas -fue rojo pálido (10R 4/4) y amarillo (2.5Y 8/6).

Microscópicamente se observó un manto externo pseudoparenquimátoso tipo L: Con células globulares en la superficie, a diferencia del tipo del manto K estas no están agrupadas sino dispersas por el manto, con cistidios (tipo B o C) de 17.43 µm de largo en promedio y el manto interno fue plectenquimátoso tipo B. por su parte las ramificaciones jóvenes no presentaron cistidios, el manto es pseudoparenquimátoso tipo L con micelio laxo.

Manto conformado de cuatro a ocho capas de células ovaladas acomodadas irregularmente tipo pseudoparenquimátoso, con grosor de (19.54)-29.77-(41.03) µm, presentó una delgada capa de taninos. Presentó un manto lanoso-laxo que consistió de hifas emanantes filamentosas, hialinas, lisas, septadas, con abundantes fíbulas e hifas gruesas de tonalidad café muy oscura (10R 2.5/2). La Red de Hartig se estableció en la segunda capa de células corticales (Figura 7).



**Figura 7.** Morfotipo 3: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (20x) (d). Corte longitudinal que muestra el Manto (M) y la Red de Hartig (rH) (20x) (e). Corte transversal con cistidios (c) en el margen (40x) (f). Cistidios globosos (100x) (g). Manto externo (40x) tipo L: Pseudoparenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo B: Plectenquimátoso.

#### **Morfotipo 4. Ectomicorriza de *Tomentella* sp. 1**

**Hospedero: *Q. glaucoides***

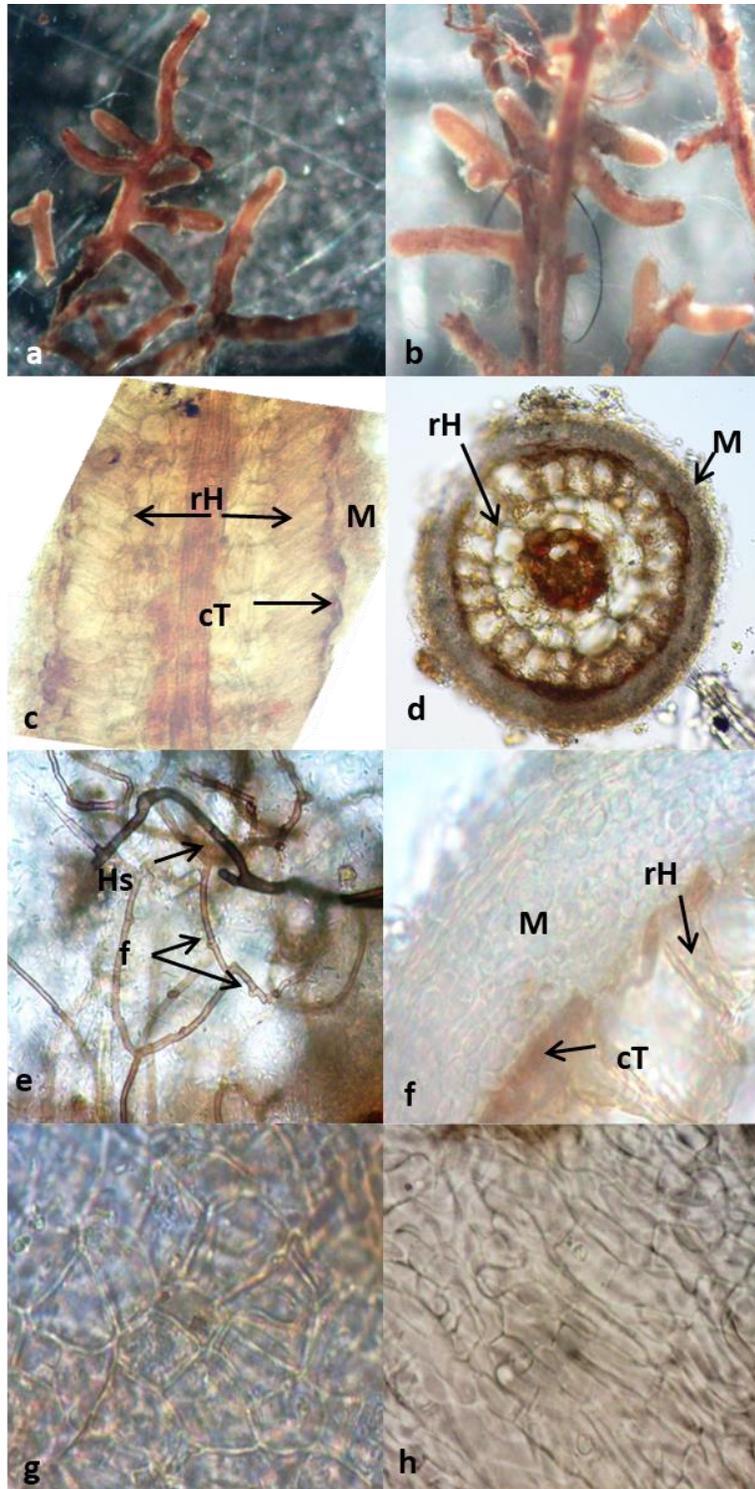
**Secuencia molecular (Anexo IV)**

La micorriza presentó una ramificación que va de simple a dicotómica e irregular pinada, la superficie del manto lisa. El eje principal fue rojo claro (10R 6/6) a rojo pálido (10R 4/3). Las terminaciones no ramificadas rectas y en algunos casos ligeramente torcidas con una coloración rojo pálido (10R 4/3) a café fuerte (4.5YR 5/6) y rojo muy oscuro (2.5 YR 2.5/2).

Los ápices de un color rojo débil (10R 4/3) a café fuerte (7.5YR 5/6) y en otros un rojo oscuro (10R 3/3). Las micorrizas viejas presentaron coloración café rojizo oscuro (5YR 3/3) a rojo pálido (10R 4/3).

Se observaron hifas gruesas sobre el manto, de 1.95 a 3.91  $\mu\text{m}$  de ancho con una tonalidad café claro rojizo (5YR 6/3) a negro (10R 2.5/1), con septos y con fíbulas muy frecuentes. Igualmente se presentaron rizomorfos de tonalidad rojo (10R 4/6).

El manto externo fue pseudoparenquimátoso tipo L, laxo y con manto interno plectenquimátoso tipo A con septos. El corte transversal comprendió de células redondeadas a ovaladas con arreglo de forma irregular tipo pseudoparenquimátoso un grosor de (19.54)-27.15-(39.08)  $\mu\text{m}$ , la Red de Hartig abarcó solamente la primera capa de células corticales, se observó una capa de taninos de color café.



**Figura 8.** Morfotipo 4: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal y que muestra el manto (M), la Red de Hartig (rH) 20x) y capa de taninos (cT) (40x). (e) Hifas gruesas sobre la superficie del manto con fíbulas (f) y septos (S) (40x). (f) estructura del manto y red de hartig (100x). (g) Manto externo (100x) tipo L: Pseudoparenquimátoso (h). Manto interno tipo A: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 5**

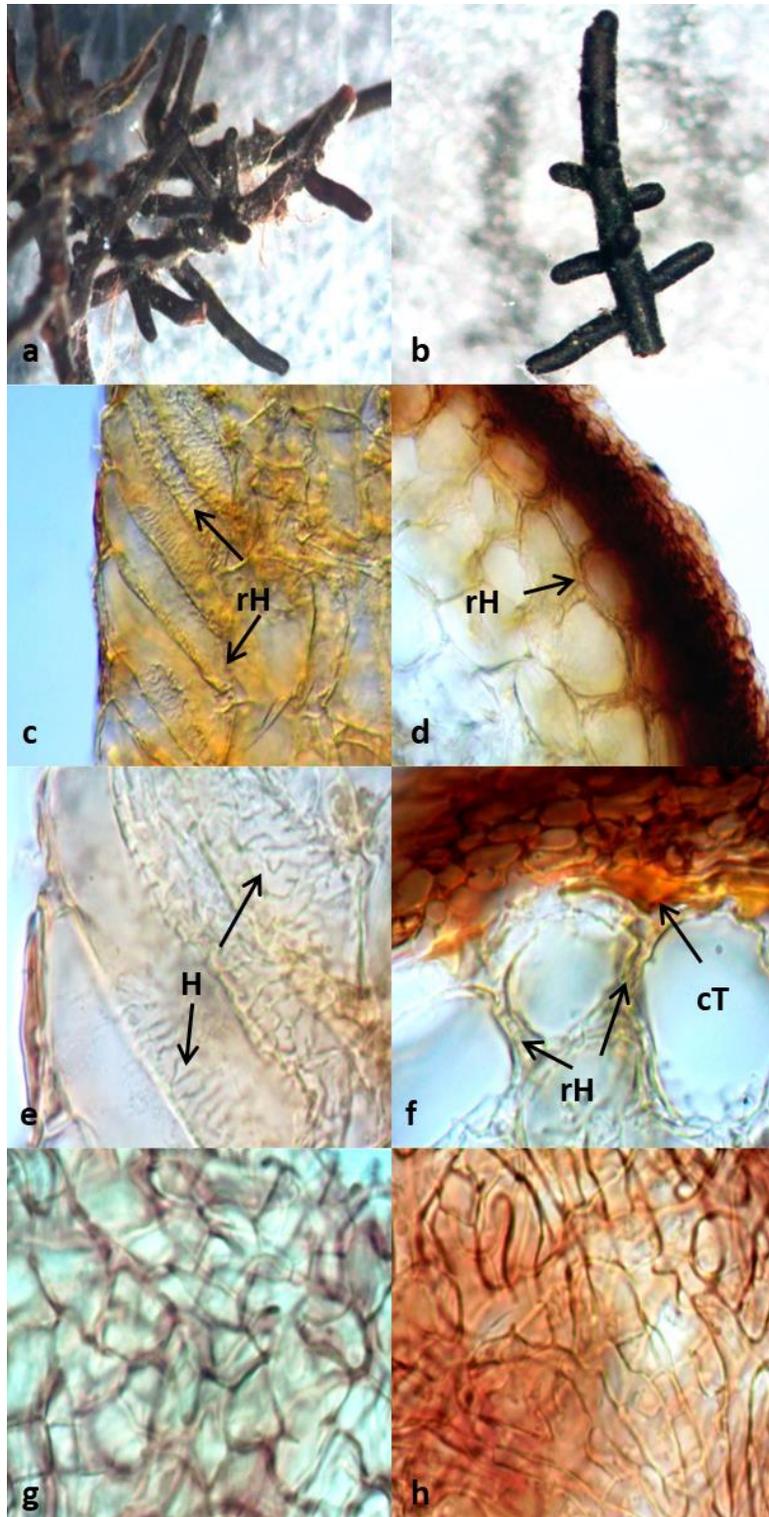
### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Ramificación simple a monopodial-piramidal, de tonalidad negro (2.5Y 2/0) con leves tonalidades rojo muy oscuro (10R 2.5/2), la superficie del manto lisa y brillante.

Presentó hifas emanantes blanquecinas (5Y 8/2) con fíbulas, rizomorfos amarillo rojizo (7.5YR 6/8). Las terminaciones no ramificadas fueron rectas con ápices cilíndrica color negro (2.5Y 2/0).

Presentó manto interno Plectenquimátoso de tipo A con septos: y un manto externo Plectenquimátoso tipo H. en corte transversal presentó manto tipo pseudoparenquimátoso células ovaladas irregulares de diferentes tamaños a redondeadas con margen liso, un grosor de (23.44)-28.47-(37.12)  $\mu\text{m}$ , con una tonalidad de rojo débil (10R 4/6).

La Red de Hartig corte longitudinal incluyó sólo la primera célula con una estructura tipo B. y en corte transversal incluyó hasta tres células corticales, con forma redondeadas a ovaladas (Figura 9).



**Figura 9.** Morfotipo 5: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y corte longitudinal que muestra el Manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (e). Red de hifas que envuelve a las células corticales (H) (40x) (f). Se observa estructura del manto y la Red de Hartig (100x) (g). Manto externo (100x) tipo H: Plectenchimátoso. (i). Manto interno (100x) tipo A: Plectenchimátoso.

## **Morfotipo 6**

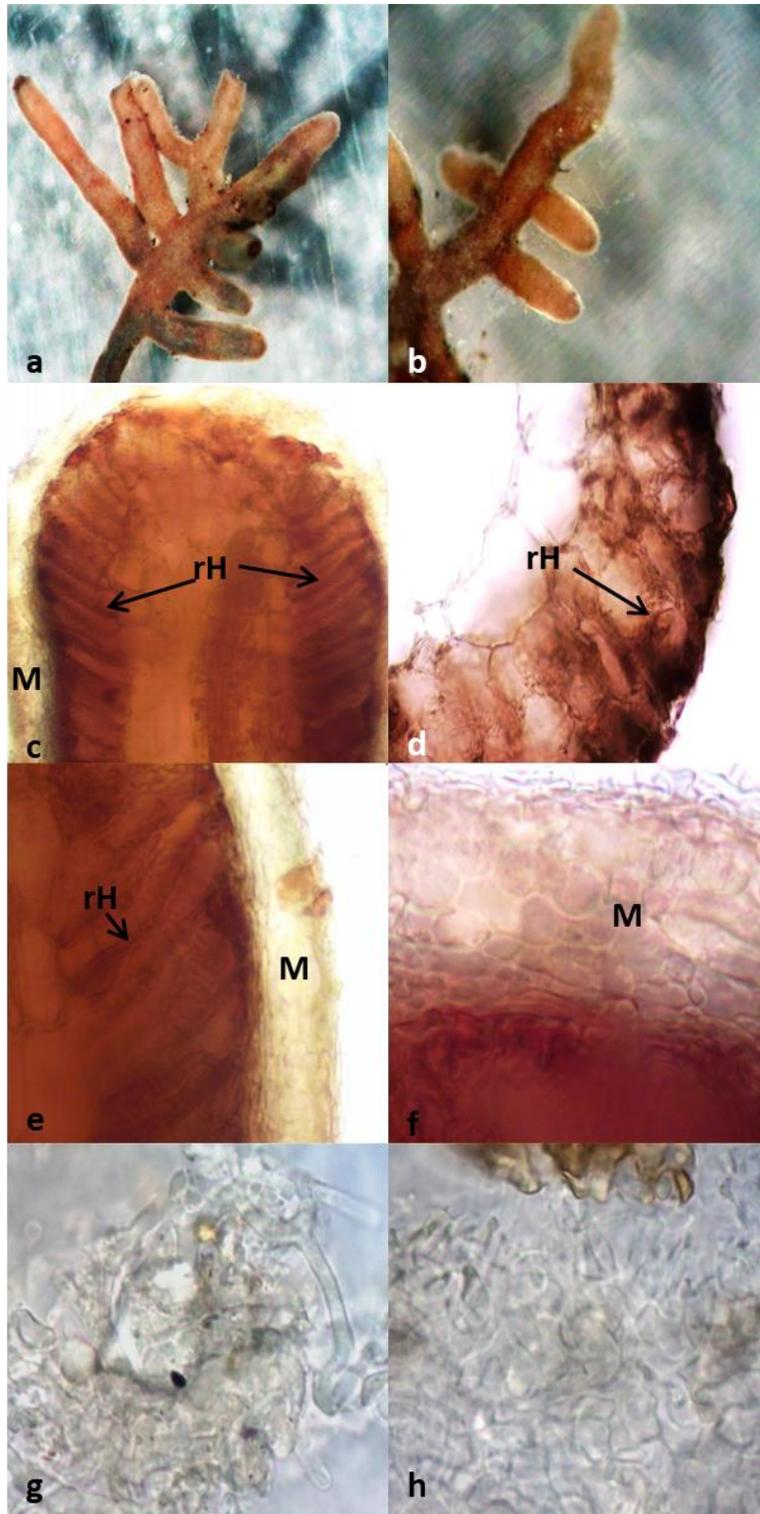
### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Ramificación simple a monopodial-pinada, terminaciones no ramificadas, rectas, lisas a tomentosas y la micorriza presentó poco manto es más brillante. Eje principal amarillo rojizo (5YR 7/8) y un color café rojizo (2.5YR 4/4).

Terminaciones no ramificadas y puntas de color amarillo rojizo (5YR 7/8) a olivo (5Y 5/3) en otras, ápices redondeadas a ligeramente en punta, asimismo, terminaciones color café rojizo (5YR 4/4) a rojo oscuro (10R 3/3) y un color amarillo (10R 7/6) en otras puntas.

La superficie del manto presentó una apariencia gelatinosa y sobre ella hay hifas hialinas gruesas y septadas (Figura 10g). En corte transversal, el manto presentó células redondeadas a ovaladas irregulares, con una textura laxa-gelatinosa de tipo pseudoparenquimátoso a plectenquimátoso en el margen, el grosor fue de (23.44)-40.05-(58.62)  $\mu\text{m}$ .

Manto externo (tipo B) e interno (tipo A): Plectenquimátoso. La Red de Hartig abarcó dos células corticales redondeadas y presentó una capa de taninos de tonalidad rojo muy oscuro (10R 2.5/2) (Figura 10).



**Figura 10.** Morfotipo 6: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (10x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (e). Corte longitudinal con manto laxo al margen (40x) (f). Cistidios globosos (100x) (g). Manto externo (100x) tipo B: Plectenquimátoso (h). Manto interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 7**

### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

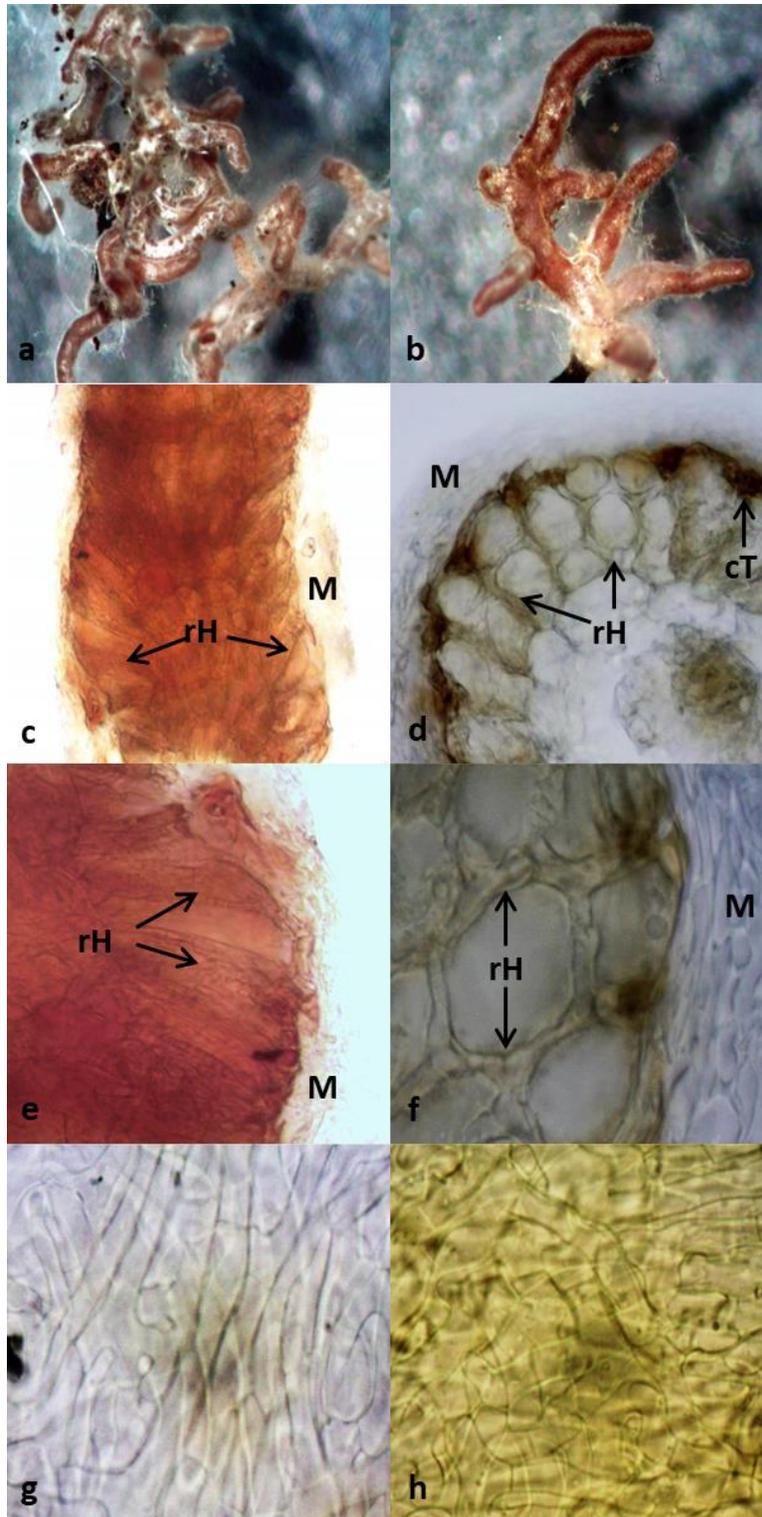
Micorriza simple a irregular-pinada rojo obscuro (10R 3/3) a amarillo (10YR 8/8) con terminaciones rectas a torcidas, con ápices cilíndricas, la superficie del manto ligeramente algodonosa, con micelio denso blanco brillante (5Y 8/1), presente en parches.

Las ramificaciones con una tonalidad rojo obscuro (10R 3/3) y raíces jóvenes a amarillo (10YR 8/8), además, se observaron ápices color rojo obscuro (10R 3/3), café rojizo (5YR 4/4) y rojo amarillento (5YR 5/6),

En el corte transversal el manto fue plectenquimátoso, mientras que en la parte con menos micelio algodonoso el manto fue plectenquimátoso a pseudoparenquimátoso con células redondeadas, con grosor de (11.72)-19.70-(29.31)  $\mu\text{m}$ .

La Red de Hartig abarcó de dos a tres capas de células corticales redondeadas, su estructura es tipo H (Agerer, 1991) con una capa de taninos que alcanzo la primera capa de células del manto.

El manto externo e interno son del tipo A: Plectenquimátoso, con hifas gruesas sobre el manto externo de color naranja claro (Figura 11).



**Figura 11.** Morfotipo 7: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M), la red de Hartig (rH) y una capa de taninos (cT) (40x) (e). Se observan la estructura del manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (F). Se observa la estructura del manto (M) y la red de Hartig rH) (100x) (g y h). Manto externo e interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

## Morfotipo 8

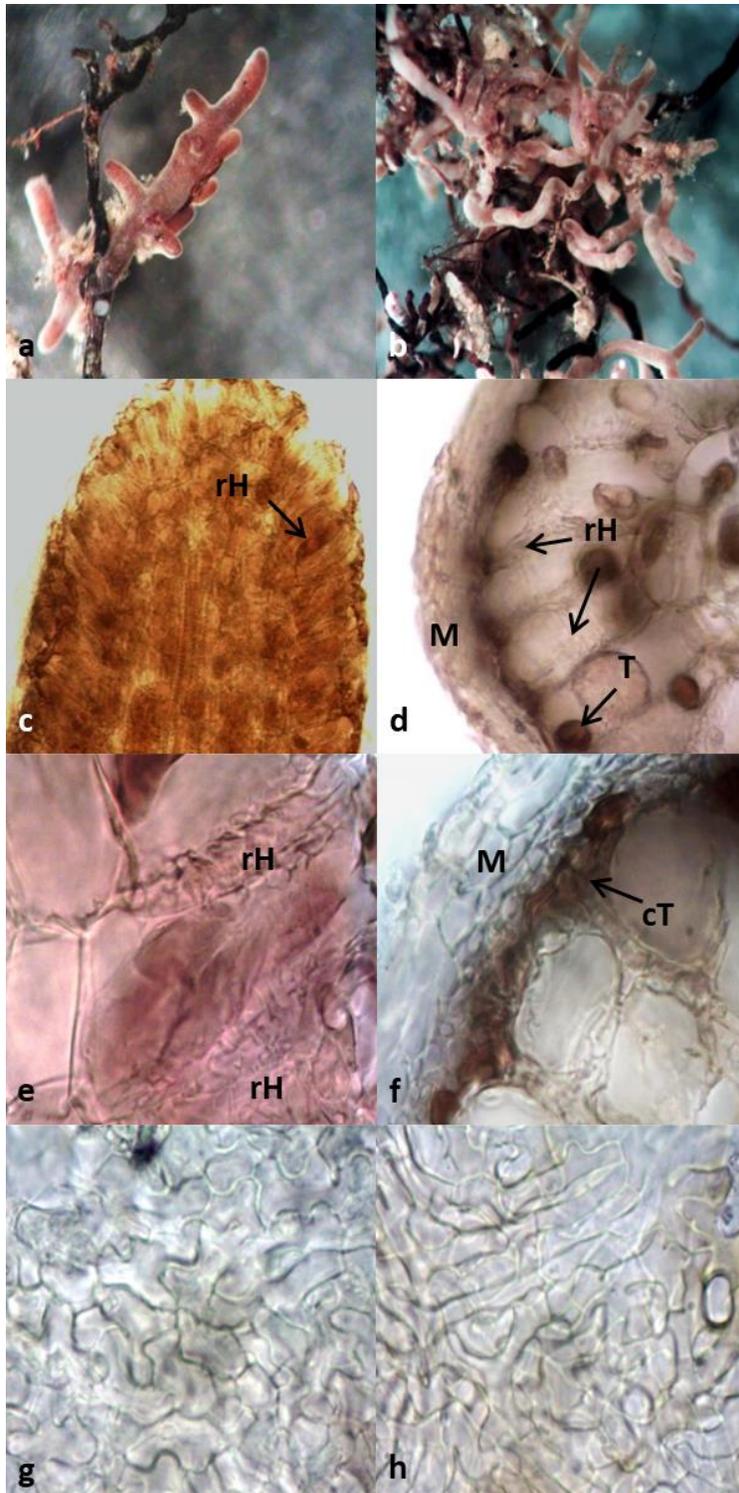
### Hospederos: *Q. glaucooides* y *Q. potosina*

Ramificación simple a dicotómica e irregular-pinada, el sistema micorrízico fue robusta, manto algodonosa con agregados de suelo y ligeramente brillante. Eje principal del sistema color amarillo rojo débil (10R 5/4), rojo pálido (10R 6/4) y un gris oscuro (5Y 4/1)

Terminaciones no ramificadas rectas y ligeramente torcidas, con puntas redondeadas, presentó un manto color blanco (5Y 8/1) con hifas emanantes del mismo tono y terminaciones con tonalidad rojo débil (10R 5/4), rojo pálido (10R 6/4) y un gris oscuro (5Y 4/1). Los ápices café (10YR 5/3) y amarillo rojizo (7.5YR 6/8).

La micorriza vieja con color negro (10R 2.4/1) a rojo obscuro (10R 3/6). El manto interno fue plectenquimátoso tipo E y un manto externo pseudoparenquimátoso tipo M, sobre la superficie se pueden observar restos de hifas gruesas con fíbulas, asimismo, rizomorfos de color rojo (2.5YR 4/8).

En corte transversal se integró de células redondeada a ovalada formado un tipo de manto pseudoparenquimátoso con grosor de (19.54)-27.34-(50.76)  $\mu\text{m}$  con margen irregular y laxo, con estructuras circulares color rojo débil (10R 4/4) a la que se denominan taninos (Figura 12d). Asimismo, se presentó una capa de taninos. Por su parte la Red de Hartig en corte longitudinal abarcó una célula cortical y en corte transversal de una a dos células corticales, así mismo, la red de Hartig rodea completamente a muchas células (figura 12).



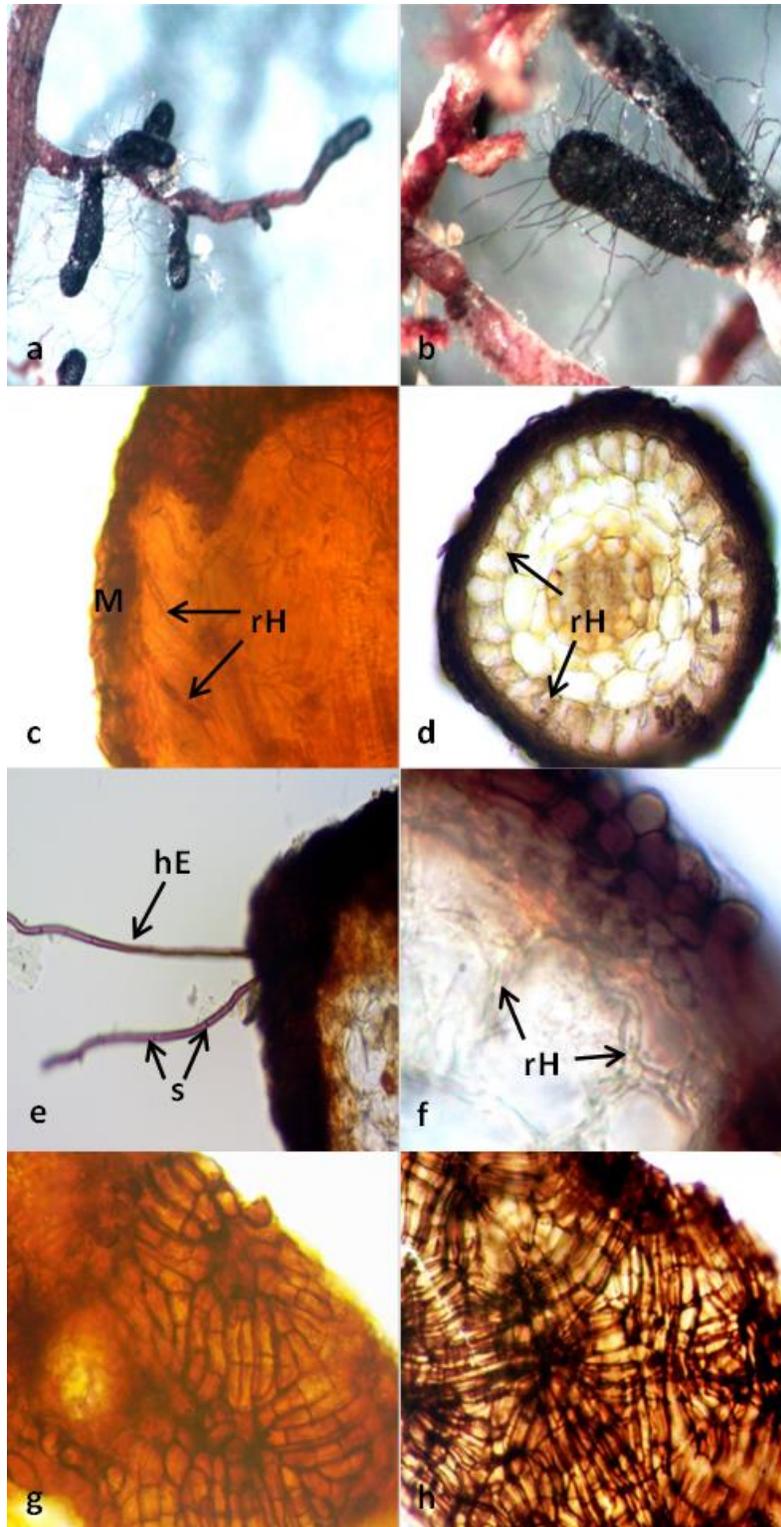
**Figura 12.** Morfotipo 8: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (20x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x) (e). Muestra la red de Hartig envolviendo la célula cortical (40x) (f). Muestra estructura del manto, la Red de Hartig y capa de tanino (cT) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo M: Pseudoparenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo E: Plectenquimátoso.

### **Morfotipo 9 (*Cenococcum geophilum*)**

#### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

Sistema micorrízico simple, la superficie del manto lisa a una apariencia rugosa y brillante color negro (2.5Y 2/0) completamente, presentó hifas emanantes septadas, largas, gruesas y torcidas de tonalidad negro (10R 2.5/1) a amarillo rojizo (5YR 6/6) (100x), de una longitud promedio de 4.66  $\mu\text{m}$ . Las terminaciones no ramificadas fueron rectas, en algunas ramificaciones se observó manto lanoso blanco (5Y 8/1).

El manto interno y externo fue plectenquimátoso tipo G. En corte transversal compuesto por células redondeadas a ovaladas del tipo pseudoparenquimátoso y arreglo uniforme de seis capas de células con un grosor de (11.75)-27.22-(54.71)  $\mu\text{m}$ . Se presentaron células taniníferas, taninos de tonalidad rojo pálido (10R 4/4) a rojo muy oscuro (10R 2.5/2), la Red de Hartig abarcó dos capas de células corticales redondeadas (Figura 13).



