



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA**

**CARACTERIZACIÓN DE MICROHABITATS DE HONGOS COMESTIBLES
ECTOMICORRÍZICOS EN BOSQUES DE PINO, OYAMEL Y ENCINO EN LOS
PARQUES NACIONALES IZTA-POPO Y ZOQUIAPAN**

ARMANDO LORENZANA FERNÁNDEZ

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

MAESTRO EN CIENCIAS

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO
JULIO 2008**

La presente tesis titulada: **Caracterización de microhabitats de hongos comestibles ectomicorrízicos en bosques de pino, oyamel y encino en los Parques Nacionales Izta-Popo y Zoquiapan**, realizada por el alumno: Armando Lorenzana Fernández, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO




DR. JESÚS PÉREZ MORENO

ASESOR


(13)

DR. RONALD FERRERA-CERRATO

ASESOR



DRA. BEATRIZ XOCONOSTLE CÁZARES

ASESOR



DRA. MARGARITA TORRES AQUINO

Montecillo Texcoco, México, julio 2008

CARACTERIZACIÓN DE MICROHABITATS DE HONGOS COMESTIBLES
ECTOMICORRÍZICOS EN BOSQUES DE PINO, OYAMEL Y ENCINO EN
LOS PARQUES NACIONALES IZTA-POPO Y ZOQUIAPAN

Armando Lorenzana Fernández M.C.

Colegio de Postgraduados, 2008

Los hongos ectomicorrízicos (ECM) tienen gran importancia ecológica para el mantenimiento de los ecosistemas forestales boreales y templados, además de tener una gran relevancia social en México por su comestibilidad por pobladores nativos. En el presente estudio se evaluaron las características de 92 microhabitats edáficos, como pH, clase textural, contenidos de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, potasio y capacidad de intercambio catiónico, de hongos ECM comestibles. Los suelos estudiados presentaron una textura franco-arenosa con valores de pH ácidos. En términos generales, los contenidos de N, P, K y CIC presentaron valores de bajos a medios, los cuales fueron de 0.06 a 0.74%, 1.0 a 45.0 mKg⁻¹, 0.1 a 2.8 meq/100 g y 6.3 a 56.3 meq/100 g de suelo respectivamente. Además se realizó aislamiento de una cepa del hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* y se evaluó su crecimiento en tres medios de cultivo en condiciones *in vitro* a 28°C. Adicionalmente se evaluó el incremento de biomasa fúngica del hongo ECM *H. mesophaeum* en medio líquido MNM. *H. mesophaeum* fue identificado mediante biología molecular. En medio sólido los mayores crecimientos se presentaron en el medio de papa dextrosa agar a pH 5 y 6. En medio líquido el pH se modificó de 5.7 a 2.9. Hasta donde conocemos esta es la primera ocasión que se estudian las características físicas y químicas de microhabitats edáficos de hongos comestibles ECM en el país. Así mismo, los estudios del cultivo del micelio con especies ECM nativas de México como lo es *H. mesophaeum* podrían ser utilizada en la inoculación de especies de interés forestal en condiciones de vivero. Esta información básica podría tener implicaciones prácticas a futuro en el desarrollo de cultivo de hongos comestibles ectomicorrízicos nativos de México.

Palabras clave: *ectomicorriza, comestibilidad, microhabitats edáficos, clase textural, in vitro.*

**CHARACTERIZATION OF MICROHABITATS OF WILD EDIBLE
ECTOMYCORRHIZAL MUSHROOMS IN PINE, OYAMEL AND OAK FORESTS
IN IZTA-POPO AND ZOQUIAPAN NATIONAL PARKS**

Armando Lorenzana Fernández M.C.

Colegio de Postgraduados, 2008

Ectomycorrhizal fungi (ECM) have a great ecological significance for the maintenance of temperate and boreal forest ecosystems and a great social importance in Mexico due to their edibility by native people. The present study evaluated the characteristics of 92 soil microhabitats, such as pH, textural class, content of organic matter, nitrogen, phosphorus, potassium and cation exchange capacity of edible ECM mushrooms. The studied soils showed a sandy-loam texture with acidic pH values. Overall, the contents of N, P, K and CIC showed low-to medium values, which were 0.06 to 0.74%, 1.0 to 45.0 mKg⁻¹, 0.1 to 6.3 grams and 2.8 meq/100 to 56.3 meq/100 g soil, respectively. We also conducted the isolation of a strain of an edible ectomycorrhizal fungus (*Hebeloma mesophaeum*). The mycelial growth was evaluated in three solid media at 28 ° C in conditions “in vitro”. Additionally an increasing fungal biomass in liquid medium MNM was found. *H. mesophaeum* was identified using molecular biology. In solid medium the greatest growth occurred in potato dextrose agar medium at pH 5 and 6. In liquid medium pH changed from 5.7 to 2.9. As far as we know this is the first time that the physical and chemical soil characteristics of microhabitats of edible ectomycorrhizal fungi are studied in Mexico. At the same time the studies of the cultivation of native ECM fungi of the Mexico as *H. mesophaeum* could be used in the inoculation of species of forest interest under nursery conditions. This basic information could have practical implications for future development of cultivation of edible ectomycorrhizal fungi native from Mexico.

Keywords: *ectomycorrhiza, edibility, soil microhabitats, textural class, in vitro.*

Esta tesis intitulada “**Caracterización de microhabitats de hongos comestibles ectomicorrízicos en bosques de pino, oyamel y encino en los Parques Nacionales Izta-Popo y Zoquiapan**” formo parte del proyecto **SEMARNAT-CONACyT-2004-01-45**: “Los hongos silvestres comestibles del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos” bajo la dirección del Dr. Jesús Pérez Moreno, a quien se agradece su apoyo financiero.

*No tengo talentos especiales,
pero sí soy profundamente curioso.*

Albert Einstein
(1879 – 1955)

AGRADECIMIENTOS

A mi **Padre Celestial** por haberme permitido completar este capítulo más de mi vida.

Al **Dr. Jesús Pérez Moreno** por guiarme en este gran mundo de la Ciencia, compartir sus conocimientos y ofrecerme su amistad como un **GRAN SER HUMANO**.

Gracias **Dr. JPM**.

Al **Dr. Ronald Ferrera Cerrato** por asesorarme en el mundo de la microbiología.

A la **Dra. Beatriz Xoconostle Cázares** por la asesoría en biología molecular y permitirnos realizar la identificación de *Hebeloma mesophaeum* en el Laboratorio de Biología Molecular y Biotecnología a su cargo en el CINVESTAV Ciudad de México.

A la **QBP Lidia Gómez Silva** por la explicación de los PCR y la disponibilidad ofrecida.

A todas aquellas **personas, amigos y amigas** que de una u otra forma participaron para la finalización del presente trabajo.

Al **Colegio de Postgraduados** por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios en tan Honorable Institución de Enseñanza en Ciencias Agrícolas

DEDICATORIA

Al amor de mi vida
Mi Duenda.

A mis Padres, **Armando y Ma. Elena**, por su gran apoyo incondicional que me han dado y seguirán dándome.

A mis **hermanos Nanette, Lillian y Fidel** que siempre están en mi corazón.

Contenido

	Página
Índice de cuadros	<i>vi</i>
Índice de figuras	<i>vii</i>
Capítulo 1. Introducción general	1
1.2. Literatura citada	9
Capítulo 2. Objetivos e hipótesis	13
2.1. Objetivo general	13
2.2. Objetivos específicos	13
2.3. Hipótesis	14
Capítulo 3. Características físicas y químicas de microambientes edáficos de hongos comestibles ectomicorrízicos en la región de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	15
3.1. Resumen	15
3.2. Abstract	16
3.3. Introducción	17
3.4. Materiales y Métodos	19
3.4.1. Área de estudio	19
3.4.2. Toma de muestras e identificación de especies fúngicas	20
3.4.3. Determinación de características físicas y químicas de las muestras de suelo	23
3.5. Resultados	23
3.6. Discusión	36
3.7. Conclusiones	42
3.8. Literatura citada	43
Capítulo 4. Influencia del pH en el crecimiento del hongo silvestre ectomicorrízico comestible <i>Hebeloma mesophaeum</i> (Pers.) Quél.	49
4.1. Resumen	49
4.2. Abstract	49
4.3. Introducción	50
4.4. Materiales y Métodos	51
4.4.1. Material biológico	51
4.4.2. Cultivo en medio sólido	51
4.4.3. Cultivo en medio líquido	53
4.5. Resultados y Discusión	53
4.5.1. Cultivo en medio sólido	53
4.5.2. Cultivo en medio líquido	55

	Página
4.6. Conclusiones	57
4.7. Literatura citada	58
Capitulo 5. Conclusiones generales y consideraciones finales	60

Índice de cuadros

	Página
Cuadro 3.1. Tipo de vegetación y altitud de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	24
Cuadro 3.2. Clase textural de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	26
Cuadro 3.3. Características químicas de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	32
Cuadro 3.4. Características químicas de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	34
Cuadro 4.1. Crecimiento en diámetro de la cepa de <i>Hebeloma mesophaeum</i> en tres medios de cultivo a 28°C y cinco pH después de 35 días	54

Índice de figuras

	Página
Figura 3.1. a) Panorámica de un sitio de muestreo en bosque de <i>Pinus hartwegii</i> ; b) barrena diseñada <i>ex profeso</i> para la toma de muestras de suelo; c) toma de muestra de suelo con barrena; d) primordio de <i>Amanita caesarea</i> ; e) venta de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos procedentes de los bosques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	22
Figura 3.2. Clase textural (A) y capacidad de intercambio catiónico (B) de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	28
Figura 3.3. Valores de pH (a) y contenido de la materia orgánica en porcentaje (b) de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	29
Figura 3.4. Distribución del porcentaje de nitrógeno (a) y contenido de fósforo expresado en mg Kg ⁻¹ de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	30
Figura 3.5. Distribución del contenido de potasio expresado en meq/100 g de suelo de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos	33
Figura 4.1. a) cuerpo fructífero de <i>Hebeloma mesophaeum</i> ; b) “Biorreactor” para cultivo en medio líquido de hongos ectomicorrízicos; c) crecimiento de <i>H. mesophaeum</i> en medio líquido MNM; d) crecimiento de <i>H. mesophaeum</i> en medios de cultivo sólido PDA: papa dextrosa agar; EM: extracto de malta y MNM: Melin Norkrans Modificado después de 35 días	52
Figura 4.2 Crecimiento micelial de la cepa <i>Hebeloma mesophaeum</i> en tres medios de cultivo sólido MNM: Melin Norkrans modificado; EM: extracto de malta y PDA: papa dextrosa agar a 28°C después de 35 días. Las líneas sobre las barras son errores estandar de la media. Las letras iguales, para cada pH, indican que los valores son iguales según Tukey (p = 0.05) n = 6.....	56

CAPITULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

México pertenece a uno de los siete países con mayor diversidad en el mundo, siendo los otros seis Brasil, Colombia, Ecuador, Zaire, Madagascar e Indonesia (Anónimo, 1993). Las causas que contribuyen a esta alta biodiversidad presente en el país son variadas, pero dentro de las principales se tiene su latitud, su ubicación entre dos grandes zonas biogeográficas (Neotropical y Neártica), una marcada influencia oceánica, la orografía compleja de su territorio y la diversidad de climas y de suelos (Estrada-Torres y Varela, 1996). Cuenta con 55.3 millones de hectáreas de bosque y selvas que representan más del 25 por ciento del territorio nacional. En estas aéreas existe una gran riqueza de especies vegetales y animales, muchas de las cuales son endémicas. La vegetación forestal desempeña un papel importante participando activamente en el ciclo hidrológico, calidad del aire, impedir la erosión edáfica, contribuye a regular el clima y mantener una biota en particular; así mismo, es fuente de alimento y forma parte importante de ingresos económicos para miles de familias rurales que se encuentran localizadas aledañas a estas zonas boscosas (CONAFOR, 2005).

A nivel mundial México ocupa el octavo sitio en superficie boscosa y el segundo a nivel Latinoamérica. Es el centro de diversidad del género *Pinus*, con 72 taxa (Perry, 1991) y más de 150 especies de encinos en el planeta. La producción maderable en el país se concentra en especies de pinos, contribuyendo desde 1980 con más del 80%, siguiendo en orden de importancia el encino y el oyamel. Para el 2005 la producción maderable extraída de pinos representó más del 85%, seguida la de encino con 6.6% y por último oyamel con 2.2%. (INE, 2008).

En recientes años, los ecólogos han incrementado sus esfuerzos en tratar de entender las interacciones biológicas que se presentan en el subsuelo de los ecosistemas forestales. Dentro de estas interacciones, tenemos a los hongos, los cuales forman una parte importante de la microbiota existente en cualquier suelo forestal.

Aproximadamente existen en México unas 200,000 especies de hongos, de los cuales se conocen alrededor de 7,000 (García y Garza, 2001; Guzmán, 1998a). Los hongos están formados por células filamentosas, las cuales al agruparse originan colonias para dar origen a los micelios. Estos micelios son los encargados de realizar funciones de nutrición, respiración, crecimiento, exploración, defensa y ataque participando activamente en el mantenimiento de los ecosistemas forestales.

Los bosques son sistemas complejos que poseen determinados mecanismos de homeostasis los cuales se han ido perfeccionando a lo largo de los tiempos geológicos; de esta manera es como han prevalecido a través de millones de años. Dentro de estos mecanismos se encuentra la micorriza, termino que significa “hongo-raíz”, del griego *mikes* y *rhiza*, el cual fue propuesto por el fisiólogo vegetal Antón B. Frank en 1885 (Smith y Read, 1997). El descubrimiento de fósiles de hongos micorrízicos asociados a plantas del Devónico superior, hace 400 millones de años, ha apoyado la teoría de que la micorriza desarrolló una función crucial en la invasión y colonización de las primeras plantas sobre la superficie del globo terráqueo (Pérez-Moreno, 2005).

Aproximadamente entre el 90 y 95% de las plantas terrestres forman esta asociación simbiótica en su sistema radical y de una forma natural. El principal beneficio de ambos simbioses es el intercambio nutrimental. Los hongos que establecen esta simbiosis obtienen carbono de las plantas hospederas y las plantas reciben principalmente fósforo y nitrógeno a través de las hifas asociadas. Actualmente se conocen siete tipos de simbiosis micorrízicas: arbuscular,

ectomicorriza, ectendomicorriza, arbutoide, monotropoide, ericoide y orquidoide (Smith y Read, 1997).

Una de las asociaciones micorrízicas mas importantes desde el punto de vista biogeográfico y ecológico en regiones boreales, templadas y tropicales del globo terráqueo lo conforma la ectomicorriza, vocablo propuesto por Peyronel *et al.* (1969). Este tipo de micorriza se desarrolla en las raíces cortas y absorbentes de aproximadamente 450 especies arbóreas de interés forestal como son las Pináceas (pinos), Fagáceas (haya, encino roble), Betuláceas (abedul, aile o aliso) y Salicáceas (Pera y Parlade, 2005). Los árboles que logran establecer esta simbiosis forman una franja que se extiende geográficamente desde Japón, pasando por Eurasia y Norteamérica. En el continente Asiático partes del Himalaya, China, Indonesia y Australia. Así mismo, todas las especies de *Nothofagus* de Nueva Zelanda y Sur de América forman ectomicorriza (Meyer, 1973). Este tipo de simbiosis es considerada obligada y se presenta aproximadamente en el 95% de las raíces finas de los árboles de las zonas boscosas templadas.