**Figura 13.** Morfofito 9: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x) (e). Hifas emergentes (hE) sobre el manto con septos (s) (40x) (g). Se observa la estructura del manto (M) y la Red de Hartig (rH) (100x) (g y h). Manto externo e interno (100x) tipo G: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 10**

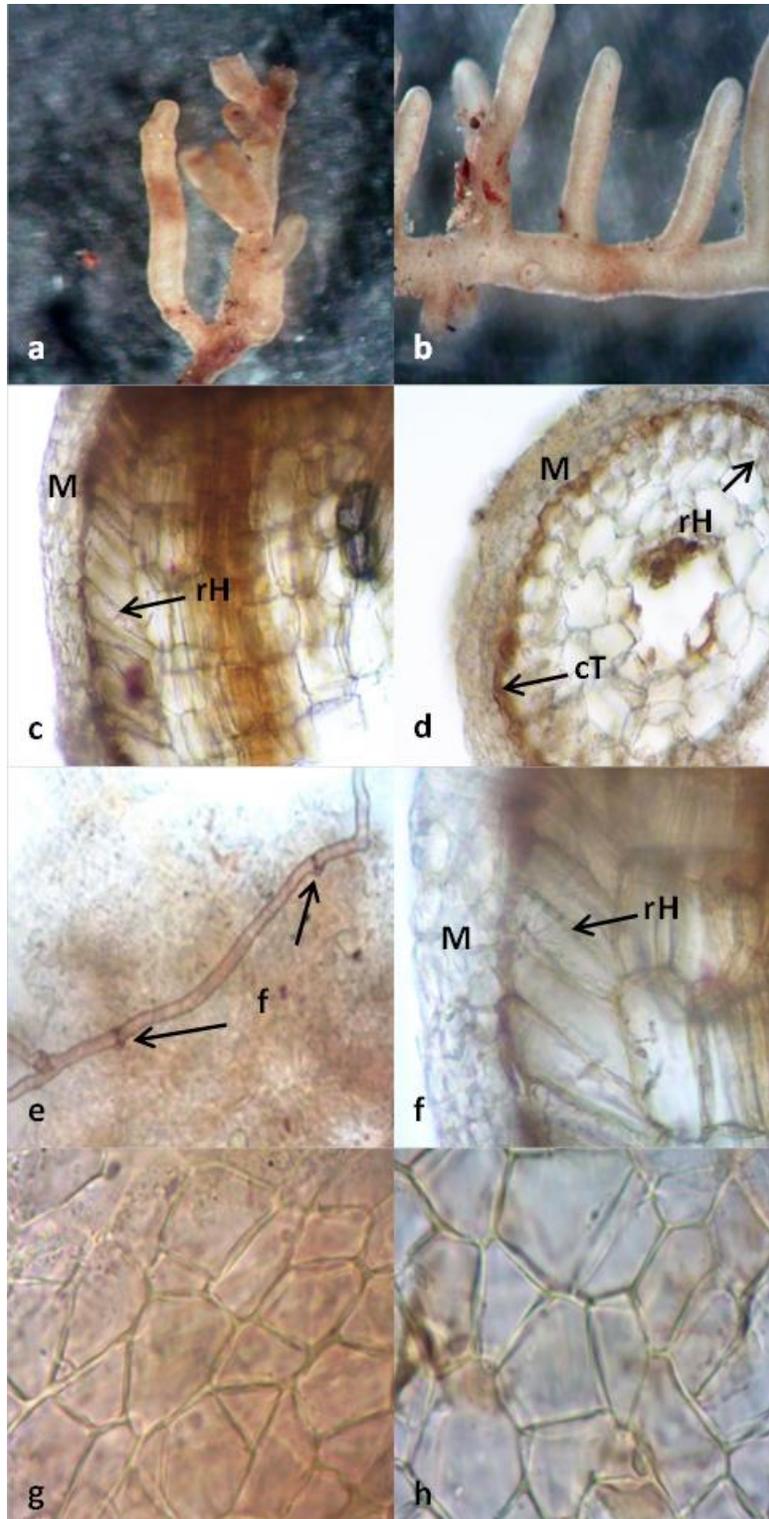
### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Ramificación simple a irregular pinada con, la superficie del manto lisa con micelio emanante blanquecino (escaso). El eje principal de color amarillo (10YR 8/8) a amarillo rojizo (7.5YR 6/6).

Las terminaciones no ramificadas rectas con puntas redondeadas de color amarillo pálido (2.5Y 8/4) a amarillo rojizo (7.5YR 6/6) y una tonalidad amarillo pálido (5Y 8/3), los ápices de las puntas no ramificadas fueron amarillas (2.5YR 8/8) y blanco (2.5Y 8/2).

Las micorrizas viejas con color rojo débil (10R 4/4). En corte transversal del manto presentó células redondeadas a ovaladas irregulares, margen circular y liso con grosor de (19.54)-28.37-(42.98)  $\mu\text{m}$ . La Red de Hartig abarcó dos capas de células corticales de forma redondeadas con una capa de taninos color café rojizo (2.5YR 4/4) (Figura 14d).

El manto externo e interno fue pseudoparenquimátoso de tipo L, observándose hifas gruesas de color amarillo rojizo (5YR 6/8) con fíbulas e hifas hialinas septadas (Figura 14).



**Figura 14.** Morfortipo 10: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte longitudinal y transversal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x) (e). Hifas gruesas sobre el manto con fíbulas (f) (40x) (f). Muestra estructura del manto, la Red de Hartig y capa de tanino (cT) (100x) (g y h). Manto externo e interno (100x) tipo L: Pseudoparenquimátoso.

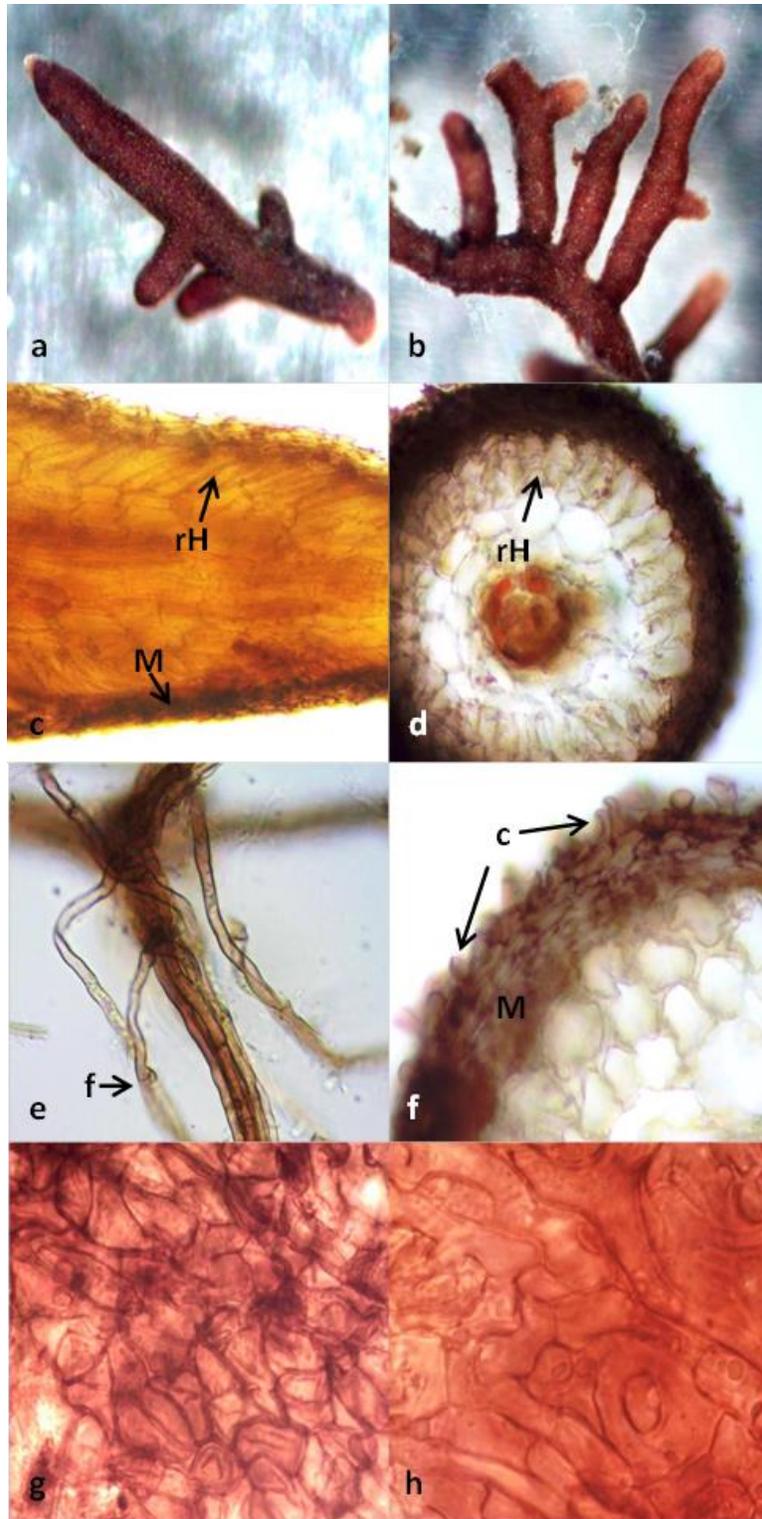
## **Morfotipo 11**

### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

Micorriza simple a monopodial-pinada con manto liso ligeramente brillante, el sistema micorrízico fue color rojo débil (10R 4/4) a rojas (2.5YR 4/8) se observaron hifas emergentes. Las ramificaciones rectas con ápices redondeadas de tonalidades rojas (2.5YR 4/8) a rojo débil (10R 4/4) y rojo oscuro (10R 3/4), en algunos ápices fueron amarillas (2.5Y 8/6).

Se observaron cistidios tipo G y rizomorfos de tipo A color rojo pálido (10R 4/4) a amarillo rojizo (7.5YR 6/8) con fíbulas. El manto interno fue Plectenquimátoso tipo A y un manto externo similar al tipo K: Pseudoparenquimátoso, sólo que en este caso los cistidios aparecen de forma individual y no en grupo como en manto tipo K.

Las células del manto de forma angulares y redondeadas, comprendiendo entre cuatro y cinco capas de células de diferentes tamaños, de tipo pseudoparenquimátoso, con un margen irregular y un grosor de (17.18)-38.04-(54.71)  $\mu\text{m}$ . La Red de Hartig incluyó entre dos a tres capas de células corticales con formas redondeadas (Figura 15).



**Figura 15.** Morfotipo 11: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (20x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (20x) (e). Rizomorfos (r) y fíbulas (f) (40x) (f). Se muestra la estructura del manto y Cistidios globosos (100x) (g). Manto externo (40x) tipo K: Pseudoparenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 12. Ectomicorriza de *Tomentella* sp. 2**

**Hospedero: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

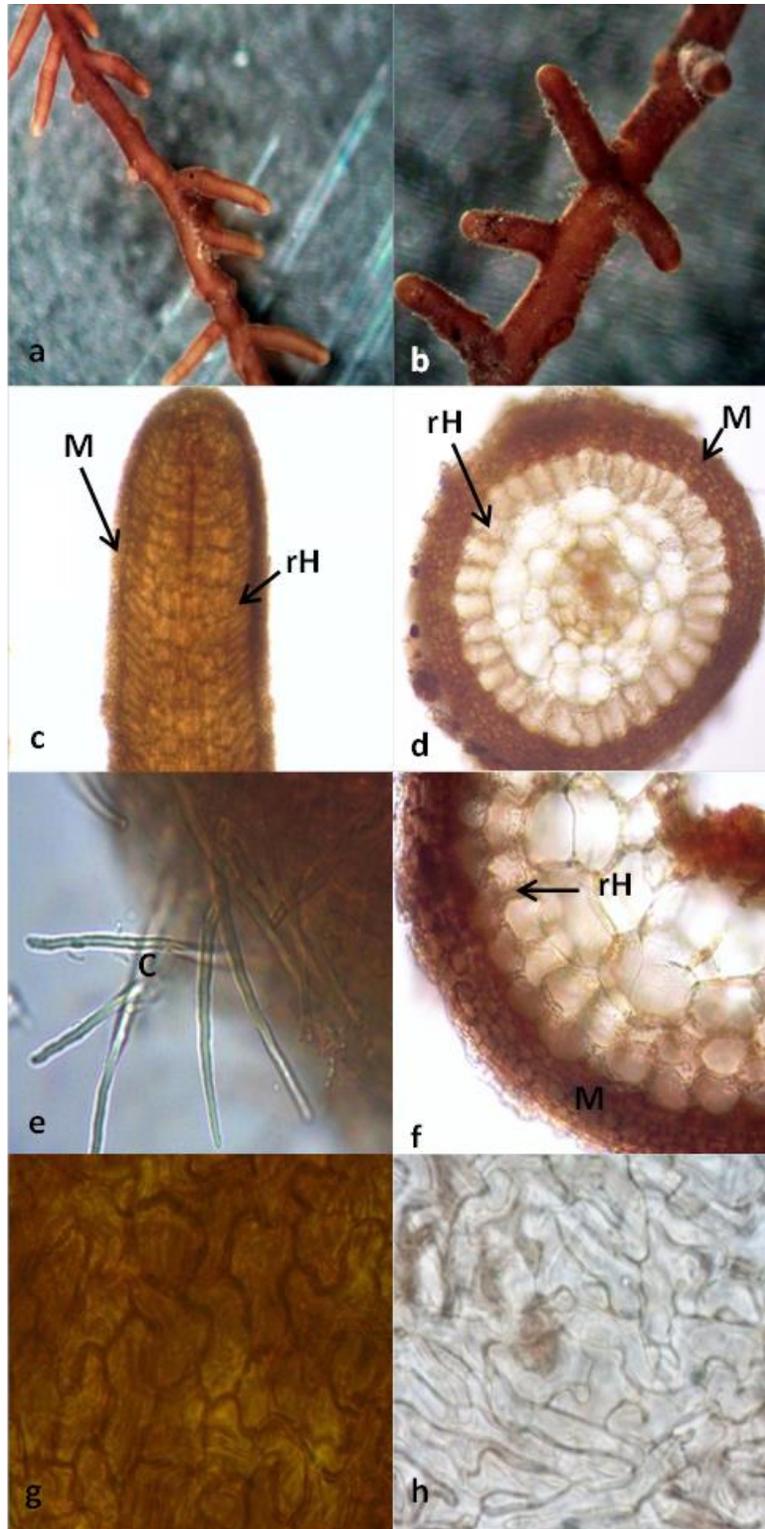
### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Presentó una ramificación que va de simple a irregular pinada, lisa, con hifas emanantes. El eje principal fue de rojo oscuro (10R 3/4) a café oscuro (10YR 4/3 y 7.5YR 4/4).

Las puntas no ramificadas rectas color amarillo (2.5Y 8/6) a amarillo rojizo (5Y 6/6) y un color rojo oscuro (10R 3/4) en otras ramificación. Los ápices con un color amarillo (10YR 8/6), rojo débil (10R 4/4) y tonalidades amarillo pálido (5Y 8/3).

Microscópicamente se observó un manto externo pseudoparenquimátoso de tipo Q con micelio aparentemente gelatinoso sobre el manto del cual parten cistidios prominentes de tipo de tipo A con 45.71  $\mu\text{m}$  de largo en promedio (Figura 16e). En cuanto al manto interno fue de plectenquimátoso de tipo B con septos.

En general el manto estuvo formado de células redondas a rectangulares con un arreglo irregular y de un grosor de 21.30-(27.63)-39.08  $\mu\text{m}$ , con una delgada capa de taninos color café. La Red de Hartig abarcó la primera y la segunda capa de células corticales con forma redondeadas y muchas células son envueltas por dicha estructura tanto en corte longitudinal y transversal (Figura 16).



**Figura 16.** Morfotipo 12: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (10 y 20x). (e) se observan cistidios tipo A (100x). (f) Estructura del manto y la red de Hartig (40x). (g) Manto externo tipo Q: Pseudoparenquimátoso. (h) Manto interno (100x) tipo B: Plectenquimátoso.

### **Morfotipo 13. Ectomicorriza de *Sebacina epigaea***

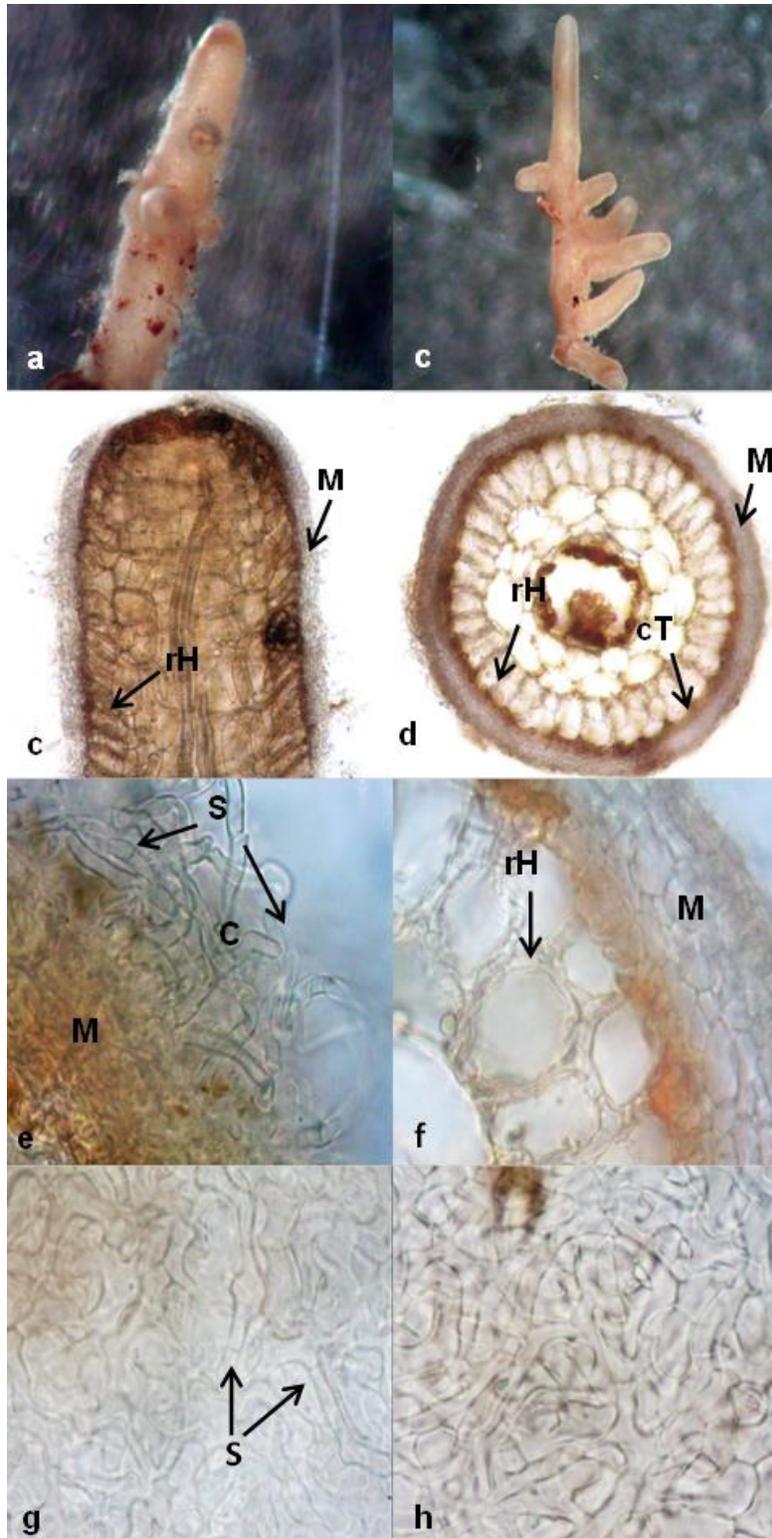
**Hospedero: *Q. glaucoides***

#### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Ramificación simple a monopodial pinada, rectas, la superficie del manto lisa a ligeramente lanosa, el sistema micorrízico tuvo una tonalidad amarillo pálido (5Y 8/4) con apariencia translúcida en los ápices, en algunas el eje principal tuvo una coloración de blanco (10YR 8/1) a rojo amarillento (5YR 5/6)

Las puntas no ramificadas de color café muy pálido (10YR 8/4) a café amarillento (10YR 5/8). Los ápices, mostraron un color blancos (5Y 8/2), otros café oscuro (7.5YR 3/2) y un blanco rosado (7.5YR 8/2) en otros ápices. Se presentó cistidios tipo L. Las partes envejecidas del sistema presentaron un color rojo débil (10R 4/4).

Se observó un manto exterior pseudoparenquimátoso de tipo Q y un manto interno plectenquimátoso de tipo E, con hifas septadas en ambos. Asimismo, hubo una red de hifas gruesas, con septos sobre el manto externo. En corte transversal el manto fue pseudoparenquimátoso con micelio ligeramente laxo, conformado de células redondeadas a ovaladas irregulares de seis capas, con grosor 13.68-(23.44)-37.13  $\mu\text{m}$ , se presentó una capa de taninos color rojo (10R 4/8). La Red de Hartig abarcó la segunda capa de células corticales, éstas tuvieron una forma redondeada (Figura 17).



**Figura 17.** Morfotipo 13: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal (20x) que muestra el manto (M), la Red de Hartig (rH) y una capa de taninos (20x). (e) Cistidios hialinos con septos (100x). (f) Estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (100x). (g) Manto externo tipo Q: Pseudoparenquimátoso (100x). (h). Manto interior tipo E: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 14. Ectomicorriza de *Tuber castilloi***

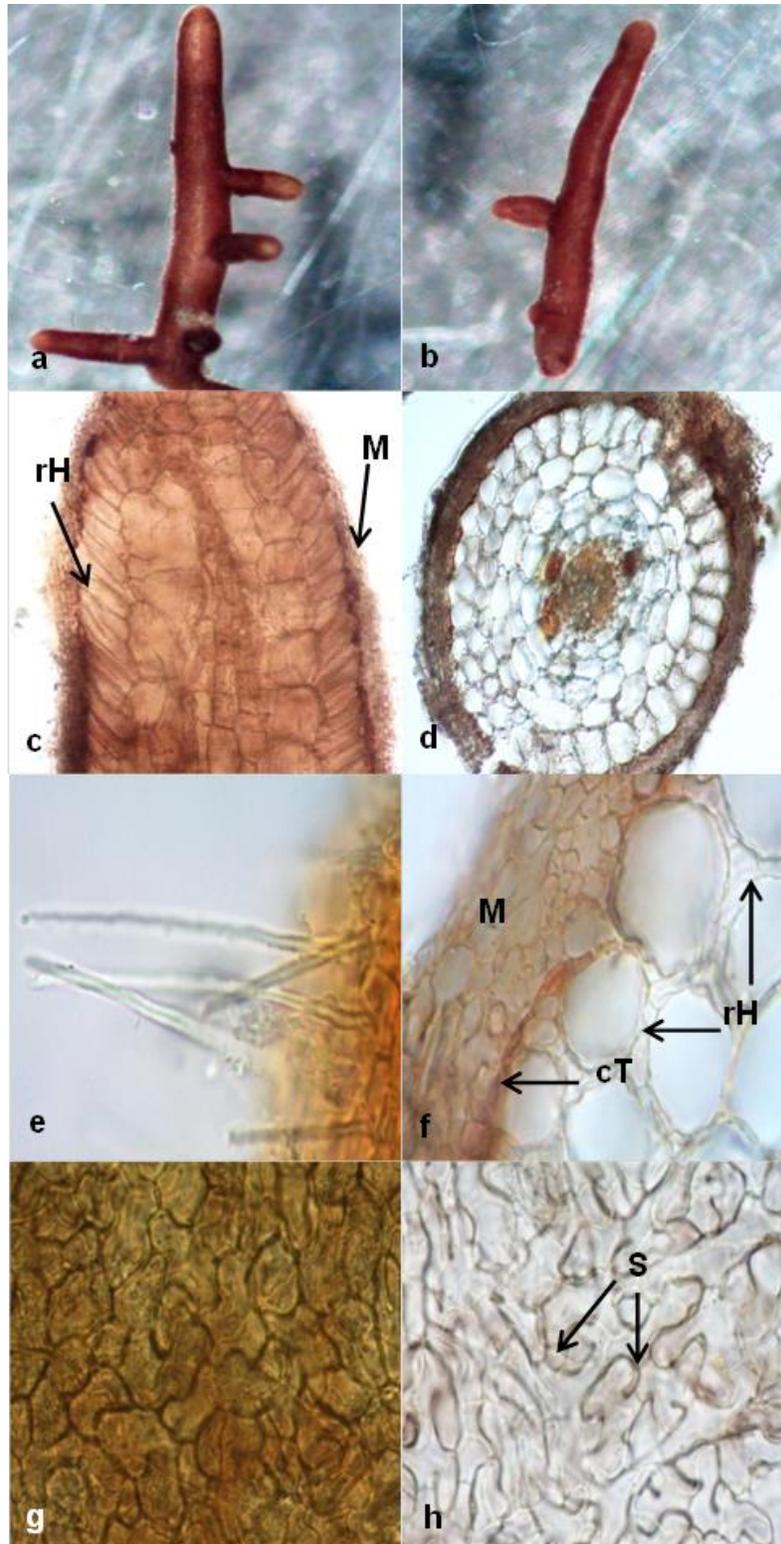
**Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Sistema micorrízico con ramificación simple a monopodial-piramidal, la superficie del manto lisa con ramificaciones rectas; de tonalidad rojo débil (10R 4/4) y rojo (10R 4/6), con ápices de color café obscuro (7.5 YR 4/4) a café fuerte (7.5YR 5/8) y negro (matiz 10R 2.5/1). El eje principal de rojo pálido (10R 4/4) y el centro de éste ligeramente amarillo (10YR 8/6).

Microscópicamente se observó un manto constituido por células redondeadas a ovaladas con un arreglo irregular, con hifas emanantes, en algunos casos las células del manto tuvieron un arreglo similar a una pared de ladrillos con seis células. Presentó cistidios de tipo A (Agerer, 1991) (Figura 18e). Asimismo, hubo una red de hifas sobre el manto con las puntas globosas y más robustas que los cistidios.

Manto externo pseudoparenquimátoso de tipo N: (Figura 18g) y un manto interior Plectenquimátoso de tipo H: (Agerer, 1991) (Figura 18h). El desarrollo de la Red de Hartig abarcó la segunda capa de células corticales, que tuvieron una forma redondeada y una capa de taninos que se formó entre las células de la raíz y del manto con una tonalidad café rojizo (2.5YR 4/4). El manto tuvo un grosor de 13.68-(22.82)-27.36  $\mu\text{m}$  (Figura 18f).



**Figura 18.** Morfotipo 14: (a y b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (20x). (e) Cistidios tipo A (100x). (f) Estructura del manto y la red de Hartig (rH) (40x). (g) Manto externo tipo N: Pseudoparenquimátoso (100x). (h) Manto interno tipo H: Plectenquimátoso (100x).

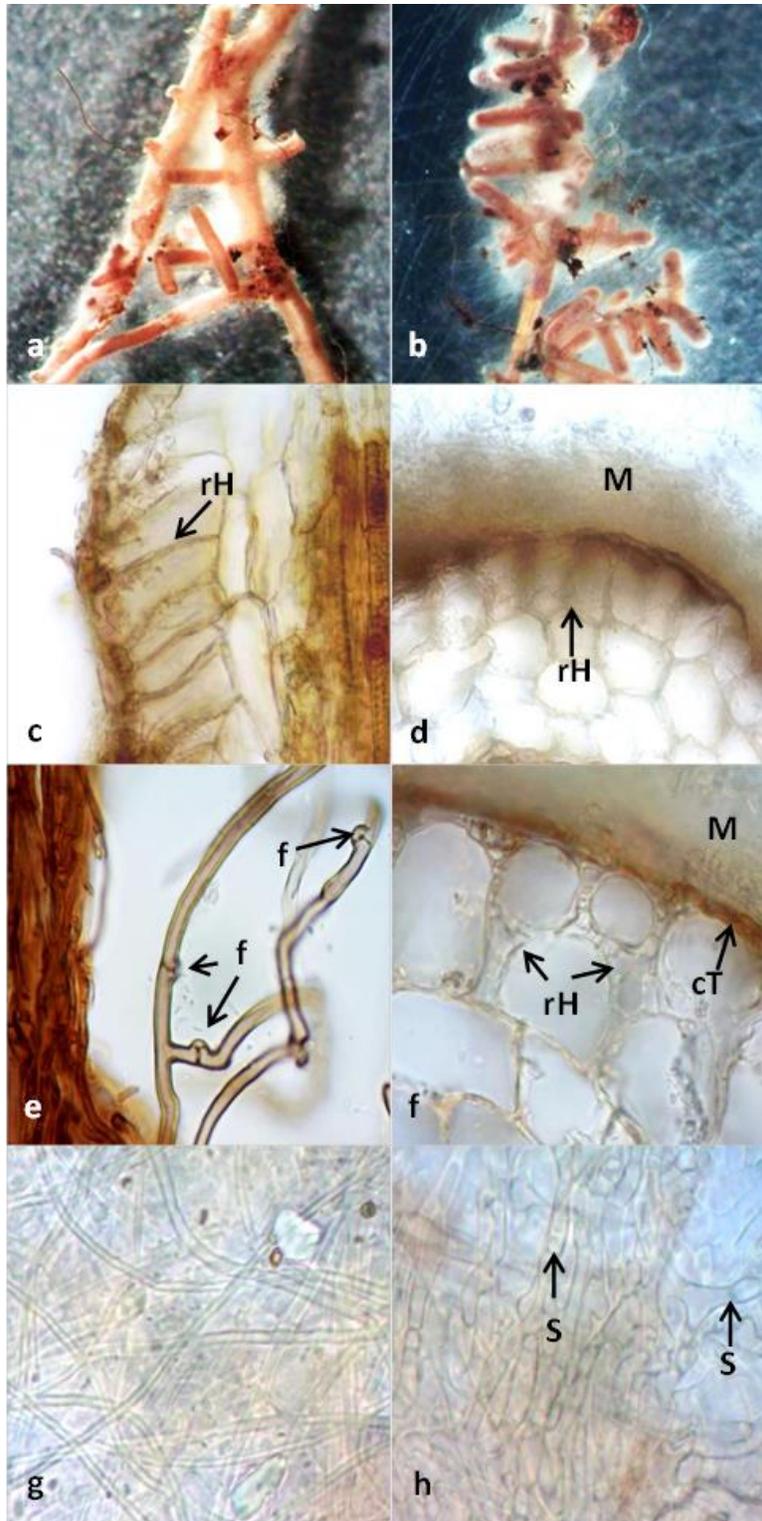
## **Morfotipo 15**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Sistema micorrízico simple a irregular pinnada, robusto y con abundante micelio algodonoso blanquecino (5Y 8/2), todo el sistema presentó una tonalidad rojo claro (2.5YR 7/8), con ramificadas rectas y ápices cilíndricos.

Presentó rizomorfos con tonalidad amarillo (10YR 8/8) a café oscuro rojizo (5YR 3/3) de tipo A, con presencia de septos y fíbulas. Asimismo, las hifas emanantes son multiseptadas, sin fíbulas y se observó hifas similares a cistidios del tipo A.

El manto externo fue tipo plectenquimátoso y un manto interno tipo B: Plectenquimátoso. En corte trasversal el manto presentó células redondeadas a ovaladas irregular tipo pseudoparenquimátoso y manto laxas hacia el margen del manto de tipo plectenquimátoso, con un grosor de (25.40)-38.98-(58.62)  $\mu\text{m}$ . en corte longitudinal la Red de Hartig abarco una capa de células corticales y en corte trasversal de una a dos capas de células (Figura 19).



**Figura 19.** Morfotipo 15: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (40x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (e). Se observa rizomorfos (r) tipo A y fíbulas (f) (100x) (f). Estructura del manto y la red de Hartig (rH) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo B: Plectenquimátoso.

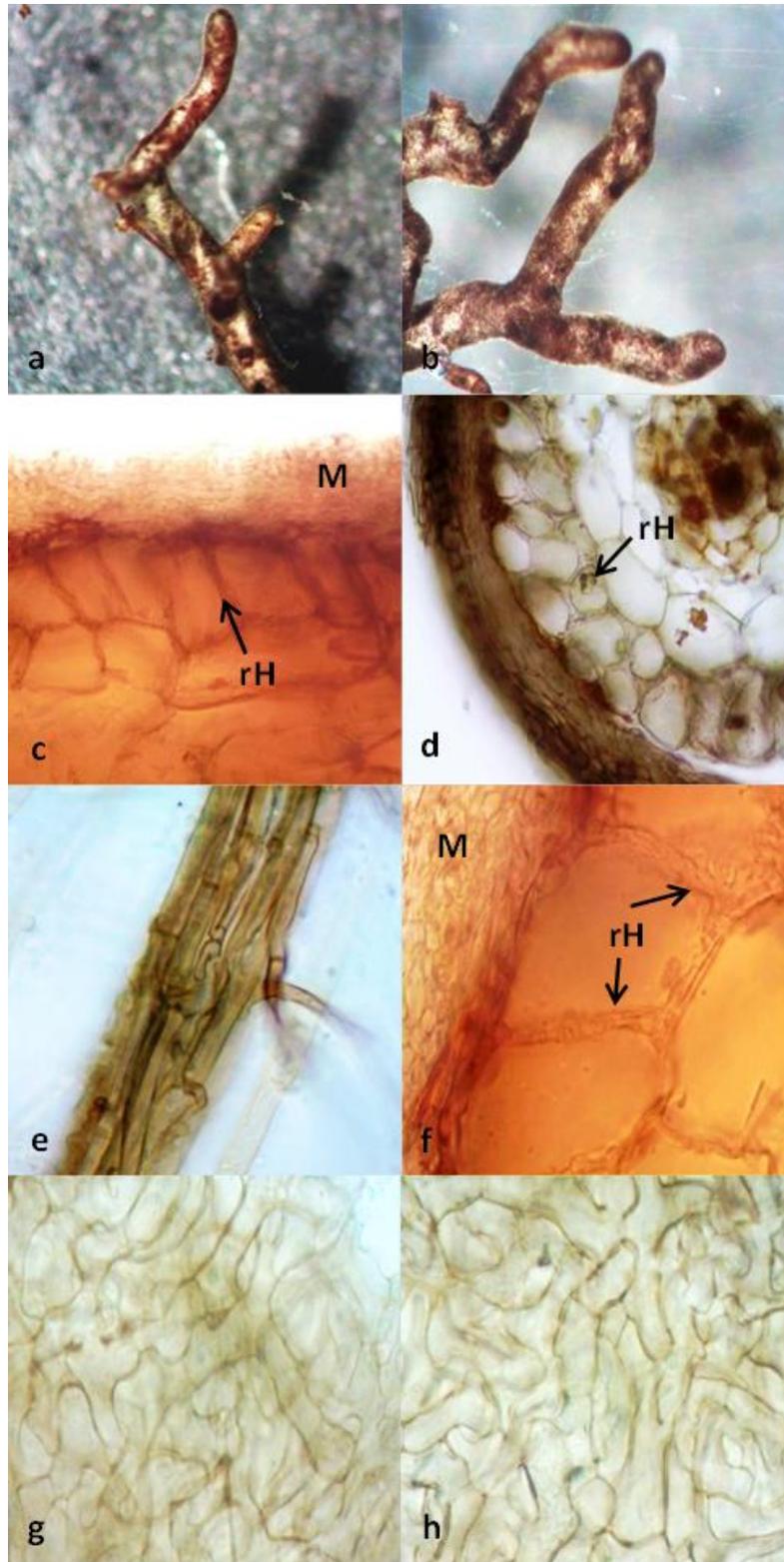
## **Morfotipo 16**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Micorriza con tres tipo de ramificaciones simple, irregular-pinada y monopodial-pinada, con una tonalidad café oscuro rojizo (5YR 3/3), presento un manto denso y brillante amarillo pálido (2.5Y 8/4), y en otros sistemas un manto tomentoso color amarillo (2.5YR 8/2) con rizomorfos amarillos (10YR 7/6),

Los ápices mostraron terminaciones redondeadas de rojo amarillento (5YR 5/8) a gris oscuro rojizo (10R 3/1) y aquellas con el manto tomentoso con un color amarillo (2.5YR 8/2). Por su parte, las raíces envejecidas con una tonalidad amarillo (5Y 8/6) y un rojo débil (10R 4/4).

El manto externo e interno fueron plectenquimátoso de tipo H, por su parte el manto externo presentó una red de hifas con septos sobre la superficie del manto. El manto en corte transversal estuvo constituido por células redondeadas a ovaladas, arregladas irregularmente, de tipo pseudoparenquimátoso con grosor de (15,62)-32.98-(60.57)  $\mu\text{m}$ . La Red de Hartig abarcó de una a dos células corticales y presentó una capa de taninos con tonalidad rojo débil (10R 4/6) (Figura 20).



**Figura 20.** Morfotipo 16: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte longitudinal (40x) (d y f). Corte transversal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (e). Estructura del rizomorfo (r). (40x) (g y h). Manto externo e interno (40x) tipo H: Plectenquimátoso.

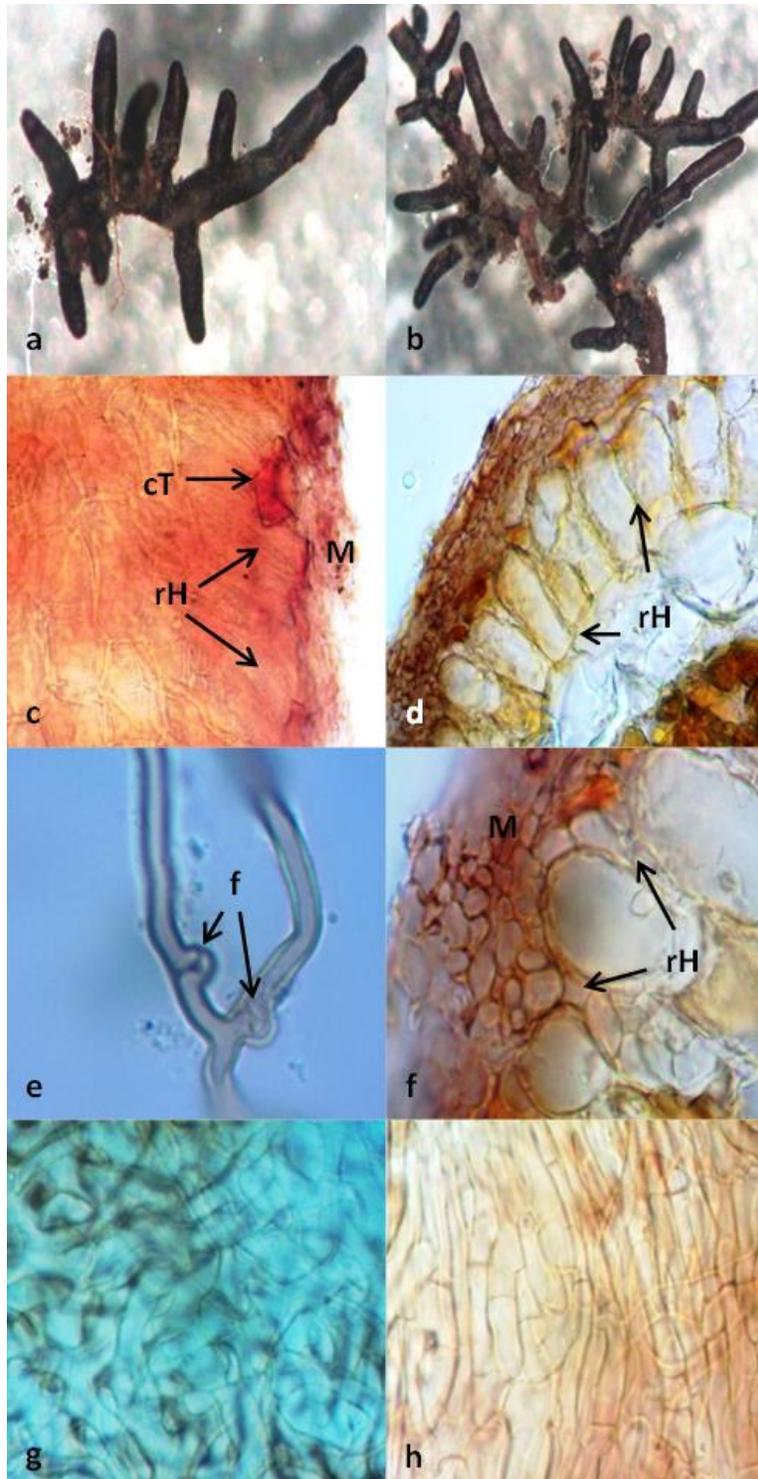
## **Morfotipo 17**

### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

Sistema micorrízico simple, irregular-pinada a monopodial piramidal, ligeramente brillante con ramificaciones rectas y ápices redondeados, la superficie del manto fue lisa con agregados de suelo color negro (10R 2.5/1) a café oscuro (7.5YR 3/2) y en otros sistemas con tonalidades gris oscuro rojizo (10R 3/1).

Por su partes las micorrizas envejecidas presentaron una tonalidad café rojizo oscuro (2.5YR 3/4) y se observaron rizomorfos café fuerte (7.5YR 5/8). Además, con hifas emanantes blancas (5Y 8/2) fibuladas y un poco de micelio lanoso con el mismo color. Sobre el manto una red de hifas con una apariencia rugosa.

El manto interno fue plectenquimátoso de tipo B y un manto externo Plectenquimátoso de tipo H. En corte transversa se observaron en el manto células redondeadas a ovaladas tipo pseudoparenquimátoso de un grosor de (21.49)-29.96-(39.08)  $\mu\text{m}$ , la Red de Hartig abarcó de una a dos capa de células corticales en el caso de células pequeñas, la estructura de la red es tipo E con una capa de taninos color rojo (10R 4/6) y en corte longitudinal la Red de Hartig abarcó la primera capa de célula cortical (Figura 21).



**Figura 21.** Morfortipo 17: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M), la Red de Hartig (rH) y una capa de taninos rojizo (cT) (40x) (e). Hifas emanantes con fíbulas (f) (100x) (f). Estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo A: Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo B: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 18**

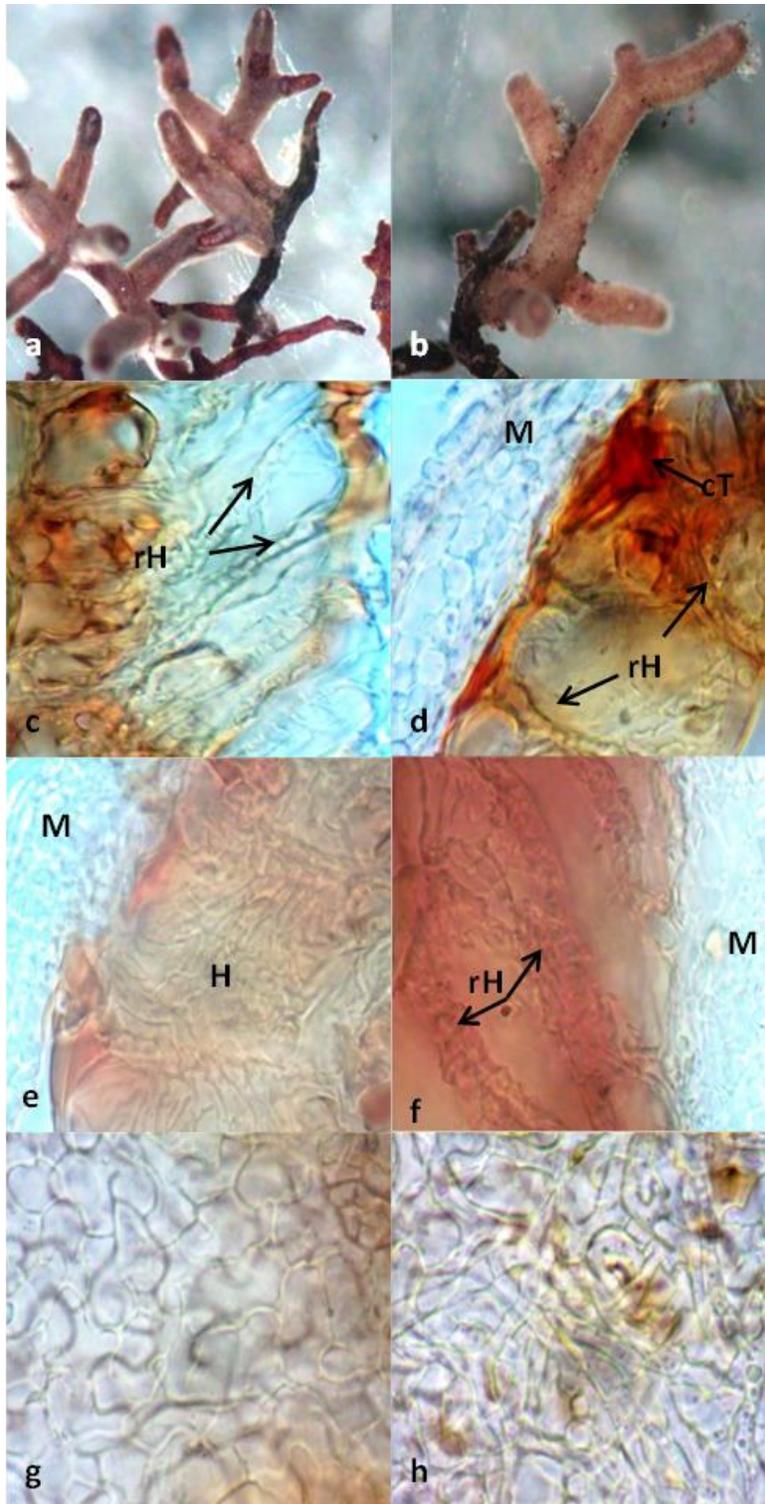
### **Hospedero: *Q. potosina***

Sistema micorrízico simple a dicotómico con ramificaciones rectas a sinuosas, superficie del manto lisa y en otros tomentosa, con agregados de suelo y ramificaciones con ápices cilíndricas. Sistema micorrízico de color rojo pálido (10R 4/4) y rojo (10R 5/8).

Ramificaciones de color rojo pálido (10R 4/4) con ápices rojo oscuro (10R 3/3) y en otros un rojo muy oscuro (10R 2.5/2). Por su parte la micorriza vieja presentó una tonalidad de color negro (10R 2.5/1) a rojo débil (10R 4/4),

El manto interno fue de tipo A: Plectenquimátoso y un manto externo de tipo H: Plectenquimátoso. Microscópicamente en corte transversal el manto fue pseudoparenquimátoso, de células ovaladas a redondeadas y en ocasiones no se observaron las células del manto debido a un manto de tipo plectenquimátoso gelatinosa, con un grosor de (21.49)-27.68-(36.14)  $\mu\text{m}$ .

La Red de Hartig en corte longitudinal incluyó una capa de células corticales y en corte transversal abarcó hasta dos capas células corticales redondeadas, observando que las células se vieron de color rojo débil (10R 4/4) debido al tanino, además de muchas células corticales son envuelta completamente por dicha estructural en los cortes (Figura 22).



**Figura 22.** Morfofoto 18: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M), la Red de Hartig (rH) y una capa de taninos rojizo (cT) (40x) (e y f). Se observa la estructura del manto, la Red de Hartig y una red de hifas que envuelven a las células corticales (H) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo H: Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

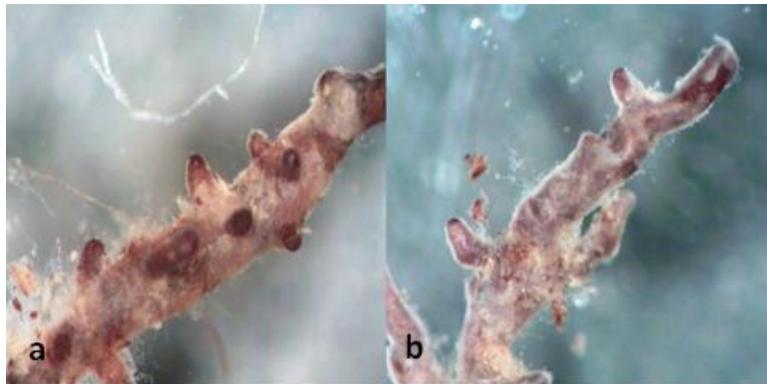
## Morfotipo 19

### Hospedero: *Q. potosina*

Sistema micorrízico monopodial-piramidal de apariencia brillante, con las terminaciones rectas y ápice cilíndricas. Superficie del manto algodonosa-tomentosa color blanco (5Y 8/2). La tonalidad del eje principal fue roja (10R 5/8), con ápice de color café rojizo oscuro (2.5YR 3/4) y de negro (10R 2.5/1) en otros.

Las ramificaciones sin manto micorrízico de color rojo (2.5YR 4/6) a blanquecina (2.5YR 8/1), manto translucido. Presentó rizomorfos color café oscuro (7.5YR 5/8) y agregados de suelo.

Las observaciones de las características microscópicas no se llevaron a cabo, debido a la cantidad mínima de muestra que se obtuvo del morfotipo micorrízico, las cuales fueron utilizadas para las pruebas moléculas. En dicha prueba no se obtuvo resultado alguno en las amplificaciones del ADN.



**Figura 23.** Morfotipo 19: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación)

## **Morfotipo 20**

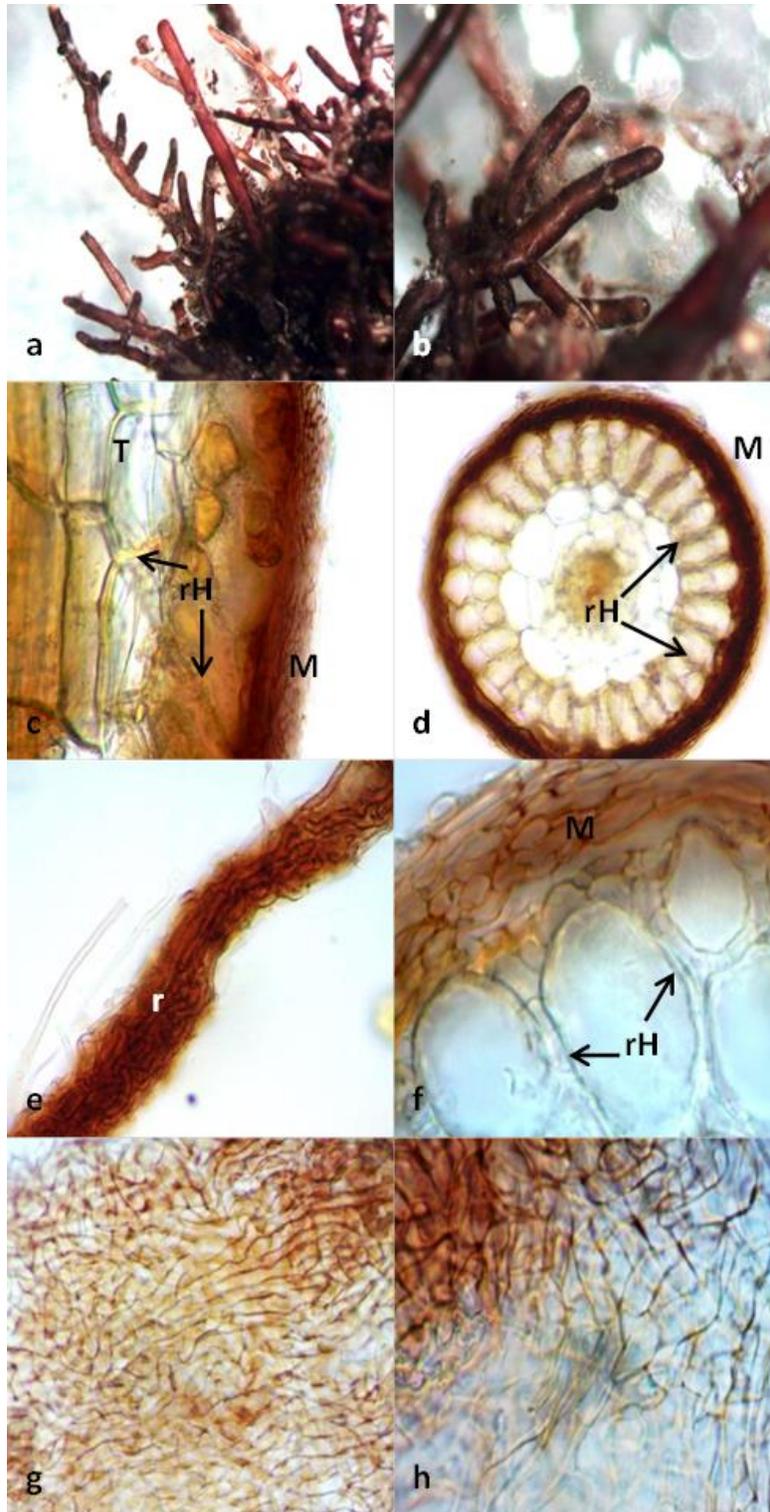
### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Micorriza simple a coraloide, superficie del manto lisa, ligeramente brillante y con agregados de suelo, con ramificaciones rectas y terminaciones cilíndricas, hifas emanantes de color café claro rojizo (5YR 6/3) y micelio ligeramente lanoso blanquecino. El sistema micorrízico de color café rojizo (5YR 4/3) a amarillo rojizo (7.5YR 6/6) hasta un café rojizo (5YR 4/3).

Ramificadas y ápices de color café rojizo (5YR 4/3), se presentaron hifas emanantes hialinas similares a cistidios tipo A

Las micorrizas viejas de color café fuerte (7.5YR 5/6) a rojo (2.5YR 4/8). Presentó rizomorfos tipo D (Agerer, 2006) de tonalidad rojo (2.5YR 4/6) con septos y fíbulas. Con un manto interno plectenquimátoso de tipo B y un manto externo plectenquimátoso de tipo A con una red de hifas gruesas septadas sobre el manto.

En corte longitudinal presentó un manto pseudoparenquimátoso, la Red de Hartig abarcó una célula cortical, hay células taníferas. Por su parte en corte transversal con manto de células redondeadas a ovaladas, de tipo pseudoparenquimátoso con un grosor de (11.72)-21.52-(39.08)  $\mu\text{m}$  y la Red de Hartig abarcó dos capas de células corticales redondeadas (Figura 24).



**Figura 24.** Morfotipo 20: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M), la Red de Hartig (rH) y taninos redondeados (T) (40x) (e). Rizomorfos tipo A (40x) (f). Se observa la estructura del manto y la red de Hartig (100x) (g). Manto externo (100x) tipo A: Pseudoparenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo B: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 21. Ectomicorriza de *Russula* sp. 1**

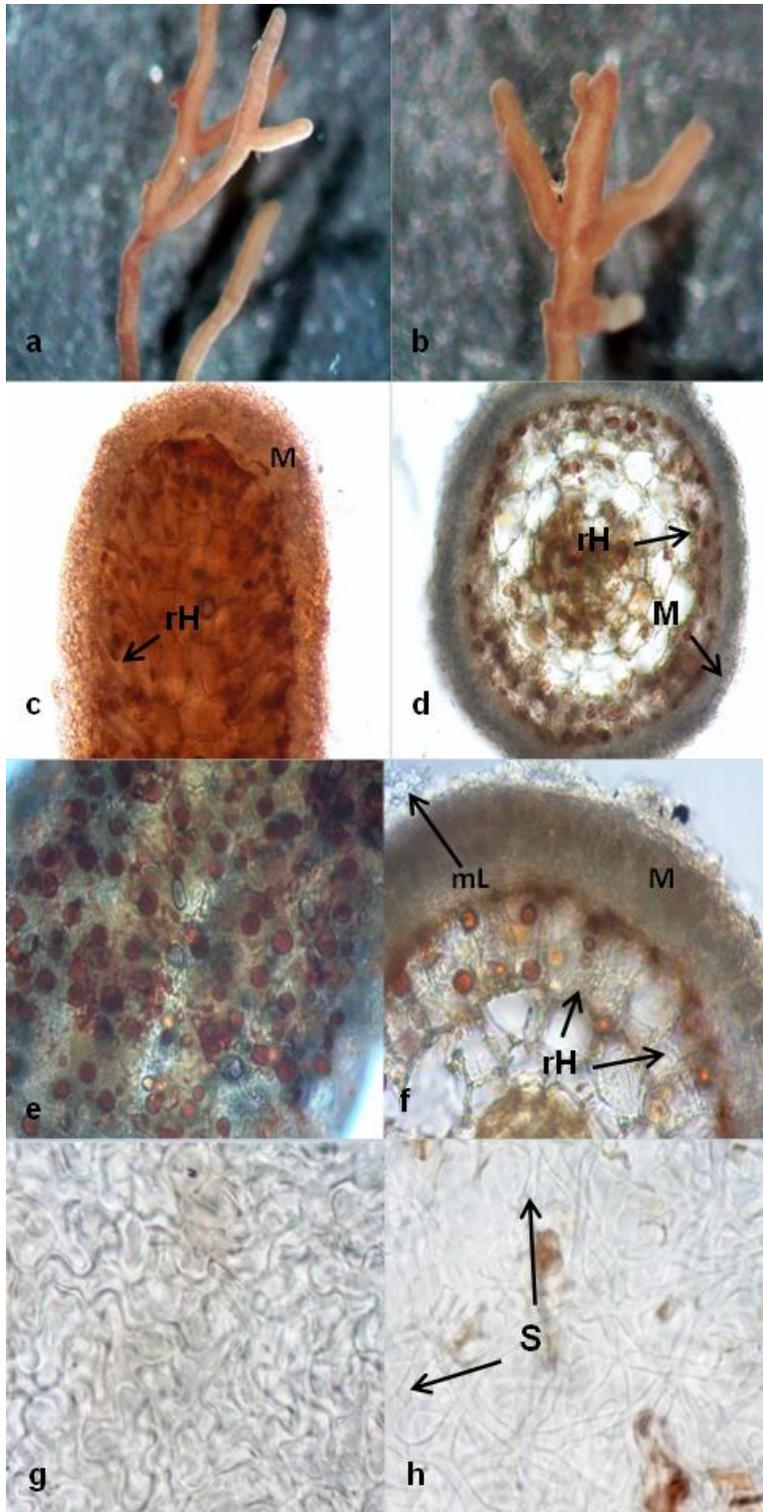
**Hospedero: *Q. glaucoides***

**Secuencia molecular (Anexo IV)**

Sistema micorrízico simple a irregular-pinnada, lisa con ramificaciones rectas a ligeramente dobladas. Eje principal de color amarillo (7.5YR 6/6) a rojo (2.5YR 4/6). Con ramificaciones de color amarillo rojizo (7.5YR 6/6) y amarillo (10YR 8/8), los ápices tuvieron de una tonalidad amarillo rojizo (7.5YR 7/6) a rojo amarillento (5YR 5/8) y rojo oscuro (10R 3/6).

Microscópicamente en el corte transversal se observó manto circular con células redondeadas a ovaladas, con una capa de taninos que abarcó la primera capa de células del manto de tonalidad rojo (10R 4/6) y abundantes estructuras circulares dentro del sistema micorrízico con la misma tonalidad, con diámetros de 3.71-(6.89)-9.77  $\mu\text{m}$ . El manto externo de tipo M: Pseudoparenquimátoso y un manto interior de tipo E: Plectenquimátoso con septos (Figura 25h) (Agerer, 1991).

La red de Hartig incluyó la primera y la segunda capa de células corticales cuya forma va de redonda a ovalada con grosor de manto de 26.38-(33.61)-47.87  $\mu\text{m}$ .



**Figura 25.** Morfotipo 21 (*Russula* sp. 1): (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (20 y 40x). (e) Interior del manto con taninos redondeados (40x). (f) Estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x). (g) Manto exterior (100x) tipo M: Pseudoparenquimátoso (100x). (h) Manto interno tipo E: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 21. Ectomicorriza de *Russula* sp. 2**

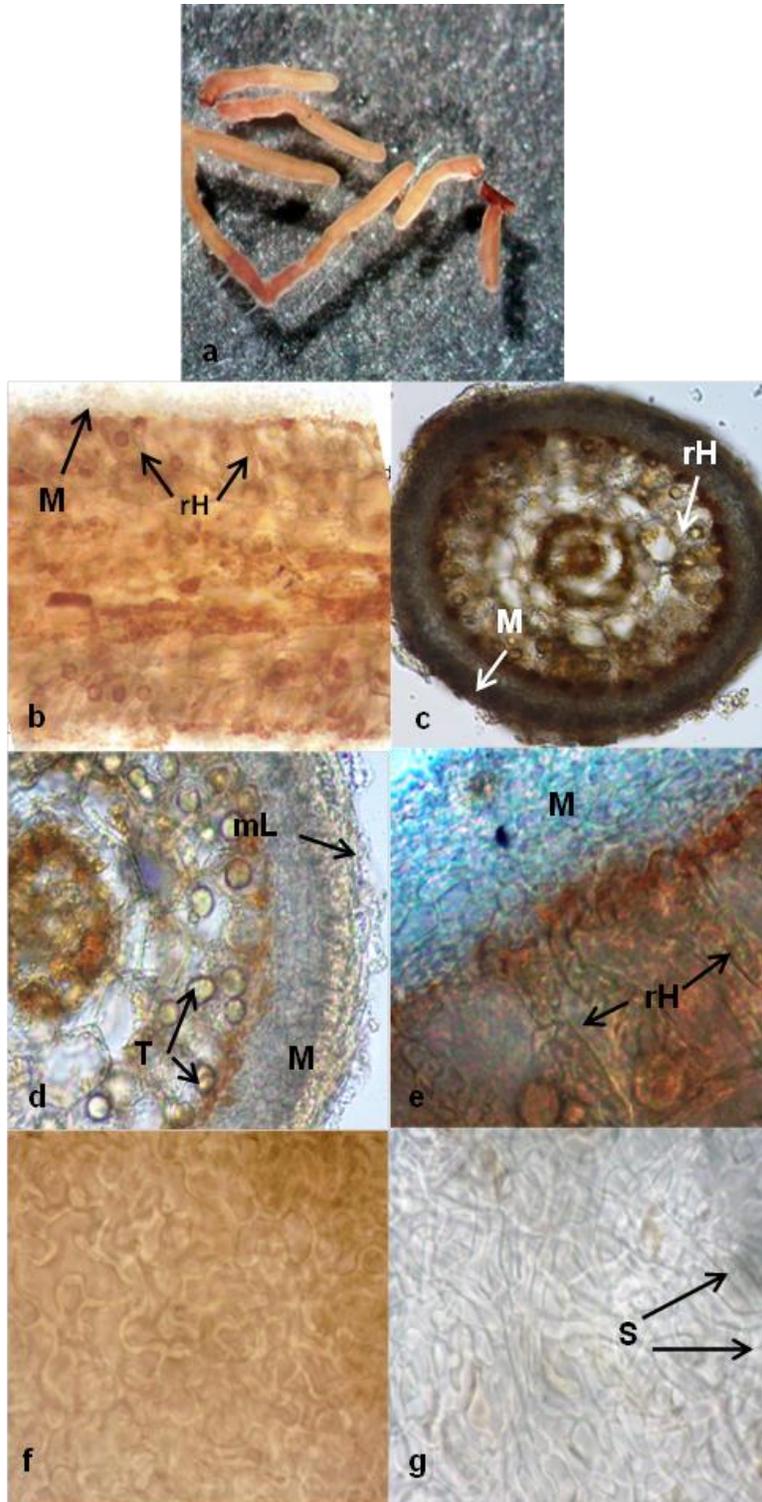
**Hospedero: *Q. glaucoides***

### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Micorrizas de ramificación simple a dicotómica, manto con superficie lisa. Ramificaciones de rectas a dobladas. El eje principal presentó un color rojo pálido (10R 4/4).

Las puntas no ramificadas tomaron un color amarillo rojizo (7.5YR 6/6) a amarillo (10YR 8/8). Los ápices de tonalidad amarillo rojizo (10R 3/6) y rojo pálido (10R 4/4). Se observó un manto externo de tipo M: Pseudoparenquimátoso y un manto interno de tipo B: Plectenquimátoso con septos.

En corte transversal se observó un manto circular con micelio laxo, de hialino a amarillo (2.5Y 8/9) hacia el margen, una capa de taninos rojo pálido (10R 4/4), las células del manto fueron redondeadas a irregular ovaladas con un grosor de 23.45-(34.40)-50.80  $\mu\text{m}$ . El desarrollo de la Red de Hartig abarcó la primera capa de células corticales. Además, se presentaron estructuras circulares amarillo (2.5Y 8/8) y color café rojizo (4/4) con un diámetro de 3.90-(6.60)-7.81  $\mu\text{m}$  (Figura 26).