Las estructuras que identifican a este tipo de micorriza son: manto fúngico, red de Hartig y presencia de micelio externo vegetativo. El manto fúngico o vaina, cubre las raíces cortas del sistema radical de las plantas, el cual actúa como órgano de almacenamiento de nutrientes. Así mismo proporciona una protección contra la penetración de patógenos a la planta hospedera. Los distintos hongos ectomicorrízicos forman mantos distintivos de variado espesor, textura y color con los diferentes hospederos; puede variar de delgado a profuso y su textura puede ser algodonosa, aterciopelada o granular. La pared celular del manto hifal esta cubierta por una capa amorfa, la cual con una suave maceración deja al descubierto las finas capas de que esta constituido (microfibras). Normalmente oscila entre 20-40 μm y comprende del 20-30% del volumen de la radícula (Lakhanpal, 2000).

Las hifas emergen del manto extendiéndose hacia fuera dando origen al micelio externo, el cual forma parte de la interfase entre el componente edáfico y vegetal de los ecosistemas terrestres. El micelio externo es considerado uno de los componentes más importantes en el funcionamiento de las simbiosis ectomicorrízicas debido a que tiene la habilidad de: i) absorber y transportar nutrientes minerales y orgánicos del suelo (Pérez-Moreno y Read, 2000); ii) iniciar asociaciones ectomicorrízicas al contactar hospederos jóvenes; iii) funcionar como propágulo fúngico de los árboles asociados al ser separado el micelio por modificaciones físicas en los suelos donde desarrolla (Newton y Pigott, 1991); iv) iniciar la formación de cuerpos fructíferos como primordios y v) conectar árboles de la misma o diferente especie en la naturaleza (Pérez-Moreno y Read, 2004). El micelio externo puede variar desde filamentos escasos y casi invisibles hasta formar una gran red micelial, que tiene la capacidad de transporta agua y nutrimentos hacia el hospedero el cual los puede aprovecha de una forma más eficiente (Manoharachary y Mohan, 2000). Esta red micelial, además de participar en la absorción de nutrientes, puede ser compartida entre plantas de una o varias especies de diferentes grupos taxonómicos (Garza *et al.*, 2002).

Las hifas de los hongos ectomicorrízicos al aumentar su volumen en el suelo y explorarlo, tiene mayor acceso a fuentes nutrimentales de difícil asimilación por el sistema radical de las plantas, tal es el caso de iones fosfato, los cuales están presentes en formas poco solubles dentro de la solución del suelo. Así mismo, las hifas tienen la capacitadas de acceder a fuentes tanto orgánicas como inorgánicas de nitrógeno, fósforo y otros iones presentes en el suelo que difícilmente la raíz por si sola podría acceder (Domínguez *et al.*, 2004). De igual forma, el mismo micelio es capaz de emitir ácidos orgánicos que intervienen en la mineralización del suelo (Hoffland *et al.*, 2004). Se ha estimado que en un metro de raíz colonizada puede estar asociada con hasta ocho kilómetros de micelio externo ectomicorrízico; así mismo, puede existir suficiente micelio externo en tres metros cuadrados para darle una vuelta completa al planeta tierra por el ecuador

(Pérez-Moreno, 2005). De tal forma, el micelio externo puede ser visto emergiendo directamente del manto y colonizando el suelo o el sustrato de enraizamiento. Wallander *et al.*, (2001) reportaron que en condiciones naturales el micelio externo puede constituir aproximadamente 800 Kg ha⁻¹, representar un tercio de biomasa microbiana (Högberg y Högber, 2002) y contribuir en conjunto con las raíces ectomicorrizadas hasta con un 50% de la respiración del suelo (Högberg *et al.*, 2001).

Otra parte del micelio emitido del manto fúngico penetra a los espacios intersticiales de las células corticales de la raíz, formando un complejo sistema intercelular denominado “Red de Hartig” donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta hospedera (Smith y Read, 1997). El desarrollo de la Red de Hartig comienza cuando la hifa está en contacto con las células corticales o epidérmicas insubericizadas y se caracteriza por cambios en el crecimiento y morfología de la hifa. El diámetro de la hifa puede ser mayor o menor que la hifa del manto. La hifa se orienta transversalmente al eje de la raíz y da inicio a la bifurcación, penetrando en dirección del crecimiento de la endodermis y longitudinal a través del espacio intercelular. La dirección del crecimiento transversal es sin duda una ventaja para transportar nutrientes entre la endodermis y el manto hifal. Así mismo, se asegura el establecimiento de la hifa en el espacio intercelular de las células del cortex (Lakhanpal, 2000).

La interacción entre los hongos ectomicorrízicos y las raíces cortas de las gimnospermas y angiospermas, influyen grandemente en los procesos de los ecosistemas forestales, como por ejemplo, en el reciclo de nutrientes, mayor resistencia contra plagas y enfermedades, resistencia al estrés hídrico, mayor sobrevivencia en suelos degradados y contaminados por metales pesados (Hoff *et al.*, 2004). Se ha estimado que de un 10-15 % de la producción de los fotosintatos de los fitobiontes en los ecosistemas de bosques templados, es transferido a los simbiontes fúngicos. A pesar de este gran costo energético, la presencia de los micobiontes es obligada en los bosques

naturales templados, lo cual denota la relevancia de la simbiosis para el mantenimiento de estos ecosistemas (Brundett, 1991).

Esta simbiosis ectomicorrízica (ECM) se establece en unas 3,000 especies de plantas y cerca de 5,000 especies de hongos, principalmente basidiomicetos y ascomicetos (Smith y Read, 1997; Estrada-Torres y Santiago-Martínez, 2003). Géneros completos de árboles como *Abies*, *Pinus*, *Picea*, *Fagus* y *Quercus*, que cubren grandes superficies del planeta, no podrían sobrevivir en ausencia de la simbiosis ectomicorrízica.

Dentro de este tipo de asociaciones simbióticas, se encuentran los hongos silvestres comestibles (cuerpos fructíferos o esporocarpos) que desarrollan en este tipo de ecosistemas forestales en el periodo de lluvias. Los hongos silvestres comestibles, son consumidos en gran parte del mundo por sus reconocidas características gastronómicas (sabores y aromas) y por presentar componentes nutritivos e interesantes.

Se conocen aproximadamente unas 2,500 especies de hongos silvestres comestibles globalmente. Dentro de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos más demandados para consumo humano, se reportan a *Tuber melanosporum*, *Tuber magnatum*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* y *Amanita caesarea* consumidos en regiones Europeas como España, Francia, Italia y *Tricholoma matsutake* en Japón (Yun y Hall, 2004).

Los hongos silvestres ectomicorrízicos comestibles no solamente forman parte de una gran delicia al paladar, adicionalmente proporcionan una fuente de ingresos y de subsistencia para las personas que se dedican a su recolecta. Domínguez *et al.* (2004), reportaron que la trufa negra (*Tuber melanosporum* Vitt), la cual forma micorriza, tiene una gran importancia desde el punto de vista económico, social y ecológico en las áreas rurales de España.

En México, los hongos silvestres comestibles forman parte de su diversidad biológica, ecológica y cultural, debido a que han sido parte importante de una tradición de subsistencia la cual data de

épocas prehispánicas y se basa en el uso de los recursos naturales. Estas evidencias se encuentran plasmadas en códices indígenas de la época colonial con las descripciones de soldados y misioneros españoles del siglo XVI, y a finales del siglo XIX y principios del XX con los trabajos de algunos naturalistas extranjeros. Actualmente estas tradiciones aun se mantienen mediante prácticas familiares de recolección en épocas específicas (temporada de lluvias). Estas prácticas desarrolladas por los “hongueros”, que se les denomina así a las personas que recolectan los hongos, se realizan con fines de autoconsumo o comercialización, en los mercados populares aledaños a las regiones forestales, principalmente del centro y sur del país, de una forma similar como se realizaba en los mercados prehispánicos (Villareal y Pérez-Moreno, 1989).

Cabe señalar que el uso de los hongos con fines rituales y ceremoniales como es el caso del hongo llamado “teonanácatl” (carne del dios o carne divina) entre los grupos de habla náhuatl en el Valle de México, como los mexicas o tezcocanos aún existe, este hongo el cual no es ectomicorrízico, es identificado como *Psilocybe* con tres especies al menos: *P. mexicana*, *P. wassoni* y *P. aztecorum* (Vásquez, 2007).

En México se conocen alrededor de 220 especies de hongos silvestres comestibles, de las cuales aproximadamente el 50% establece relación simbióticas del tipo ectomicorriza con árboles de importancia forestal (Martínez-Reyes *et al.*, 2002).

Los hongos ectomicorrízicos a través de su micelio externo, pueden llegar a formar cuerpos fructíferos, tanto en la superficie del suelo (epigeo) como subterráneos (hipogeos), los cuales contiene esporas microscópicas responsables en parte, de la propagación y reproducción de los hongos. Estos cuerpos fructíferos, denominados también como carpóforos, son utilizados para la identificación de las diversas especies de hongos ectomicorrízicos (ECM) que pueden hallarse en los ecosistemas forestales, además de servir como una fuente de inóculo para la aplicación a

plántulas forestales a nivel vivero. Así mismo, pueden ser utilizados para la realización de aislamiento mediante técnicas de cultivo *in vitro* en laboratorio.

Hay pocos trabajos relacionados al estudio de las características físicas y químicas de los microhabitats edáficos donde desarrollan los hongos ectomicorrízicos, sin embargo, para el caso de las trufas se han realizado caracterizaciones de sus habitats donde prosperan. Por ejemplo, Casermeiro *et al.* (2002), realizaron la caracterización de los suelos donde desarrolla la trufa negra (*Tuber melanosporum* Vitt.) de forma natural en la provincia de Soria, España.

En el presente trabajo se estudiaron las características físicas y químicas de microhabitats edáficos de 53 especies de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en bosques de pino, oyamel y encino en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos, México. Adicionalmente se realizaron aislamientos del hongo ectomicorrízico comestible *Hebeloma* y se efectuó una caracterización de *Hebeloma mesophaem* en tres medios de cultivo sólido a 5 pH distintos.

1.2 LITERATURA CITADA

- Anónimo. 1993. México: Informe de la Situación General en materia de Equilibrio Ecológico y protección al Ambiente 1991-1992. Secretaría de Desarrollo Social e Instituto de Nacional de Ecología, México.
- Brundett, M 1991. Micorrizas in natural ecosystems. *Adv. Ecol. Res.* 21: 171-313.
- Casermeiro, M.A., L.G. García-Montero, J. Hernando y M.I. Hernando. 2002. Suelos truferos naturales. *Schironia* 1:27-30.
- CONAFOR. 2005. Revista electrónica de la Comisión Nacional Forestal. <http://www.mexicoforestal.gob.mx/nota.php?id=23>. Consultada el 25 de junio de 2008.
- Domínguez, N.J.A., Planelles, R., Rodríguez, B. J.A. 2004. Influencia de la micorrización con trufa negra (*Tuber melanosporum*) en el crecimiento, intercambio gaseoso y nutrición mineral de plántulas de *Pinus halapensis*. *Invest. Agrar: Sist. Recur. For.* 13(2): 317-327.
- Estrada-Torres, A. 2007. Ecología de los hongos ectomicorrízicos. pp120-133. *In: Ferrera-Cerato, R. Y A. Alarcón (eds.) Microbiología Agrícola. México. Trillas. 2007.*
- Estrada-Torres A. y Varela, L. 1996. Hacia el estudio de la diversidad y la conservación de germoplasma de los hongos micorrizógenos de México. pp. 1-7. *In: Zulutea, RR., Escalona, A.M.A. y trejo A.D. (eds.) Avances de la investigación micorrízica en México. Primer Simposium Nacional sobre la Simbiosis Micorrízica. Universidad Veracruzana. 1996.*
- Estrada-Torres, A. y Santiago-Martínez, Ma. G. 2003. Avances en el estudio de la ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.
- García, J.J. y Garza, O.F. 2001. Conocimiento de los hongos de la familia Boletaceae de México. *Ciencia UANL IV. 3: 336-343*
- Garza, O.F., García, J.J., Estrada, C.E. Villalón, M.H. 2002. Macromicetos, ectomicorrizas y cultivos de *Pinus culminicola* en Nuevo León. *Ciencia UANL 2: 204-210.*
- Guzmán, G. 1998a. Inventorying the fungi of México. *Biod. and Conser.* 7: 369-384.
- Hoff, J.A., Klopfenstein N.B., Tonn, J.R., McDonald, G.I., Zambino, P.J., Rogers, J.D., Peever, T.L. and Carris, L.M. 2004 Roles of woody root-associated fungi in forest ecosystem processes: recent advances in fungal identification. *Res. Pap. RMRS-RP-47. Fort Collins,*

- CO: U.S. United States Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 6 p.
- Hoffland, E., Kuyper, T.W., Wallander, H., Plassard, C., Gorbushina, A.A., Haselwandter, K., Holmström, S., Landeweert, R., Lundström, U.S., Rosling, A., Sen, R., Smits, M.M., Hees, P.A., van Breemen, N. 2004. The role of fungi in weathering. *Front Ecol Environ* 2(5): 258-264.
- Högberg, M.N., Högberg, P. 2002. Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes one-third of microbial biomass and produces, together with associated roots, half the dissolved organic carbon in a forest soil. *New Phytologist* 154: 791-795.
- Högberg, P., Nordren, A., Bechmann, N., Taylor, A.F.S., Ekblad, A., Högberg, G., Nyberg, M., Ottosson-Löfuenius, Read, D.J. 2001. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature* 411: 789-792.
- INE. 2008. http://www.ine.gob.mx/dgipea/descargas/maderas_02_elizondo_study.pdf Consultada el 25 de junio de 2008.
- Lakhanpal, T.N. 2000. Ectomycorrhizal an overview. *In: Mycorrhizal Biology*. Mukerji, K.G., B.P. Chamola, J. Single. Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. pp. 101-118.
- Manoharachary, C. and Mohan, R.J. 2000. Plant mineral nutrition through ectomicorriza. *In: Mycorrhizal Biology*. Mukerji, K.G., B.P. Chamola, J. Single. Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. pp. 135-137.
- Martín-Reyes, M., Pérez-Moreno, J., Aldrete, A. y Cetina-Alcalá, V.M. 2002. Potencial biotecnológico de especies mexicanas de hongos ectomicorrízicos comestibles para inoculantes forestales a base de esporas. pp. 103-104. *In: Pérez-Moreno, J., J. Alvarado López y R. Ferrera-Cerrato (eds.) Producción y control de calidad de inoculantes agrícolas y forestales*. Comité Mexicano de Inoculantes Agrícolas y Forestales; Colegio de Postgraduados; Instituto de Investigaciones Forestales, agrícolas y Pecuarias y Sociedad Mexicana de al Ciencia del Suelo. Texcoco, Estado de México (2002).
- Meyer, F.H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forest. *In: Marks G.C., Kozlowski, T.T. (eds.) Ectomycorrhizae: their ecology and physiology*. Academic Press. Nueva York, EEUU. pp. 79-105.
- Molina, R., H. Massicote, J.M. Trappe. 1992 Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. pp. 357-423. *In: Allen,*

- M.F. (ed.). Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal process. Chapman and Hall, New York.
- Newton, A.C., Pigott, D. 1991. Mineral nutrition and mycorrhizal infection oak and birch. I. Nutrien uptake and the development of mycorrhizal infection during seedling establishment. *New Phytol.* 117: 37-44.
- Pera, J. y Parlade, J. 2005. Inoculación controlada con hongos ectomicorrízicos en la producción de planat destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España. *Invest Agrar: Sist. Recur. For.* 14(3): 419-433.
- Pérez-Moreno, J. and Read, D.J. 2000. Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedlings via the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. *New Phytol.* 145: 301-309.
- Pérez-Moreno, J. and Read, DJ. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* 29(5): 239-247.
- Pérez-Moreno, J. 2005. Transferencia de nutrientes. Hongos ectomicorrízicos. *Scientific American Latinoamérica.* 33: 32-33.
- Pérez-Moreno, J. and Read DJ. 2000. Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedling via vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. *New Phytol.* 145: 301-309.
- Perry, J.P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press, Inc. Portland, Oregon.
- Peyronel, B., Fassi, B., Fontana, A. and Trappe, J.M. 1969. Terminology of mycorrhizae. *Mycologia* 61: 410-411.
- Smith, S.E. and Read D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd edition. Academic Press. London.
- Turjaman, M., Tama, Y., Segah, H., Limin, S.H., Osaki, M., Tawaraya, K. 2006. Increase in early growth and nutrient uptake of *Shorea seminis* seedlings inoculated with two ectomycorrhizal fungi. *Journal of Tropical Forest Science* 18(4): 243-249.
- Vasquez, Z.S. 2007. La utilización ritual de los hongos en la sociedades prehispánicas de México. pp. 13-17. *In: Zuleta, R.R., Trejo, A.D. y Trigos, L.A. (eds.). El maravilloso mundo de los hongos. Universidad Veracruzanan, Xalapa, Veracruz. México (2007).*
- Villareal, L., Pérez-Moreno, J. 1989. Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micol. Neotrop. Apl.* 2: 77-114.