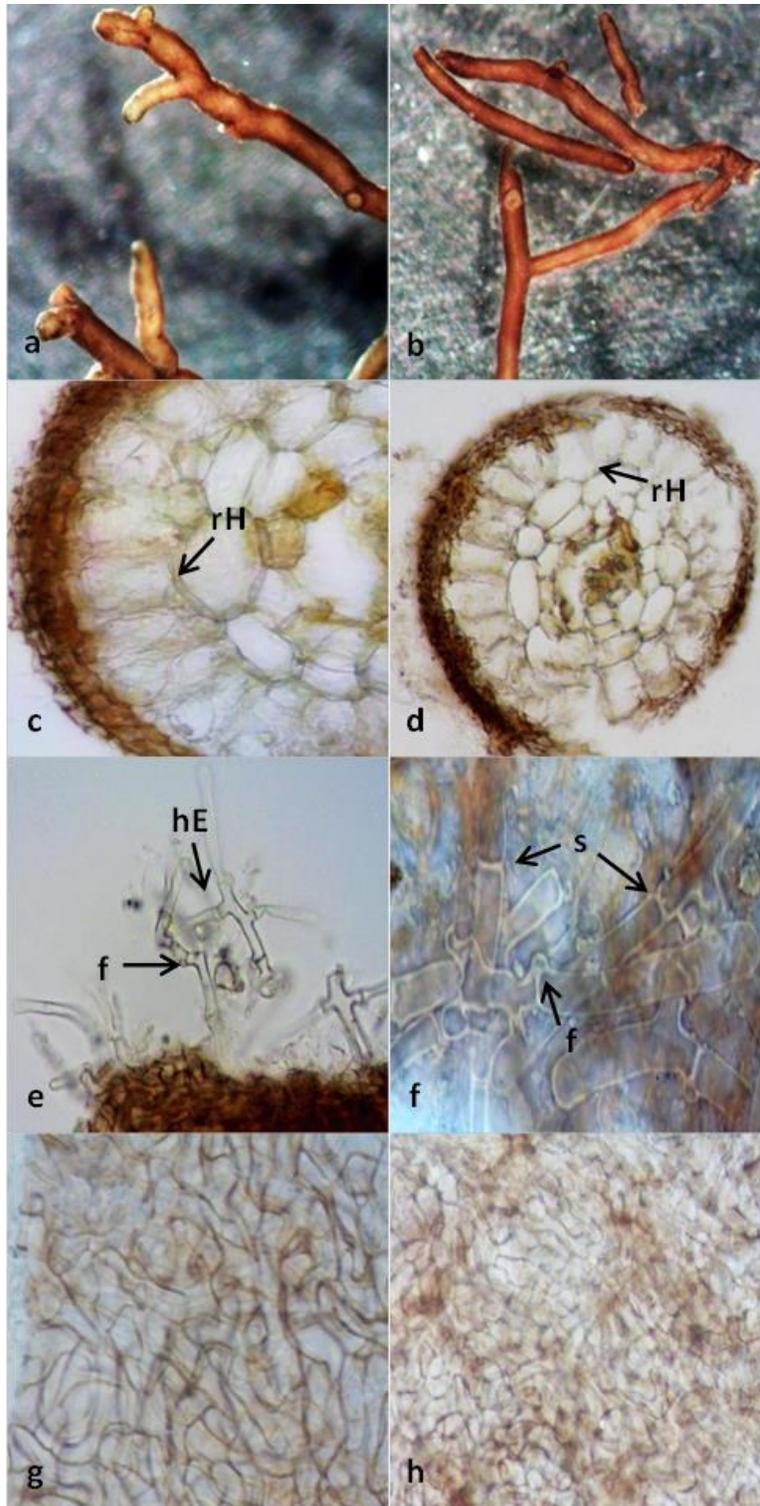
**Figura 26.** Morfotipo 21 (*Russula sp. 2*): (a) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (b y c) Corte transversal y longitudinal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x). (d) Corte longitudinal se observa tonalidad de manto, taninos redondeados y micelio laxo en el margen. (e) Estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x). (f) Manto exterior (100x) tipo M: Pseudoparenquimátoso. (g). Manto interior tipo B: Plectenchimátoso (40x).

## **Morfotipo 22**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Micorriza simple a irregular pinada, con ramificadas rectas a ligeramente dobladas. Eje principal de color rojo oscuro (2.5YR 3/6) a amarillo rojizo (7.5YR 6/8). Las ramificadas de color rojo (2.5YR 4/6) a café rojizo (5YR 4/4). Las raíces jóvenes amarillas (10YR 8/6) y en algunas de amarillo pálido (5Y 4/4) debido a un manto delgado. Los ápices de tonalidad café oscuro (7.5YR 4/4) a amarillo (10YR 7/6 y 10YR 8/6).

El manto externo e interno constituido por tejido de tipo H: Plectenquimátoso con hifas gruesas septadas y fibuladas sobre la superficie del manto con micelio laxo (Figura 27). En corte transversal el manto de un grosor de (7.81)-1.21-(19.54)  $\mu\text{m}$ , conformado por células redondeadas a ovaladas irregular con micelio laxo. La Red de Hartig abarcó de una a dos células corticales de forma redondeada.



**Figura 27.** Morfotipo 22: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (40x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la Red de Hartig (rH) (40x) (e). Hifas emanantes (hE) y fíbulas (f) (40x) (f). Hifas dispuestas en red sobre el manto y con septos (s) y fíbulas (f) (100x) (g y h). Manto externo e interno (100x) tipo H: Plectenquimátoso.

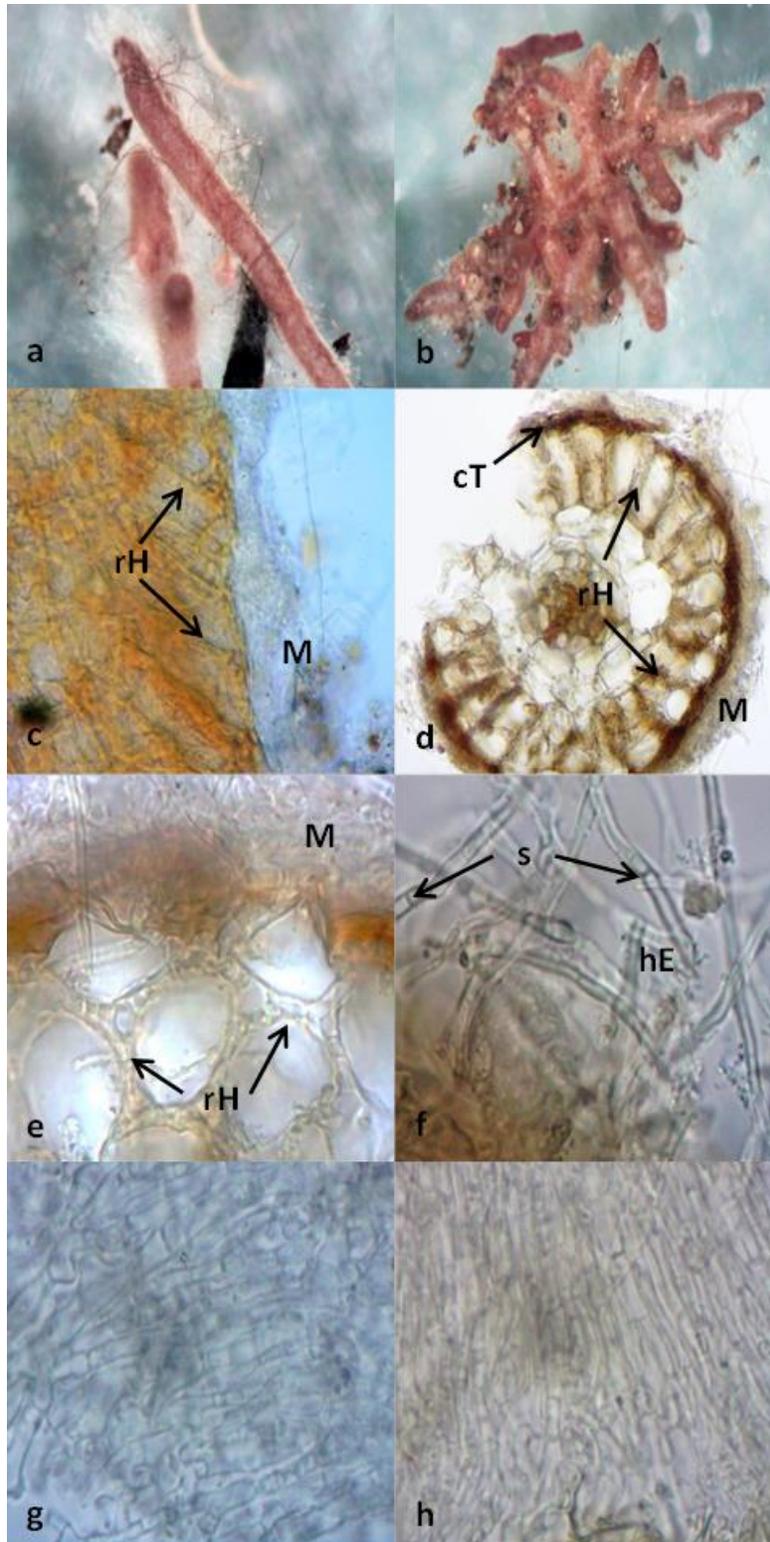
## **Morfotipo 23**

### **Hospederos: *Q. glaucooides* y *Q. potosina***

Sistema micorrízico simple a dicotómico con terminaciones no ramificadas rectas a torcidas con puntas cilíndricas, la superficie del manto fue lisa a lanosa brillante, con micelio blanco (5Y 8/2) en casi todo el sistema y con agregados de suelo.

La micorriza presentó un color rojo claro (10R 6/6) a rojo muy oscuro (10R 2.5/2). El ápice de color rojo débil (10R 4/3) a rojo oscuro (10R 3/3). Presenta rizomorfos tonalidad rojo débil (10R 4/4). Partes envejecidas sin manto el color fue rojo claro (10R 6/6) y negro (10R 2.5/1).

El manto externo e interno fue plectenquimátoso de tipo A. En el caso de las raíces con bastante micelio algodonoso el manto es de tipo C, con presencia de cristales. En corte longitudinal manto plectenquimátoso, la red de Hartig abarcó una capa de célula cortical, por su parte, en corte transversal presentó manto laxo con una matriz gelatinosa de tipo plectenquimátoso con grosor de (21.49)-29.96-(39.08)  $\mu\text{m}$ , un margen irregular con hifas emanantes septadas y una capa de taninos color rojo pálido (10R 4/6), asu vez, estructuras circulares en la parte de las células corticales con una tonalidad ala anterior. La Red de Hartig incluyó de una a dos capas de células corticales redondeadas con una estructura tipo E.



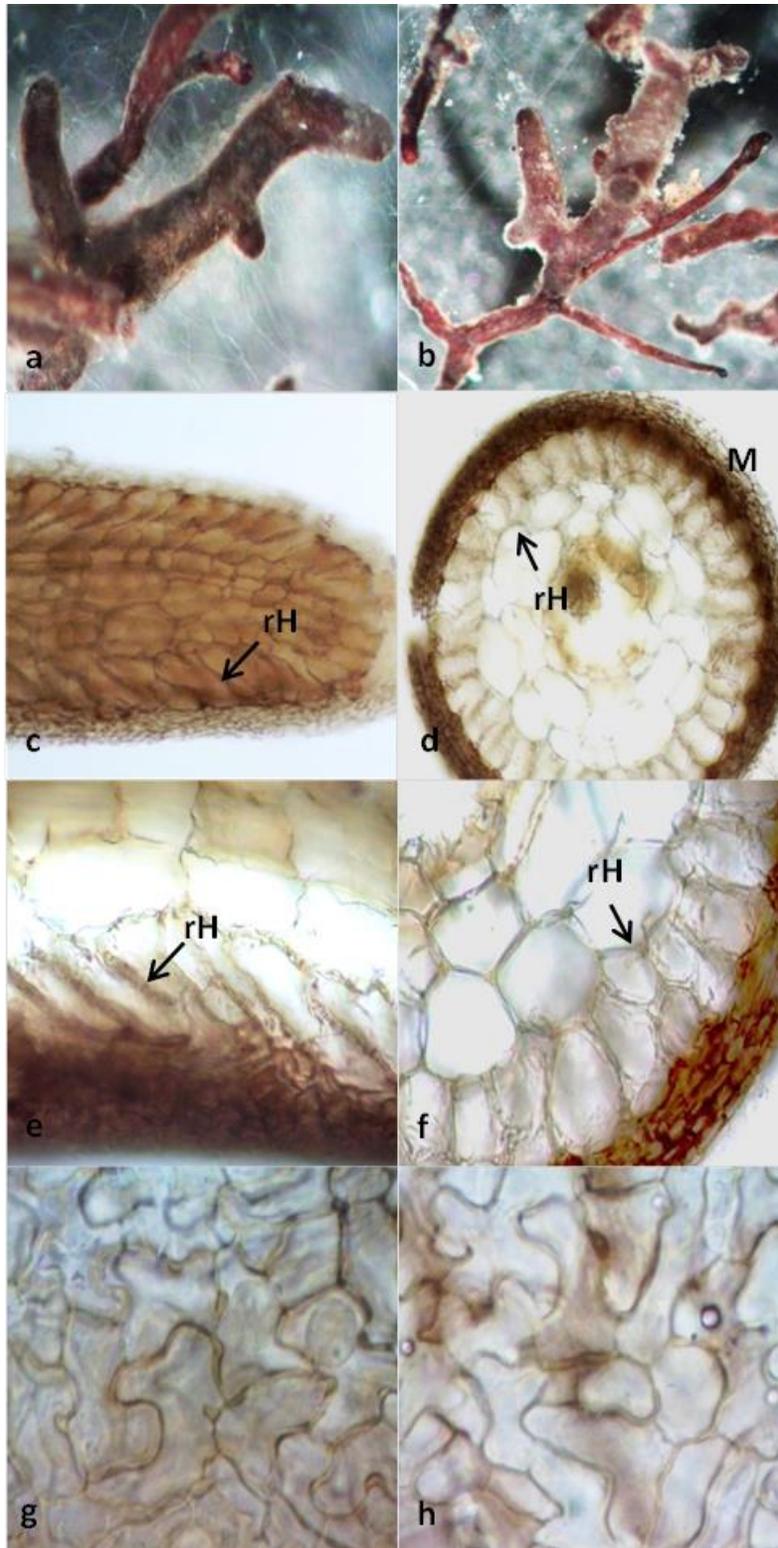
**Figura 28.** Morfotipo 23: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M), la red de Hartig (rH) y una capa de taninos (cT) (40x) (e). Se muestra la estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (100x) (f). Hifas emanantes (hE) hialinas con septo (100x) (g y h). Manto externo e interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 24**

### **Hospederos: *Q. glaucoides* y *Q. potosina***

Micorriza con ramificación simple a dicotómica con terminaciones no ramificadas rectas a sinuosas, superficie del manto lisa a tomentosa, ligeramente brillante con micelio blanco (5Y 8/2). El sistema micorrízico presentó un color rojo oscuro (10R 3/3) a rojo (10R 5/6), algunas ramificaciones con escaso manto de color gris oscuro rojizo (10R 4/1). Las puntas no ramificadas de color rojo oscuro (10R 3/3) a gris oscuro rojizo (10R 4/1). Por su parte las raíces viejas mostraron tonalidades rojo muy oscuro (10R 2.5/2) y rojo (10R 5/8), con agregados de suelo.

En corte longitudinal y transversal el manto presentó un tipo pseudoparenquimático, con el margen liso y con grosor de (15.63)-23.51-(35.17)  $\mu\text{m}$  en corte trasversal, la Red de Hartig incluyó de una a dos células corticales y presentó taninos color rojo oscuro (2.5YR 3/6). Por otro lado, el manto externo e interno fue de tipo H: Plectenquimático (Figura 29).



**Figura 29.** Morfotipo 24: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c). Corte transversal (40x) (d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x) (e y f). Estructura del manto y red de Hartig; Corte transversal y longitudinal respectivamente (100x) (g y h). Manto externo e interno tipo H: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 25. Ectomicorriza de *Inocybe* sp. 1**

**Hospedero: *Q. glaucoides***

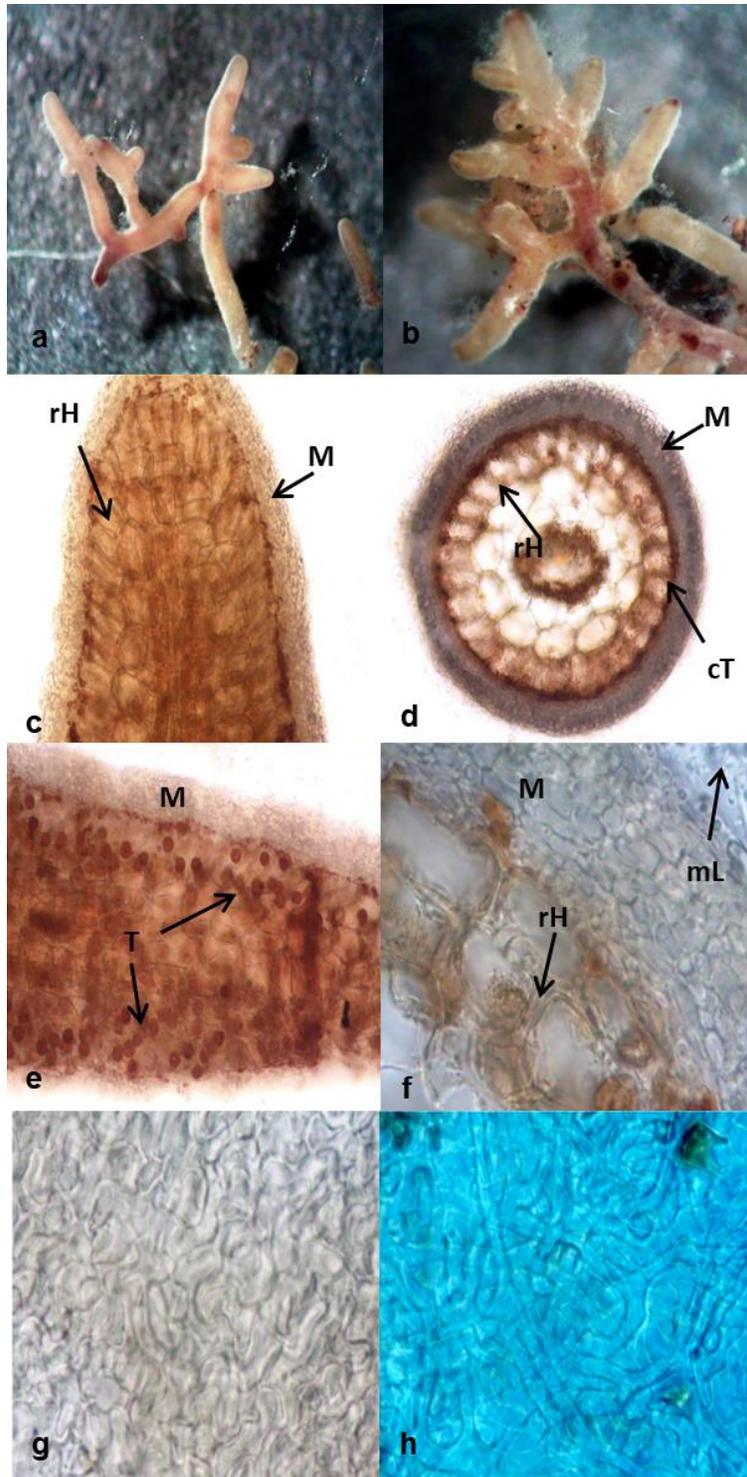
### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Sistema micorrízico simple, dicotómica a monopodial-pinada, con ramificaciones rectas, la superficie del manto fue lisa, con micelio algodonoso blanquecino (5Y 8/2) y, manto en parches color blanco (5Y 8/2). El eje principal de color rojo pálido (10R 4/4) a amarillo (10YR 8/8)

Las terminaciones no ramificadas de amarillo pálido (2.5Y 8/4) a amarillo (10YR 8/8-10YR 8/6), las puntas fueron de color café muy pálido (10YR 7/3) y amarillo pálido (2.5Y 8/4) y en algunas de color café oscuro (10R 3/3).

Microscópicamente se observó un manto exterior de tipo M: Pseudoparenquimátoso con una matriz gelatinosa (Figura 30g), mientras que el manto interno fue de tipo A: Plectenquimátoso con septos (Figura 30h).

En corte longitudinal el manto fue de tipo pseudoparenquimátoso laxo, la red de Hartig abarcó una capa de células corticales. Por su parte, en corte transversal un manto con células redondeadas muy pequeñas a rectangulares con un arreglo irregular y con micelio laxo. Presentó una capa de taninos y taninos con estructuras circulares en abundancia dentro de la raíz de tonalidad rojo débil (10R 4/4) cuyas medidas oscilan entre 1.954 a 6.839  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 30e). El desarrollo de la Red de Hartig abarcó la primera y la segunda capa de células corticales que tuvieron de forma redondeada con un grosor de 25.40-(35.27)-48.85  $\mu\text{m}$  (Figura 30).



**Figura 30.** Morfotipo 25 (*Inocybe* sp. 1): (a y b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte longitudinal y transversal que muestra el manto (M), la red de Hartig (rH) y capa de taninos (cT) (20x). (e) Se muestra el interior del manto que presenta muchos taninos redondeados (40x). (f) Se muestra la estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (100x). (g) Manto exterior de tipo M: Pseudoparenquimátoso. (h) Manto interior tipo A: Plectenquimátoso (100x).

## **Morfotipo 25. Ectomicorriza de *Inocybe* sp. 2**

**Hospedero: *Q. glaucooides***

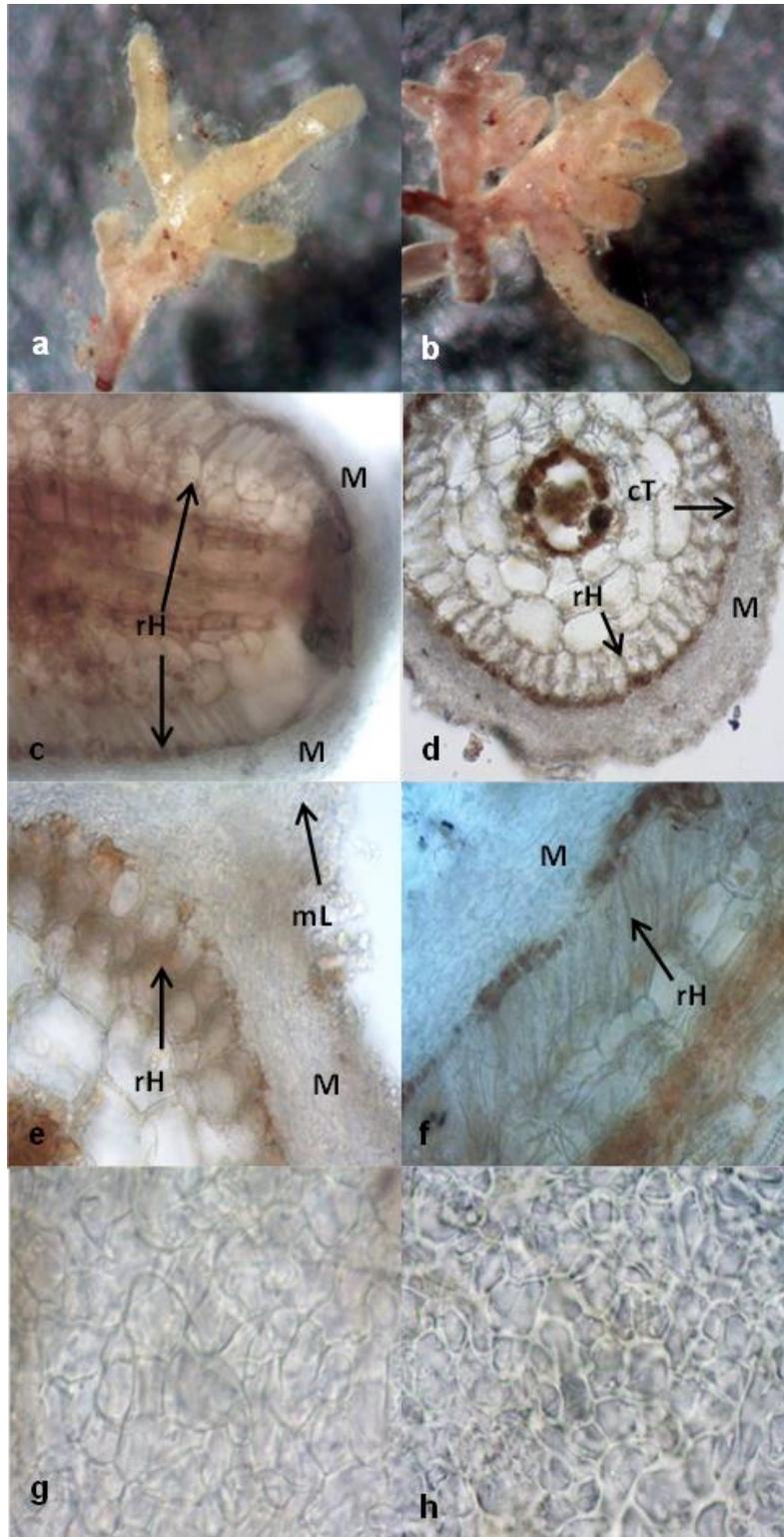
### **Secuencia molecular (Anexo IV)**

Micorriza simple a dicotómica e irregular-pinada con ramificaciones rectas a sinuosas, la superficie del manto de lisa a algodónoso con micelio blanco (5Y 8/2), se observaron una manto denso en parches de color blanco. El eje principal ostentó una coloración de rojo pálido (10R 6/3) a rojo muy pálido (10R 4/4) y, en otros ejes a un color café claro rojizo (5YR 6/3).

Las puntas no ramificadas de un color amarillo pálido (5Y 8/3) a café claro rojizo (5YR 6/3), concoloro con los ápices y, en algunas se pudo observar una tonalidad de café oscuro (10R 3/3).

Se observó un manto externo e interno de tipo L: Pseudoparenquimátoso (Agerer, 2006). En corte longitudinal manto de tipo pseudoparenquimátoso laxo y en corte transversal presentó un manto con margen irregular y micelio laxo, asimismo, asimismo, se observó un manto gelatinoso y cristales rectangulares y de formas irregulares incrustados en ello e, hifas dispuestas en forma de red en la superficie del manto, con un diámetro en promedio de 2.57  $\mu\text{m}$ , presentó una capa de taninos de color rojo oscuro (10R 3/4).

El desarrollo de la Red de Hartig abarcó entre la primera y la segunda capa de células corticales, que fueron de forma redondeada a ovaladas irregular. Con un grosor de 23.45-(48.52)-89.88 (Figura 31).



**Figura 31.** Morfotipo 25 (*Inocybe* sp. 2): (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación). (c y d) Corte transversal y longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x). (e y f) Estructura del manto, la red de Hartig y una capa de taninos café (100x). (g y h) Manto externo y manto interno tipo L: Pseudoparenquimátoso (100x).

## Morfotipo 26

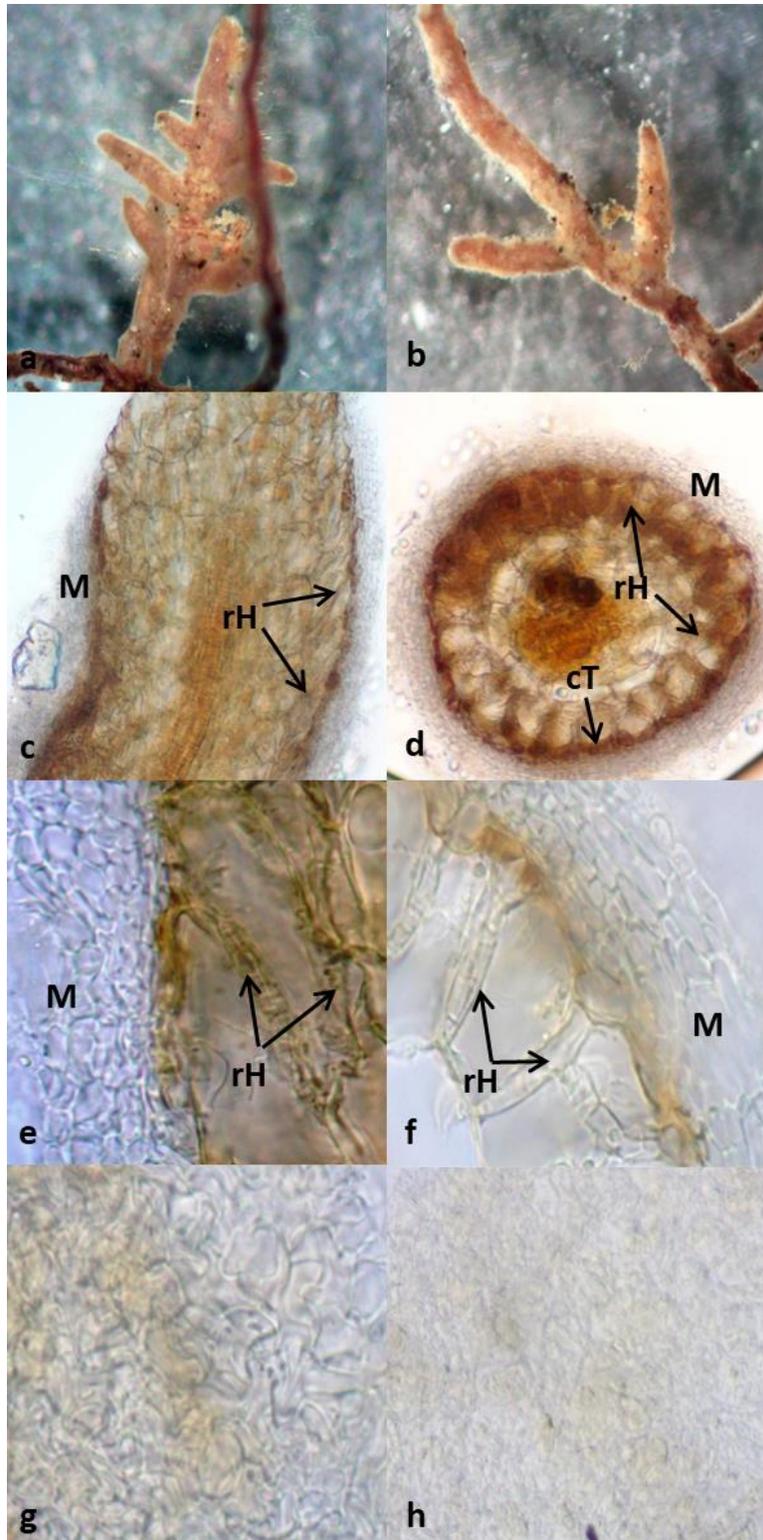
### Hospederos: *Q. glaucooides* y *Q. potosina*

Micorriza con ramificación simple, dicotómica a monopodial-pinada, con terminaciones no ramificadas rectas a sinuosas, superficie del manto lisa a tomentosa con agregados de suelo. El sistema micorrízico de color amarillo (10YR 8/8) con hifas emanantes de color blanco (5Y 8/2).

Algunas terminaciones no ramificadas de color amarillo rojizo (5YR 7/8) con hifas emanantes rojas (2.5YR 4/6). Las micorrizas viejas de tonalidad rojo oscuro (10R 3/6) a rojo (10R 4/6).

En la observación microscópica el manto externo fue plectenquimátoso, sin embargo, las células no se apreciaron bien por la estructura gelatinosa que cubre al manto siendo de tipo H, además de cristales sobre la superficie. En cuanto al manto interno fue plectenquimátoso de tipo C, con un manto gelatinoso (Figura 32).

En corte longitudinal presentó células redondeadas a irregulares tipo pseudoparenquimátoso, la red de Hartig abarcó una capa de células corticales y en corte transversal con células redondeadas a ovaladas irregular tipo pseudoparenquimátoso con una capa de taninos rojo pálido (10R 4/6), la Red de Hartig abarcó la primera capa de células corticales redondeadas a ovaladas con una estructura tipo E. El grosor del manto fue de (37.12)-22.43-(9.77)  $\mu\text{m}$  con un margen irregular, además, de una red de hifas que envuelven la célula cortical (Figura 32)



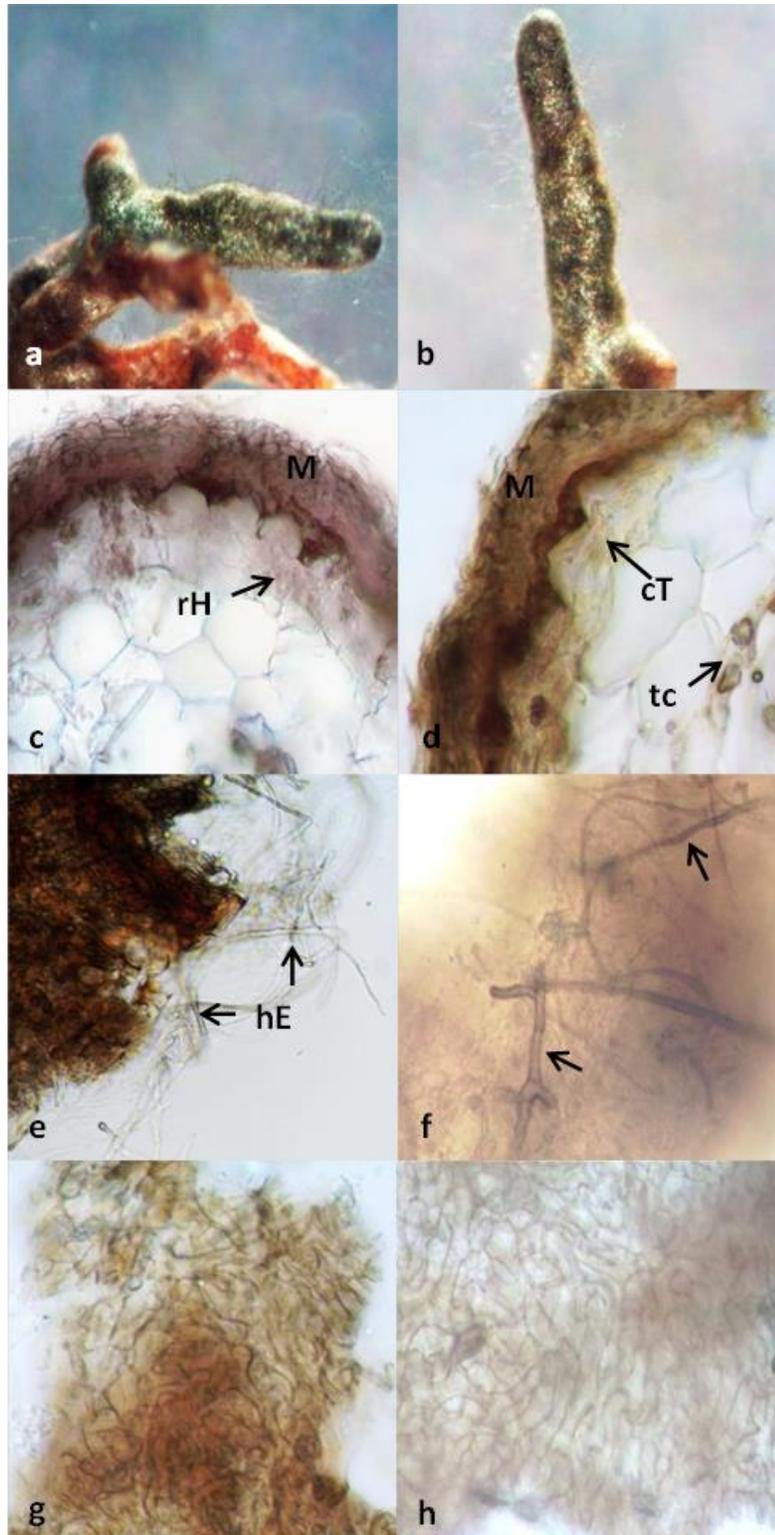
**Figura 32.** Morfotipo 26: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (20x) (e y f). Se muestra la estructura del manto (M) y la red de Hartig (rH) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo H: Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo C: Plectenquimátoso.

## **Morfotipo 27**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Sistema micorrízico simple, liso con terminaciones no ramificadas rectas de ápices circulares. La raíz micorrízica de color negro (10R 2.5/1) cubierta por un manto amarillo brillante (2.5Y 8/6), con hifas emanantes de tonalidad negra y blanquecino (2.5Y 2.5/1), las micorrizas viejas de color rojo oscuro (10R 3/2) a amarillo rojizo (matiz 7.5YR 6/8),

Tanto en manto externo como interno de tipo H: Plectenquimátoso. En corte transversal presentó células redondeadas a ovaladas irregulares tipo pseudoparenquimátoso con micelio laxo, de un grosor de (17.58)-27.20-(39.08)  $\mu\text{m}$ , se presentaron hifas emanantes e hifas gruesas septadas de color marrón oscuro (7.5YR 3/3) sobre la superficie del manto. Además, presentó estructuras circulares de diferentes tamaños en promedio 5.39  $\mu\text{m}$  y una capa de taninos. De color marrón rojizo oscuro (5YR 3/4) (Figura 33)



**Figura 33.** Morfotipo 27: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH), una capa de taninos (cT) y taninos circulares (tc) (40x) (f). Se observan hifas emanantes (hE) (40x) (g). Se observa una red de hifas sobre el manto (40x) (h y i). Manto externo e interno (100x) de tipo H: Plectenquimátoso.

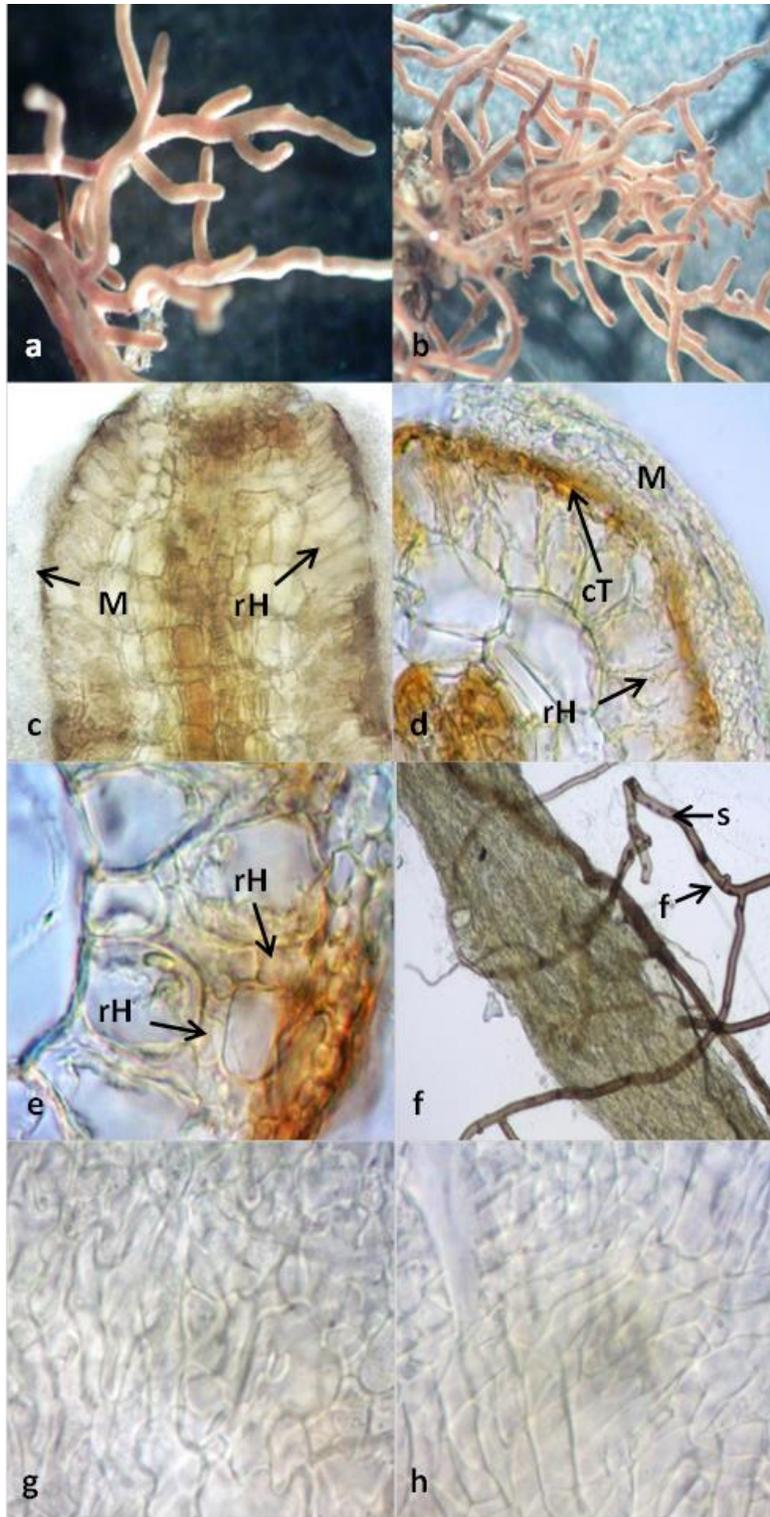
## **Morfotipo 28**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Sistema micorrízico simple a monopodial-pinada o irregular-pinada de color amarillo (10YR 8/8) a amarillo (10YR 7/8) con manto algodonoso blanquecino y agregados de suelo, con terminaciones no ramificadas rectas a sinuosas con la superficie del manto lisa. Los ápices de color amarillo (10YR 8/8 y 10YR 7/8). Presentó hifas emanantes hialinas o cistidios similar a tipo A, solo que en éste caso es globosa en la parte basal. Eje principal longevo de color rojo débil (10R 4/4).

Presentó un manto interno tipo A: Plectenquimátoso y un manto externo tipo H: plectenquimátoso. Presentó rizomorfos tipo B de tonalidad amarilla (5Y 8/3) e hifas robustas de color amarillo rojizo (2.5YR 6/8) septadas y con fíbulas que se enrolla al rizomorfo, además, presentó una capa de micelio gelatinosa con cristales geométricos irregulares.

En corte longitudinal el manto fue de tipo pseudoparenquimátoso laxo con una red de Hartig que abarcó la primera capa de células corticales y en corte transversal el manto se constituyó de células redondeadas a ovaladas irregularmente de tipo pseudoparenquimátoso, hacia el margen plectenquimátoso con un grosor de (23.44)-34.19-(46.89)  $\mu\text{m}$ . La Red de Hartig abarcó dos capas de células corticales con forma redondeada de estructura tipo E y una capa de taninos entre las células (hongo-planta) de rojo oscuro (2.5YR 3/6) (Figura 34).



**Figura 34.** Morfotipo 28: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y longitudinal que muestra el manto (M), la red de Hartig (rH) y una capa de taninos (cT) (40x) (e). Se observa la estructura de la red de Hartig (40x) (f). Rizomorfos tipo B (1991) (r) e hifas gruesas con fibulas (f) y septos (s) (100x) (g). Manto externo (100x) tipo H: Plectenquimátoso. (h). Manto interno (100x) tipo A: Plectenquimátoso.

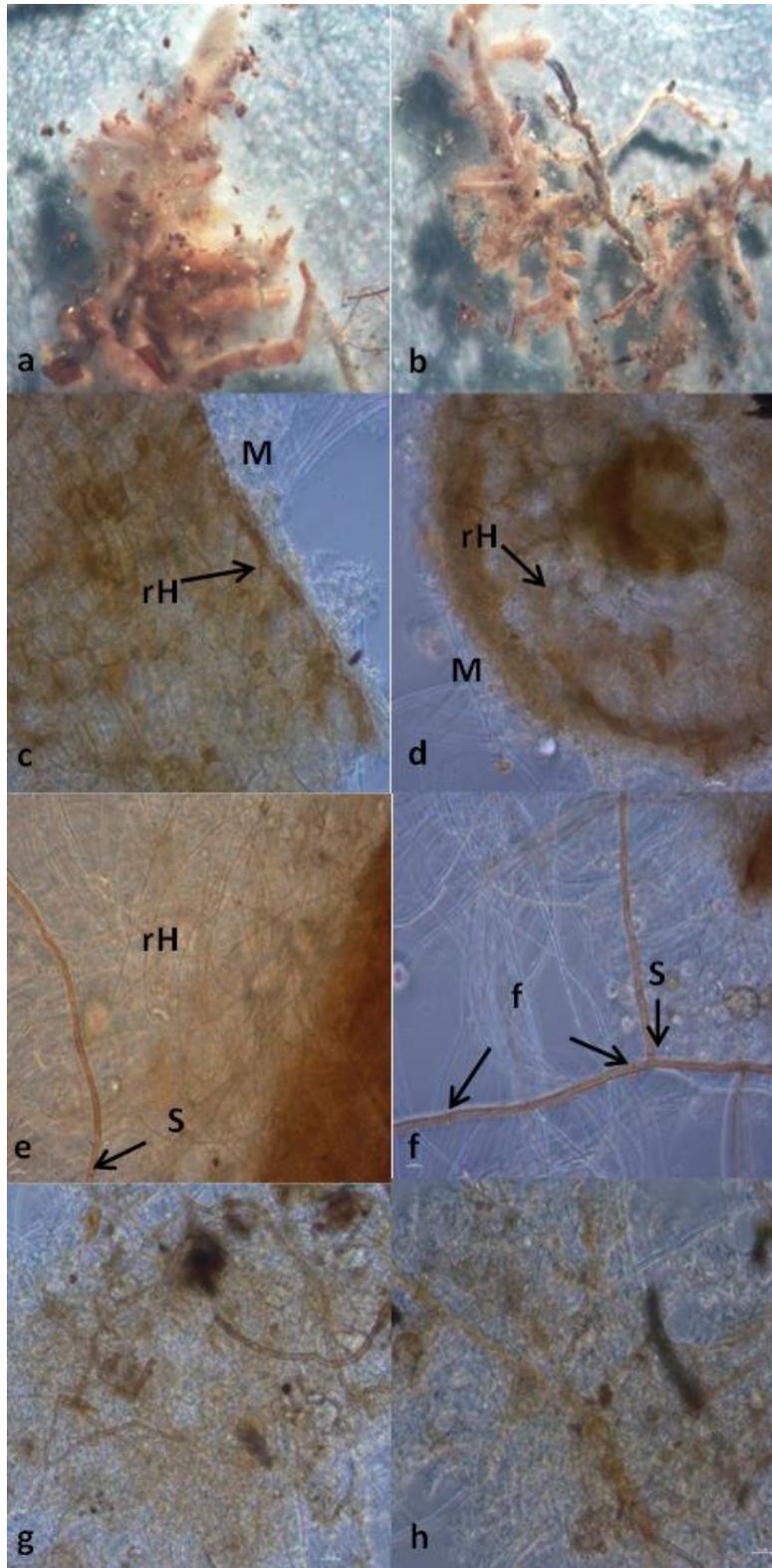
## **Morfotipo 29**

### **Hospedero: *Q. glaucoides***

Sistema micorrízico simple a monopodial-piramidal y coraloide, terminaciones no ramificadas rectas a torcidas con puntas redondeadas, superficie del manto algodónosa con hifas gruesas de coloración rojo (2.5YR 4/8) a amarilla (10YR 7/8), y agregados de suelo, en algunos se observó un manto liso ligeramente brillante.

La micorriza con apariencia lisa de color amarillo rojizo (5YR 6/6). Los apiceas de color rojo oscuro (2.5YR 3/6) a amarillo rojizo (5YR 6/6). Por su parte las micorrizas viejas de color rojo muy oscuro (2.5YR 2.5/3) a negro rojizo (2.5YR 2.5/1).

El manto externo e interno de tipo plectenquimátoso tipo C. En corte longitudinal presentó un manto plectenquimátoso, la red de Hartig abarcó de 1 a 1,5 células con un margen laxo irregular y corte transversal presentó un manto laxo con una matriz gelatinosa, de tipo plectenquimátoso de margen irregular con hifas emanantes hialinas, el grosor del manto fue de (11.59)-21.23-(38.75)  $\mu\text{m}$  de diámetro, la Red de Hartig abarcó dos capas de células corticales redondas a ovaladas con una estructura tipo C (Figura 35).



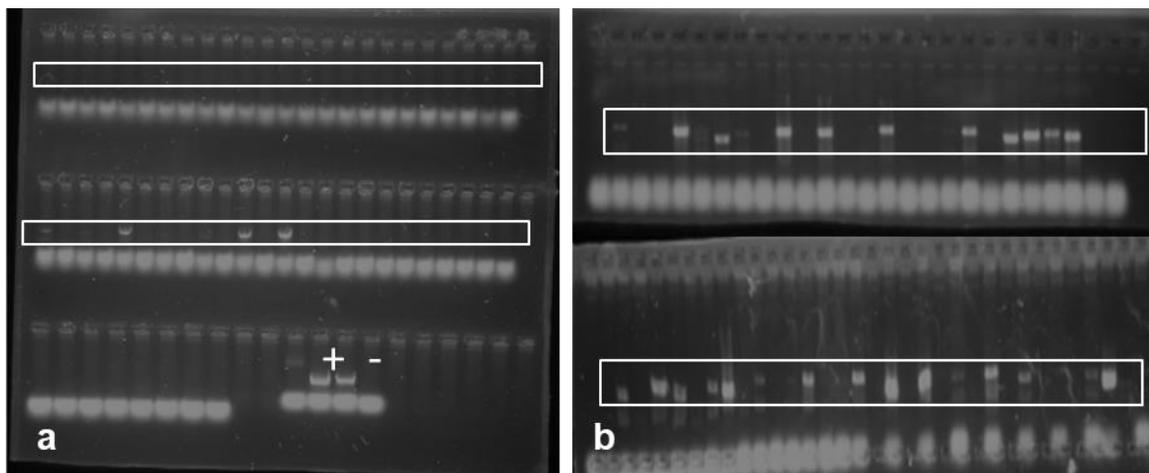
**Figura 35.** Morfotipo 29: (a, b) Ectomicorriza vista en microscopio estereoscópico, se observan las características macroscópicas (color, tipo de manto y ramificación) (c y d). Corte transversal y Corte longitudinal que muestra el manto (M) y la red de Hartig (rH) (40x) (e y f). Se muestra hifas emanantes septadas (40x) (g). Manto externo e interno (40x) tipo C: Plectenquimátoso.

### 7.3 Identificación molecular de los morfotipos de ectomicorriza

Se procesaron un total de 300 puntas micorrizadas que representaron a 29 morfotipos ectomicorrízicos de las dos especies de *Quercus*. La comparación por similitud de secuencias se tomó ejemplares voucher de esporomas (secuencias obtenidas a partir de esporomas) de la base de datos GenBank para, razón por la cual en algunos casos solo se determinó hasta género, presentando un porcentaje menor al 97 de similitud.

De todas las puntas micorrizadas analizadas, en una gran parte de ellas no se logró la extracción adecuada del ADN debido a que en un periodo muy corto de tiempo perdieron la viabilidad y se obtuvieron amplificaciones muy tenues, con más de una banda o ADN muy barrido y sin amplificación alguna (Figura 36a, b).

Se lograron 15 amplificaciones de buena calidad y 9 tenues con de doble banda, esto con un total de 24 muestras que se mandaron secuenciar (Figura 36).



**Figura 36. (a).** Electroforesis en gel de agarosa sólo se observan amplificaciones de los positivos (+). **(b)** Se observan las muestras amplificadas (en cuadro).

Con las secuencias obtenidas, editadas y analizadas por similitud con las bases de datos de GenBank se identificaron 9 especies que pertenecen a 5 géneros de hongos ectomicorrízicos (Anexo III).

**Tabla 2.** Identificación de los taxones fúngicos asociados a las raíces de *Q. glaucooides* y *Q. potosina* por similitud de secuencias en GenBank.

Taxones identificados	Número de acceso GenBank	Coincidencias en NCBI	e	%Id	Referencia
<i>Tomentella</i> aff. <i>stuposa</i> (M3)	JQ888213	<i>Tomentella stuposa</i>	0	95	Pickles <i>et al.</i> (2012)
<i>Tomentella</i> sp. (M4)	AF272926	<i>Tomentella lateritia</i>	0	93	Koljalg <i>et al.</i> (2000)
<i>Tomentella</i> sp. (M12)	AB848668	<i>Tomentella</i> sp. YM1188	0	98	Miyamoto <i>et al.</i> (2014)
<i>Russula</i> sp. (21)	DQ974756	<i>Russula tenuiceps</i>	0	94	Smith <i>et al.</i> (2007)
<i>Russula</i> sp. (21)	DQ974756	<i>Russula tenuiceps</i>	0	94	Smith <i>et al.</i> (2007)
<i>Sebacina epigaea</i> (M13)	JQ665492	<i>Sebacina epigaea</i>	0	97	Riess <i>et al.</i> (2013)
<i>Tuber castilloi</i> (M14)	NR_119865	<i>Tuber castilloi</i>	0	97	Bonito <i>et al.</i> (2010)
<i>Inocybe</i> sp. (M25)	AM882976	<i>Inocybe</i> aff. <i>grammata</i>	0	92	Ryberg <i>et al.</i> (2008)
<i>Inocybe</i> sp. (M25)	AM882976	<i>Inocybe</i> aff. <i>grammata</i>	0	92	Ryberg <i>et al.</i> (2008)

Núm. acceso GenBank: número de acceso de las secuencias similares en GenBank; e: indica la probabilidad de error en la identificación; % Id: porcentaje de similitud nucleotídica entre las secuencias.

#### 7.4 Comparación de géneros de morfotipos ectomicorrízicos identificados con los esporomas reportados en el sitio de estudio

En este trabajo, a partir de puntas micorrizadas de HECM, se reportan los géneros de *Tomentella* y *Sebacina* (identificados mediante análisis molecular) y *Cenococcum* (identificado mediante caracteres morfológicos), sin embargo, éstos no habían sido reportados previamente por Campos-López (2015) que identificó a las especies de esporomas de la misma zona de estudio mediante caracteres morfológicos. En cambio, los géneros *Inocybe* y *Russula* también obtenidos a partir de puntas micorrizadas (identificados mediante análisis molecular) también los identificó Campos-López (2015) por caracteres morfológicos de esporomas asociados a *Quercus*. En resumen, de los 15 géneros de HECM que reporta Campos-López (2015) a partir de esporomas, en el presente estudio sólo dos géneros (*Inocybe* y *Russula*) fueron también reportados, y tres géneros (*Tomentella*, *Sebacina* y *Cenococcum*) fueron nuevos reportes.

## 7.5 Análisis de datos de los morfotipos ectomicorrízicos

### 7.5.1 Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos

Aunque la curva de acumulación de especies de los morfotipos ectomicorrízicos no fue asintótica y la curva estimada a través de Chao 1 se presentó por encima de la curva trazada con los valores observados (Figuras 38 y 39), el porcentaje de eficiencia obtenido fue alto ya que en *Q. glaucooides* fue del 83.97 % y en *Q. potosina* del 95.04 % como se puede observar en la tabla 3.

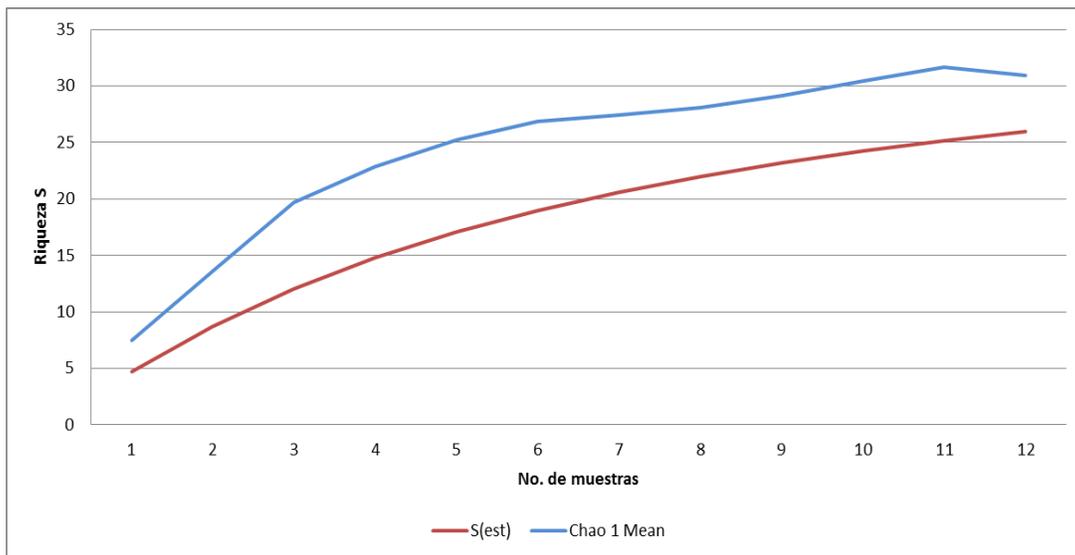


Figura 38. Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos de *Q. glaucooides*

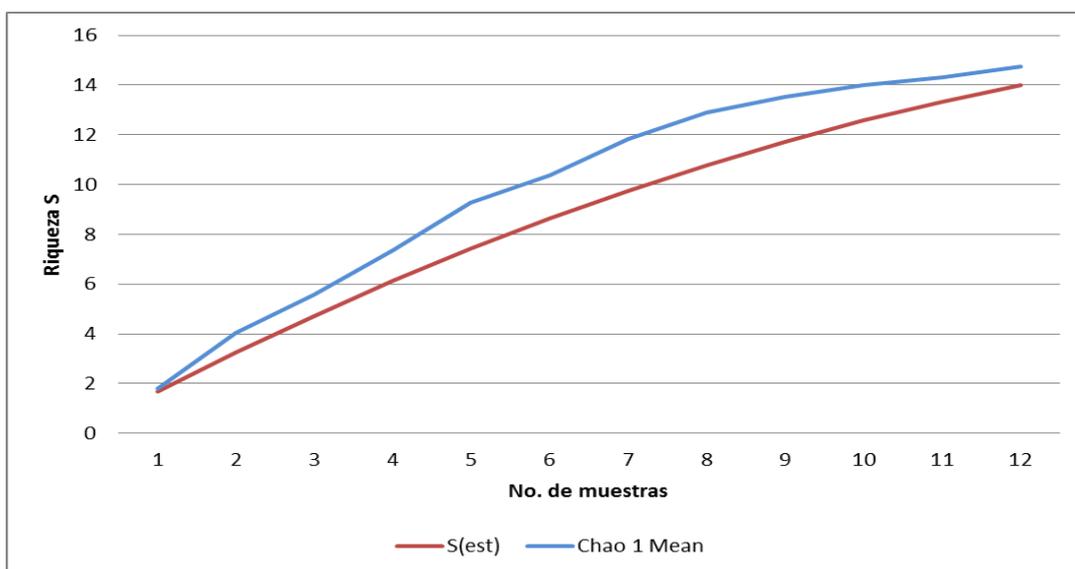


Figura 39. Curva de acumulación de morfotipos ectomicorrízicos de *Q. potosina*

**Tabla 3.** Riqueza de morfotipos de HECM estimada y nivel de intervalo para *Q. glaucooides* y *Q. potosina*

	<i>Q. glaucooides</i>	<i>Q. potosina</i>
<b>Sobs</b>	<b>26</b>	<b>14</b>
<b>Chao 1 (Sest)</b>	<b>30.96</b>	<b>14.73</b>
<b>Nivel de intervalo o eficiencia del muestreo (%)</b>	<b>83.97</b>	<b>95.04</b>
Sobs: (Riqueza observada), Sest: (Riqueza estimada)		

#### 7.4.2 Riqueza y diversidad alfa

Los datos de abundancia para los morfotipos ectomicorrízicos recolectados de las dos especies de *Quercus* spp. se muestran en la tabla 4, se observó que en *Q. glaucooides* se presentó una mayor riqueza con 26 morfotipos ectomicorrízicos, mientras que en *Q. potosina* sólo se reconocieron 14 morfotipos.

El índice de dominancia de morfotipos ectomicorrízicos muestra que fue baja, con valor más bajo en *Q. glaucooides* (0.05) y para *Q. potosina* fue 0.11 (Tabla 5).

En cuando a la diversidad calculada por el índice de diversidad de Shannon-Wiener, ambos especies de árboles presentaron un valor muy alto *Q. glaucooides* (3.03) y *Q. potosina* (2.43) (Tabla 1). Al comparar la diversidad de morfotipos ectomicorrízicos asociados con las especies de *Quercus* spp. mediante la prueba estadística de T de Hutchenson ( $t= 1.671$ ) se obtuvo que la diversidad de *Q. glaucooides* es mayor a *Q. potosina* ( $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 4.** Abundancia de los morfotipos ectomicorrízicos de *Q. glaucooides* y de *Q. potosina*

Morfotipo	<i>Q. glaucooides</i>	<i>Q. potosina</i>
1	2	2
2	1	0
3	8	0
4	7	0
5	5	0
6	1	0
7	3	3
8	14	3
9	3	5
10	1	0
11	8	1

12	5	1
13	4	0
14	5	1
15	4	0
16	5	0
17	12	7
18	0	6
19	0	2
20	0	6
21	5	0
22	1	0
23	2	4
24	7	1
25	5	0
26	6	2
27	1	0
28	3	0
29	7	0
Total	125	44

**Tabla 5.** Diversidad alfa de los morfotipos ectomicorrízicos

	Riqueza (S)	Simpson ( $\lambda$ )	Shannon (H)
<i>Q. glaucooides</i>	26	0.05	3.03
<i>Q. potosina</i>	14	0.11	2.43

Valor de diversidad alfa de Shannon Wiener: 0-1, muy baja; >1-1.8, baja; >1.8-2.1, media;>2.1-2.3, alta;>2.3, muy alta.

## VIII. DISCUSIÓN

### 8.1 Diversidad morfológica de ectomicorrizas

En el presente trabajo se encontró una gran diversidad de morfotipos, 29 entre las dos especies de *Quercus*, 15 exclusivos para *Q. glaucooides*, tres para *Q. potosina* y 11 presentes en ambas especies. Algunos morfotipos comparten similitudes macroscópicas con los reportados por autores como He *et al.* (2007), Morris *et al.* (2008b), Leski *et al.* (2010). Otros autores como Morris *et al.* (2008a) quienes trabajaron con la diversidad de HECM en *Quercus* no presentan información de las características morfológicas, realizaron sólo el análisis molecular, por ello la comparación morfológica se hizo con respecto a las imágenes que presentan

dichos autores. No obstante, es de gran importancia realizar la caracterización morfológica de las ectomicorrizas ya que al complementar ambos tipos de análisis (molecular y morfológico) permitirá tener mejor conocimiento de las especies de HECM asociadas a sus hospederos (Galindo-Flores *et al.*, 2015).

Un atributo importante como la tonalidad del sistema micorrízicos, no implica que las especies de HECM asociadas a encinos sea la misma en todos los casos, como lo han citado Gomes-Luna *et al.* (2012) y Baeza-Guzmán *et al.* (2017). Este tipo de característica se pudo observar en este trabajo ya que los sistemas micorrízicos poseen tonalidades muy similares, sin embargo, con base en los análisis moleculares se determinó que los diversos morfotipos de HECM son diferentes especies fúngicas (Morfotipo 14 con un color rojo pálido 10R 4/4 y los morfotipos 3, 4 12 de *Tomentella* con un color café rojizo 2.5YR 4/4 - café fuerte 4.5YR 5/6). Por lo tanto, las características morfológicas podría depender más del hospedero y/o de las condiciones ambientales (Galindo-Flores *et al.*, 2015).

Con respecto a la variabilidad morfológica, Claveria y De Miguel (2005) describieron cuatro morfotipos ectomicorrízicos del género *Tuber* y *Genea* asociados a *Q. ilex* L. Por otra parte, He *et al.* (2007) describieron cinco morfotipos asociados a *Q. douglasii*, *Q. garryana* y *Q. agrifolia*, en tanto que Leski *et al.* (2010) reportaron 23 morfotipos para *Q. petraea* y *Q. robur*; Trocha *et al.* (2011) describieron 31 morfotipos de los cuales 25 se asociaron con *Q. rubra* y *Q. robur* L.; asimismo, Lancellotti y Franceschini (2013) reportaron 51 morfotipos en *Q. suber*. Con respecto a lo anterior la diversidad de morfotipos en éste estudio fue un poco más alto con los reportados por dichos autores a excepción de Franceschini (2013) que reportó un mayor el número de morfotipos. Cabe mencionar que la diversidad de especies de HECM puede estar relacionada con la composición vegetal y de los factores del suelo (Kernaghan *et al.*, 2003).

En el trabajo de Campos-López, (2015) se reportó una gran diversidad de especies de encinos (ocho especies) para el mismo sitio de estudio, este es un aspecto importante para la diversidad de morfotipos ectomicorrízicos asociados a

dicho hospedero (Kernaghan *et al.*, 2005) y la diversidad de HECM favorece el establecimiento y abundancia de plántulas del hospedero, demostrado una relación positiva entre la diversidad de especies vegetales y de hongos ECM (Kernaghan *et al.*, 2003). Esto demuestra la importancia de la simbiosis micorrízica en la estructura y el buen funcionamiento de los ecosistemas vegetales. Además, Campos-López (2015), reportó un total de 31 especies de esporomas de HECM (en el mismo sitio de estudio) y menciona que la diversidad de esporomas de HECM se encontró estrechamente relacionada con la diversidad de especies del género *Quercus*, coincidiendo con lo que reportan Kernaghan, (2005), Buée *et al.* (2011) y Tedersoo *et al.* (2014) en ecosistemas forestales. Probablemente, esta relación encontrada (diversidad de hospederos y especies de esporomas) sea similar a lo hallado en el presente estudio, aunque se hizo con morfotipos ectomicorrízicos, es decir, esperaríamos encontrar una gran diversidad de morfotipos ectomicorrízicos.