- Wallander, H., Nilsson, L.O., Hagerberg, D., Baat, E. 2001. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytologist* 151: 753-760.
- Yun, W. and Hall, I.R. 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. *Can. J. Bot.* 82: 1063-1073.

CAPITULO 2

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Generar información ecológica de los microhabitats de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos, así como estudiar en cultivo “*in vitro*” una especie del género *Hebeloma*.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Identificar las especies de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos existentes en los diferentes tipos de vegetación de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.
2. Caracterizar la clase textural y los contenidos de arena, limo y arcilla de los suelos de los microambientes donde que crecen los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.
3. Efectuar una caracterización química, en términos de pH, contenido de materia orgánica, y concentraciones de nitrógeno, fósforo, potasio y capacidad de intercambio catiónico de los suelos de los microambientes en el que crecen los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.
4. Determinar el crecimiento “*in vitro*” del hongo silvestre ectomicorrízico comestible *Hebeloma mesophaeum* en tres medios de cultivo sólido en cinco condiciones de pH.

2.3 HIPÓTESIS

1. En el bosque de oyamel de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos, existe mayor diversidad de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos que en los bosques de pino y encinos.
2. Los suelos de los microambientes donde crecen los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos tienen principalmente una clase textural franca arenosa.
3. Existen especies de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos con una gran plasticidad ecológica en términos de contenidos de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y potasio de los microhabitats edáficos donde prosperan.
4. *Hebeloma mesophaeum* presenta un mayor crecimiento “*in vitro*” a pH 5 y 6 que a pH 7 y 8.

CAPITULO 3

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE MICROAMBIENTES EDAFICOS DE HONGOS COMESTIBLES ECTOMICORRÍZICOS EN LA REGION DE LOS PARQUES NACIONALES IZTA-POPO, ZOQUIAPAN Y ANEXOS

3.1 RESUMEN

Los hongos ectomicorrízicos tienen gran importancia ecológica para el mantenimiento de los ecosistemas forestales templados, además de tener una gran relevancia social en México por su comestibilidad por pobladores nativos. A pesar de ello, los estudios relacionados con las características físicas y químicas de los microhabitats edáficos donde se desarrollan los hongos comestibles ectomicorrízicos han recibido escasa atención en México. En el presente estudio se evaluó la clase textural, pH, capacidad de intercambio catiónico, y contenidos de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y potasio de 92 microhabitats en donde prosperaban 53 especies de hongos comestibles ectomicorrízicos de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos. Los suelos estudiados fueron ácidos con textura franca-arenosa. El pH varió de 4.2 a 7.2. El contenido de materia orgánica presentó un amplio intervalo, variando de 1.8 a 40.8%. En términos generales, los contenidos de N, P, K y CIC presentaron valores de bajos a medios, los cuales fueron de 0.06 a 0.74%, 1.0 a 45.0 mKg⁻¹, 0.1 a 2.8 meq/100 g y 6.3 a 56.3 meq/100 g de suelo respectivamente. Hasta donde conocemos esta es la primera ocasión que se estudian las características físicas y químicas de microhabitats de hongos comestibles ectomicorrízicos en el país. Esta información básica podría tener implicaciones prácticas a futuro en el desarrollo de cultivo de hongos comestibles ectomicorrízicos nativos de México.

Palabras clave: comestibilidad, ectomicorriza, microhabitats, textura del suelo.

3.2 ABSTRACT

Ectomycorrhizal fungi have a great ecological significance for the maintenance of temperate forest ecosystems, and a great social importance in Mexico due to their edibility by native people. Despite this, studies related to the physical and chemical characteristics of the soil microhabitats where ectomycorrhizal edible fungi proliferate have received little attention in Mexico. The present study evaluated the textural class, pH, cation exchange capacity and content of organic matter, nitrogen, phosphorus and potassium of 92 microhabitats where 53 species of edible ectomycorrhizal fungi proliferate in the National Parks Izta-Popo and Zoquiapan. The studied soils were acidic with sandy-loam texture. The value of pH ranged from 4.2 to 7.2. The content of organic matter showed a wide range, ranging from 1.8 to 40.8%. Overall, the contents of N, P, K and CIC were low-to medium, and ranged from 0.06 to 0.74%, 1.0 to 45.0 mKg⁻¹, 0.1 to 2.8 meq/100 g and 6.3 to 56.3 meq/100 g soil respectively. As far as we know this is the first time that the physical and chemical characteristics of microhabitats of edible fungi ectomycorrhizal are studied in Mexico. This basic information could have practical implications for future development of cultivation of edible ectomycorrhizal fungi native from Mexico.

Keywords: *edibility, ectomycorrhiza, microhabitats, soil texture.*

3.3 INTRODUCCIÓN

La ectomicorriza (ECM) se establece aproximadamente entre 5,000 especies de hongos principalmente del grupo de Basidiomicetes y Ascomicetos, y unas 3,000 especies de plantas, dentro de las cuales se encuentran algunas de interés forestal como son pinos, encinos, eucaliptos, hayas y abedules, las cuales dominan las regiones templadas y boreales del planeta, aunque también las podemos tener presentes en ecosistemas tropicales (Pérez-Moreno, 1995). La ECM es una simbiosis que conecta dos importantes subsistemas: el suelo y las plantas. La ECM ayuda a regular las cantidades de nutrimentos (degradados a partir de sustancias orgánicas, por hongos y bacterias para ser reciclados) que se traslocan del suelo a los fitobiontes. Controla las cantidades de sustancias rizosféricas, principalmente carbohidratos, que son traslocados de los árboles al suelo. De esta forma constituye un importante canal en el flujo de energía de los fitobiontes a los micobiontes y viceversa, permitiendo o no dicho flujo de acuerdo con las condiciones ecológicas presentes. La ECM tiene una estrecha relación con tres elementos existentes en los ecosistemas forestales templados, los cuales son: el ambiente físico-químico, poblaciones vegetales y la biota del suelo (Pérez-Moreno, 1995).

Hobbie (2006), reportó que alrededor del 20–40% de las raíces ectomicorrizadas están compuestas de tejido fúngico. Rosling (2003) reportó que en los suelos forestales boreales, en el horizonte orgánico y por arriba del horizonte mineral se encuentran la mayor densidad de raíces finas las cuales son más susceptibles a ser micorrizadas, comúnmente más del 95%. Los hongos ectomicorrízicos exudan polisacáridos, de forma similar a los emitidos por el sistema radical de las plantas, teniendo como función principal proporcionar una estabilidad en los microagregados y micro poros del suelo, contribuyendo de esta forma a mejorar la estructura del suelo y tener condiciones más propicias para el desarrollo de los hongos ectomicorrízicos (Molina *et al.*,

2001). La simbiosis ectomicorrízica tiene una gran importancia ecológica en los bosques de pinos, dado que resulta fundamental la translocación nutrimental del suelo hacia los árboles.

Por miles de años las fructificaciones localizadas en la parte superior del suelo, originadas por diversos hongos, dentro de estos los ectomicorrízicos, han constituido una fuente de alimento para el ser humano en regiones boscosas templadas del globo terráqueo. Dentro de estos hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos se tiene algunos géneros como *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Gomphus*, *Hebeloma* entre otros. En México, la actividad de recolecta y comercialización de hongos comestibles data de épocas prehispánicas. Así mismo, los hongos en México son utilizados en diversas áreas geográficas del país con fines religiosos, medicinales, como insecticidas y alimento, tradición que ha quedado plasmada en códices indígenas y en crónicas y escritos de la época colonial (Montoya, 2003). En el país se conocen aproximadamente 204 especies de hongos silvestres comestibles, los cuales forman parte de la diversidad biológica, ecológica y cultural del país (Villareal y Pérez-Moreno, 1989). El caso de las trufas en Europa o del matsutake en Asia y Norte América, genero ganancias de alrededor de 2 billones de dólares por año en la década de los 90's. Igualmente en el sur de Corea y China se generaron 80 millones de dólares por año para las poblaciones rurales. China por si sola exportó entre 500 a 600 toneladas de matsutake por año a Japón en el mismo periodo de los 90's. Así mismo, Canadá, Estados Unidos y México exportaron de 500 a 700 toneladas por año de matsutake blanco (*Tuber magnivelare*) a Japón (Yun y Hall, 2004). De forma similar, Daza *et al.* (2007), reportaron en su estudio realizado en el Parque Natural Sierra de Aracene y Picos de Aroche, España, que el precio medio de *Amanita ponderosa* era de 12 euros por kilogramo en el año 2006.

Mundialmente, los trabajos enfocados al estudio de las características físicas y químicas donde prosperan los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos ha sido escasa. Sin embargo se han realizado algunos trabajos relacionados a las trufas (*Tuber* spp.) como el reportado por Renowden

(2005). En el presente trabajo, se estudiaron las características físicas y químicas de microhabitats edáficos de 53 especies de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en bosques de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos, realizando muestreos de suelos donde existían fructificaciones de hongos ectomicorrízicos comestibles.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Área de estudio

El estudio se efectuó en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos los cuales se ubican en el centro de México, en el Sistema Neovolcánico Transmexicano el cual se originó durante el terciario por actividad volcánica. El área se localiza entre las coordenadas geográficas 18° 59' y 19° 16' latitud norte y 98° 34' y 98° 16' de longitud oeste, así mismo se incluyen dos de las montañas más altas de México, el Iztaccihuatl, palabra de origen náhuatl que quiere decir “Mujer Blanca” y el Popocatepetl, “Monte que Humea”, con altitudes de 5,280 y 5,482 msnm respectivamente (Parque Nacional Izta-Popo, 2008). Limita con los estados de México, Puebla y Morelos. Abarca una superficie aproximada de 45,097 hectáreas. Los municipios que integran el parque son: Texcoco, Iztapaluca, Tlalmanalco, Amecameca, Atlautla y Ecatzingo en el Estado de México; Tlahuapan, San Salvador el Verde, Domingo de Arenas, San Nicolás de los Ranchos y Tochimilco en el Estado de Puebla; y en el Estado de Morelos Tetela del Volcán. El tipo de suelos en dichas áreas son clasificados como andosoles, suelos derivados de cenizas volcánicas, aunque podemos encontrar algunos regosoles. Los tipos de vegetación en el área incluyen bosques de pinos (*Pinus teocote*, *P. ayacahuite*, *P. leiophylla*, *P. hartweggi* (Figura 3.1a), *P. montezumae*, *P. pseudostrobus*), de oyamel (*Abies religiosa*), de encino (*Quercus* spp.) y bosques mixtos de *Pinus* spp., *Alnus* spp. y *Quercus* spp. Se muestrearon áreas desde 2,718 a 3,805 msnm, estas últimas en el límite de la vegetación arbórea en México en bosques de *Pinus*

hartweggi. El principal tipo de clima en la zona de estudio es C(m)(w)b(e)g el cual es templado húmedo con lluvias en verano, con temperatura media anual entre 12 y 18°C y precipitación media anual de 659.3 mm. Existiendo en las partes mas altas clima ETHw (frío, con temperatura media anual entre -2 y 5°C) y EFHw (muy frío, temperatura media anual menor a -2°C) (García, 1988).

3.4.2 Toma de muestras e identificación de especies fúngicas

El muestreo se realizó durante los meses de agosto a noviembre del 2005. Las localidades que se recorrieron fueron las siguientes: i) Hueyacatitla, Puebla; ii) Paraje La Longaniza, La Cruz de Cercatenco y Rancho Viejo, Tlaloc, Estado de México; iii) Zoquiapan, Estado de México; iv) Paraje El Candelerero, Izta-Popo, Estado de México y v) Paraje La Cruz, Izta-Popo, Estado de México. En este periodo se efectuaron muestreos, los cuales consistieron en 10 transectos cada uno de 400 m, acompañados de recolectores locales de hongos silvestres comestibles (hongueros) para confirmar la comestibilidad de las especies recolectadas. La mecánica seguida para realizar el muestreo consistió en recolectar todas las especies de hongos comestibles ectomicorrízicos localizados en los transectos, auxiliándose de canasta, cuchillo y papel encerado. Posteriormente una vez recolectado el hongo, en la base de cada especie se tomó una muestra de suelo de 15 cm de diámetro por 20 cm de profundidad, con el auxilio de una barrena diseñada *ex profeso* para dicho fin (Figura 3.1b y c). Las muestras de suelo fueron guardadas en bolsas de plástico y se colocaba un número de identificación el cual coincidía con el hongo recolectado. Los muestreos así efectuados generaron un total de 92 muestras (soil cores) de microhabitats edáficos donde crecían los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos de la región. Cada muestra fue geoposicionada utilizando un GPS (Global Position System) III Plus de Garmin. Adicionalmente, se anotó el tipo de vegetación donde prosperaba cada hongo. La identificación de los hongos se

efectuó mediante una caracterización macro y micromorfológica siguiendo las técnicas convencionales de micología. Los ejemplares fueron deshidratados y herborizados realizándose “voucher collections” las cuales son conservadas en la colección del Área de Microbiología, Edafología del Colegio de Postgraduados en Texcoco, México. El carácter ectomicorrízico de las especies de hongos, se basó en Molina *et al.* (1992) y los autores de las especies en Index Fungorum (2008).



Figura 3.1. a) Panorámica de un sitio de muestreo en bosque de *Pinus hartweggi*; b) barrena diseñada *ex profeso* para la toma de muestras de suelo; c) toma de muestra de suelo con barrena; d) primordio de *Amanita caesarea*; e) venta de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos procedentes de los bosques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

3.4.3 Determinación de características físicas y químicas de las muestras de suelo

Las 92 muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente bajo sombra y se cribaron en tamiz del No. 10 (2.00 mm). Se determinó pH utilizando una suspensión suelo:agua 1:2 (CSTPA, 1980), la textura con hidrómetro (Bouyoucus, 1951), fósforo disponible según Olsen *et al.* (1954), potasio y capacidad de intercambio catiónico siguiendo el método del Centurión con acetato de amonio 1 N pH 7 (Holmgren *et al.*, 1977). Para la determinación de nitrógeno total (Bremner, 1965) y materia orgánica (Allison, 1965) las muestras previamente fueron cribadas en un tamiz del No. 30 (0.59 mm).

3. 5 RESULTADOS

Se recolectaron 53 especies de hongos silvestres ectomicorrízicos comestibles, las cuales están incluidas en 23 géneros. Los géneros que presentaron un mayor número de especies fueron *Amanita*, *Boletus*, *Lactarius* y *Ramaria*, con 7, 6, 4 y 4 especies, respectivamente (Cuadro 3.1). Las especies que se recolectaron con mayor frecuencia en la zona de estudio fueron *Amanita rubescens* var. *rubescens* Pers., *Russula delica* Fr., *Xerocomus* sp., *Suillus* aff. *pseudobrevipes* A.H. Sm. & Thiers, *Gomphus floccosus* (Schwein.) Singer y *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton. Las altitudes a las que fueron recolectados los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos, como las muestras de suelo, reportados en el presente trabajo fueron de los 2,718 a 3,805 m (Cuadro 3.1).

El mayor número de especies de hongos ectomicorrízicos se recolectaron en bosque de *Pinus hartwegii* con 37, seguido de bosque de *Abies religiosa* con 22, ecotono *Pinus-Abies* con 13, *Quercus* spp., *P. teocote*, *P. montezumae*, *P. leiophyla* y *P. ayacahuite* con 8, 5, 3, 2 y 2 respectivamente.

Cuadro 3.1. Tipo de vegetación y altitud de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos

<i>Especie de hongo</i>	Tipo de vegetación ¹	Altitud (msnm)	Frecuencia [§]
<i>Amanita franchetti</i> (Boud.) Fayod	Ph, Q	3455-3670	3
<i>Amanita caesarea</i> (Scop.) Pers.	Pt	2801-2843	2
<i>Amanita crocea</i> (Qué.) Singer	Ph	3580	1
<i>Amanita fulva</i> (Schaeff.) Fr.	Ph	3621	1
<i>Amanita rubescens</i> var. <i>rubescens</i> Pers.	Q, Ar, AP, Ph	3002-3805	6
<i>Amanita vaginata</i> (Bull.) Lam.	Q	2747	1
<i>Amanita</i> sp.	Ph	3098	1
<i>Boletus</i> aff. <i>luridus</i> Schaeff.	Ar, Ph	3518-3664	2
<i>Boletus</i> aff. <i>subvelutipes</i> Peck	Ar	3006	1
<i>Boletus bicolor</i> Masee	Ar	3570	1
<i>Boletus clavipes</i> (Peck) Pilát & Dermek	AP, Ar	2994-3121	2
<i>Boletus edulis</i> Bull.	Ph	3684	1
<i>Boletus</i> sp.	AP	3201	1
<i>Cantharellus cibarius</i> var. <i>cibarius</i> Fr.	Ph	3753	1
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	Ar	3381	1
<i>Clavaria vermicularis</i> Scop.	Ar	3805	1
<i>Clavulina cinerea</i> aff. <i>cinerea</i> (Bull.) J. Schröt.	Ph	3626	1
<i>Clavulina cristata</i> (Holmsk.) J. Schröt	Ph	3656	1
<i>Chroogomphus rutilus</i> (Schaeff.) O.K. Mill.	Pm	3444	1
<i>Gomphus floccosus</i> (Schwein.) Singer	Ar, AP	2970-3376	4
<i>Gyromitra infula</i> (Schaeff.) Qué.	Ar	3805	1
<i>Hebeloma alpinum</i> (J. Favre) Bruchet	Ph	3641	1
<i>Hebeloma leucosarx</i> P.D. Orton	Ar, PA	3201-3590	2
<i>Hebeloma mesophaeum</i> (Pers.) Qué.	AP	3003	1
<i>Helvella elastica</i> Bull.	Ph	3060	1
<i>Helvella lacunosa</i> Afzel	Ar	3022-3377	2
<i>Hygrophorus chrysodon</i> (Batsch) Fr.	Ph	3672	2
<i>Laccaria</i> aff. <i>ochropurpurea</i> (Berk.) Peck	AP	3453	1
<i>Laccaria bicolor</i> (Maire) P.D. Orton	Q, Ph, Pm	3406-3640	4
<i>Laccaria laccata</i> (Scop.) Cooke	Ar, Ph	2970-3406	2
<i>Lactarius</i> aff. <i>Deliciosus</i> (L.) Gray	AP	3483	1
<i>Lactarius deliciosus</i> (L.) Gray	Ph	3655	1
<i>Lactarius salmonicolor</i> R. Heim & Leclair	AP, Ph, Pl,	2819-3540	3
<i>Lactarius</i> sp.	Ph	3621-3648	2

¹Ar= *Abies religiosa*; Pt= *Pinus teocote*; Pl= *Pinus leiophylla*; Pa= *Pinus ayacahuite*; Ph= *Pinus hartweggi*; Pm= *Pinus montezumae*; Q= *Quercus* spp.; AP= Ecotono *Abies* con *Pinus* spp. [§] en 10 transectos de 400 metros.

Continuación cuadro 3.1.

<i>Especie de hongo</i>	Tipo de vegetación ¹	Altitud (msnm)	Frecuencia [§]
<i>Lycoperdon</i> sp.	Ph	3592-3676	2
<i>Macropodia macropus</i> (Pers.) Fuckel	Ph	3656	1
<i>Morchella esculenta</i> (L.) Pers.	Ph	3075	1
<i>Morchella</i> sp.	Ar	3377	1
<i>Pulveroboletus auriporus</i> (Peck) Singer	Q	2763	1
<i>Ramaria</i> aff. <i>pallida</i> (Schaeff.) Ricken	AP	3118	1
<i>Ramaria rubiginosa</i> Marr & D.E. Stuntz	Ar	3044	1
<i>Ramaria</i> sp.	Ar , Ph	3377-3490	2
<i>Ramaria cystidiophora</i> (Kauffman) Corner	Ph	3790	1
<i>Russula</i> aff. <i>mexicana</i> Burl	Q	2718	1
<i>Russula delica</i> Fr.	Q, AP, Ph, Pt, Ar	2740-3678	6
<i>Russula</i> sp.	Ar	3501	1
<i>Suillus</i> aff. <i>pseudobrevipes</i> A.H. Sm. & Thiers	Pl , Ph , Pm, Pt	2793-3673	5
<i>Tricholoma</i> aff. <i>saponaceum</i> (Fr.) P. Kumm.	Ar	3377	1
<i>Tricholoma</i> aff. <i>ustale</i> (Fr.) P. Kumm.	Ar	3526	1
<i>Xerocomus</i> aff. <i>badius</i> (Fr.) Kühner	Q	2742	1
<i>Xerocomus badius</i> (Fr.) Kühner	AP	3568	1
<i>Xerocomus leonis</i> (D.A. Reid) Bon	Pa	3114	1
<i>Xerocomus</i> sp.	AP, Ar, Ph, Pa	3012-3659	6

¹Ar= *Abies religiosa*; Pt= *Pinus teocote*; Pl= *Pinus leiophylla*; Pa= *Pinus ayacahuite*; Ph= *Pinus hartweggi*; Pm= *Pinus montezumae*; Q= *Quercus* spp.; AP= Ecotono *Abies* con *Pinus* spp. [§] en 10 transectos de 400 metros.

La mayoría de los microhabitats edáficos estudiados (84%), presentaron una textura franco arenosa. En menor proporción existieron microhabitats con clase textural franco arcillosa (1%) (Figura 3.2A). El pH varió de 4.2 a 7.2, observándose que la mayoría de hongos (71%) prosperan a pH entre 5.1 a 6.0 (Figura 3.3a). En el Cuadro 3.3 podemos apreciar que el género *Amanita* tiene una gran plasticidad, presentándose en un intervalo de pH entre 4.2 a 6.4. De forma semejante, la especie *Hebeloma leucosarx*, desarrolla en ambientes ácidos con pH 5.7 como neutros con un pH de 7.2. La especie que presentó el valor de pH mas bajo fue *Amanita rubescens*, con 4.2.

Cuadro 3.2. Clase textural de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos

Especie de hongo	Arena Limo Arcilla			Clase textural ¹
	(%)			
<i>Amanita franchetti</i>	59-73	18-26	9-15	FA
<i>Amanita caesarea</i>	61-66	16-22	17-18	FA
<i>Amanita crocea</i>	76	10	14	FA
<i>Amanita fulva</i>	61	22	17	FA
<i>Amanita rubescens</i> var. <i>rubescens</i>	53-74	16-30	8-23	FA, Far, F
<i>Amanita vaginata</i>	53	24	24	Far
<i>Amanita</i> sp.	61	28	11	FA
<i>Boletus</i> aff. <i>luridus</i>	54-76	14-30	10-16	FA
<i>Boletus</i> aff. <i>subvelutipes</i>	65	25	11	FA
<i>Boletus bicolor</i>	55	28	16	FA
<i>Boletus clavipes</i>	65-68	19-22	13-14	FA
<i>Boletus edulis</i>	79	12	8	ArF
<i>Boletus</i> sp.	68	18	14	FA
<i>Cantharellus cibarius</i> var. <i>cibarius</i>	73	18	9	FA
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	67	20	13	FA
<i>Clavaria vermicularis</i>	70	18	12	FA
<i>Clavulina cinerea</i> aff. <i>cinerea</i>	75	16	9	FA
<i>Clavulina cristata</i>	74	16	11	FA
<i>Chroogomphus rutilus</i>	61	24	15	FA
<i>Gomphus floccosus</i>	64-72	15-22	11-18	FA
<i>Gyromitra infula</i>	71	16	13	FA
<i>Hebeloma alpinum</i>	70	22	9	FA
<i>Hebeloma leucosarx</i>	53-70	18-32	12-15	FA
<i>Hebeloma mesopheum</i>	65	23	12	FA
<i>Helvella elastica</i>	69	22	9	FA
<i>Helvella lacunosa</i>	63-69	18-25	12-13	FA
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	75	14	11	FA
<i>Laccaria</i> aff. <i>ochropurpurea</i>	52	32	16	F
<i>Laccaria bicolor</i>	50-71	18-32	9-22	FA, F
<i>Laccaria laccata</i>	67-70	19-22	11	FA
<i>Lactarius</i> aff. <i>deliciosus</i>	58	24	17	FA
<i>Lactarius deliciosus</i>	68	22	10	FA
<i>Lactarius salmonicolor</i>	60-64	19-26	14-17	FA
<i>Lactarius</i> sp.	60-74	18-20	9-19	FA
<i>Lycoperdon</i> sp.	55-72	18-30	10-15	FA
<i>Macropodia macropus</i>	72	18	11	FA

¹ FA = franco-arenoso; Far = franco-arcillo-arenoso; F = franco; ArF = arena-francosa; Farc = franco-arcilloso.

Continuación cuadro 3.2.

Especie de hongo	Arena	Limo	Arcilla	Clase textural ¹
	(%)			
<i>Morchella esculenta</i>	75	17	7	ArF,
<i>Morchella</i> sp.	67	20	13	FA
<i>Pulveroboletus auriporus</i>	57	22	21	Far
<i>Ramaria</i> aff. <i>pallida</i>	70	14	16	FA
<i>Ramaria rubiginosa</i>	70	19	11	FA
<i>Ramaria</i> sp.	56-69	20-28	11-16	FA
<i>Ramaria cystidiophora</i>	69	20	11	FA
<i>Russula</i> aff. <i>mexicana</i>	53	24	23	Far
<i>Russula delica</i>	47-80	10-28	8-32	FA, Far, ArF
<i>Suillus</i> aff. <i>pseudobrevipes</i>	61-75	12-26	11-19	FA
<i>Tricholoma</i> aff. <i>saponaceum</i>	67	22	11	FA
<i>Tricholoma</i> aff. <i>ustale</i>	50	32	18	F
<i>Xerocomus</i> aff. <i>badius</i>	43	26	32	Farc
<i>Xerocomus badius</i>	62	24	14	FA
<i>Xerocomus leonis</i>	66	22	12	FA
<i>Xerocomus</i> sp.	60-69	19-30	9-14	FA

¹ FA = franco-arenoso; Far = franco-arcillo-arenoso; F = franco; ArF = arena-francosa; Farc = franco-arcilloso.

El contenido de materia orgánica en los microhabitats edáficos estudiados presentó un amplio intervalo variando de 1.8 a 40.8%, pudiéndose observar que la mayoría de muestras (54%), contenían entre el 2.6 a 7.5% de materia orgánica (Figura 3.3.b). La especie de hongo silvestre ectomicorrízico que presentó el mayor porcentaje de materia orgánica fue *Amanita rubescens*, con 40.8% desarrollándose en bosque de *Abies religiosa*. De forma similar como ocurrió en el pH, *Amanita rubescens* tiene una gran plasticidad en desarrollar en distintos porcentajes (3.0 a 40.8%) de materia orgánica. Así mismo, los géneros *Lactarius* y *Xerocomus* presentaron una plasticidad amplia con 5.4 a 40.5% y 3.1 a 20.8% respectivamente de materia orgánica, desarrollándose en ecotonos de *Pinus* y *Abies*; seguidos de los géneros *Laccaria*, *Boletus* y *Russula* (Cuadro 3.3).

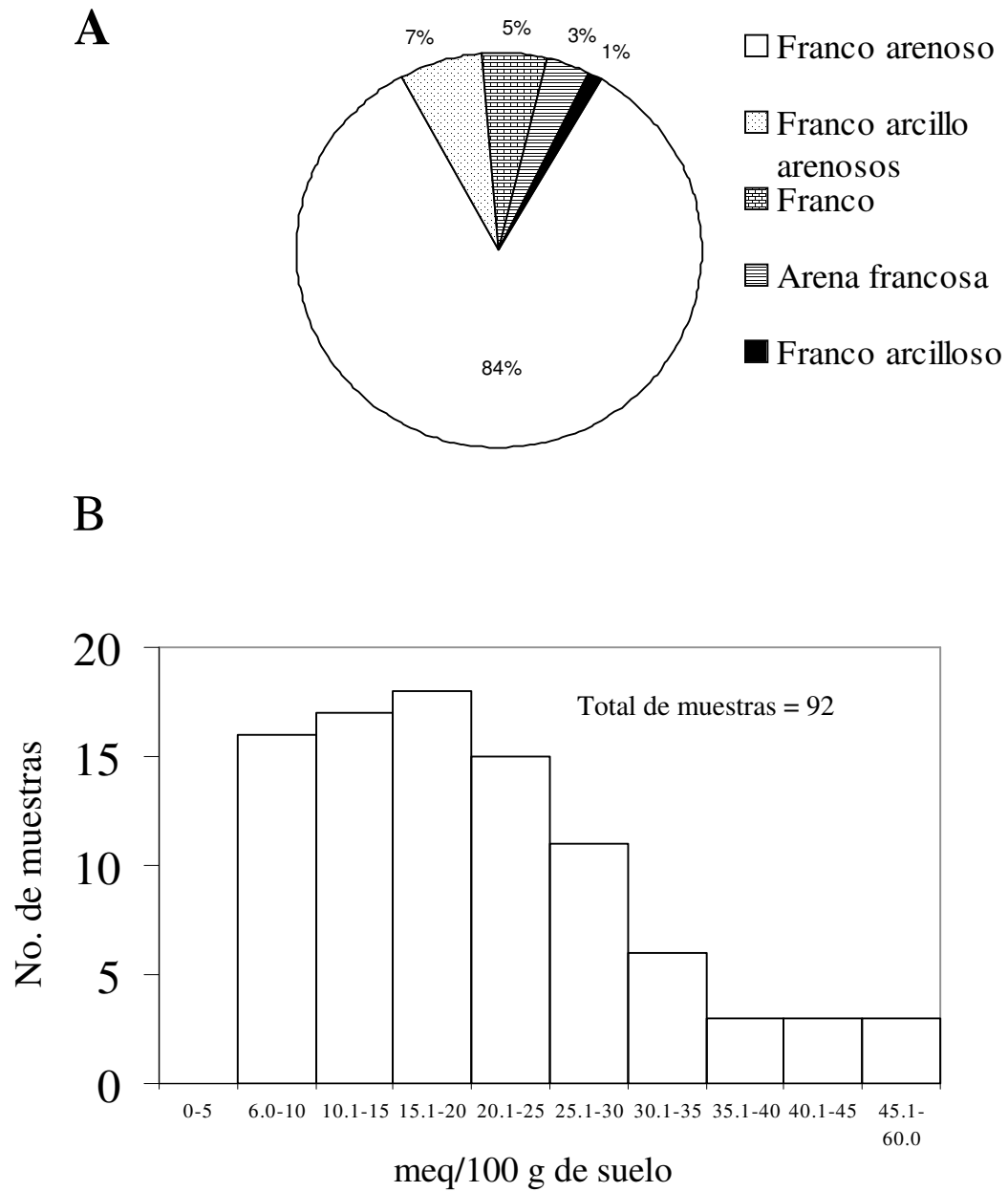


Figura 3.2. Clases texturales (A) y capacidad de intercambio catiónico (B) de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