Lo anterior lo observamos con la alta diversidad de morfoespecies asociada a *Q. glaucooides* y *Q. potosina*. Aunque las especies muestreadas de *Quercus* solo fueron 2, además, cada punta de raíz individual puede estar micorrizada por más de un simbionte fúngico (Morris *et al.*, 2008b), inclusive se conoce que 15 a 20 especies de hongos ectomicorrízicos pueden colonizar un árbol adulto, como resultado de la estructura del bosque y elementos que influyen en la producción del esporoma y de la micorriza (Morris *et al.*, 2008b, García-Guzmán, 2015). García-Guzmán (2014) menciona que los bosques de encino estudiados que poseen una alta diversidad de especies de *Quercus* podrían promover el mantenimiento de la diversidad ectomicorrízica. Aunado a lo anterior, se pudo observar en éste trabajo la colonización de dos especies fúngicas en un mismo sistema micorrízico (morfotipo 5), además, el número de morfotipos encontrados en para el caso de *Q. glaucooides* fue de 18 y 7 para *Q. potosina*.

## **8.2 Características morfológicas y molecular de las ectomicorrizas encontradas en las raíces de *Q. glaucoides* y de *Q. potosina***

La utilización de métodos moleculares como el análisis de secuencias de ADN, han sido empleados en la determinación de especies fúngicas asociadas a diversos elementos arbóreos, los criterios morfológicos siguen siendo una parte importantes y esencial en el estudio de estos organismos, ya que en conjunto proporcionan información precisa en los estudios taxonómicos (Jakucs et al., 2005a), razón por la cual la caracterización morfológica de las ectomicorrizas es de gran importancia considerarla. A pesar de los avances tecnológicos en el presente estudio no se llegó a identificar molecularmente a las especies representadas por los diferentes morfotipos ectomicorrízicos asociadas a sus hospederos.

Por lo anterior la descripción de la estructura del sistema ectomicorrízico proporciona rasgos valiosos en la identificación del micobionte ectomicorrízico. En el presente trabajo no se pudieron identificar 22 morfotipos ectomicorrízicos con métodos moleculares, sin embargo, ciertas características fueron similares con las nueve muestras identificadas a través de la técnica de PCR.

### **Morfología de la ectomicorriza en el género *Tomentella* sp.**

Estos géneros se han reportado asociadas con otras especies de *Quercus*, sin embargo, las características morfológicas son diferentes, aunque algunos caracteres tienden a ser específicos para ciertas especies (Claveria y De Miguel, 2005). Siendo características comunes del género *Tomentella* la tonalidad marrón, marro oscuro y en algunos casos a negro, con rizomorfos, en la presencia o ausencia de fíbulas y cistidios (Jakucs et al., 2005a., Agerer, 2006., Salgado-Salomón, 2017), la aparición de grupos de células globulares en la superficie del manto (Jakucs y Eros-Honti, 2008) y mantos externos pseudoparenquimátosos con células angulares a epidermoides ( Salgado-Salomón, 2017). Las características mencionadas anteriormente fueron similares con algunas encontradas en *Tomentella* aff. *stuposa* (M3), *Tomentella* sp1 (M4) y *Tomentella*

sp2 (M12), en cambio, los tipos o la clasificación de los caracteres son diferentes (Tabla 6), esto influenciado una parte por la especie hospedera asociada (Brundrett, 2004), sin embargo, esta variabilidad fenotípica resulta importante para entender la expresión de los caracteres morfológicos de una especie ectomicorrízica presente en otros hospederos.

En éste trabajo como se mencionó anteriormente no se identificaron todos los morfotipos molecularmente, por lo tanto, se comparó entre los géneros identificados con los morfotipos restantes y de las características reportadas de otras especies de árboles.

El morfotipo 11 (M11) presentó las características generales del género *Toментella*, en cambio con las identificadas en éste trabajos el M11 con cistidios (tipo G) y de rizomorfos (tipo A) fueron distintos a las *Toментellas* M3, M4 y M12, Agerer y Rambold (2004-2019) mencionan para *Quercus* sp. rizomorfos de tipo A asociado con *T. galzinii* Bourdot y cistidios de tipo A siendo ésta diferente al M11, en cambio el M12 coincide con el tipo cistidios (Tabla 6), por su parte Jakucs *et al.* (2005a) describieron a *T. stuposа* (Link) Stalpers asociado con *Populus alba* L. características similares con el M11, en la coloración, la presencia de células globosas sobre la superficie del manto, en el manto exterior de tipo K: Pseudoparenquimátoso con un manto interno plectenquimátoso, pero se diferencia en sus rizomorfos de tipo A y en la ausencia de fíbulas en las hifas emanantes. Por lo tanto el M11 con sus características lo colocan dentro de este género.

Para el caso del M3 identificado como *T. aff. stuposа* solo comparten similitudes en la tonalidad y en los mantos externos pseudoparenquimáticos e internos plectenquimatosos, de tipo estructural diferente, de esta manera M3 pertenece a una especie diferente a *T. stuposа*, además el M3 no presentó rizomorfo lo cual en la mayoría de éste género lo presentan ya sea de tipo A, C o B. Agerer (2006) mencina que *T. ferruginea* (Pers.) Pat., *T. pilosa* (Burt) Bourdot & Galzin y *T. substentacea* los rizomorfos de tipo teleforoide son propios de estas especies,

comparando con otras especies de *Tomentella* en otros hospederos sólo presentan similitudes con algunos caracteres. Al igual que con M4 y M12 sólo comparten ciertas similitudes con las especies citadas (Tabla 6). Moser *et al.* (2009) reportaron para *Tomentella* sp. asociado con *Q. garryana* características similares en coloración y ramificación con las *Tomentellas* descritas en éste estudio, en cambio existe una mayor similitud con el M11 tanto en coloración, en la ramificaciones del sistema y en el tipo de manto externo e interno de tipo K: Pseudoparenquimátoso y tipo A/E: Plectenquimátoso respectivamente.

**Tabla 6.** Características generales de *Tomentella* spp.

CARACTERÍSTICAS GENERALES								
	Tipos de ramificación	Terminación no ramificada	Color	Manto	Hifas emanantes	Fibulas	Rizomorfos	Cistidios
<i>Tomentella</i> aff. <i>stuposa</i> (M3) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple a monopodial pinada	Rectas a ligeramente sinuosas	Rojo a café rojizo y rojo muy oscuro	Liso a ligeramente aterciopelado, manto externo pseudoparenquimátoso tipo L, manto interno plectenquimátoso tipo B	Hialinas septadas	P	A	Tipo B
<i>Tomentella</i> sp. 1 (M4) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple a irregular pinada	Rectas a ligeramente torcidas	Café fuerte a rojo pálido Y rojo muy oscuro	Liso a ligeramente aterciopelado pseudoparenquimátoso tipo L, manto interno plectenquimátoso tipo A	Café septadas	P	Tipo B	A
<i>Tomentella</i> sp. 2 (M12) + <i>Quercus glaucooides</i> y <i>Q. potosina</i>	Simple	Rectas	Amarillo a rojo oscuro	Liso pseudoparenquimátoso tipo Q, manto interno plectenquimátoso tipo B	A	A	A	Tipo A
<i>Tomentella galzinni</i> + <i>Quercus</i> (Jakucs <i>et al.</i> , 1997)	Monopodial-pinada monopodial-piramidal	Rectas	Marrón Amarillo a verde	Brillosos-espinoso pseudoparenquimátoso (tipo L)	Ondulado	p	Tipo A	Tipo A
<i>Tomentella stuposa</i> + <i>Picea</i> (Agerer <i>et al.</i> , 2002., Jakucs <i>et al.</i> , 2005)	Monopodial pinada o monopodial piramidal	Rectas, torcidas y sinuosas	Marrón oscuro a marrón, negro (adultas)	Pseudoparenquimátoso tipo K, manto interno plectenquimátoso con arreglo de las hifas en forma de estrella	Rectas a ligeramente ondulado	P	Tipo A o Tipo B	A
<i>Tomentella albomarginata</i> + <i>Pinus</i> (Agerer, 1996)	Dicotómica	Rectas a tortuosas	Negro marrón oscuro a azul-gris (muertas)	Brillosos-tomentoso pseudoparenquimátoso (tipo P)	Ligeramente torcidas	P	Tipo A	A

<b><i>Tomentella brunneorufa + Eucalyptus</i></b> (Agerer y Bougher, 2001)	Monopodial pinnada	Rectas	Ocre, marrón amarillento, blanquecino (puntas)	Brillante o liso plectenquimátoso tipo A y B manto Interno plectenquimátoso	Ondulado	P	Tipo C	A
<b><i>Tomentella ferruginea + Fagus</i></b> (Raild y Müller, (996)	Simple monopodial pinada o monopodial piramidal	Rectas	Negro a marrón obscuro	Plectenquimátoso tipo B manto interno pseudoparenquimátoso	Ligeramente torcidas	P	Tipo C	A
<b><i>Tomentella pilosa + Populus</i></b> (Jakucs y Agerer, 1999)	Monopodial pinada o monopodial piramidal	Rectas	Ocre, marrón amarillento, a marrón obscuro (adultas)	Pseudoparenquimátoso tipo P, manto interno plectenquimátoso	Rectas	P	Tipo C	Tipo N
<b><i>Tomentella subtestacea + Populus</i></b> (Jakucs y Agerer, 2001)	Monopodial pinada o monopodial piramidal	Rectas	Ocre, marrón amarillento, a marrón (adultas)	Pseudoparenquimátoso tipo P, manto interno plectenquimátoso	Rectas	P	Tipo C	Tipo A a Tipo N

### Morfología de la ectomicorriza en el género *Inocybe* sp.

En el caso del género *Inocybe*, una micorriza de color blanco a amarillo con manto plectenquimátoso (He *et al.*, 2007) a pardusco con manto gelatinoso e hifrófilico, una manto de tipo A, B y algunos de tipo C: Plectenquimátoso, sin rizomorfos siendo de tipo de exploración corta, hifas emanantes con septos, con fíbulas, y la ausencia de cistidios son características morfológicas más comunes de éste género (Agerer, 1991, 2006). Sin embargo, se han descrito especies con manto plectenquimátoso de tipo E tanto externo e interno (Agerer y Rambold (2004–2019) (Tabla 7). Con las especies identificadas en éste trabajo *Inocybe* sp. 1 e *Inocybe* sp. 2 del morfotipo 21 coincide con las características principales mencionadas a diferencia de los mantos fueron distintos, se presentó un manto externo pseudoparenquimátoso de tipo Q y L con un manto interno plectenquimátoso, asimismo, se observó una capa de tanino y estructuras circulares en abundancia que pueden ser tanino (Figura 25 y Figura 26).

Las características descritas por Moser *et al.* (2009) para *Inocybe* sp. en *Q. garryana* fueron similares con *Inocybe* sp.1 y sp. 2 con un sistema micorrízico de color blanco a amarillo pálido, una ramificación monopodial-pinnada y monopodial-

piramidal, con hifas blanquecinas y puntas redondeadas, en cambio, el tipo de manto es diferente, Moser *et al.* (2009) menciona un manto interno similar al tipo E y manto externo de tipo A ambos plectenquimátosos. Para *Inocybe* sp1 presentó un manto externo tipo M: Pseudoparenquimátoso y un manto interno de tipo A: Plectenquimátoso, por su parte *Inocybe* sp2 con un manto externo e interno de tipo L: pseudoparenquimátoso. Las diferencias entre estructuras del manto repercuten por la especie hospedera, inclusive existen cambios del manto en el mismo hospedero como en éste caso, que por otro lado también pudiera influir la etapa de desarrollo de la micorriza, como se observó con *Tomentella* sp. 3 en la presencia de cistidios.

**Tabla 7.** Características generales de *Inocybe* spp.

CARACTERÍSTICAS GENERALES								
	Tipos de ramificación	Terminación no ramificada	Color	Manto	Hifas	Fíbulas	Rizomorfo	Cistidios
<i>Inocybe</i> sp. 1 (M25) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple, dicotómica a monopodial-pinada e irregular-pinada	Rectas	Amarillo pálido, Amarillo	Liso a ligeramente laxo Plectenquimátoso	S	A	A	A
<i>Inocybe</i> sp. 2 (M25) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple, dicotómica e irregular-pinada	Rectas a ligeramente torcidas	Amarillo pálido, Café claro rojizo a Rojo pálido y café claro rojizo	Liso a algodonoso Plectenquimátoso	S	A	A	A
<i>Inocybe appendiculata</i> + <i>Picea</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial-pinada monopodial-piramidal	Rectas torcidas	Blanco Marrón a rojo (micorriza adultas)	Plateado, tomentoso gelatinoso Plectenquimátoso (tipo B y E)	Emanantes abundantes	P	A	-
<i>Inocybe obscurabadia</i> + <i>Picea</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial-pinada monopodial-piramidal	Rectas, torcidas	Marrón o blanco a Marrón oscuro (micorriza adultas)	Ligeramente algodonoso Plectenquimátoso (tipo A y con hifas tipo B y E)	-	P	P	A
<i>Inocybe petiginosa</i> <i>Picea</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial pinada	Ondulado, sinuoso y tortuoso	Blanco a Marrón	Manto externo Plectenquimátoso tipo E, manto interno Plectenquimátoso	Emanantes abundante	P	A	A

<i>Inocybe terrigena</i> + <i>Pinus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Dicotómica a coraloide	Rectas, torcidas	Amarillo o naranja	Ligeramente Algodonoso a denso algodonoso Plectenquimátoso (tipo C) Gelatinosa	-	P	A	-
<i>Inocybe fuscomarginata</i> + <i>Salix</i> , <i>Populus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial- pinada	Rectas, torcidas	Amarillo a blanco	Plectenquimátoso (tipo C) Gelatinosa	Cortas y obtusas	P	A	-
<i>Inocybe lacera</i> <i>Betula</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodial pinada	Restas, sinuosas	Marrón, ocre, marrón amarillento, amarillo	Manto externo Plectenquimátoso tipo B, manto interno Plectenquimátoso	onduladas	P	Tipo G	A
<i>Inocybe petiginosa</i> <i>Pseudotsuga</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial pinada	Ondulado, sinuoso y tortuoso	Blanco a Marrón	Manto externo Plectenquimátoso tipo E, manto interno Plectenquimátoso	Emanantes abundante	P	A	A

### Morfología de la ectomicorriza en el género *Russula* sp.

Se han registrado caracteres para el género *Russula* con mantos externos de tipo A, P, K, D: característico de *R. atroglauca* Eihell., H: de *R. xerampelina* (Schaeff.) Fr., tipo O en *R. ochroleuca* Pers. y Q: en *R. lepida* Fr. (Agerer, 2006), asimismo, un manto de tipo N en especies de *R. laricina* Velen. y *R. atropurpurea* Peck, esta última también presenta un manto externo de tipo K, en el caso de este trabajo se presentó un manto de tipo M lo cual no coinciden con ninguno con los descritos por Agerer (2006) y Agerer y Rambold (2004–2019) en cambio comparten similitudes con manto interno plectenquimátoso, en cuanto a las tonalidades las *Russulas* asociadas a *Quercus* presentan coloraciones pardusco, ocre y un marrón amarillento (Agerer y Rambold, 2004–2019) y al estar asociados con géneros de hospederos diferentes la tonalidad cambia de amarillo naranja a marrón rojizo en *Pinus*, a blanco, marrón verdoso, ocre, marrón amarillento, etc., con más similitud a las *Russulas* identificadas en este estudio (Tabla 8). Otra de las principales características de este género es la presencia de cistidios llamados *Russuloides* (Tipo D) en un manto plectenquimátoso y en mantos pseudoparenquimátoso hay una ausencia de cistidios, además, en este tipo manto previenen la formación de rizomorfos o al menos no rizomorfos diferenciados (Tipo

A), como en el caso de *R. ilota* Romagn. y *R. mairei* Singer en *Fagus* (Agerer, 2006) rizomorfos de tipo A y B en *R. ochroleuca* y *R. xerampelina* en *Picea* respectivamente, en especies de *Quercus* rizomorfos de tipo E y F (Tabla 8) (Agerer y Rambold, 2004–2019). Para el caso de *Russula* sp1 y sp2 (Morfortipo 21) no se presentaron cistidios y rizomorfos, ambos tienen un manto pseudoparenquimátoso (Tabla 8). Otra de las características importantes de *Russula* sp1 y sp2. es la presencia de estructuras circulares (taninos) de color rojizos que con respecto a especies asociadas a *Quercus* no presentaron esta característica, por su parte *R. xerampelina*, *R. ochroleuca*, *R. acrifolia* Romagn. en *Picea*, *R. firmula* Jul. Schäff. en *Pinus* y *R. laricina* en *Larix* presentaron células taniníferas.

Por su parte Morris *et al.* (2008b) no describieron las características morfológicas de estas especies, sólo presentan imágenes que corresponden a dos especies de *Russula* sp., la primera presentó una coloración amarillo ligeramente olivo, con hifas emergentes y escaso micelio blanco, sistema micorrízico simple con fragmentos de suelo adheridos y las terminaciones no ramificadas rectas. La segunda ectomicorriza de color naranja de tipo coraloide, lisa con escaso micelio en la superficie de tono blanco, presenta también fragmentos de suelo adheridos a ésta. En cuanto a la tonalidad naranja es similar con la encontrada en el presente estudio, sin embargo, la ectomicorriza fue lisa totalmente (Figura 33-34). Moser *et al.* (2009) describieron a *Russula* sp. con un color marrón a marrón claro, con cistidios tipo D, manto interno pseudoparenquimátoso tipo M y un manto externo Plectenquimátoso tipo A, no coinciden con las características de las especies de *Russula* sp. 1 y sp. 2 (M21).

**Tabla 8.** Características generales de *Russula* spp.

CARACTERÍSTICAS GENERALES								
	Tipos de ramificación	Terminación no ramificada	Color	Manto	Hifas	Fibulas	Rizomorfo	Cistidios
<i>Russula sp. 1</i> (M21) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple a irregular-pinada	Rectas a ligeramente torcidas	Amarillo Rojizo, Amarillo a Rojo	Liso Pseudoparenquimátoso tipo: M Plectenquimátoso	lisas	A	A	A
<i>Russula sp. 2</i> (M21) + <i>Quercus glaucooides</i>	Simple a dicotómica	Rectas a ligeramente torcidas	Amarillo Rojizo, Amarillo a Rojo pálido	Liso Pseudoparenquimátoso tipo: M Plectenquimátoso	Lisas Septadas	A	A	A
<i>Russula amoena</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	Rectas, doblado y sinuoso (ligeramente)	Pardusco, ocre, marrón amarillento	Manto externo: Plectenquimátoso tipo D. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	Tipo E Pardusco, marrón amarillento	Tipo A
<i>Russula amoenolens</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	Rectas a ligeramente sinuosas	Pardusco, ocre, marrón amarillento	Manto externo: Plectenquimátoso tipo D. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	Tipo F Pardusco, marrón amarillento	Tipo D
<i>Russula atropurpurea</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	-	Pardusco, ocre, marrón amarillento, algunos mas claro	Manto externo: Plectenquimátoso tipo K o N. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	-	-
<i>Russula faustiana</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	Rectas a ligeramente sinuosas	Pardusco, ocre, marrón amarillento y claro	Manto externo: Plectenquimátoso tipo D. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	Tipo E Pardusco, marrón amarillento	Tipo D o Tipo C
<i>Russula heterophylla</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	-	Pardusco, ocre, marrón amarillento v claro	Manto externo: Plectenquimátoso tipo D. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	Tipo F Pardusco, marrón amarillento	Tipo D o Tipo A
<i>Russula insignis</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple a monopodia l pinada	-	Pardusco, ocre, marrón amarillento y marron claro	Manto externo: Plectenquimátoso tipo D. Manto interno: plectenquimátoso	-	A	A	Tipo D o Tipo A y B

<b><i>Russula xerampelina</i></b> + <i>Picea</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodi al-pinada	Rectas a torcidas	Marrón a Marrón oscuro raíces adultas	Brillante Tipo H: plectenquimátoso	-	A	Tipo E: indiferenciados con hifas gruesas.	Tipo D: forma de frasco
<b><i>Russula firmula</i></b> + <i>Pinus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Dicotómica	Rectas torcidas	Amarillo o naranja Puntas amarillentas y Marrón a rojo (micorriza adulta)	Lisa Pseudoparenquimátoso (tipo N y tipo P). Manto interno Plectenquimátoso tipo G.	-	A	A	A
<b><i>Russula mairei</i></b> + <i>Fagus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodi al-pinada a monopodia l piramidal	Rectas a torcidas	Ocre a marrón amarillento Blanco color de puntas	Verrugoso o granulado Pseudoparenquimátoso (tipo N) y manto interno Plectenquimátoso	-	A	Tipo A: indiferenciados	Tipo G: globular
<b><i>Russula firmula</i></b> + <i>Larix</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodi al-pinada	Rectas a sinuosas	Marrón o naranja y Gris (micorriza adultas)	Tomentosa Pseudoparenquimátoso o y Plectenquimátoso	-	A	A	A

### Morfología de la ectomicorriza en el género *Tuber* sp.

Una de las características principales de *Tuber* es la presencia de cistidios en forma de agujas (Tipo A), carecen de rizomorfos y fíbulas (Agerer, 2006). Agerer y Rambold (2004-2019) describieron especies micorrízicos de *Tuber* asociados a *Quercus* con ramificaciones simples a monopodial piramidal y monopodial pinada, tonalidades ocre, marrón amarillento y marrón oscuro, los tipos de manto externo van de tipo N, L y M con manto interno plectenquimátoso o pseudoparenquimátoso. Dichas características fueron similares con la especie identificada como *Tuber castilloi* Guevara, Bonito & Trappe (M14) (Tabla 9).

Por su parte He et al. (2007) mencionan un morfotipo café-amarillento con gránulos amarillentos sobre la superficie, micelio emanante, terminaciones no ramificadas rectas, refiriendo como una característica que presentan *Pezizales* incluyendo a *Tuber* sp. Moser et al. (2009), describe a dos especies de *Tuber* (*T. candidum* Harkn. y *T. whetstonense* J.L. Frank, D. Southworth & Trappe) asociadas a *Q. garryana* con una tonalidad café anaranjado, hacia las puntas más

pálidas, con una ramificación monopodial pinnada a piramidal, terminaciones no ramificadas tortuosas a onduladas y lisas, el manto interno fue plectenquimático a pseudoparenquimático el manto externo, con presencia de cistidios en *T. whetstonense*. Asimismo, las especies identificadas por Claveria y de Miguel (2005) para las especies de *T. borchii* Vittad. y *Tuber* sp. Inclusive en especies de *Pinus* las características son similares, presentan los tipos de mantos mencionados al principio y el tipo de cistidio con la ausencia de rizomorfos (Agerer y Rambold, 2004-2019). Por lo que las especies de *Tuber* siempre presentaran los caracteres particulares del género. Sin embargo, en especies de *Fagus* las tonalidades de la micorriza varia de un color anaranjado claro a blanquecino en las puntas en otros caso con una tonalidad amarillo pálido o un color olivo (Piestras *et al.*, 2013).

**Tabla 9.** Características generales de *Tuber* spp.

CARACTERÍSTICAS GENERALES								
	Tipos de ramificación	Terminación no ramificada	Color	Manto	Hifas	Fibulas	Rizomorfo	Cistidios
<i>Tuber castilloi</i> (M14) + <i>Quercus glaucooides</i> Q. <i>potosina</i>	Simple a monopodia l pinada	Rectas	Rijo débil a rojo Ápice: café oscuro a café fuerte	Liso Pseudoparenquimátoso tipo N. Manto interno Plectenquimátoso tipo H.	Lisas	P	A	Hialinos Tipo A: forma de agujas
<i>Tuber aestivum</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple, Monopodial-pinada a monopodia l piramidal	Rectas	Ocre a marrón amarillento, puntas blanquecinas	Densamente espinoso Pseudoparenquimátoso (tipo L)	Septadas ásperas	A	A	Tipo A: forma de agujas
<i>Tuber borchii</i> Vitt. + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial-pinada a monopodia l piramidal	Rectas a torcidas, constreñido	Ocre a marrón amarillento Blanco color de puntas	Plectenquimátoso y Pseudoparenquimátoso (tipo M)	Septadas ásperas	A	A	Tipo A: forma de agujas
<i>Tuber indicum</i> + <i>Quercus</i> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Monopodial-pinada	Rectas	Marrón a Marrón oscura raíces adultas	Espinoso Pseudoparenquimátoso (tipo L y M)	Septadas, Poco frecuente	A	A	Tipo A: forma de agujas

<b><i>Tuber brumale</i> + <i>Quercus</i></b> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple Monopodi al-pinada a monopodia l piramidal	Rectas a torcidas	Marrón oscuro, marrón, a marrón amarillento	Pseudoparenquimátoso tipo M. Manto interno Pseudoparenquimátoso	-	A	A	Tipo A: forma de agujas
<b><i>Tuber macrosporium</i> + <i>Quercus</i></b> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple Monopodi al-pinada monopodia l piramidal	Rectas a constreñido en parte	Ocre a marrón amarillento. Blanco color de puntas	Pseudoparenquimátoso tipo M. Manto interno Pseudoparenquimátoso	Septada	A	A	Tipo A: forma de agujas
<b><i>Tuber magnatum</i> + <i>Quercus</i></b> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple Monopodi al-pinada monopodia l piramidal	Rectas	Marrón, Ocre a marrón amarillento y Blanco en las puntas	Espinoso (espínulas). Pseudoparenquimátoso tipo M	Ondulad o con septo	A	A	Tipo A: forma de agujas
<b><i>Tuber melanosporum</i> + <i>Quercus</i></b> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple Monopodi al-pinada monopodia l piramidal	-	Marrón, Ocre a marrón amarillento, blancuzco en las puntas	Manto externo: Plectenquimátoso tipo M. Manto interno: Pseudoparenquimátoso	-	A	A	Tipo A: forma de agujas
<b><i>Tuber mesentericum</i> + <i>Quercus</i></b> (Agerer y Rambold, 2004–2019)	Simple Monopodi al-pinada monopodia l piramidal	-	Marrón, Ocre a marrón amarillento	Pseudoparenquimátos Tipo L. Manto interno: Pseudoparenquimátoso	-	A	A	Tipo A: forma de agujas
<b><i>Tuber borchii</i> + <i>Quercus</i></b> (Clavería y De Miguel, 2005)	Monopodi al-pinada monopodia l piramidal	Curvadas y espinosas	Ápice: Marrón claro. partes adultas marrón oscuro	Pseudoparenquimátos o tipo M. Manto interno Plectenquimátoso a Pseudoparenquimátoso	Curvada s con ramifica ción en Y, septada s	A	A	Tipo A: forma de agujas, hialinas.
<b><i>Tuber sp.</i> + <i>Quercus</i></b> (Clavería y De Miguel, 2005)	Monopodi al-pinada A irregularm ente- pinada	Rectas a ligeramente curvadas	Marrón (juveniles) y marrón oscuro a negro (adultas)	Lisas a ligeramente lanosas. Pseudoparenquimátoso tipo M. Manto interno Plectenquimátoso a pseudoparenquimátoso	A	A	A	Tipo A: forma de agujas, hialinas.

### Morfología de la ectomicorriza en el género *Sebacina* sp.

El género *Sebacina* presenta un manto pseudoparenquimático, con ausencia de rizomorfos, hifas emanantes sin fíbulas y liso, el sistema micorrízico de tonalidad parduzco (Agerer, 2006). Sin embargo, la tonalidad cambia de acuerdo al tipo de hospedero asociado, que en algunos casos tienden a ser similares es los

diferentes especies de árboles como lo reportan Garibay-Orijel *et al.* (2013) mencionan coloraciones grisáceas y café oscuro a negro en *Sebacinas* sp. asociado a *Pinus montezumae*, con micelio emanante negro. Por su parte Baeza-Guzmán *et al.* (2017) en micorrizas de *Pinus hartwegii* la especie micorrízica *S. vermifera* fue de color de café claro a café oscuro, hasta blancuzco en las puntas. Kühdorf *et al.* (2014) reportan tonalidades amarillas, amarillo pálido y blancuzco en especies identificadas como *Sebacina* sp. asociadas a *Comarostaphylis arbutoides* Lindl. y a *Quercus costaricensis* Liebm. Agerer y Rambold (2004–2019) citan para *S. incrustans* (Pers.) Tul. & C. Tul. asociado a *Picea* sp las coloraciones amarillo crema pálido o ligeramente amarillo y blancuzco. Presentan un manto externo plectenquimátoso de tipo E o C con un manto interno pseudoparenquimátoso de tipo M o H (Tabla 10). Moser *et al.* (2009) en la descripción morfológica de la ectomicorrízica asociada a *Q. garryana*, reportaron para *Sebacina* sp. tonalidad amarillo-blanquecino a gris-canela, ramificaciones monopodial pinada, tortuosas a dobladas, rugosa, con un manto externo plectenquimátoso e interno pseudoparenquimátoso. Dichas características fueron similares con *S. epigaea* (M13) (Berk. & Broome) Neuhoff aquellas asociadas a las especies de *Quercus* con las tonalidades amarillo, amarillo pálido y con las puntas blanquecinas, con respecto al manto los tipos de estructura no coincidieron para este estudio presentó un manto externo pseudoparenquimátoso tipo Q con un manto interno plectenquimátoso tipo L, con respecto a las especies de los autores citados mencionan un manto externo plectenquimátoso y un manto interno pseudoparenquimátoso, además, *S. epigaea* (M13) presentó una red de hifas sobre la superficie del manto con pocos septos.

Asimismo. *Sebacina epigaea* (M13) presentó características similares con el morfotipo 10 en cuando a la superficie lisa, en la coloración amarillo pálido, blanco rosado y en algunas puntas de color blanco, en ambos morfotipos hubo presencia de cristales e hifas gruesas sobre la superficie del manto, para el M10 se observaron fíbulas con una escasa presencia de red de hifas gruesas en comparación con *Sebacina epigaea* (M13) en donde fueron abundantes y con una

matriz gelatinosa, ambos procedentes de la misma muestra de suelo y al gran parecido entre ellos, el morfotipo 10 se consideró parte del morfotipo 13 identificándose como *Sebacina epigaea* (Tabla 10).

**Tabla 10.** Características generales de *Sebacina* spp.

CARACTERÍSTICAS GENERALES								
	Tipos de ramificación	Terminación no ramificada	Color	Manto	Hifas	Fibulas	Rizomorfo	Cistidios
<i>Sebacina epigaea</i> (M13) + <i>Quercus glaucoides</i>	Simple a monopodia l pinada	Rectas	Café muy pálido, Café rojizo claro y Blanco rosado	Liso a ligeramente lanoso Pseudoparenquimátoso	Lisas a tortuosas con septos	A	A	Hialinos con septos
<b>Morfotipo 10</b> + <i>Quercus glaucoides</i>	Simple a irregular pinada	Rectas	Amarillo a amarillo pálido, blanco y rojo débil en partes	Manto externo Pseudoparenquimátoso Tipo L y tipo Q o H. Manto interno Pseudoparenquimátoso Tipo L.	Hifas gruesas sobre el manto color café pálido.	P	A	A
<i>Sebaciana sp. + Quercus costaricensis</i> (Kühndorf et al., 2014)	Monopodial piramidal	transparentado con agregados	Amarillo	Manto externo Plectenquimátoso Tipo E/C. Manto interno Pseudoparenquimátoso Tipo M o Tipo H	-	A	A	A
<i>Sebacina incrustans</i> + <i>Picea</i> Agerer y Rambold (2004–2019)	Simple a dicotómica	Rectas a ligeramente torcidas	Amarillo Rojizo, Amarillo a Rojo pálido	Liso Pseudoparenquimátoso tipo: M Plectenquimátoso	Lisas Septadas	A	A	A
<i>Sebacina sp. 1</i> + <i>Pinus montezumae</i> (Garibay-Orijel et al., 2013)	Dicotómica	Rectas	Café claro y oscuro	Delgado, grisáceo y semitransparente Aéreo: Laxo con micelio translucido	-	-	A	-
<i>Sebacina sp. 2</i> + <i>Pinus montezumae</i> (Garibay-Orijel et al., 2013)	Monopodial a dicotómica	Dobladas con puntas cilíndricas y agudas hacia la punta. sinuoso	Café oscuro a negro	Laxo, se observan células corticales. Puntas manto algodónoso a fibroso	Largas y negras	A	A	A
<i>Sebaciana sp. + C. arbustoides</i> (Kühndorf et al., 2014)	Arbutoide manto liso y transparente	Rectas, dobladas, con terminación cilíndricos	Amarillo transparentado	Manto externo Plectenquimátoso Tipo E/C. Manto interno pseudoparenquimátoso Tipo M o Tipo H	Hifas emanan tes morrón	A	A	A

### 8.3 Comparación morfológica de morfotipos de HECM asociados a *Q. glaucooides* y *Q. potosina* con morfotipos reportados en literatura

Por otra parte, morfotipos de HECM no identificados molecularmente fueron totalmente distintos de los secuenciados, algunos presentaron tonalidades oscuras a tonos rosáceos con micelio denso en parches, otros de tonalidad café con micelio brillante amarillento, etc., (Figura 1-29). Sin embargo, algunos presentaron características muy distintivas de algunas especies de HECM tanto micro como macroscópicamente, como la presencia de hifas laticíferas característico del género *Lactarius*, una micorriza color negro, con hifas dispuestas en forma de estrella como se describen en especies de *Cenococcum* (Agerer, 2006), entre otros.