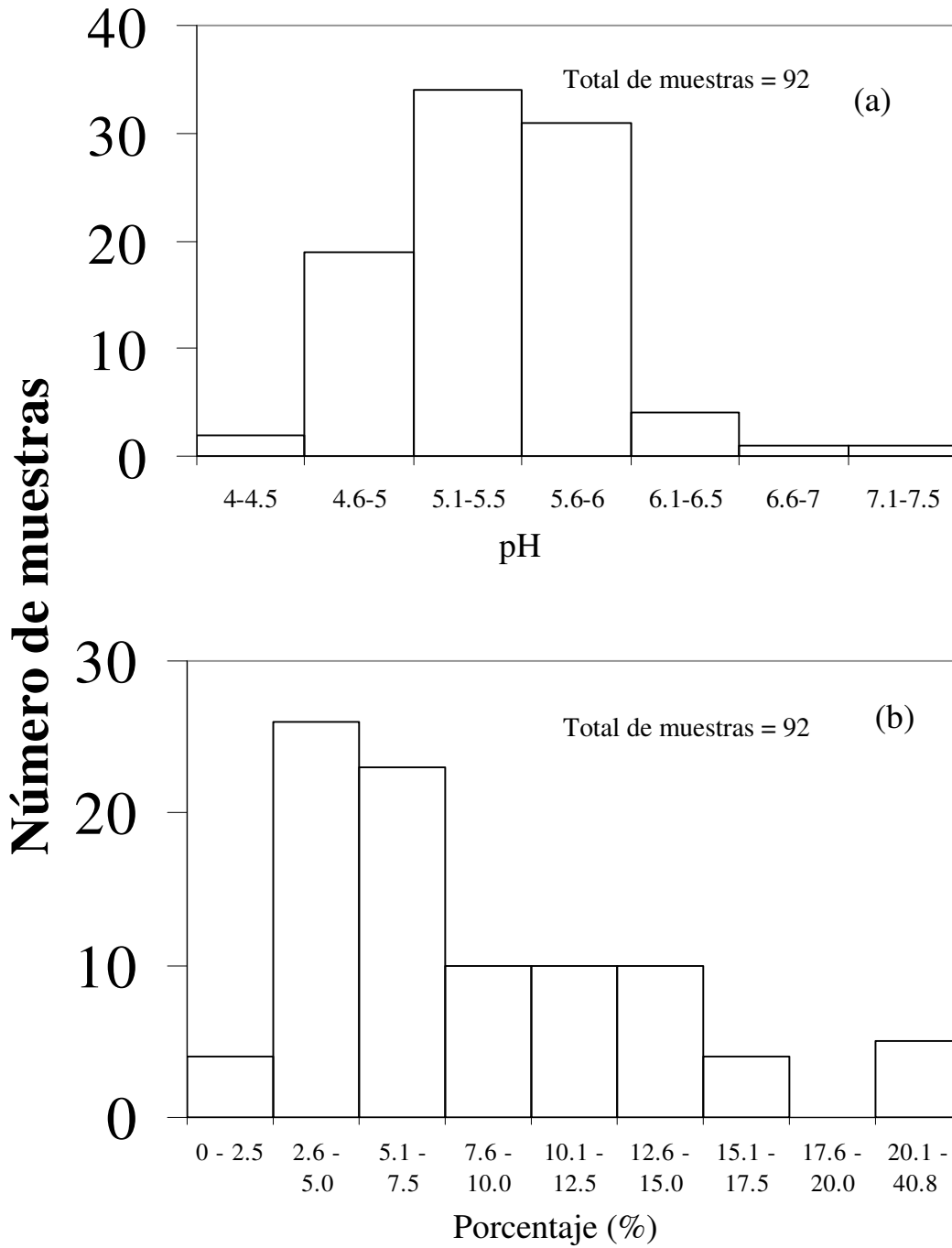


Figura 3.3. Valores de pH (a) y contenido de la materia orgánica en porcentaje (b) de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

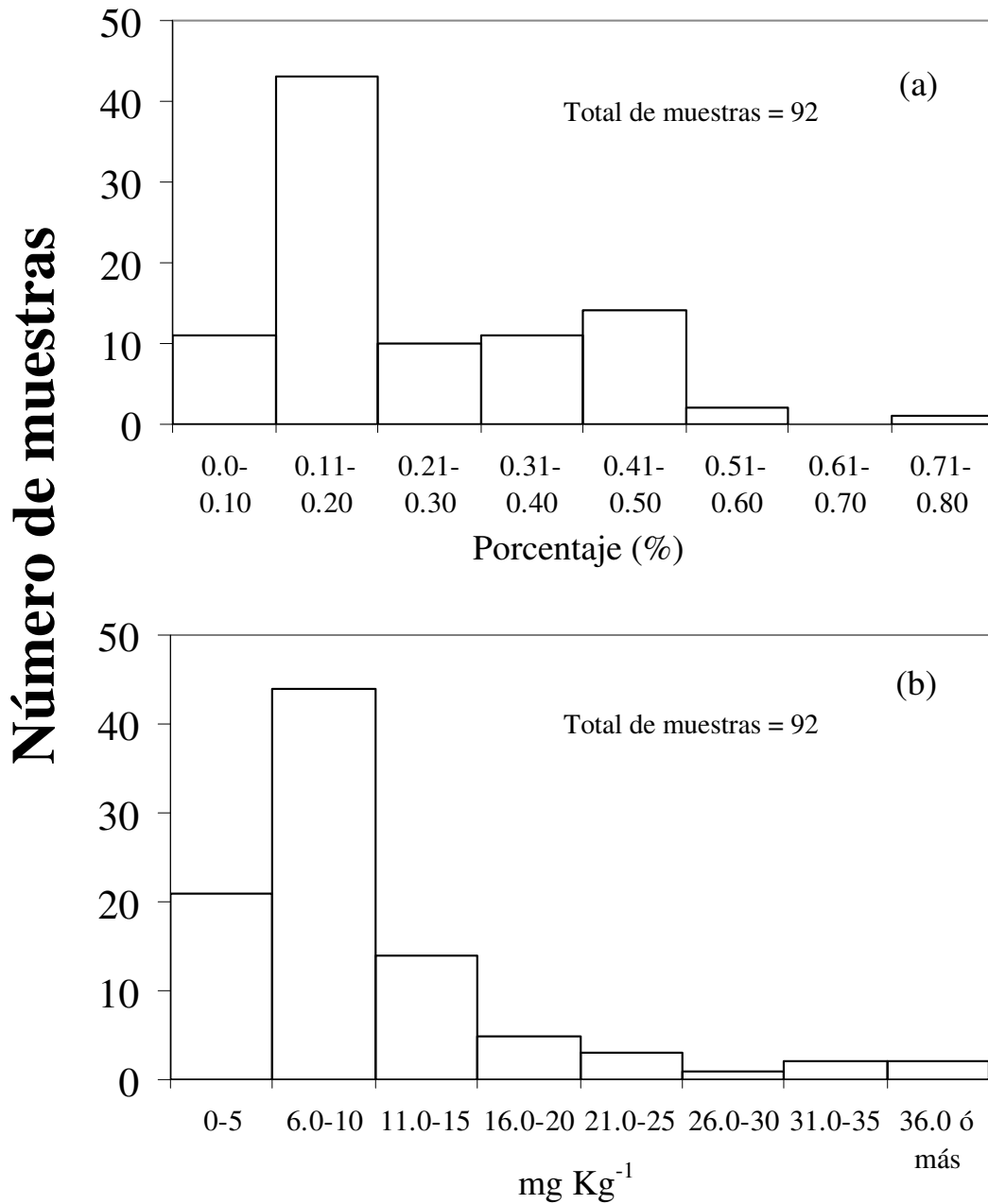


Figura 3.4. Distribución del porcentaje de nitrógeno (a) y contenido de fósforo expresado en mg Kg⁻¹ de suelo (b) de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

El porcentaje de nitrógeno vario de 0.06 a 0.74%. El mayor número de muestras presentaron de 0.11 a 0.20% de nitrógeno (Figura 3.4a). El género que presento una mayor variabilidad fue *Lactarius* con 0.14 a 0.74% de nitrógeno seguido de *Amanita* con 0.08 a 0.58%. En el caso de los géneros *Ramaria*, *Russula* y *Xerocomus* presentaron rangos muy semejantes. Algo muy similar se pudo observar en los géneros *Hebeloma* e *Hygrophorus* (Cuadro 3.4).

En el caso del contenido de fósforo, se pudo observar que la mayor concentración de muestras se presentaron en valores de 6.0 a 10.0 ppm (48%) (Figura 3.4.b). El género con mayor amplitud fue *Hygrophorus* con 4 a 70 ppm. Respecto al potasio la mayor cantidad de muestras de los microhabitats edáficos estudiados (35%), presentaron una cantidad relativamente baja variando de 0.0 a 0.2 meq/100g de suelo (Figura 3.5). Sin embargo, el género *Russula* presentó un rango amplio de distribución, desde 0.1 hasta 2.8 meq/100g de suelo (Cuadro 3.4).

La capacidad de intercambio catiónico vario de 6.3 a 56.3 meq/100g de suelo presentándose el mayor numero de muestras (55%) entre los rangos de 6.3 a 20.0 meq/100g de suelo (Figura 3.2.B). Así mismo, el género *Amanita* se comporto con una gran plasticidad, variando de 7.1 a 56.3 meq/100g de suelo (Cuadro 3.3).

Se detectó que algunas de las especies estudiadas son comercializadas en mercados locales (Figura 3.1e).

Cuadro 3.3. Características químicas de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos

Especie de hongo	pH	M.O. (%)	CIC (meq/100 g)
<i>Amanita franchetti</i>	5.0-5.5	5.0-14.5	9.8-28.4
<i>Amanita caesarea</i>	5.5-5.6	2.5-6.5	21.2-23.9
<i>Amanita crocea</i>	4.6	6.1	14.1
<i>Amanita fulva</i>	4.6	29.6	39.8
<i>Amanita rubescens</i>	4.2-6.4	3.0-40.8	7.1-56.3
<i>Amanita vaginata</i>	5.3	11.1	30.0
<i>Amanita sp.</i>	6.0	9.3	16.1
<i>Boletus aff. luridus</i>	5.4-5.6	4.4-15.1	6.3-32.1
<i>Boletus aff. subvelutipes</i>	5.6	4.1	13.8
<i>Boletus bicolor</i>	5.2	10.4	21.6
<i>Boletus clavipes</i>	5.5-5.7	5.5-6.2	16.3-20.7
<i>Boletus edulis</i>	5.5	4.1	6.3
<i>Boletus sp.</i>	5.8	4.5	17.6
<i>Cantharellus cibarius</i>	5.7	6.0	10.4
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	4.6	4.1	16.6
<i>Clavaria vermicularis</i>	5.2	8.1	10.1
<i>Clavulina cinerea</i>	4.7	5.7	9.1
<i>Clavulina cristata</i>	5.6	4.0	8.8
<i>Chroogomphus rutilus</i>	4.9	16.1	33.0
<i>Gomphus floccosus</i>	4.8-5.7	4.5-8.5	12.0-25.9
<i>Gyromitra infula</i>	4.9	5.4	13.3
<i>Hebeloma alpinum</i>	5.0	3.8	8.4
<i>Hebeloma leucosarx</i>	5.7-7.2	8.2-12.4	22.1-34.6
<i>Hebeloma mesophaeum</i>	6.8	5.8	19.5
<i>Helvella elastica</i>	6.0	12.0	17.9
<i>Helvella lacunosa</i>	6.1-6.2	5.2-8.4	23.9-24.8
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	5.7-5.8	6.0-14.1	10.3-41.5
<i>Laccaria aff. ochropurpurea</i>	5.2	10.5	24.0
<i>Laccaria bicolor</i>	4.6-5.3	3.1-14.1	7.7-27.5
<i>Laccaria laccata</i>	5.1-5.8	4.1-14.9	17.2-17.3
<i>Lactarius aff. deliciosus</i>	5.0	14.1	30.3
<i>Lactarius deliciosus</i>	5.1	8.0	11.6
<i>Lactarius salmonicolor</i>	5.5-5.9	6.2-14.4	25.5-37.3
<i>Lactarius sp.</i>	4.3-5.3	5.4-40.5	7.7-48.1
<i>Lycoperdon sp.</i>	5.2-5.4	5.9-16.1	8.8-39.1
<i>Macropodia macropus</i>	5.5	5.6	9.9
<i>Morchella esculenta</i>	5.9	10.3	15.2
<i>Morchella sp.</i>	5.9	4.1	13.8
<i>Ramaria rubiginosa</i>	5.6	4.9	13.2

Continuación cuadro 3.3.

Espece de hongo	pH	M.O. (%)	CIC (meq/100 g)
<i>Ramaria</i> sp.	4.6-5.1	3.1-15.1	8.3-26.2
<i>Ramaria cystidiophora</i>	5.3	4.1	8.5
<i>Russula</i> aff. <i>mexicana</i>	5.9	12.8	43.8
<i>Russula delica</i>	4.9-5.6	2.1-13.5	9.9-25.2
<i>Russula</i> sp.	5.0	5.7	13.0
<i>Suillus</i> aff. <i>pseudobrevipes</i>	5.3-6.1	2.5-8.5	9.7-20.3
<i>Tricholoma</i> aff. <i>saponaceum</i>	5.4	4.1	16.1
<i>Tricholoma</i> aff. <i>ustale</i>	5.1	13.4	32.0
<i>Xerocomus</i> aff. <i>badius</i>	4.8	3.8	21.7
<i>Xerocomus badius</i>	5.8	5.5	21.2
<i>Xerocomus leonis</i>	5.2	4.8	15.6
<i>Xerocomus</i> sp.	5.4-5.7	3.1-20.8	8.7-30.6

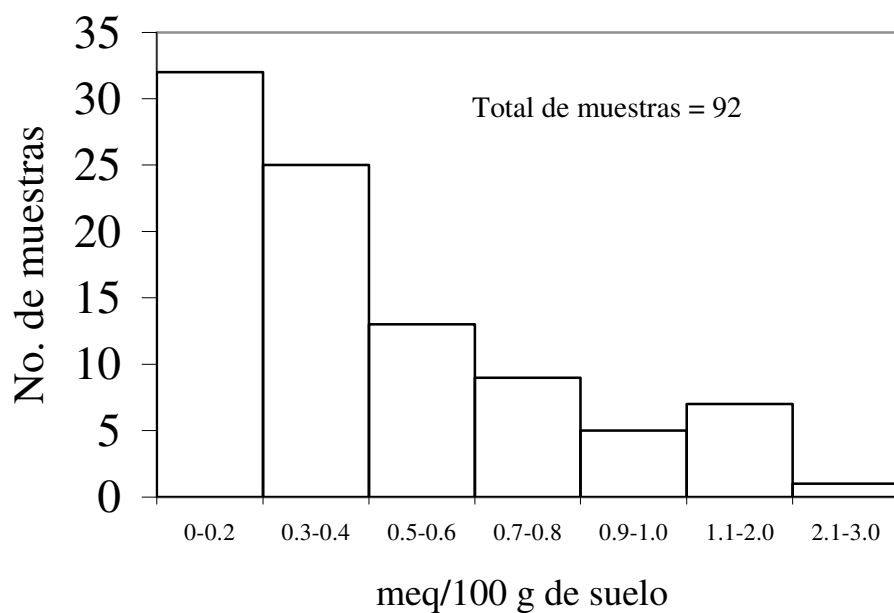


Fig. 3.5. Distribución del contenido de potasio expresado en meq/100 g de suelo de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

Cuadro 3.4. Características químicas de microhabitats edáficos donde crecen hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos

Espece de hongo	N (%)	P Olsen (mg Kg ⁻¹)	K meq/100 g (cmoles Kg ⁻¹)
<i>Amanita caesarea</i>	0.08-0.13	4-7	1.2-2.0
<i>Amanita crocea</i>	0.14	9	0.5
<i>Amanita fulva</i>	0.58	6	0.7
<i>Amanita rubescens</i>	0.09-0.50	4-13	0.2-1.0
<i>Amanita vaginata</i>	0.26	11	1.7
<i>Amanita</i> sp.	0.14	10	0.5
<i>Boletus</i> aff. <i>luridus</i>	0.12-0.49	3-5	0.2-0.5
<i>Boletus</i> aff. <i>subvelutipes</i>	0.16	8	0.2
<i>Boletus bicolor</i>	0.32	4	0.3
<i>Boletus clavipes</i>	0.16-0.21	4-15	0.1-0.2
<i>Boletus edulis</i>	0.09	7	0.2
<i>Boletus</i> sp.	0.17	7	0.2
<i>Cantharellus cibarius</i>	0.17	4	0.4
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	0.15	6	0.2
<i>Clavaria vermicularis</i>	0.12	6	0.2
<i>Clavulina cinerea</i>	0.19	6	0.2
<i>Clavulina cristata</i>	0.15	12	0.2
<i>Chroogomphus rutilus</i>	0.39	45	0.7
<i>Gomphus floccosus</i>	0.11-0.27	6-30	0.2-0.5
<i>Gyromitra infula</i>	0.18	5	0.2
<i>Hebeloma alpinum</i>	0.17	21	0.3
<i>Hebeloma leucosarx</i>	0.28-0.42	9-10	0.3-0.8
<i>Hebeloma mesophaeum</i>	0.20	18	0.5
<i>Helvella elastica</i>	0.31	3	0.2
<i>Helvella lacunosa</i>	0.19-0.22	7	0.3-0.4
<i>Hygrophorus chrysodon</i>	0.16-0.43	4-70	0.3-0.4
<i>Laccaria</i> aff. <i>ochropurpurea</i>	0.39	21	0.9
<i>Laccaria bicolor</i>	0.10-0.46	1-10	0.2-0.4
<i>Laccaria laccata</i>	0.16-0.38	t -3	0.1
<i>Lactarius</i> aff. <i>deliciosus</i>	0.44	31	0.8
<i>Lactarius deliciosus</i>	0.20	8	0.2
<i>Lactarius salmonicolor</i>	0.25-0.47	3-24	0.4-0.9
<i>Lactarius</i> sp.	0.14-0.74	7-8	0.2-0.8
<i>Lycoperdon</i> sp.	0.13-0.56	3-15	0.1-1.0
<i>Macropodia macropus</i>	0.18	5	0.2

t = trazas

Continuación cuadro 3.4.

Especie de hongo	N (%)	P Olsen (mg Kg⁻¹)	K meq/100 g (cmoles Kg⁻¹)
<i>Morchella esculenta</i>	0.19	8	0.4
<i>Morchella</i> sp.	0.14	5	0.5
<i>Ramaria rubiginosa</i>	0.11	10	0.1
<i>Ramaria</i> sp.	0.08-0.42	6-13	0.3-0.7
<i>Ramaria cystidiophora</i>	0.13	13	0.2
<i>Russula</i> aff. <i>mexicana</i>	0.43	32	2.8
<i>Russula delica</i>	0.07-0.35	3-20	0.1-1.3
<i>Russula</i> sp.	0.17	7	0.4
<i>Suillus</i> aff. <i>pseudobrevipes</i>	0.06-0.26	6-15	0.3-1.1
<i>Tricholoma</i> aff. <i>saponaceum</i>	0.17	9	0.4
<i>Tricholoma</i> aff. <i>ustale</i>	0.49	7	0.6
<i>Xerocomus</i> aff. <i>badius</i>	0.14	17	1.1
<i>Xerocomus badius</i>	0.18	14	0.8
<i>Xerocomus leonis</i>	0.18	6	0.1
<i>Xerocomus</i> sp.	0.09-0.42	5-16	0.1-0.6

3.6 DISCUSION

Dado que en México, se han reportado 204 especies de hongos silvestres comestibles (Villareal y Pérez-Moreno, 1989), las 53 especies encontradas en el área representarían 26% del total conocido en México. Dentro de las especies encontradas en el área se encuentran cinco que tienen una gran importancia en mercados internacionales: *Amanita caesarea* (Scop.) Pers. (Figura 3.1d), *Boletus edulis* Bull., *Cantharellus cibarius* var. *Cibarius* Fr., *Morchella esculenta* (L.) Pers., *Lactarius deliciosus* (L.) Gray (Yun y Hall, 2004; Hall *et al.*, 2003). Pilz *et al.*, (2003) reportaron que el comercio internacional de *Cantharellus cibarius* ha sido estimado anualmente en unas 200,000 toneladas con un valor aproximado de 1.4 billones de dólares americanos.

De igual forma en el año de 1997, México exportó a los Estados Unidos de Norteamérica y Europa 33 toneladas de *Morchella* spp. (Pilz *et al.*, 2007). Daza *et al.*, (2007) reportaron que el hongo silvestres ectomicorrízico comestible *Amanita ponderosa* Malencon & R. Heim en el año 2006 alcanzó un precio de 12 euros por kilogramo. Esto nos da una idea del beneficio económico que podría representar para las familias aledañas a estos ambientes de bosque templado donde prosperan estas especies de hongos silvestres comestibles.

Los hongos comestibles ectomicorrízicos reportados en el presente trabajo fueron recolectados en bosques de pino, oyamel, encino y ecotonos de pino-oyamel a altitudes de 2,718 a 3,805 m. Zamora-Martínez *et al.* (2007), reportaron veinte especies de hongos comestibles asociadas a bosques de *Pinus* spp. en el Estado de Tlaxcala, México a menores altitudes a las reportadas en el presente trabajo. De igual forma, en los bosques del mismo estado, entre los hongos silvestres ectomicorrízicos más apreciados para su consumo y que crecen en bosques de *Pinus* spp. se encuentran *Amanita caesarea*, *Boletus pinophilus*, *Ramaria* spp. y *Hebeloma mesophaeum*. Para bosques de *Quercus* spp. se tiene *Amanita* spp. (Sect. *Vaginatae*), *Boletus variipes*, *Lactarius*

indigo, *Lactarius salmonicolor*, *Ramaria* spp., *Russula delica* y *Russula* aff. *romagnesiana* (Montoya, 2003).

Los microhabitats edáficos estudiados nos muestran una tendencia en desarrollar una textura franca arenosa con un 84%, así como una mayor predilección en la formación de cuerpos fructíferos por parte del hongo ectomicorrízico en estos sitios. Kong-Luz y Estrada-Torres (1994) reportaron a *Lactarius mexicanus*, especie que prospera en bosques de *Abies religiosa* en áreas del centro de México, desarrollándose sobre fluvisoles arenosos a altitudes de 3,200 a 3,600 m, estos datos reportados por estos autores son muy similar en la clase textura desarrollada y altitud de los microhabitats edáficos estudiados. En otro estudio reportado por Estrada-Torres (2003), realizado por Villareal y Pérez-Moreno (1989) se menciona que el hongo *Tricholoma magnivelare*, comestible y que forma micorriza, prospera en suelos derivados de rocas ígneas extrusivas, clasificados como suelos de origen volcánico y con una textura franca. Así mismo, crece asociado a *Pinus teocote* en bosques de pino o pino-encino y a una altitud de 2,000 a 3,250 m. En el presente estudio, se observó de una forma similar a lo reportado por estos autores.

Los hongos ectomicorrízicos prefieren desarrollar sus fructificaciones en suelos con textura franca, debido probablemente al presentárseles una menor resistencia para emerger del subsuelo. Esto podría coincidir con el desarrollo de *Tuber melanosporum* sobre suelos que presentan textura franca, la más adecuada para su desarrollo, a pesar de que su desarrollo es hipogeo (Casermeiro *et al.*, 2002).

Han existido diversos reportes donde se señalan los pH a los cuales prosperan diversas especies de hongos comestibles ectomicorrízicos. Daza *et al.* (2007), observaron el desarrollo de *Amanita ponderosa* en suelos ácidos (pH 6.2). De forma similar, ectomicorrizas de *Lactarius deliciosus* se establecen a pH de 4.5 a 7.5 (Guerin-Laguette, 2003). Pilz *et al.* (2003), reportaron que *Cantharellus cibarius* se desarrolla a pH de 4.0 a 5.5.

Es importante hacer mención, que la producción de ácidos orgánicos, (por ejemplo oxálico, carbónico, cítrico, acético) por la actividad del micelio externo de los hongos ectomicorrízicos influye en gran medida en la acidificación de los suelos forestales (van Hees, 2003). De igual forma, la respiración que realizan las raíces ectomicorrizadas equivalen a un 65% de la respiración total de un suelo; esto se ve reflejado en la generación de exudados (ácidos orgánicos) que contribuyen a disminuir el pH edáfico (Högberg *et al.*, 2001). Así mismo, en otro estudio realizado por Hoffland *et al.*, (2004) reportaron la participación de los ácidos orgánicos liberados por el micelio de la ectomicorriza, como fuente potencial en la intemperización de minerales del suelo y acidificación del mismo. En contraste, algunas especies de hongos ectomicorrízicos comestibles como las trufas (*Tuber spp.*) prosperan en pH alcalinos. Casermeiro *et al.* (2002), registraron un pH de 7.2 hasta 8.1 para *Tuber melanosporum* Vitt. De igual forma, Reyna (1992) y Renowden (2005) reportaron que el pH donde usualmente prosperan las trufas es de 7.8.

En el presente estudio, se observó de manera similar a lo reportado por estos autores, a pesar de que la mayoría de especies de hongos ectomicorrízicos estudiados se encontraron en pH ácidos, se presentaron dos con pH casi neutro (pH 7.2 y 6.8).

La cantidad de materia orgánica constituye un factor importante para la retención de humedad, pH, nutrimentos disponibles y estructura del suelo. Daza *et al.* (2007), observaron en encinares localizados en el Parque Natural Sierra de Aracena y Picos de Aroche, en España, que el contenido de materia orgánica donde prospera *Amanita ponderosa* es pobre. Sin embargo, para el desarrollo de la trufa (*Tuber melanosporum*) Reyna (1992) encontró que los suelos en los primeros horizontes, deben ser ricos en materia orgánica (1 al 8%). Casermeiro *et al.* (2002) reportaron niveles de materia orgánica para el desarrollo de *Tuber melanosporum* Vitt. entre 4.3 a 30.2% en el primer horizonte del suelo. Becerra *et al.* (2005), reportaron en su estudio que los hongos ectomicorrízicos *Cortinarus sp.*, *Suillus sp.* y *Gyrodon sp.* desarrollan en horizontes ricos

en materia orgánica. De igual forma Douglas *et al.* (2005), reportaron que los suelos donde desarrollan comunidades de hongos ectomicorrízicos, presentaron niveles medios de contenido de materia orgánica, entre 6.74 y 9.74%. Se pudo observar en el presente estudio que los porcentajes en contenido de materia orgánica se presentaron de medios a altos según Serrato y Landeros (2001), los cuales coinciden en algunos casos a lo reportado por los autores mencionados líneas arriba.

La fuente asimilable de nitrógeno para las plantas se encuentra como ion amonio (NH_4) y nitrato (NO_3). France y Reid (1983) en Pérez-Moreno (1995) reportaron que la forma en que es asimilable el nitrógeno por parte de los hongos ectomicorrízicos es principalmente en forma del ion NH_4 , aunque también es posible que lo asimile como NO_3 .

Es importante señalar, que los suelos estudiados son de origen volcánico, y según Serrato y Landeros (2001) para la interpretación de los valores de nitrógeno, se aconseja la utilización de rangos establecidos para este tipo de suelos como se muestra a continuación

Clase	Nitrógeno total (%)
Bajo	< 0.30
Medio	0.30-0.80
Alto	> 0.80

En contraste, los mismos autores mencionan que para suelos con génesis distinta a la de los suelos volcánicos se utiliza los siguientes valores:

Clase	Nitrógeno total (%)
Muy bajo	> 0.05
Bajo	0.05-0.10
Medio	0.10-0. 0.15
Alto	0.15-0.25
Muy alto	> 0.25

Becerra *et al.* (2005) reportaron, que el contenido de nitrógeno total (0.22 y 0.36%) en sus suelos estudiados donde se presentó colonización ectomicorrízica fue alto. Estos suelos no son de origen volcánico. De manera similar, Casermeiro *et al.* (2002) observaron en suelos truferos un porcentaje de nitrógeno alto; además, mencionaron valores medios de nitrógeno. De igual forma, Glowa *et al.* (2003) estudiaron propiedades del suelo en un bosque boreal en Canadá, y obtuvieron valores altos (entre 0.85 a 0.87%) de nitrógeno. Sin embargo, Arteaga y Moreno (2006) reportaron en su estudio realizado en bosques de *Pinus hartweggi* y *Abies religiosa* en Santa Catarina del Monte, Estado de México, (suelos de origen volcánico), porcentajes de nitrógeno medio y bajo (0.15 y 0.50%).

Estos datos coinciden con los obtenidos en el presente estudio, teniendo el mayor número de muestras en un rango de 0.11 a 0.20% de nitrógeno, considerando estos valores como bajos. Sin embargo, se presentaron porcentajes de nitrógeno medios (0.40, 0.58, 0.50, 0.74) como puede apreciarse en el Cuadro 3.4. Meyer (1973), reportó que el contenido de nitrógeno en el suelo puede ser un factor decisivo para el establecimiento de la ectomicorriza.

Una de las características de los suelos de origen volcánico, como los estudiados en el presente trabajo, tienen la particularidad de fijar el fósforo, y por ende el P es comúnmente un nutriente limitado en este tipo de ecosistemas. Las hifas de hongos ectomicorrízicos tienen la capacidad de utilizar fuentes de fósforo (P) orgánicas como inorgánicas. Se ha reportado, en el caso de polen, la colonización del micelio ectomicorrízico en este material, moviliza el 97 por ciento de fósforo, para posteriormente transferirlo a plantas asociadas el 25 por ciento (Pérez-Moreno, 2005).

Reyna *et al.* (2006), reportaron contenidos de fósforo en suelos forestales de 5 mg Kg⁻¹. Perea-Estrada *et al.* (2004) reportan contenidos de P de 2.2 y 3 mg Kg⁻¹. Estos datos coinciden en parte con los reportados en el presente estudio. Así mismo, Douglas *et al.* (2005) observaron valores de

47.2 mg Kg⁻¹ en suelos estudiado en el Parque Nacional Yellowstone, Estados Unidos de Norteamérica.

El potasio es un ion móvil, el cual en bosques con un alto contenido de biomasa es fácilmente removido y su concentración se ve disminuida por acción de la acidificación del suelo y por lixiviación (Van Schöll *et al.*, 2006). En el estudio realizado por Glowa *et al.* (2003) la concentración de potasio en sus muestras de suelo fueron del orden de 0.29 a 0.32 ppm. Sin embargo, Arteaga y Moreno (2006), observaron cantidades de potasio de 0.12 y 0.21 ppm en los suelos que sustentan los bosques de Santa Catarina del Monte, estado de México. Los resultados obtenidos en el presente estudio, son en algunos casos similares, pero se obtuvieron muestras con valores mas altos de potasio (Cuadro 3.4).

Glowa *et al.* (2003), mencionaron que el incremento de la capacidad de intercambio catiónico (CIC), puede estar relacionada con los contenidos de materia orgánica altos, debido a la asociación de las cargas negativas con los grupos funcionales, sin embargo esto no concuerda con los valores obtenidos en el presente estudio, como se puede ver en el Cuadro 3.3.

3.7 CONCLUSIONES

Se identificaron 53 especies de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los diferentes tipos de vegetación de los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos.

El 84% de los microhabitats edáficos estudiados, tuvieron una clase textural franca arenosa. El contenido de arena fue de 43 a 80% en dichas muestras.

Se observaron dos tipos de distribuciones o tendencias para las características físicas y químicas de los microhabitats edáficos de los hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos en los Parques Nacionales Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos:

- i) en relación al pH de los suelos se observó una distribución normal o Gaussiana, los valores, se distribuyeron de 4.2 a 7.2, pero la gran mayoría se presentó en valores de 5.1 a 6.0. La mayor parte fueron ácidos, a excepción de una muestra ya que presentó un pH de 7.2, y
- ii) en el caso del contenido de nitrógeno, fósforo, potasio y capacidad de intercambio catiónico de los suelos, se observó una distribución geométrica dado que la gran mayoría de las muestras se concentraron en valores menores.

3.8 LITERATURA CITADA

- Allison, L.E. 1965. Organic Carbon. *In*: C.A. Black *et al.* (ed.). Methods of soil analysis, Part 2. Agronomy 9: 1367-1378. Am. Sol. Of Agron., Inc., Madison, Wis.
- Arteaga-Martínez, B. y Moreno-Zárate, C. 2006. Los hongos comestibles silvestres de Santa Catarina del Monte, Estado de México. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Vol. 12. 2: 125-131.
- Becerra, A., K. Pritsch, N. Arrigo, M. Palma, N. Bartoloni. 2005. Ectomycorrhizal colonization of *Alnus acuminata* Kunth in northwestern Argentina in relation to season and soil parameters. Ann. For. Sci. 62: 325-332.
- Bouyoucos, G.J., (1951). A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils: Agron. J., v.43, p. 435-438.
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. Pp. 1149-1178. *In*: Black, C.A. (ed). Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9. American Society of Agronomy. Madison, WI.
- Casermeiro, M.A., L.G. García-Montero, J. Hernando y M.I. Hernando. 2002. Suelos truferos naturales. Schironia 1:27-30.
- CSTPA, 1980. Handbook on reference methods for soil testing. Council on soil testing and plant análisis, Athens, Georgia.
- Daza, A., M. Camacho, L. Romero de la Osa, J.L. Manjón, G. Moreno, C. Santamaría. 2007. Distribución espacial de la fructificación del hongo ECM comestible *Amanita ponderosa* Malencon & R. Heim durante seis años consecutivos en un encinar adhesado de la Sierra de Aracena (Huelva). Invest. Agrar: Sist. Recur. For. 16: 89-94.

- Douglas, R.B., Parker, V.T. and Cullings, K.W. 2005. Belowground ectomycorrhizal community structure of mature lodgepole pine and mixed conifer stands in Yellowstone National Park. *Forest Ecol. Manag.* 208: 303-317
- Estrada-Torres, A. 2003. Ecología de los hongos ectomicorizógenos. pp. 26-34. *In: Estrada-Torres, A y Santiago-Martinez, Ma.G. (eds.). Avances en el estudio de la ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México. México (2003).*
- France, R.C. and Reid, C.P. 1983. Interactions of nitrogen and carbon in the physiology of ectomicorrhizae. *Can. J. Bot.* 61: 964-984.
- García E., 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ta. Edición. 220 p.
- Glowa, K.R., Arocena, J.M. and Massicotte, H.B. 2003. Properties of soils influenced by ectomycorrhizal fungi in hybrid spruce (*Picea glauca x engelmanni* (moench.) Voss). *Can. J. Soil Sci.* 84: 91-102.
- Guerin, L.A., S. Conveti, G. Ruiz, C. Plassard, D. Mousain. 2003. The ectomycorrhizal symbiosis between *Lactarius deliciosus* and *Pinus sylvestris* in forest soil samples: symbiotic efficiency and development on rotos of a rDNA internal transcribe spaces-selected isolate o *L.deliciosus*. *Mycorrhizal* 13: 17-25.
- Hall, I.R., S.L. Stephenson, P.K. Buchanan, W. Yun, A.L.J. Cole. 2003. Edible and poisonous mushrooms of the world. New Zealand Institute for crop & food research. Christchurch, New Zealand.
- Hobbie, E.A. 2006. Carbon allocation to ectomycorrhizal fungi correlates with belowground allocation in culture studies. *Ecology* 87: 563-569.
- Hoffland, E., Kuyper, T.W., Wallander, H., Plassard, C., Gorbushina, A.A., Haselwandter, K., Holmström, S., Landeweert, R., Lundström, U.S., Rosling, A., Sen, R., Smits, M.M.,

- Hees, P.A., van Breemen, N. 2004. The role of fungi in weathering. *Front Ecol. Environ.* 2(5): 258-264.
- Holmgren, G.G.S., R.L. Juve and R.C. Geschwender. 1977. A mechanically controlled variable rate leaching device. *Soil Sci. Soc. Ameri. J.* Vol. 41: 1207-1208.
- Högberg, P., Nordgren, A., Buchmann, N., Taylor, A.F.S., Ekblad, A., Högberg, M.N., Nyberg, G., Ottosson-Lefvenius, M. and Read, D.J. 2001. Large escale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature* 411: 789-792.
- Index Fungorum (2008). <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp> (10 junio 2008).
- Kong-Luz, A. y Estrada-Torres, A. 1994. A new species of *Lactarius* from Mexico. *Mycotaxon* 52 : 443-466.
- Langley, A., Chapman, S.K. and Hungate, B.A. 2006. Ectomycorrhizal colonization slows root decomposition : the post-mortem fungal legacy. *Ecology Letters* 9 : 955-959.
- Meyer, F.H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forest. *In: Marks G.C., Kozlowski, T.T. (eds.) Ectomycorrhizae: their ecology and physiology.* Academic Press. Nueva York, EEUU. pp. 79-105.
- Molina, R., H. Massicote, J.M. Trappe. 1992 Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. pp. 357-423. *In: M.F. Allen (ed.)*. 1992. *Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal process.* Chapman and Hall, New York.
- Molina, R., Pilz, D., Smith, J., Dunham, S., Dreisbach, T., O'dell, T. and Castellano, M. 2001. Conservation and management of forest fungi in the Pacific Northwestern United States: an integrated ecosystem approach. *In: Modre, D., Nauta, M.M., Evans, S.E. and Rotherue, M. (eds).* *Fungal Conservation Issues and Solutions.* Cambridge University Press. British Mycological Society. 2001.

- Montoya-Esquivel, A. 2003. Conocimiento tradicional de los hongos ectomicorrízicos en Tlaxcala. pp. 35-41. *In*: Estrada-Torres, A y Santiago-Martinez, Ma.G. (eds.). Avances en el estudio de la ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México. México (2003).
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Wantable, F.S. and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. Circular 939. US Department of Agriculture. Washington, DC.
- Parque Nacional Izta-Popo, 2008. Información general del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan y Anexos. Áreas Naturales Protegidas, Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México. <http://iztapopo.conanp.gob.mx>. (17 junio 2008).
- Pérez-Moreno, J. 1995. La simbiosis ectomicorrízica y su importancia ecológica. pp. 200-233. *In*: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez-Moreno (eds.), Agroclimatología, elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Estado de México, México.
- Perea-Estrada, V.M., Pérez-Moreno, J., Isla-de Bauer, M.L., Fenn, M.E., Trinidad-Santos, A y HernándezTejeda, T. 2004. Fertilización, tipos de suelo y hongos micorrízicos y endófitos radicales asociados al eucalipto. *Terra Latinoamericana* 23: 201-212.
- Pérez-Moreno, J. 2005. Transferencia de nutrientes. Hongos ectomicorrízicos. *Scientific American Latinoamérica*. 33: 32-33.
- Pilz, D., L. Norvell, E. Danell and R. Molina. 2003. Ecology and management of commercially harvested chanterelle mushrooms. United States Department of Agriculture. Forest Service.
- Pilz, D., R. McLain, S. Alexander, L. Villareal-Ruiz, S. Bearch, T.L. Wurtz, C.G. Parks, E. McFarlane, B. Baker, R. Molina and J.E. Smith. 2007. Ecology and management of morels harvested from the forest of western North America. Gen Tech. Rep. PNW-GTR-

710. Pórtland, OR: U.S. Departament of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.
- Renowden, G. 2005. The truffle book. Limestone Hills Publishing. pp. 118-127.
- Reyna, D. S. 1992. La trufa. Agogías. Mundi Prensa. pp. 67-71.
- Reyna, S., García, B.S. y Folch, L. 2006. Influencia del uso del suelo sobre el potencial de inóculo ectomicorrízico y la competitividad de las ectomicorrizas de *Tuber melanosporum*: evaluación mediante bioensayos en invernadero. Invest. Agrar: Sist. Recur. For. 15(3): 308-320.
- Rosling, A. 2003. Response of ectomycorrhizal fungi to mineral substrates. Department of Forest Mycology and Pathology Uppsala. Swedish University of Agricultural Sciences. Doctoral Thesis. 2003.
- Serrato-Cuevas R. y V. Landeros-Flores. 2001. Instructivo para análisis de suelos. Propiedades químicas. Laboratorio de suelos del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Van Hees, Godbold, P.A.W., Jentschke, D.L. and Jones, G.D.L. 2003. Impact of ectomycorrhizas on the concentration and biodegradation of simple organic acids in a forest soil. European Journal of Soil Science 54: 697-706.
- Van Schöll, L., Smits, M.M. and Hoffland, E. 2006. Ectomycorrhizal weathering of soil minerals muscovite and hornblenda. New Phytol. 171: 805-814.
- Villareal L. y Pérez-Moreno, 1989. Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. Micol. Neotrop. Apl. 2: 77-114.
- Yun, W. and I.R. Hall. 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements. Can. J. Bot. 82:1063-1073.

Zamora-Martínez, M.C., A. Montoya, A. Kong, C. Nieto de Pascual P., A. González H., J.I.
Martínez-Valdez. 2007. Hongos silvestres comestibles de Tlaxcala II. Libro técnico No.
3 INIFAP. CENID-COMEF. UAT. México, D.F.

CAPITULO 4

INFLUENCIA DEL pH EN EL CRECIMIENTO DEL HONGO SILVESTRE ECTOMICORRÍZICO COMESTIBLE *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Quél.

4.1 RESUMEN

Hebeloma mesophaeum es un hongo comestible ectomicorrízico que puede ser utilizado para la inoculación de plantas de interés forestal en condiciones de vivero. En el presente estudio, se realizó el aislamiento de una cepa de dicha especie y se evaluó *in vitro* su crecimiento en tres medios de cultivo sólido a 28°C y cinco condiciones de pH. Además se evaluó su crecimiento en medio líquido MNM a pH 5.7. Los mayores crecimientos en medio sólido se presentaron en el medio de papa dextrosa agar a pH 5 y 6, con un crecimiento promedio por día de 0.23 cm, en comparación con extracto de malta a pH 8. En medio líquido se modificó el pH de 5.7 a 2.9.

Palabras clave: *ectomicorriza, in vitro, comestible*

4.2 ABSTRACT

Hebeloma mesophaeum is an edible ectomycorrhizal fungus which can be used for inoculation of plants in nursery. The present study was conducted in order to isolate a strain of this species and the “in vitro” growth was evaluated in three solid media at 28 ° C and five pH conditions. We also evaluated the growth in liquid medium MNM at pH 5.7. The highest growths in solid media were presented in potato dextrose agar at pH 5 and 6, with an average growth of 0.23 cm per day, compared with malta extract at pH 8. In liquid medium the pH was modified from 5.7 to 2.9.

Keywords: *ectomycorrhiza, in vitro, edible.*

4.3 INTRODUCCION

Los hongos se han vuelto atractivos como una fuente de alimento y participan activamente en el desarrollo de medicamentos, como antioxidantes y compuestos antimicrobianos (Barros *et al.* 2006). Algunos hongos se desarrollan y crecen en condiciones de nutrición simples, únicamente requieren para su desarrollo agua, carbono, nitrógeno, minerales y en ocasiones vitaminas (Gómez y Corlay, 2007). Dentro del vasto reino de los hongos, están los que forman un tipo simbiosis conocida como ectomicorriza, siendo esta de gran importancia para los bosques templados y boreales del globo terráqueo. La simbiosis ectomicorrízica es una asociación mutualista entre las raíces cortas con diámetro menor de 2 mm de árboles y ciertos grupos de hongos (Ascomicetos y Basidiomicetos).

El género *Hebeloma* pertenece a la familia Cortinariaceae, es un hongo comestible en México y es capaz de formar ectomicorriza con algunas plantas leñosas de interés forestal como son las pináceas. Se ha reportada la formación de micorriza de *Hebeloma cylindrosporum* con *Pinus pinaster* en condiciones de cultivo *in vitro* y en la cual se llegó a formar cuerpo fructífero (Marmeisse *et al.*, 2004). Así mismo, Méndez-Neri (2007), reportó la formación de ectomicorriza en plántulas de *Pinus greggii* en condiciones de invernadero. Las fuentes de inóculo utilizadas en vivero se ha centrado en esporas y cultivo micelial. En la propagación de micelio, el crecimiento del hongo se ve afectado por las condiciones del medio de cultivo como es el pH, temperatura y composición de los medios. En el presente trabajo se evaluó en condiciones *in vitro*, el crecimiento de la cepa de *Hebeloma mesophaeum* en tres medios de cultivo sólido. Los medio de cultivo utilizados fueron Papa-Dextrosa-Agar (PDA), Extracto de Malta (EM) y Melin Norkrans Modificado (MNM) y cinco condiciones de pH (4, 5, 6, 7, 8) a 28°C. Adicionalmente se evaluó su crecimiento en medio líquido.

4.4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1 Material biológico

Hebeloma mesophaeum (Pers.) Quél. se colectó en bosques de *Pinus-Abies* en el Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan a altitudes de 3,003 a 3,641 msnm, en los meses de agosto a septiembre del año 2005. La identificación taxonómica se realizó mediante caracterización macro y micromorfológica siguiendo las técnicas convencionales de micología. Los ejemplares colectados se deshidratados y herborizados y son conservados en la colección del Área de Microbiología, Edafología del Colegio de Postgraduados en Texcoco, México. A partir de los cuerpos fructíferos se realizaron aislamientos en condiciones axénicas.

4.4.2 Cultivo en medio sólido

La cepa aislada se evaluó en tres medios de cultivo sólidos: papa dextrosa agar (PDA), Merck (Darmstadt, Alemania), Melin Norkrans modificado (MNM) según Marx y Kenney (1984) y extracto de malta (EM) Difco (Sparks, MD, USA), a pH 4, 5, 6, 7 y 8. Se incubaron a 28°C en condiciones de obscuridad. Se evaluó el crecimiento radial después de treinta y cinco días a intervalos de ocho días.



Figura 4.1 a) cuerpo fructífero de *Hebeloma mesophaeum*; b) "Biorreactor" para cultivo en medio líquido de hongos ectomicorrízicos; c) crecimiento de *H. mesophaeum* en medio líquido MNM; d) crecimiento de *H. mesophaeum* en medios de cultivo sólido PDA: papa dextrosa agar; EM: extracto de malta y MNM: Melin Norkrans Modificado después de 35 días.

4.4.3 Cultivo en medio líquido

Para el experimento en medio líquido (Figura 4.1by c), se utilizó únicamente el medio MNM a un pH inicial de 5.7. En frascos de vidrio de 400 mL se añadieron 250 mL de solución MNM estéril con 40 fragmentos de micelio del hongo *Hebeloma mesophaeum* de 5 mm de diámetro cada uno. Se conectó una fuente de oxigenación para que existiera agitación constante a temperatura ambiente. Se evaluó el incremento de biomasa después de treinta días de crecimiento fúngico. Para calcular el incremento de biomasa se restó la biomasa final a la inicial. El micelio se removió del medio líquido y se lavó con agua destilada para eliminar restos de agar, posteriormente se seco a 60°C. Así mismo se determinó el pH del medio después de treinta días de crecimiento.