Partiendo de esto, se presentan las características de algunas especies citadas en literatura pertenecientes a ciertos géneros. Una de éstas y más importante de las especies ectomicorrízicas de *Cenococcum geophilum* Fr., es la presencia de un manto plectenquimátoso de tipo G formando patrones en forma de estrella, este tipo de manto ha sido denominado cenococcoide, con ausencia de rizomorfos y cistidios, hifas emanantes frecuentes, sin fíbulas, tipo de exploración corta distancia, es hidrofílica y la tonalidad de la ectomicorriza es negra (Agerer, 2006). Especie que se han descrito por autores como De Miguel y Sáez, (2005), He *et al.* (2007), Suz *et al.* (2009), Leski *et al.* (2010), cumpliendo con las características antes mencionadas. Éstas características se presentan en los diferentes hospederos asociados con *Cenococcum*, ya sea en *Pinus*, *Quercus*, *Picea* o *Eucalyptus*, por mencionar algunos (Agerer y Rambold, 2004–2019).

Aunado a lo anterior el morfotipo 9 presentó dichas características, un sistema micorrízico negro de apariencia rugosa, hifas emanantes largas y gruesas, con numerosos septos, un manto de tipo G Plectenquimátoso (Figura 14), por lo que este morfotipo se consideró como *C. geophilum*.

Además, algunos sistemas micorrízicos considerados dentro del morfotipo 8 son similares en cuanto a la presencia de características del género *Lactarius*, como

hifas laticíferas dentro de mantos plectenquimátosos o pseudoparenquimátosos característica distintiva de este género, presenta manto tipo B, C, H, I, P, Q; sin rizomorfos en la mayoría de sus especies, sin embargo, llegan a presentarse en *L. piperatus* (L.) Pers. y *L. picinus* Fr. de tipo uniforme, russuloide o con una hifa central en *L. salmonicolor* R. Heim & Leclair, ausencia de cistidios y fíbulas, las tonalidades son variantes van desde blanquecinas a amarillentas, parduzcas y rojizas (Agerer, 2006). De igual manera especies como *L. scrobiculatus* (Scop.) Fr., *L. camphoratus* (Singer & A.H. Sm.) J.M. presentan cistidios tipo F/O y rizomorfos indiferenciados tipo B con hifas laticíferas en el manto medio y algunos en los rizomorfos en el caso de *L. camphoratus* (Agerer y Rambold, 2004–2019).

En una muestra de las que forman parte del morfotipo 8, se apreciaron hifas laticíferas, con un sistema micorrízico liso de tonalidad salmón, en esta la tonalidad son parecidos. La morfología microscópica reveló un manto externo de tipo M: Pseudoparenquimátoso y manto interno E: Plectenquimátoso, no presentan cistidios ni rizomorfos, una de las características de esta muestra es la presencia de una capa de taninos, además, de estructuras circulares dentro de la raíz como anteriormente se le denominó taninos, esta característica no se presentan en la mayoría de los *Lactarius*, a excepción de *L. scrobiculatus* en *Picea* que sí presentó celular laníferas (Agerer y Rambold, 2004–2019) y no descartando la posibilidad que dicho morfotipo pertenezca al género citado.

Una de las características presentes en el morfotipo 6 es la coloración verdosa o verde azul en parte del sistema micorrízico siendo mayormente de color amarillo-a amarillo naranja claro. Esta característica verdosa suele estar presente en *L. indigo* (Schwein.) Fr. Al realizar la revisión en literatura dicha coloración no se reporta en estudios hechos en especies de *Quercus*. Por tal motivo se comparó con una muestra micorrízica descritas por Flores *et al.* (2005) que describieron las características de 3 muestras de *L. indigo* inoculadas con 5 especies de *Pinus* (*P. ayacahuite* var. *ayacahuite*, *P. oocarpa* var. *oocarpa*, *P. pseudostrobus* Brongn., *P. hartwegii* y *P. rudis* Endl.), dichos autores reportaron que en general *L. indigo* presenta una micorriza de tonalidad amarillo en estado juvenil a naranja, canela y

verde oscuro en etapa adulta, puntas más claras, de color naranja, amarillo y verdosas, el manto plectenquimátoso con una matriz gelatinosa, las ramificaciones son dicotómicas, rectas y, el sistema es corto con hifas emanantes cortas similares a cistidios agudos con la punta ligeramente globosa, sin fíbulas, presentan rizomorfos delgados y amarillentos en etapa juvenil a gruesas y naranja, verdosas al lesionarse, la red de Hartig abarcando de dos a tres capas de células corticales en general, en cortes longitudinales y transversales el manto es plectenquimátoso.

Con respecto al morfotipo 6 con características similares en coloración a las descritas para *L. indigo*, el manto en corte transversal fue pseudoparenquimátoso a plectenquimátoso hacia el margen, la red de Hartig abarco dos capas de células corticales con presencia de taninos algo similar con las características reportadas por dichos autores. El manto de tipo plectenquimátoso con una matriz gelatinosa, en este caso no se observaron rizomorfos, ni cistidios o hifas emanantes. Al revisar la literatura especializada y comparando las descripciones es muy probable que el M6 corresponda a *L. indigo*.

Por otro lado, se reportaban 15 géneros de HECM (Campos-López 2015) a partir de esporomas en el mismo sitio de estudio, y en el presente trabajo sólo dos géneros (*Inocybe* y *Russula*) fueron también reportados, y tres géneros (*Tomentella*, *Sebacina* y *Cenococcum*) fueron nuevos reportes. Cabe resaltar que esta baja coincidencia se debe a que en el estudio de Campos-López (2015) se tomaron en cuenta los esporomas asociados a ocho especies de *Quercus* y en cambio en el presente trabajo solo se enfocó en *Q. glaucoides* y *Q. potosina* (las especies más abundantes en el sitio de estudio) y específicamente a partir de puntas micorrizadas.

#### **8.4 Análisis de datos de los morfotipos ectomicorrízicos: riqueza y diversidad alfa**

La curva de acumulación de especies por morfotipo no alcanzó la asíntota en las dos especies de *Quercus*, a pesar de ello es alto el nivel de eficiencia del

muestreo, 83.97 % y 95.04 % para *Q. glaucoides* y *Q. potosina* respectivamente. En la literatura existen otros estudios donde se analiza el esfuerzo de muestreo usando curvas de acumulación y los indicadores Chao 1 para especies de *Quercus* (García-Guzmán, 2014), Jackknife 1 (Leski *et al.*, 2010), Jackknife 2 y Chao 2 (Wang y Gou, 2010., Tedersoo *et al.*, 2006). En el trabajo de Tedersoo *et al.* (2010) el esfuerzo de muestreo se consideró bajo, ya se no se estabilizó la curva, por otra parte en el trabajo de Wang y Gou (2010) la curva de acumulación de especies para el estimador Jackknife 2 tampoco alcanzó la asíntota, que no fue el caso para chao 2 que llegó en un punto de estabilidad en la curva. En dichos trabajos se señala que, aunque no se llegue a la asíntota en la estimación de especies, pero se alcance un valor de eficiencia alto de muestreo (> 80 %), las curvas de acumulación son un parámetro importante para evaluar la diversidad de especies de HECM. También es importante señalar que los estudios en donde evalúan el esfuerzo de muestreo fueron realizados en especies de hospederos diferentes a las especies de este estudio, lo que significa que la presente investigación es la primera realizada en *Q. glaucoides* y *Q. potosina*.

Por otra parte la riqueza de morfotipos fue mayor en *Q. glaucoides*, la diversidad alfa calculada con el índice de Shannon-Wiener, evidenció que los valores fueron altos de acuerdo con los tomados como referencia de Ramírez-González (2006) donde ambas especies presentan valores muy altas *Q. glaucoides* (3.03) y *Q. potosina* (2.43) con diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Al hacer una revisión bibliográfica para comparar estos valores de diversidad de morfotipos solo se encontraron estudios realizados con hospederos del mismo género, solo el trabajo de García-Guzmán (2004) reporta valores de diversidad para HECM asociados a *Q. deserticola*, *Q. obtusata*, *Q. castanea*, *Q. magnolifolia*, *Q. rugosa* y *Q. laeta* de cuatro sitios de muestreo (Águila 1, Águila 2, Icuacato 1, Icuacato 2), que son 1.791, 1.259, 1.444 y 1.617 respectivamente y esto son menores a los reportados en este trabajo. No obstante, existen trabajos en donde evalúan la diversidad de HECM asociados a las raíces en otras especies arbóreas como el de Guarneros-Hernández (2017) que evaluó la diversidad de morfotipos en un

bosque de *Pinus* spp. de tres tratamientos silvícolas, los valores reportados fueron mayores en dos de los sitios de 3.441 y 3.658, el valor mas bajo fue de 1.009.

Dada la dificultad en la extracción del ADN en HECM asociados a *Quercus* spp. no se lograron obtener las secuencias de varios morfotipos descritos para ambas especies, esto mismo lo han señalado en otros estudios (García-Guzmán, 2014). Para el caso de *Q. glaucoides* se lograron identificar molecularmente 7 morfotipos y para *Q. potosina* solo 2 morfotipos. García-Guzmán et al (2014) mencionan que la posible causa de la baja secuenciación obtenida puede deberse a que las muestras ambientales suelen ser complejas y carecen de pureza a inhibidores de pueden contener las raíces, tales como metabolitos secundarios, resinas, taninos y colorantes. En el presente estudio el bajo éxito obtenido en la secuenciación pudo deberse a la rápida pérdida de la viabilidad de las mismas y a la secreción de taninos en la raíces.

## IX. Conclusiones

Se identificaron un total de 29 morfotipos ectomicorrízicos presentes, 15 en *Q. glaucoides* y 3 en *Q. potosina* y 11 morfotipos en ambas especies.

Con el análisis molecular se identificaron 9 especies de HECM representadas en 5 géneros, el más abundante fue *Tomentella* (tres especies), siguiéndole *Russula* e *Inocybe* (con dos especies), *Tuber* y *Sebacina* (con una especie), respectivamente.

Dos de las especies del género *Tomentella* fueron específicas de *Q. glaucoides* (*Tomentella* aff. *stuposa* y *Tomentella* sp.1), mientras que *Tomentella* sp.2 y la especie de *Tuber castilloi* se presentaron en las dos especies de *Quercus*. Las especies del género *Inocybe*, *Russula* y *Sebacina* fueron específicos para *Q. glaucoides*.

Los morfotipos pertenecientes a las diferentes especies coincidieron con las características distintivas de los géneros reportados en literatura.

Los géneros identificados molecularmente presentaron caracteres similares con algunos de los morfotipos que no se pudieron obtener las secuencias de ADN, como es el caso del morfotipo 11 sus características lo colocan dentro del género *Tomentella*. Por su parte el morfotipo 10 fue similar en sus características morfológicas con *Sebacina*, fue considerado parte de éste género.

El morfotipo de *Cenococcum geophilum* fue posible identificarlo por sus caracteres morfológicos distintivos.

La diversidad de HECM identificados por su esporomas por Campos-López (2015) no reportó la presencia de especies del género *Tomentella*, *Sebacina*, *Tuber* y *Cenococcum*, dichos géneros se encontraron solamente en las raíces.

Este trabajo, contribuye al conocimiento de la diversidad de especies de HECM asociados al género *Quercus*, pues aún son escasos los estudios realizados en este género y es el primer estudio realizado en *Q. glaucoides* y *Q. potosina*.

## LITERATURA CITADA

- Agerer, R. 1991. Characterization of Ectomycorrhiza. *Methods in microbiology*, volume 23.
- Agerer, R. 1986. Studies on ectomycorrhizae II. Introducing remarks on characterization and identification. *Mycotaxon* 26:473-492.
- Agerer, R. 1987-1993. Colour atlas of ectomycorrhizae. 4a. ed. Einhorn-Verlag. SchwäbischGmünd.
- Agerer, R. 2006. Fungal relationships and structural identify of their ectomycorrhizae. *Mycol Progress*. 5:67-107.
- Agerer, R. and Rambold G. (2004-2019). DEEMY - An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae [online]. Disponible en: <http://www.deemy.de/>.
- Aguilar-Aguilar, S., Gonzáles-Mendoza, D. y Grimaldo-Juárez, O. 2011. Ectomicorizas asociadas a *Pinus jeffreyi* en el Parque Nacional "Constitución de 1857" en Baja California, México. *Rev. Chapingo ser. cienc. for. ambient.*17(3):325-332.
- Altamirano, E. 2000. Géneros de macromicetos, mixomicetos y líquenes de un bosque de *Juniperus* en el estado de Tlaxcala: Un estudio preliminar de su biodiversidad. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Escuela de Biología. México, Puebla.
- Altschul, S., Madden, T., Schäffer, A., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*. 25:3389-3402.
- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. de L., Almaraz-Sánchez, A., Tlapal-Bolaños, B., Trejo-Ramírez, O., Davidson, J. M., Kliejunas, J. T., Oak, S., O'Brien, J. G., Orozco-Torres, F. y Quiroz-Reygadas, D. 2007. Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, fagaceae) en el centro-oeste de México. *Polibotánica*. 23:1-21.
- Alvarez-Manjarrez, J. 2012. Caracterización morfología de dos ectomicorizas asociadas a *Coccoloba uvifera* L. e identificación del micobionte con base en la región ITS del ADNr, en una población de la comunidad La Ribera Tampico Alto, Veracruz. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Veracruzana.
- Arizaga, S., Martínez-Cruz, J., Salcedo-Cabrales, M. y Bello-Gonzáles, M.Á. 2009. Manual de biodiversidad de encinos michoacanos. SEMARNAT. INE-SEMARNAT. México. D.F. pp.149.
- Baeza-Guzmán, Y., Medel-Ortiz, R. y Garibay-Orijel, R. 2017. Caracterización morfológica y genética de los hongos ectomicorrízicos asociados a bosques de *Pinus hartwegii* en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 88:41-48
- Boling, B.C., Naab, F.U; Smith, D., Duggan J.L. and McDaniel, F.D. 2006. Leaf elemental analysis in mycorrhizal post oak seedlings. *Nucl. Instr. And Meth. In Phys. Res. B* 251:182-190.
- Brundrett, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79:473-495.

- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. y Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph, 32. BPD Graphic Associates, Canberra, Australia. pp. 173-182.
- Bücking, H., Liepold, E. and Ambilwade, P. 2012. The role of the mycorrhizal symbiosis in nutrient uptake of plants and the regulatory mechanisms underlying these transport processes. En: S. E. Smith and D. Read (Ed.). Mycorrhizal Symbiosis. 3<sup>rd</sup> Edition, Academic Press, London.
- Buée, M., Maurice, J. P., Zeller, B., Andrianarisoa, S., Ranger, J., Courtecuisse, R., Marçais, B. and 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.
- Campos-López, A. 2015. Diversidad de esporomas de hongos ectomicorrizógenos asociados a *Quercus* spp. en un boque templado de Ixtacuixtla, Tlaxcala. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Tlaxcala, Tlaxcala, México. pp:80.
- Carrasco-Hernández, V., Pérez-Moreno, J., Espinosa-Hernández, V., Almaraz-Suárez, J. J., Quintero-Lizaola, R. y Torres-Aquino, M. 2010. Caracterización de micorrizas establecidas entre dos hongos comestibles silvestres y pinos nativos de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 1(4): 567-577.
- Challenger, A y Soberón, J. 2008. Los ecosistemas terrestres, en *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, pp. 87-108.
- Chung, G. P. 2005. Hongos micorrícicos comestibles: Opción productiva aplicada a las plantaciones forestales. Aspectos generales. 1<sup>a</sup> edición. Instituto forestal. Concepción. Chile. 1-61pp.
- Clavería, V. y De Miguel A. M. 2005. Diversidad ectomicorrícica en una formación natural de carrasca (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp.). En: 4<sup>o</sup> Congreso Forestal Español: CD de Actas; 2005 Sep 26-30; Zaragoza, España. Zaragoza: Sociedad Española de Ciencias forestales.
- Córdova-Chávez, O., Medel, R., Mata, G., Castillo, R. y Vázquez-Ramírez, J. 2014. Evaluación de hongos ectomicorrícicos del grupo de los basidiomicetos en la zona del Cofre de Perote, Veacruz. *Madera y Bosque*. 20(1):97-106.
- Courty, P. E., Buée, M., Diedhiou, A. G., Frey-Klett, P., Tacon, F. L., Rineau, F., Turpault, M. P., Uroz, S. and Carbaye, J. 2010. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes new perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry*. 42:679-698.
- De la Paz Pérez Olvera C., Dávalos Sotelo R. y Guerrero Cuacuil E. 2000. Aprovechamiento de la madera de encino en México. *Madera y Bosques* 6(1):3-13.
- De Miguel, A. M. y Sáez, R. 2005. Algunas micorrizas competidoras de plantaciones truferas. *Publ. Bio. Univ. Navarra. Ser.Bot.* 16:1-18.
- Díaz-Pontones, D. y Reyes-Jaramillo, I. 2009. Producción y almacenamiento de bellotas de *Quercus hintonii* Warburg (Fagaceae) de la Depresión del Balsas, México. *Polibotánica*, (27):131-143.
- Egerton-Warburton, L. and Griffin, B. 1995. Differential responses of *Pisolithus tinctorius* isolates to aluminium in vitro. *Can. J. Bot.* 73: 1229-1233.

- Encina-Domínguez J.A. y Villarreal Quintanilla J.A. 2002 Distribución y aspectos ecológicos del género *Quercus* (Fagaceae), en el estado de Coahuila, México. *Polibotánica*.13:1.23.
- Estrada-Torres, A. 2003. Ecología de los hongos ectomicorrizógenos. En: A. Estrada-Torres; G. Santiago-Martínez (eds). *Avances en el Estudio de la Ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México*. UAT, SIZA, Fundación Produce Tlaxcala, A.C. México. pp:26-34.
- Flores, R., Díaz, G. and Honrubi, M. (2005). Mycorrhizal synthesis of *Lactarius indigo* (Schw.) Fr. with five Neotropical pine species Mycorrhiza. Pp:9
- Flores-Maya S., Flores-Moreno I., Romero-Rangel S y Rubio-Licon L.E. 2006. Análisis cariológico de ocho especies de encino (*Quercus*, Fagaceae) en México. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 63(2):245-250.
- 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.
- García-Guzmán, O. M. 2014. Estudio de la diversidad genética de comunidades de hongos ectomicorrízicos asociados a encinos en la cuenca de Cuitzeo, Michoacán. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Biología. Universidad Autónoma de México.
- García-Guzmán, O.M., Garibay-Orijel, R., Ortega-Larrocea, M. P. y Oyama-Nakagawa, A.K. 2014. Estudio de la diversidad genética de comunidades de hongos ectomicorrízicos asociados a encinos en la cueca de Cuitzeo, Michoacán. Tesis de Maestría. México, D.F. pp:158.
- Gardes, M. and Bruns, T. D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* 2:113-118.
- Garibay-Orijel, R., Morales-Maranon, 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. *Rev. Mex. Biodiv.* 84(1):153-169.
- Gomes-Luna, B.E., Vázquez-Marrufo, G., Herrera-Méndez, C.H., Hernández-Morales, A., y Olalde-Portugal, V. 2012. Utilización de marcadores moleculares para el estudio de hongos basidiomicetes silvestres. *Ra Ximhai*, vol8 (3):131-141
- He, X. H., Horwath, W. R., Zasoski, R. J., Aanderud, Z. and Bledsoe, C. S. 2007. *Mycorrhiza*. 18:33-41.
- Horton, T. R. and Bruns, T. D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10:1855-1871.
- Huang, J., Nara, K., Zong, K., Wang, J., Xue, S., Peng, K., Shen, Z. and Lian, C. 2014. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana*) and white oak (*Quercus fabri*) in a manganese mining region in Hunan Province, China. *Fungal Ecology* 9:1-10.
- Hynes, M. M. Smith, M. E, Zasoski, R. J. and Bledsoe, C. S. 2010. A molecular survey of ectomycorrhizal hyphae in a California *Quercus-Pinus* woodland. *Mycorrhiza*, 20:265-274.

- Ignacio-Ruiz, N., Rangel-Villafranco, M. y Cárdenas-Camargo, I. 2014. Estructura del bosque y propagación de dos especies de encinos con micorrizas en el Estado de México. *Revista Iberoamericana de Ciencia* 1(4):137-146.
- INEGI. 1986. Síntesis Geográfica de Tlaxcala. Coordinación General de los Servicios de Estadística, Geografía e Informática, México D.F.
- INEGI. 1998. Los municipios de Tlaxcala. Monografía de Ixtacuixtla de Mariano matamoros, Tlaxcala.
- INEGI. 2009. Pronuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos
- Jakucs, E. and Erős-Honti, Z. 2008. Morphological-anatomical characterization and identification of *Tomentella* ectomycorrhizas. *Mycorrhiza*. 18:277-285.
- Jakucs, E., Kovács, GM, Agerer, R. 2005a. Morphological-anatomical characterization and molecular identification of *Tomentella stuposa* ectomycorrhizae and related anatomotypes. *Mycorrhiza* 15:247- 258.
- Juárez-Barradas, R. 2015. Colonización ectomicorrízica y arbuscular en *Coccoloba uvifera* L. en la Reserva de la Biosfera Ría Lagartos. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Kernaghan G. 2005. Mycorrhizal diversity: Cause and effect. *Pedobiologia*. 49: 511-520
- Kernaghan, G., Widden, P., Bergeron, Y., Légaré S. and Paré, D. 2003. Biotic and abiotic factors affecting ectomycorrhizal diversity in boreal mixed-woods. *Oikos* 102:497–504.
- Krebs, C. J. 1999. *Ecological methodology*. Harper and Row, New York. pp. 620.
- Kühdorf, K., Münzenberger, B., Begerow, D., Karasch-Wittmann, C., Gómez-Laurito, J. and Hüttl, F. R. 2014. *Sebacina* sp. is a mycorrhizal partner of *Comarostaphylis arbutoides* (Ericaceae). *Mycol. Progress*. Pp:12.
- Lancellotti, E. and Franceschini, A. 2013. Studies on the ectomycorrhizal community in a declining *Quercus suber* L. stand. *Mycorrhiza*, 23:533-542.
- Leski, T., Pietras, M, and Rudawska, M. 2010. Ectomycorrhizal fungal communities of pedunculate and sessile oak seedlings from bare-root forest nurseries. *Mycorrhiza*. 20:179-190.
- Loranca-Bravo, Salvador J., Rodríguez-Estrella, Ricardo., Bautista Ortega, Amando, y Cuatianquiz-Lima, Cecilia. 2013. Nuevos registros de aves en el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala, México. *Acta zoológica mexicana*, 29(2):441-447.
- Luna, J., Azucena de Lourdes., Montalvo Espinosa, L. y Rendón Aguilar, B. 2003. Los usos no leñosos de los encinos en México. *Bol. Soc. Bot. Méx*, 72:107-117.
- Magurran, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press, New Jersey, 179 pp.
- Martínez, L. B. y Pugnaire, F. I. 2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas* 18(2):44-54.
- Montoya-Esquivel, A. 2003. Ecología de los hongos ectomicorrizógenos. En: Estrada-Torres, A. y Santiago-Martínez, G. (eds). *Avances en el Estudio de la Ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México*. UAT, SIZA, Fundación Produce Tlaxcala, A.C. México. pp:53-41.

- Moreno, C. E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza. Pp. 84.
- Morris, M. H., Smith, M. E., Rizzo, M. D., Rejmánek, M. and Bledsoe, C. S. 2008a. Contrasting ectomycorrhizal fungal communities on the roots of co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a California woodland. *New Phytologist*. 178:167-176.
- Morris, M. H., Pérez-Pérez, M. A., Smith, M. E. and Bladsoe C. S. 2008b. Multiple species of ectomycorrhizal fungi are frequently detected on individual oak root tips in a tropical cloud forest. *Mycorrhiza*. 18:375-383.
- Moser, M. A., Frank, L. J., D'Allura, A. D. J. and Southworth, D. 2009. Ectomycorrhizal communities of *Quercus garryana* are similar on serpentine and nonserpentine soils. *Plant. Soil*. 315:185-194.
- Nava-Gutiérrez, Y. y Hernández-Cuevas, L. 2003. Aspectos generales de la asociación micorrízica. En: Estrada-Torres, A. y Santiago-Martínez, M.G. (eds.). *Avances en el estudio de la Ectomicorriza en el estado de Tlaxcala*. UAT, SIZA, Fundación Produce Tlaxcala, A.C. México. pp. 1-8.
- Navarro, A. J. P., Aguilar A. I., López-Moya J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*.16(2):1-17.
- Olivera-Morales, D., Castillo-Argüero, S., Guadarrama, P., Ramos-Zapata, J., Álvarez-Sánchez, J. y Hernández-Cuevas, L. 2011. Establecimiento de plántulas de *Quercus Rugosa* Née inoculadas con hongos micorrizógenos arbusculares en un bosque templado de México. *Bot.Méx*. 89:115-121.
- Peay, K. G., Kennedy, P. G. and Bruns, T. D. 2008. Fungal community ecology: a hybrid beast with a molecular master. *Bioscience*. 58:799–810.
- Peay, K. G., Kennedy, P. G. and Bruns, T. D. 2011a. Rethinking ectomycorrhizal succession: are root density and thyphal exploration types drivers of spatial and temporal zonation?. *Fungal Ecology*. 4:233-240.
- Perea-Estrada, V. M., Pérez-Moreno, J., Isla-de Bauer, M. L. de la., Fenn, M. E., Trinidad-Santos, A., Hernández-Tejeda, T. 2005. Fertilización, tipos de suelos y hongos micorrízicos y endófitos radicales asociados a eucalipto. *Terra Latinoamericana* 23(2): 201-212.
- Pérez-Moreno, J. y Read, J.D. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *INTERCIENCIA* 29(5):1-9.
- Pérez-Olvera, C. de la P., Dávalos-Sotelo, R y Guerrero C. E, 2000. Aprovechamiento de la madera de encino en México. *Madera y Bosques*, 6(1):3–13.
- Pérez-Olvera, C. de la P y Dávalos-Sotelo, R. 2008. Algunas características anatómicas y tecnológicas de la madera de 24 especies de *Quercus* (encinos) de México. *Madera y Bosques*, 14(3):43-80.
- Quiñónez-Martínez, M., Lavin Murcio, P., Garza Ocañas, F., De la Mora Covarribias, A., Lebgue Keleng, T. y Woocay Prieto A. 2009. Riqueza y frecuencia de hongos ectomicorrizógenos en el municipio de Urique, Chihuahua, México. En: *Ciencias en la frontera: Revistas de ciencias y tecnología de la UACJ*. (2):33-400

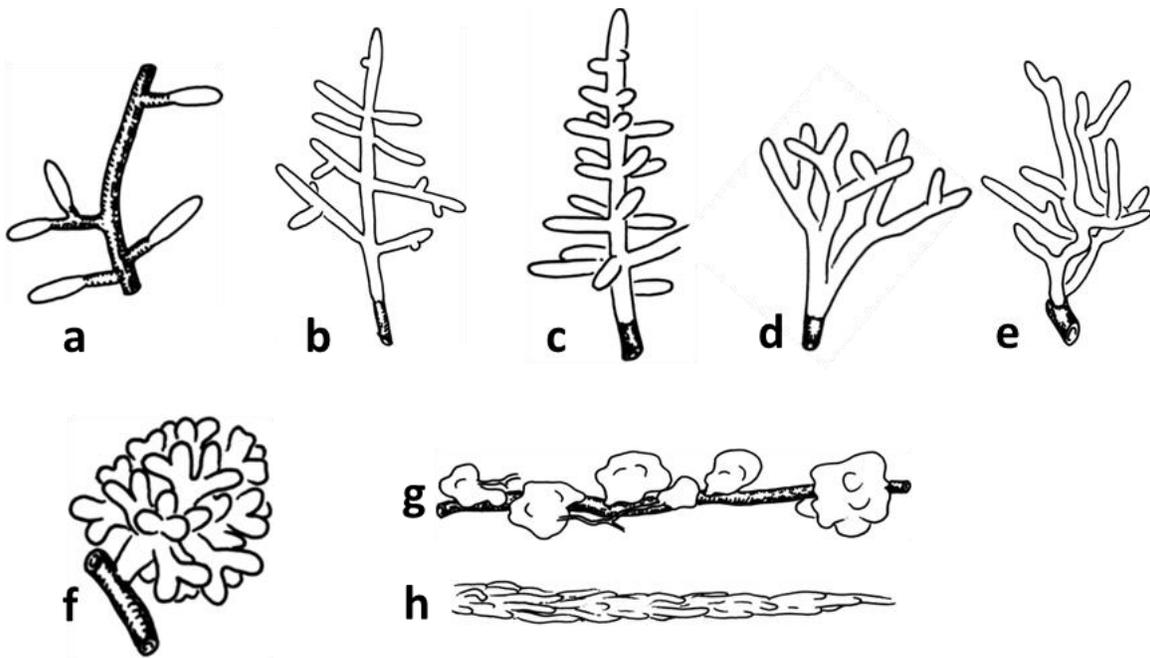
- Ramírez-Albores, Jorge E. 2013. Riqueza y diversidad de aves de un área de La faja volcánica transmexicana, Tlaxcala, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(3):486-512.
- Ramírez-González, A. 2006. *Ecología: Métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades*. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Pp:273.
- Requena, N., Pérez-Solis, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P., and Barea, J. M. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* (67):495-498.
- Reyes, J. I., 2006. *Quercus hintonii* Warb: especie endémica del encinar del SW del Estado de México. *Rev. Contactos*. 60:64–72.
- Rodríguez Alcántar, O., Figueroa García, D. y Herrera-Fonseca. 2019. Catálogo de los hongos de San Sebastián del Oeste, Jalisco, México. *Acta Botánica Mexicana*. 126:16
- Rodríguez-Tovar, A., Xoconostle-Cásarez, B. y Valdés, M. 2004. Ecología molecular de los hongos ectomicorrízicos. *Rev. Fitotec. Méx.* 27(3):267-278.
- Romero-Rangel, S y Rojas Zenteno E. C. 2009. Encinos. En: Gobierno del Estado de México (ed). *La diversidad biológica del Estado de México, estudio de estado*. México.pp:187-194.
- Romero-Rangel, S., Rojas-Zenteno, E. C. y Aguilar-Enríquez, M. L. 2002. El género *Quercus* (Fagaceae) en el Estado de México. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 89(4): 551-593.
- Rossman, A. Y., Tulloss, R. E., O'dell, T. E. and Thorn, R. G. 1998. Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in Costa Rican conservation área. Parkway Publishers, Inc. Boone, North California. pp. 25-30.
- Ruíz, O. P., Rojas, C.k. y Sieverding, E. 2011. La distribución geográfica de los hongos de micorriza arbuscular: una prioridad de investigación en la Amazonía peruana. *Espacio y Desarrollo*. 23:47-63.
- Rzedowski, G. C. de., y Rzedowski, J. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán. (Edición digital: INECOL 2010). México. pp: 1406.  
[http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/Indice\\_Flora\\_del\\_Valle\\_de\\_Mx.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/Indice_Flora_del_Valle_de_Mx.pdf)
- Rzedowski, J. 2006 *Vegetación de México*. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp.  
[http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx\\_Content.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Content.pdf) (consultado Mayo 2019).
- Sánchez Montes de Oca, E. J. 2015. Germinación de semillas de encinos (*Quercus* spp., fagaceae) de ambientes templados en escenarios de cambio climático del uso de suelo. Tesis de maestría Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. San Luis Potosi, México.pp:51.