4.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.5.1 Cultivo en medio sólido

La cepa aislada presentó coloración blanquecina en los tres medios de cultivo. El mejor crecimiento promedio, en diámetro, se observó en el medio PDA a pH 5 y 6 con un crecimiento promedio por día de 0.23 cm. Mientras tanto el menor crecimiento se observó en EM a pH 8 con 0.05 cm por día (Cuadro 4.1). Sin embargo, en PDA y MNM a pH 6 no se observó mucha diferencia en crecimiento (Figura 4.2). Dependiendo del medio de cultivo y el pH se observaron algunas variaciones macromorfológicas. Por ejemplo se observaron anillos concéntricos en EM y MNM a pH 6 y en EM a pH 5. También se pudo observar presencia de micelio sumergido a pH 4 en los tres medios de cultivo (Figura 4.1d). Así mismo se observó una modificación del pH de 5 a 6.3 y de 6 a 6.5.

Cuadro 4.1 Crecimiento en diámetro de la cepa de *Hebeloma mesophaeum* en tres medios de cultivo a 28°C y cinco pH, después de 35 días.

Medios de cultivo	Crecimiento radial (cm)				
	pH				
	4	5	6	7	8
MNM					
7 días	0.36c	2.41a	2.45a	2.11a	1.58b
14 días	0.63c	4.43a	4.55a	3.68ab	3.06b
21 días	0.83b	5.85a	5.96a	4.85a	4.51a
28 días	1.00c	6.90a	6.78a	5.83ab	5.15b
35 días	1.08b	7.41a	7.76a	7.26a	6.36a
EM					
7 días	0.98b	2.30a	2.45a	0.00c	0.00c
14 días	1.91b	4.10a	3.90a	0.83bc	0.00c
21 días	3.05b	5.46a	4.95a	1.43bc	1.10c
28 días	3.9bc	6.95a	5.71ab	1.93cd	1.45d
35 días	4.70bc	7.73a	6.85ab	2.36cd	1.78d
PDA					
7 días	1.45c	2.45a	2.35a	2.00b	1.63c
14 días	3.25bc	4.50a	4.28a	3.58b	2.73c
21 días	5.30ab	6.18a	5.81a	4.78b	3.50c
28 días	6.70a	7.30a	7.00a	5.65b	4.03c
35 días	7.40a	7.95a	7.85a	7.23a	4.55b

MNM = Melin Norkrans modificado; EM = extracto de malta; PDA = papa dextrosa agar. Valores en la misma línea con la misma letra son iguales según Tukey ($p = 0.05$). $n = 6$.

Santiago-Martínez *et al.* (2003) observaron en su estudio, que *Laccaria bicolor* tuvo un crecimiento promedio por día de 0.22 cm. En otro estudio realizado por Barros *et al.* (2006) observaron un crecimiento promedio de 0.020 cm por día en *Lactarius deliciosus* en medio de cultivo PDA a pH 5; sin embargo en el mismo estudio se presentó un crecimiento de 0.16 cm después de 24 días. De manera similar, se observó la misma tendencia en crecimiento radial en la cepa aislada en el presente estudio (Figura 4.2). Sin embargo, Sánchez *et al.* (2000) observaron en un aislamiento que realizaron de *Hebeloma crustuliniforme* en medio de cultivo sólido MNM a pH 4 y 22-24°C en condiciones de obscuridad, un crecimiento radial de 4 cm en un periodo de tiempo de cuatro semanas. De igual forma en el mismo estudio, algunas especies de hongos no crecieron más de 2 cm en el lapso de cuatro semanas, tal fue el caso de *Lactarius evosmus*. Garza *et al.* (2002) reportaron la utilización del medio de cultivo MNM adicionándole estreptomina para realizar aislamientos a partir de raíces ectomicorizadas. Posteriormente, realizaron reaislamientos en el mismo medio de cultivo (MNM), con la finalidad de obtener cepas puras.

4.5.2 Cultivo en medio líquido

En el medio líquido en agitación constante, con pH 5.7 se obtuvo 6.23 g de masa fúngica. El micelio presentó una coloración blanquecina en forma algodonosa (Figura 4.1c). En cultivo en medio líquido, cepas de *Pisolithus tinctorius* tiene crecimiento óptimo de biomas fúngica a pH 5.7 (García-Rodríguez *et al.*, 2006), sin embargo en otros estudios se ha reportado mejores crecimientos a pH 6 con especies del género ectomicorrízico *Laccaria* (Yamanaka, 2003).

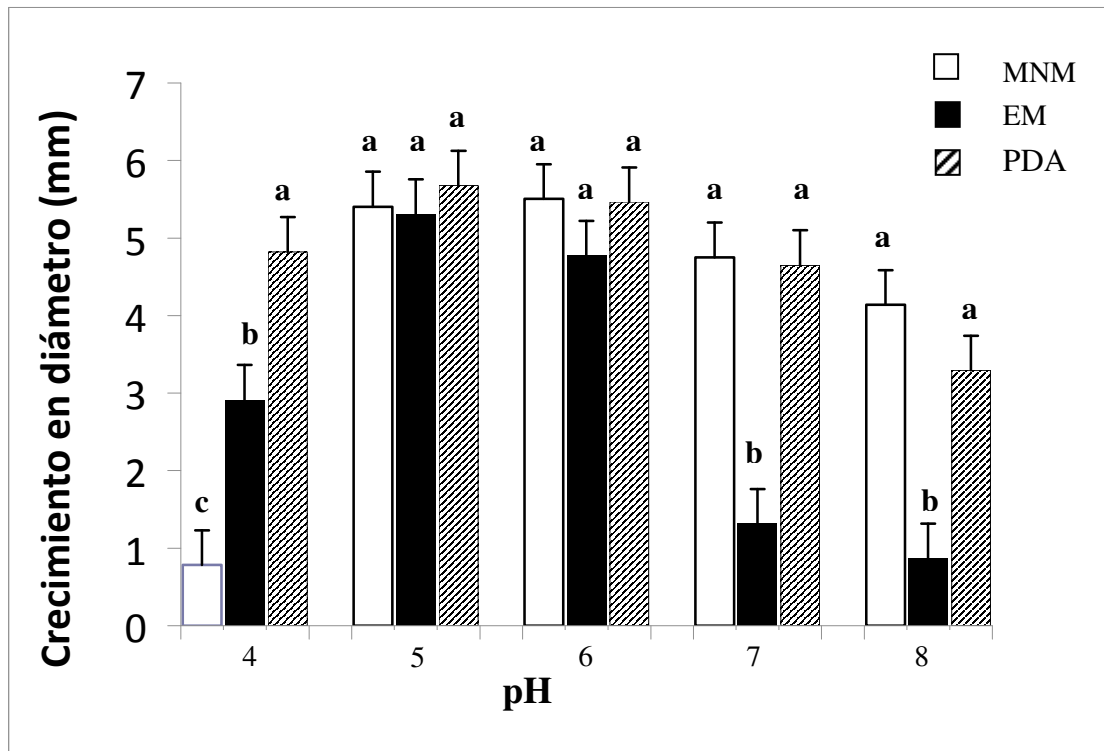


Figura 4.2. Crecimiento micelial de la cepa *Hebeloma mesophaeum* en tres medios de cultivo sólido MNM: Melín Norkrans modificado; EM: extracto de malta y PDA: papa dextrosa agar a 28°C, después de 35 días. Las líneas sobre las barras son errores estándar de la media. Las letras iguales, para cada pH, indican que los valores son iguales según Tukey ($p = 0.05$) $n = 6$.

Después de 30 días de crecimiento micelial con un pH de 5.7, existió una disminución de 2.8 unidades, teniendo un pH final de 2.9. Se ha documentado que los hongos tienden a acidificar o alcalinizar su medio, esto con la finalidad de modificar su ambiente para poderse desarrollar. El cambio de pH está relacionado con la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular por parte del micelio ectomicorrízico (Hoffland *et al.*, 2004).

Se ha reportado que el pH del medio de cultivo afecta el crecimiento de los hongos, aunque se ha observado que el pH óptimo donde desarrollan las cepas de hongos ectomicorrízicos en condiciones *in vitro* va de 4.5 a 5.5. Así mismo, se han encontrado cepas que crecen en pH extremos, desde 3.2 hasta 8.3 (Hung y Trappe, 1983).

4.6 CONCLUSIONES

El crecimiento óptimo de la cepa varió en función de los medios de cultivo y el pH. De acuerdo al crecimiento micelial observado en el presente estudio, el mejor medio de cultivo sólido fue papa dextrosa agar (PDA) a pH 5 y 6.

Respecto al medio de cultivo líquido, se obtuvo 6.23 g de biomasa fúngica a pH inicial de 5.7 en medio de cultivo Melin Norkrans Modificado.

Sería recomendable realizar mas estudios con otras especies de hongos ectomicorrízicos y efectuar comparaciones entre estas para poder identificar y seleccionar aquellas que tienen un crecimiento mas rápido y generación de una cantidad mayor de biomasa. Así mismo resultaría altamente deseable desarrollar un cepario de especies potencialmente ectomicorrízicas con carácter de comestibilidad y no comestibles para ser incluidos como inoculantes en los programas de reforestación del país.

4.7 LITERATURA CITADA

- Barros, L., Baptista, P. and I.C.F.R Ferreira. 2006. Influence of the culture médium and pH on the growth of saprobic and ectomycorrhizal mushroom mycelia. *Minerva Biotec* 18: 165-170.
- García-Rodríguez, J.L., Pérez-Moreno, J., Aldrete, A., Cetina-Alcala, V.M. and Vaquero-Huerta, H. 2006. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia* 40: 665-676.
- Garza, O.F., García, J.J., Estrada, C.E. and Villalón, M.H. 2002. Macromicetos, ectomicorizas y cultivos de *Pinus culminicola* en Nuevo León. *Ciencia UANL*. Vol. V. 2: 204-210.
- Gómez, C.G. and Corlay, C.L. 2007. Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. Pp. 48-49 *In*: Ferrera-Cerrato, R. y A. Alarcón (ed). *Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo*. Trillas. México. (2007).
- Hoffland, E., Kuyper, T.W., Wallander, H., Plassard, C., Gorbushina, A.A., Haselwandter, K., Holmström, S., Landeweert, R., Lundström, U.S., Rosling, A., Sen, R., Smits, M.M., Hees, P.A. and van Breemen, N. 2004. The role of fungi in weathering. *Front Ecol Environ* 2(5): 258-264.
- Hung, L. and Trappe, J.M. 1983. Grow variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH *in vitro*. *Mycologia* 75: 234-241.
- Marmeisse, R., Guidor, A., Gay, G., Lambilliotte, R., Sentenac, H., Combier, J.P., Melayah, D., Fraissiner, T.L. and Debaud, C. 2004. *Hebeloma cylindrosporum* a model species to study ectomycorrhizal from gene to ecosystem. *New Phytologist* 163: 481-198.

- Marx, D.H. and Kenney, D.S. 1984. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. *In: Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Schenck, N.C. (ed). 2nd. ed. The American Phytopathological Society. Minnesota, USA.
- Méndez-Neri, M. 2007. Inoculación de pinos de importancia forestal útiles en restauración de áreas degradadas con hongos comestibles ectomicorrízicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, México.
- Santiago-Martínez, G., Estrada-Torres, A., Varela, L. y Herrera, T. 2003. Crecimiento en siete medios nutritivos y síntesis *in vitro* de una cepa de *Laccaria bicolor*. *Agrociencia* 37: 575-584.
- Sánchez, F., Honrubia, M. and Torres, P. 2000. Características culturales de algunos hongos ectomicorrízicos en cultivo puro. *Rev. Iberoam Micol.* 17: 127-134.
- Yamanaka, T. 2003. The effect of pH on the growth of saprotrophic and ammonia fungi *in vitro*. *Mycologia* 95: 584-589.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES GENERALES Y CONSIDERACIONES FINALES

La información generada en el presente trabajo es básica, podría ser utilizada para una aplicación práctica. Esto debido a la posibilidad del cultivo de especies comestibles ectomicorrízicas. Existen a nivel mundial dos casos exitosos relacionados con el cultivo de hongos silvestres ectomicorrízicos comestibles, el del cultivo de trufas (*Tuber* spp.) principalmente en Francia, Italia y España (Renowden, 2005) y el de *Lactarius deliciosus* en Nueva Zelanda (Yun y Hall, 2004). Un aspecto fundamental para el desarrollo de dicho cultivo fue el profundo conocimiento de las condiciones edáficas y ambientales en las cuales prosperaban dichas especies. Así mismo, los conocimientos ecológicos sobre hongos ectomicorrízicos dan la pauta para desarrollar nuevas estrategias para el manejo forestal, introducción de especies ectomicorrízicas importantes, como son las comestibles, generadoras de metabolitos de interés industrial o farmacéutico, o en la mejora y éxito de las reforestaciones, plantaciones comerciales y recuperación de los bosques.

Hebeloma mesophaeum desarrolla bien a pH 5 y 6, siendo esta especie ectomicorrízica, podría ser utilizada en la inoculación de especies forestales en vivero, utilizando sustratos con estos valores de pH. Sin embargo, se recomienda realizar la síntesis de micorriza con esta especie para saber con exactitud con que especies forestales podría asociarse. Así mismo, sería aconsejable estudiar en cultivo in vitro, otras especies de hongos silvestres ectomicorrízicos comestibles y a la vez, evaluar otros medios de cultivo.

Dado que en México se cuenta con la mayor diversidad de pinos en el mundo, sería altamente deseable explorar bosques de otras especies de pinos para comparar las características físicas y químicas de microhabitats edáficos de hongos silvestres comestibles ectomicorrízicos con las aquí estudiadas.

ANEXO 1

Identificación del hongo ectomicorrízico comestible *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué.

La identificación del hongo ectomicorrízico comestible *Hebeloma mesophaeum* se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, mediante el siguiente procedimiento, modificado de Lanfranco *et al.* (1998):

Aislamiento de ADN. El ADN se aisló de carpóforos deshidratados para lo cual se utilizaron 500 mg molidos en nitrógeno líquido. Se utilizó el Kit Plant Mini Kit marca Quiagen con número de catálogo 69104, se extrajo el ADN total y se almacenó a – 20°C.

Condiciones de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Las regiones del segmento intergenético (ITS4 y ITS5) y el gen 5.8S ribosomal RNA fueron amplificadas en un Termociclador marca Biometra T-gradient, usando los primers ITS4 y ITS5 (White *et al.*, 1990). El PCR se realizó en un volumen total de 50 µl el cual contenía 1 U Taq de ADN polimerasa, 5 µl del buffer de 10x Taq polimerasa, 10 nmol de dNTP, 50 pmol de cada uno de los dos primers y 1 µl de extracto de ADN. El programa empleado fue: 5 minutos de desnaturalización inicial a 94°C, seguido de 35 ciclos (40 segundos a 94°C, 30 segundos a 55°C y 60 segundos a 72°C), con una extensión final de 72°C por 6 minutos.

Clonación, secuenciación y análisis de las secuencias. Los productos del PCR fueron clonados en el vector bacteriano pDRIVE (Qiagen) y se transformaron células de *Escherichia coli* TOP 10F'. Los plásmidos se purificaron y secuenciaron en Langebio, CINVESTAV, IPN y las secuencia fue comparada en la base de datos de GenBank con el programa BlastN (Basic local alignment search tool) (Altschul *et al.*, 1990).

REFERENCIAS

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 215:403–410.
- Lanfranco, L., Perotto, S., Longato, S., Mello, A., Cometti, V. and Bonfante, P. 1998. Molecular approaches to investigate biodiversity in micorrhizal fungi. Chapter 22. 353-372. *In: Ajit Varma* (Ed.). 1998. Mycorrhizal Manual. Springer. 542p.
- White T.J., Brunus, T., Lee, S., Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: Innis M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J.* (eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, London, pp. 315-322.