- Santacruz, G. N. y Espejel, R. A. 2004. Los Encinos (*Quercus*) de Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Centro de Investigación Interdisciplinaria Sobre el Desarrollo Regional. Tlaxcala, México.
- Seaby, R. and Henderson, P. (2006). Species diversity and richness. Version 4.1.2. Pisces Conservation Ltd. Lymington, England. <http://www.pisces-conservation.com/softdiversity.html>
- SEMARNAT, 2015. Inventario estatal de forestal y de suelos-Tlaxcala 2014. Edición 2015. Disponible en: [http://www.academia.edu/21064052/IEFy\\_S\\_Tlaxcala\\_2014](http://www.academia.edu/21064052/IEFy_S_Tlaxcala_2014).
- Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbioses. Academic Press. Londres.
- Suz, M. L., Martín, P. M., Fischer, R. C., Bonet, A. J. and Colinas, C. 2009. Can NPK fertilizers enhance seedling growth and mycorrhizal status of *Tuber melanosporum*-inoculated *Quercus ilex* seedlings?. Mycorrhiza. Pp:13.
- Techniques for the study of mycorrhiza. 25-73. Academic, London.
- Tedersoo, L., Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Yorou NS, Wijesundera R, Villarreal L, Vasco-Palacios AM, Thu PQ, Suija A, Smith ME, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou AL, Nilsson RH, Morgado LN, Mayor J, May TW, Majuakim L, Lodge DJ, Lee SS, Karl-Henrik L, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel TW, Harend H, Liang-dong G, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Deamaley J, De Kesel A, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley FQ, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K. 2014. Global diversity and geography of soil fungi. Science. 346: 1078-1090.
- Trocha, K. L., Kalucka, I., Stasińska, M., Nowak, W., Dabert, M., Leski, T., Rudawska, M. and Oleksyn, J. 2011. Ectomycorrhizal fungal communities of native and non-native *Pinus* and *Quercus* species in a common garden of 35-year-old trees. Mycorrhiza. Pp:14.
- U.S. Department of Agriculture. 1975. Munsell Soil Color Charts.
- Valdés, R. M. 2011. El cambio climático y el estado simbiótico de los árboles del bosque. Rev. Mex. Cien. For. 2(5):1-10.
- Valencia, A. S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (fagaceae) en México. Bol. Soc. Bot. Méx. 75:33-53.
- Villarreal, H., Álvarez, M., Córdoba, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., Mendoza H., Ospina, M. y Umaña, A. M. 2006. Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Programa de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Segunda edición. Bogotá, Colombia.

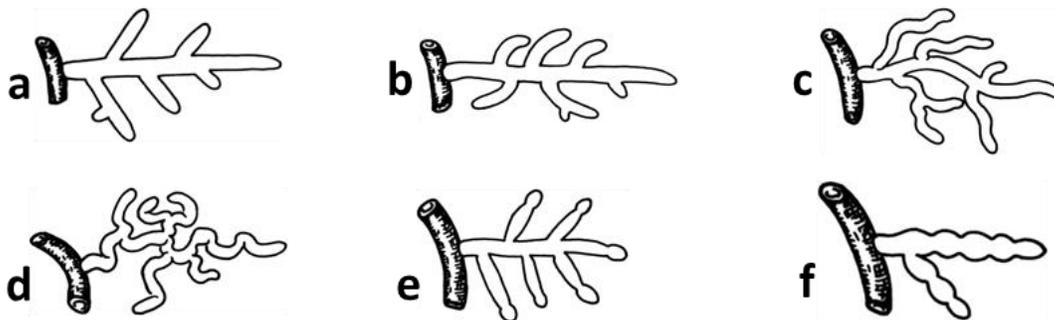
[http://oaks.of.the.world.free.fr/quercus\\_glaucoides.htm](http://oaks.of.the.world.free.fr/quercus_glaucoides.htm))

## ANEXOS

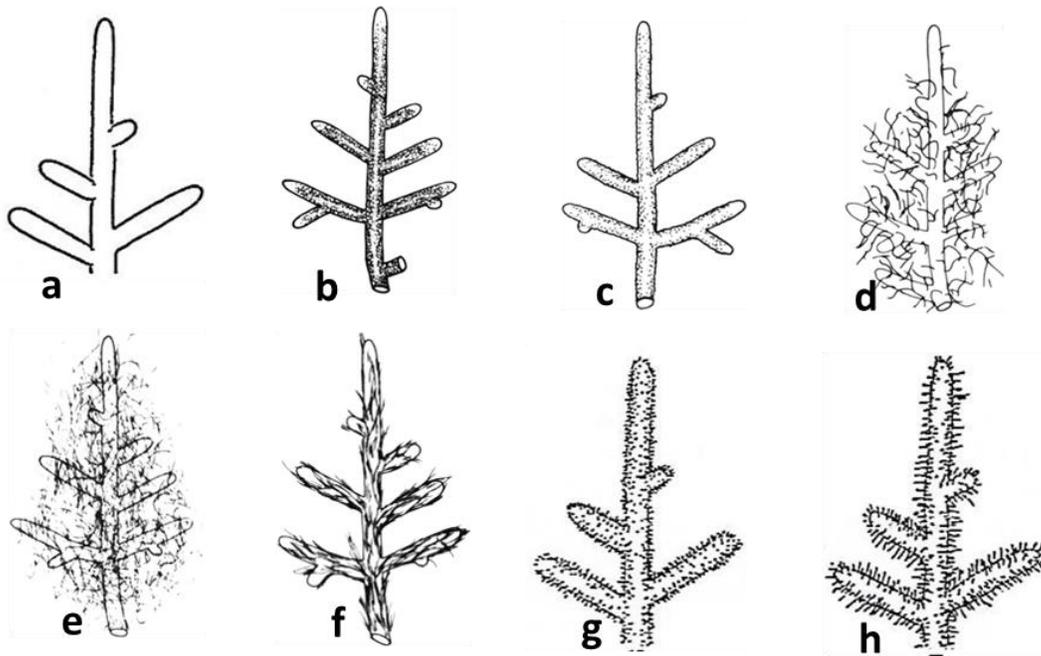
### Anexo I. Características anatómicas macro-micromorfológicas de la ectomicorriza



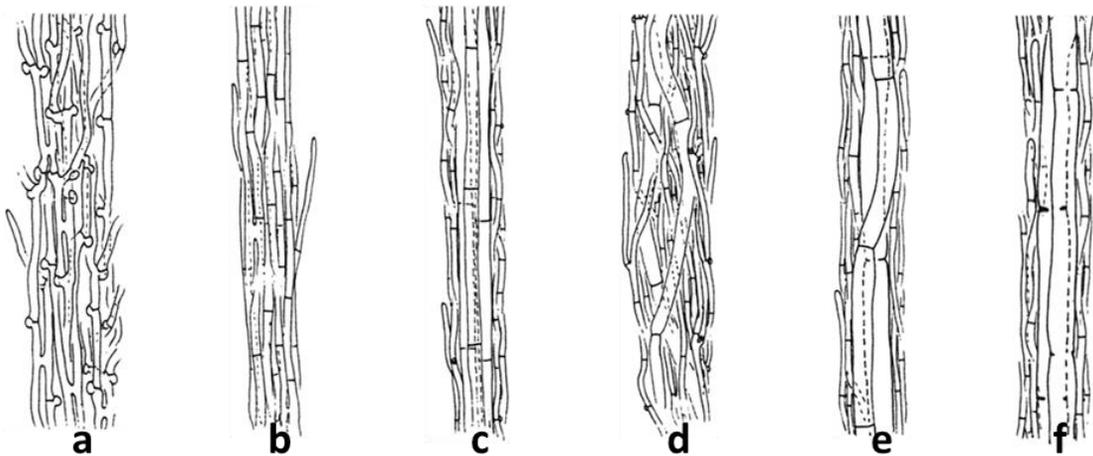
**Figura 1.** Tipos de ramificación: **A)** Ausente; **B)** Monopodial-pinnada; **C)** Monopodial-piramidal; **D)** Dicotómica; **E)** Irregular pinnada; **F)** Coraloide; **G)** Coraloide; **H)** Con tubérculos; **I)** Trenzada (Agerer, 1991).



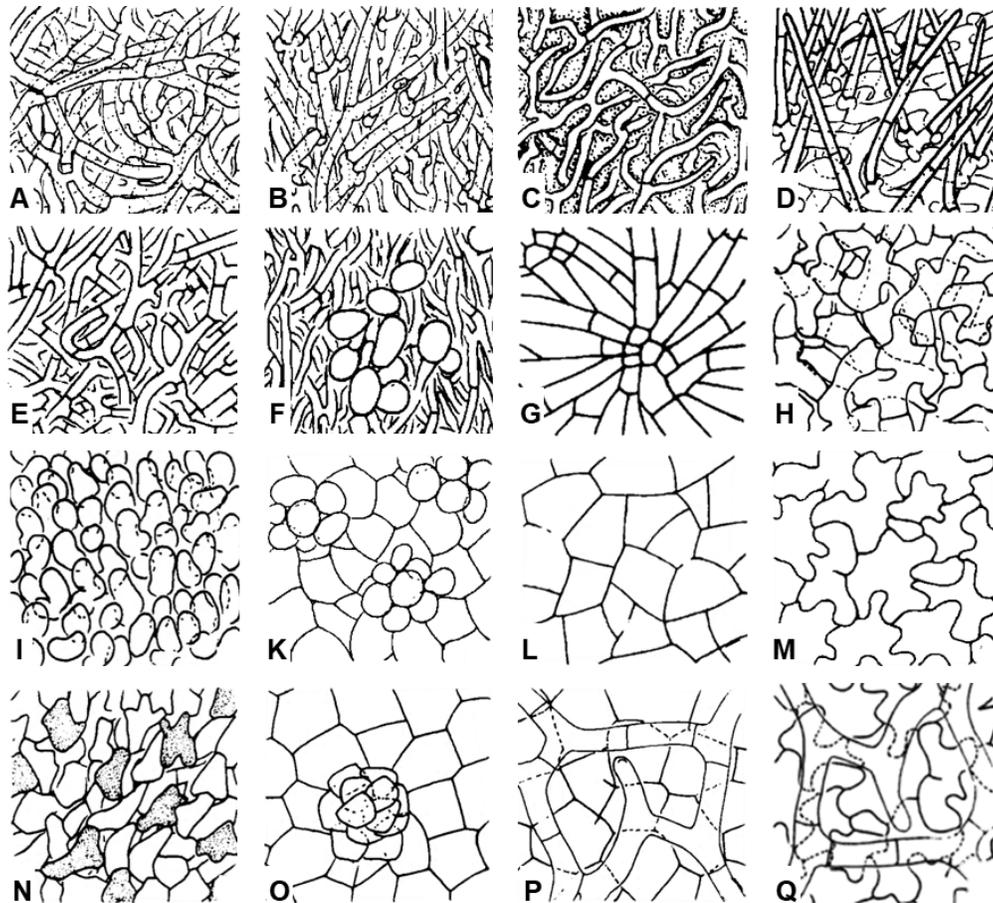
**Figura 2.** Forma de las terminaciones no ramificadas: **A)** Directa o recta; **B)** Inclinado o doblada; **C)** Sinuosa; **D)** Tortuosa; **E)** Estrechado entre las partes más viejas y más jóvenes; **F)** Moniliformes o con cuentas (Agerer, 1991).



**Figura 3.** Características de la superficie del manto: **A)** Lisa; **B)** Reticulada; **C)** Granulosa o verrucosa; **D)** Lanosa; **E)** Algodonosa; **F)** Fibrilosa **G)** Con espinas cortas; **H)** Con espinas largas (Agerer, 1991).



**Figura 4.** Tipos de rizomorfos: **A)** Rizomorfos indiferenciados; **B)** Rizomorfos indiferenciados con márgenes lisos; **C)** Rizomorfos ligeramente indiferenciados con hifas centrales mas gruesas; **D)** Rizomorfos diferenciados con algunas hifas gruesas; **E)** Rizomorfos diferenciados con hifas gruesas; **F)** Rizomorfos altamente diferenciados (Agerer, 1991).



**Figura 5.** Tipos de manto: Plectenquimátoso (A-I) y Pseudoparenquimátoso (K-Q): **A)** Grupos de hifas dispuestas en forma de red o hifas curvadas formando una anillo; **B)** Hifas dispuestas en forma irregular sobre la superficie de la raíz; **C)** Hifas inmersas en una matriz gelatinosa originada a partir de las paredes de las hifas; **D)** Hifas dispuestas en una red desde la que parten cistidios prominentes; **E)** Hifas dispuestas en una red producida por la ramificación múltiple de las hifas; **F)** Zonas de células redondeadas sobre un manto de hifas entrelazadas; **G)** Hifas dispuestas en forma de estrella; **H)** Hifas dispuestas en forma de red. Este tipo es una transición entre tejidos plectenquimáticos y pseudoparenquimáticos; **I)** Hifas dispuestas de forma perpendicular a la superficie del manto; **K)** Compuesto de células angulares y grupo de células emergentes redondeadas; **L)** Con células angulares; **M)** Con células epidermoides, tienen la apariencia de células de la epidermis de las hojas; **N)** Células más o menos angulares y algunos con gúttulas lipídicas en su interior que se tiñen con sulfovainillina; **O)** Células angulares y grupos de angulares o aplanadas emergentes; **P)** Compuesto de células angulares sobre las que se dispone una delicada red de hifas; **Q)** Compuesto de células epicermoides sobre las que se dispone una delicada red de hifas (Agerer, 1991).

**Anexo II.** Medidas macroscópicas de los morfotipos asociados a *Q. glaucooides* y *Q. potosina*. Se presenta la medición mínima-(media)-máxima.

Morfotipo	Largo del sistema micorrízico (mm)	Largo de las puntas no ramificadas (mm)	Diámetro de las puntas no ramificadas (mm)	Diámetro del eje del sistema micorrízico (mm)
<b><i>Quercus glaucooides</i></b>				
2	2.56-(4.90)-6.52 (n=7)	0.40-(1.33)-3.00 (n=19)	0.12-(0.24)-0.36 (n=24)	0.19-(0.31)-0.46 (n=8)
6	2.42-(3.63)-4.26 (n=3)	0.42-(1.19)-2.53 (n=13)	0.19-(0.33)-0.49 (n=15)	0.30-(0.43)-0.61 (n=5)
8	1.40-(5.41)-9.24 (n=13)	0.38-(1.38)-2.76 (n=32)	0.17-(0.27)-0.46 (n=35)	0.17-(0.34)-0.49 (n=15)
10	(4.19) (n=2)	0.54-(1.37)-2.57 (n=10)	0.24-(0.31)-0.34 (n=10)	0.30-(0.36)-0.42 (n=3)
11	2.50-(5.09)-8.00 (n=13)	0.31-(1.49)-4.00 (n=39)	0.17-(0.25)-0.58 (n=38)	0.22-(0.29)-0.40 (n=20)
15	2.60-(4.78)-7.00 (n=8)	0.60-(1.00)-3.52 (n=18)	0.20-(0.26)-0.38 (n=16)	0.27-(0.38)-0.46 (n=10)
16	2.53-(4.53)-8.82 (n=13)	0.25-(0.99)-3.12 (n=28)	0.21-(0.27)-0.33 (n=23)	0.20-(0.31)-0.62 (n=25)
22	2.70-(3.29)-3.66 (n=4)	0.38-(1.04)-2.57 (n=9)	0.12-(0.18)-0.29 (n=10)	0.22-(0.28)-0.38 (n=9)
24	1.35(2.75)-4.82 (n=22)	0.29-(1.31)-3.13 (n=27)	0.11-(0.24)-0.38 (n=29)	0.11-(0.23)-0.64 (n=34)
27	3 - 6.2 (n=19)	0.60-(1.00)-1.30 (n=19)	0.20-(0.22)-0.25 (n=19)	0.25-(0.34)-0.47 (n=19)
28	3.53-(5.83)-9.24 (n=13)	0.61-(1.56)-4.99 (n=44)	0.16-(0.23)-0.36 (n=47)	0.16-(0.28)-0.42 (n=28)
<b><i>Quercus potosina</i></b>				
18	1.75-(4.16)-8.52 (n=22)	0.49-(1.48)-4.95 (n=55)	0.11-(0.24)-0.61 (n=52)	0.12-(0.27)-0.61 (n=43)
20	2.29-(5.28)-8.82 (n=6)	0.35-(1.13)-2.64 (n=38)	0.14-(0.18)-0.31 (n=48)	0.20-(0.29)-0.44 (n=16)
<b><i>Q. glaucooides</i> y <i>Q. potosina</i></b>				
1	0.97-(4.01)-8.91 (n=19)	0.53-(1.74)-3.22 (n=41)	0.15-(0.26)-0.36 (n=43)	0.16-(0.33)-0.52 (n=26)

<b>5</b>	1.87-(4.31)-7.64 (n=12)	0.24-(1.48)-4.41 (n=45)	0.16-(0.24)-0.40 (n=44)	0.16-(0.24)-0.41 (n=30)
<b>7</b>	2.42-(3.78)-5.56 (n=16)	0.49-(1.06)-2.89 (n=50)	0.15-(0.25)-0.64 (n=44)	0.17-(0.32)-0.52 (n=29)
<b>9</b>	1.37-(2.96)-8.00 (n=17)	0.24-(1.16)-3.87 (n=56)	0.14-(0.26)-0.60 (n=56)	0.11-(0.24)-0.49 (n=35)
<b>17</b>	2.27-(4.83)-8.18 (n=30)	0.33-(1.12)-3.49 (n=115)	0.14-(0.23)-0.34 (n=95)	0.15-(0.28)-0.46 (n=66)
<b>19</b>	3.00-(3.48)-4.99 (n=6)	0.22-(0.76)-2.28 (n=17)	0.16-(0.22)-0.29 (n=14)	0.30-(0.39)-0.46 (n=8)
<b>23</b>	1.33-(3.16)-5.37 (n=13)	0.54-(1.12)-2.68 (n=41)	0.14-(0.22)-0.32 (n=41)	0.11-(0.26)-0.53 (n=17)
<b>26</b>	1.33-(3.94)-10.75 (n=17)	0.38-(1.09)-2.32 (n=58)	0.13-(0.25)-0.42 (n=56)	0.14-(0.30)-0.49 (n=30)
<b>29</b>	2.38-(4.40)-7.94 (n=22)	0.42-(1.23)-4.09 (n=88)	0.12-(0.22)-0.58 (n=89)	0.14-(0.27)-0.58 (n=43)

(): Media, n=Total de muestras medidas.

**Anexo III.** Medidas macroscópicas de los morfotipos (secuenciados) asociados a *Q. glaucoides* y *Q. potosina*. Se presenta la medición mínima-(media)-máxima.

<b>Morfotipo</b>	<b>Largo del sistema micorrízico (mm)</b>	<b>Largo de las puntas no ramificadas (mm)</b>	<b>Diámetro de las puntas no ramificadas (mm)</b>	<b>Diámetro del eje del sistema micorrízico (mm)</b>
<b><i>Quercus glaucoides</i></b>				
<b>3</b>	2.2-4 (n=19)	0.30-(0.86)-1.20 (n=19)	0.20-(0.25)-0.30 (n=19)	0.20-(0.26)-0.30 (n=19)
<b>4</b>	3.10-(4.6)-6.20 (n=19)	0.90-(1.79)-4.30 (n=19)	0.10-(0.29)-0.25 (n=19)	0.20-(0.21)-0.25 (n=19)
<b>12</b>	3.00-6.2 (n=19)	0.60-(1.00)-1.30 (n=19)	0.20-(0.22)-0.25 (n=19)	0.25-(0.34)-0.47 (n=19)
<b>25 (sp1)</b>	2.75-4.5 (n=19)	0.45-(1.00)-2.1 (n=19)	0.25-(0.35)-0.50 (n=19)	0.30-0.35 (n=19)
<b>25 (sp2)</b>	2.12-3 (n=19)	0.50-(0.77)-1.1 (n=19)	0.25-(0.33)-0.40 (n=19)	0.30-(0.41)-0.50 (n=19)
<b>21 (sp1)</b>	2.15-(3.28)-4.00 (n=19)	0.60-(1.41)-2.30 (n=19)	0.25-(0.28)-0.30 (n=19)	0.30-(0.32)-0.37 (n=19)
<b>21 (sp2)</b>		1.00-(2.05)-2.60 (n=19)	0.25-(0.26)-0.30 (n=19)	0.15
<b>13</b>	1.95-(4.97)-3.00	0.65-(0.90)-1.25	0.23-(0.25)-0.35	0.35-(0.38)-0.50

	(n=19)	(n=19)	(n=19)	(n=19)
<b>14</b>	2.31	0.35-(0.74)-1.25	0.20-(0.23)-0.30	0.33
	(n=19)	(n=19)	(n=19)	

(): Media, n=Total de muestras medidas.

#### Anexo IV. Secuencias obtenidas de morfotipos ectomicorrízcos

<p><b>Morfotipo 3.</b> Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 3: &gt;A31P5blo2EJ_ITS1F_A09_Placa367_079.ab1</p> <p>AGTTGTTGCTGGCCCCTGTATGGGGGCATGTGCACACTCTGTTTACACATCCACTCACACCTGTGCACAC TCTGTAGTTCTATGGCCTGGGGGGCTCTGTCCTCCTGCTGTGGTTCTATGTCTTTACACACACACTGTAAT AAAGTCTCATGGAATGTATGTCGCGTTTAAACGCAATGAAATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCT CGCATGATGAARAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT TGAACGCACCTTGGCCCTTTGGCTATTCCGAAAGGGCATGCCTGTTTGAGTATCATGAACACCTCAACTCT CATGGCTTGGCCATGAYGAGCTTGGACTTTGGGGGTCTTGTGCTGGCTTGCAGTCCCTCTCAAATAAAT TAGCTTGCCGGTGTGGTGGGATCGCGGTGTGATAACTATCTACGCTTGTGGTTTTTACCAGGTAAC CTTCAGCRATGGAGTTCACTGGAGCTATAAATGTCTCCTCAGTGAGGACAGATCTTGACCATTTGAT CTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGA</p>
<p><b>Morfotipo 4</b> Secuencia de la región de los ITS1F e ITS4 del morfotipo 4: &gt;A67P4blo1EJ__ Assembly of 2 reads: A67P4blo1EJ_ITS1F_A10_Placa367_080.ab1(reversed), A67P4blo1EJ_ITS4_A02_Placa370_016.ab1</p> <p>ACTGAAGTTGACTGGTGGAAAANCCACGAGCGCAGATAGTTATCACACTTGTGATGCCACCAAACACTG GCAAGCTGATTTGTTTGAGAGGAGCCKACCACAGGCCGGCAAGACCCCAAAGTCCAAGCTCATCGTGG CGAACCGCGAGAGTTGAGGTGTTTCATGATACTCAAACAGGCATGCCCTTCGGAATAGCCAAWGGGCGCA AGGTGCGTTCAAAGATTCKATGATTCWYTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCT TCATMGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAGTTGTATTGTATTGCGTTAAACGCGAGCACATTC CACAAGACTTTGTTACGGTGTGTGTGTAAGACATAGGACCACGGCTAGAGGGCGGAAACCCCAAGGCC ACAGAACTACAGAGGGTGCACAGGTGTGAGTGGATGCGTAAACAGAGCGTGCACGTGCTCCCGGTTTGG GGCCAGCAACAACCTCGTGTC</p>
<p><b>Morfotipos 12</b> Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 12: &gt;A67P4blo1EJ</p> <p>ACTGAAGTTGACTGGTGGAAAANCCACGAGCGCAGATAGTTATCACACTTGTGATGCCACCAAACACTG GCAAGCTGATTTGTTTGAGAGGAGCCKACCACAGGCCGGCAAGACCCCAAAGTCCAAGCTCATCGTGG CGAACCGCGAGAGTTGAGGTGTTTCATGATACTCAAACAGGCATGCCCTTCGGAATAGCCAAWGGGCGCA AGGTGCGTTCAAAGATTCKATGATTCWYTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCT TCATMGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAGTTGTATTGTATTGCGTTAAACGCGAGCACATTC CACAAGACTTTGTTACGGTGTGTGTGTAAGACATAGGACCACGGCTAGAGGGCGGAAACCCCAAGGCC ACAGAACTACAGAGGGTGCACAGGTGTGAGTGGATGCGTAAACAGAGCGTGCACGTGCTCCCGGTTTGG GGCCAGCAACAACCTCGTGTC</p>
<p><b>Morfotipo 21</b> Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 21 (A31-B2-Blo2-P19): &gt;A31P19blo2EJ_ITS1F_F12_Placa367_086.ab1</p> <p>CCTCTCACCAATTGTATATGGCGAGGACCGAAGCACCATCATTGTCCAAGAGACAGTTAGGAGCAGGCAT CCAAGGGACAGTGCTAAATCCAAAATGTAGAAACATCTTATCACATCAAGGATCAGCAAAGCGGACCCCA CTTATTTATTTGAGAGGAGCTCACTTTCACCTTTGAAAGCGAGCATGAAACCTCCAAGTCCAAAAAAGAAA AATCCTTTTCTGACCAAGAAAAGATCAAGAGAAGAAAAGGTTTTATTTTTTGTGATGATTTACGACACTCAA ACGGGTGTACCCCTCGGAATGCCAAGGGGTGCAAGGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG CAATTCACATTACGTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAA GTTGTATTGATTGCGTGTGACCGCAAAAGAAAAGAAAAGAATAACATTCTACACTGTATCAAGTTTTATGTG AAGACGCAAGCCCTCCTTGAATAAGGAGGGCCACGCGGTGATGCACA</p> <p>Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 21 (A31-B2-Blo2-P15):</p>

>A31P15blo2EJ\_ITS1F\_E12\_Placa367\_088.ab1

CTCTCACCAATTGTATATGGCGAGGACCGAAGCACCATCATTGTCCAAGAGACAGTTAGGAGCAGGCATC  
CAAGGGACAGTGCTAAATCCAAAATGTAGAAACATCTTATCACATCAAGGATCAGCAAAGCGGACCCAC  
TTATTTATTTGAGAGGAGCTCACTTTACCTTTTAAAGCGAGCATGAAACCTCCAAGTCCAAAAAGAAAA  
ATCCTTTTCTGACCAAGAAAAGATCAAGAGAAGAAAAGTTTTATTTTTGATGATTTACGACACTCAAA  
CGGGTGTACCCCTCGGAATGCCAAGGGGTGCAAGGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGC  
AATTCACATTACGTATCGCATTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAG  
TTGTATTGATTGCGTGTGACCGCAAAGAAAAGAAAAGAATAACATTCTACACTGTATCAAGTTTTATGTGA  
AGACGCAAGCCCTCCTTGAATAAGGAGGGCCACGCGGTGATGCACAAAGG

**Morfotipo 25**

Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 25 (A31-B2-Blo2-P10): >A31P10blo2EJ

CTTGAACATGCTGTTGCTGGGCTCTAGGGCCAATGTGCACGCTTGTCAATTGTTACTTTATCCAAACTGTGC  
ACAATTGTAGATCTAAAAAATTGGTGATTATTCTGGGAATAGACTGAGGAAGTCTGTGCTYTAAGCCAGC  
TTTTTGCCTTGCCCTTTTTTTCAGGTCTATGTTGCTTTTCAAAACCCTGAACCATGTTTTGTTAATAAGAAAA  
GTTGAAATAAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCCA  
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATCTTGGCTCCTTGGTATTCCA  
AGGAGCATGCCTGTTTGGAGTATCATCAAATTCCTCAACCATGCCAGTCATGGGTGTGGCTTGGATAACT  
GGGGGTTGTGGCTTTTTAGAAATGATAAAAAGCTGGCTCCTCTGAAATGCATTAGTGGCAGAGAGAAAG  
ACCACTACAGGTGTGATTAACATCTACATCTTTTGGTTATCATNTATGCTGCTTCTAAACCTAG

Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 25 (A31-B2-Blo2-P12): >A31P12blo2EJ

CATGCTGTTGCTGGGCTCTAGGGCCAATGTGCACGCTTGTCAATTGTTACTTTATCCAAACTGTGCACAATT  
GTAGATCTAAAAAATTGGTGATTATTCTGGGAATAGACTGAGGAAGTCTGTGCTYTAAGCCAGCTTTTTG  
CCTTGCCCTTTTTTTCAGGTCTATGTTGCTTTTCAAAACCCTGAACCATGTTTTGTTAATAAGAAAAGTTGA  
AATAACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA  
ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCATCTTGGCTCCTTGGTATTCCAAGGAG  
CATGCCGTGTTGAGTATCATCAAATTCCTCAACCATGCCAGTCATGGGTGTGGCTTGGATAACTGGGGG  
TTGTGGGCTTTTTAGAAATGATAAAAAGCTGGCTCCTCTGAAATGCATTAGTGGCAGAGAGAAAGACCACT  
ACAGGTGTGATTAACATCTACATCTTTTGGTTATCATGTTATGCTGCTTCTAAACCTA

**Morfotipo 13**

Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 13: >A31P1blo1EJ

TTAAGTTCAGCGGGTAGTCCTACTCGATTTGAGGTCAAGTTGTCAGYTGTYGTCCGAAGACGGTTTGAAG  
CACAGAGCTCCCGATCGGCCACCCTCTAAGTGAGGTGCCGGCGAAGACACTTATCACGCCGACTATGT  
CCAACCAAGAGGTGCACTGATCCATTTGAGGTGAGCCACGGCAAGCAGCAACACCCAAGTCCACCGCTC  
CCAATCCAAAGATCGGGAGTGTGAGAGTACAATGACACTCAAACGAGCATAACCTTCGGAATGCCAAAGG  
GTGCAAGGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCT  
CGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGTACATTAGTGCTTGCACGACAAT  
AAATTTTATTACATTGAGTTTTGTGATAAATTCCTCTGCCGGCCGAAGCTAGCAAGAGGCCAAGGGTTCAC  
AGGGTATTGGATGAAAGTACCGACGTGCACCTGCCAGGTTCTGGCCAGCACTGACGGCAACGATTTCGT  
AATCATTAAATGATCCTTCCGCAGGTTACCTACGGAACCTTGTACGACTTTTACTTCTCT

**Morfotipo 14**

Secuencia de la región de los ITS1F del morfotipo 14:

>A31P7blo2EJGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGTTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTATAAT  
GCGTGGAATGCCCTAACAGGGCTCTCTATAAACTCTAACTTACTGTCTGAGCAGGCCATGTGCCG  
TAATCTTTAACTTTTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA  
TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTGGT  
ATTCCATAGGGCATGCCTGTTGAGCGTCACTAACAAACCCATCACAAAAGAGCGTGGTATTGGCAGAAG  
TGGGTAGGGCTGGCAGTGTGGCCCCACTCTGCTGGAATGAATAGGCCGGAATGTAGACCATGGTCAT  
AGACTTTTCAAGATTTTTGGAATGCTAACTAGTTTGTAGACTTGGTCAGAATCTAGGCTATTTGGACCCC  
CATTCTGCGTAGAGCAGTAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAAT  
AA

## Anexo V

Índice de Simpson ( $\lambda$ ):

$$\lambda = \sum p^2_i$$

Índice de Shannon-Wiener ( $H$ ):

$$H = -\sum (p_i)(\ln p_i)$$

Donde

$p_i$  = abundancia proporcional de la especie  $i$ , es decir, el número de individuos de la especie  $i$  dividido entre el número total de individuos de la muestra.

a) Para cada cuadro se calcula el índice de diversidad ponderado ( $H_p$ ) en función de la frecuencia de cada especie:

$$H_p = \frac{(N \log N) - (\sum f_i \log f_i)}{N}$$

Donde  $f_i$  es la frecuencia (número de esporomas registrada para la especie  $i$ ).

b) Para cada muestra calculamos la varianza del índice de diversidad ponderado:

$$var = \frac{[\sum f_i \log^2 f_i - (\sum f_i \log f_i)^2] / N}{N^2}$$

c) Se calcula la diferencia de las varianzas de ambas muestras:

$$D_{var} = \sqrt{var_1 + var_2}$$

d) Se obtiene el valor de  $t$ :

$$t = \frac{Hp_1 - Hp_2}{D_{var}}$$

e) Se calculan los grados de libertad asociados con el valor de  $t$ :

$$g.l. = \frac{(var_1 + var_2)}{(var_1^2/N_1) + (var_2^2/N_2)}$$

f) Se busca en tablas estadísticas el valor de la distribución de  $t$  para los grados de libertad calculados (Moreno 2001).