

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL



Aislamiento e Identificación del Hongo Micorrízico en Suelo de Bosque de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en Jagüey de Ferniza Saltillo, Coahuila

Por:

**MARÍA GUADALUPE CRUZ BARRERA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO FORESTAL**

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL

Aislamiento e Identificación del Hongo Micorrícico en Suelo de Bosque de *Pinus pseudostrobus* Lindl. en Jagüey de Ferniza Saltillo, Coahuila

Por:

**MARÍA GUADALUPE CRUZ BARRERA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

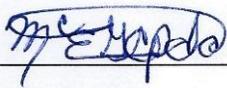
**INGENIERO FORESTAL**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Ing. Sergio Braham Sabag

Asesor Principal



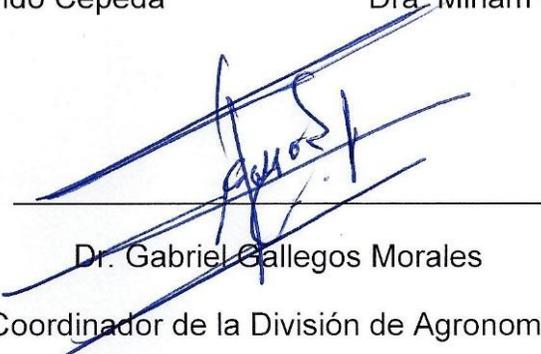
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor



Dra. Miriam Desiree Dávila Medina

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto, haberme dado salud para lograr mis objetivos y por sus bendiciones durante mi formación profesional.

A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), por brindarme la oportunidad de incorporarme a esta institución por formarme en la carrera de Ingeniero Forestal, por sus enseñanzas y así llegar a ser un profesionalista.

Le agradezco a mi asesor Ing. Sergio Braham Sabag por brindarme una oportunidad de trabajar en su proyecto de investigación para así realizar mi proyecto de tesis. Gracias por sus conocimientos.

Agradezco a la Dra. Miriam Desireé Dávila Medina, por todos los conocimientos que me enseñó durante la realización de mi tesis, también le agradezco por brindarme su amistad y así ayudarme a ver a un obstáculo grande en una simple piedrecita.

Le agradezco a mi asesor Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda, por su disponibilidad y sugerencias en la revisión del presente.

Le agradezco a María de los Ángeles Covarrubias Gonzáles por apoyarme a lo largo de la carrera y siempre estar conmigo en las buenas y en las malas.

Le agradezco a Ma. Eduviges Huerta Juárez y Raúl O. Tovar Villa por todo el apoyo y cariño que me han brindado durante mi formación.

## DEDICATORIA

A mi esposo Hugo Enrique Ruiz López por su sacrificio y esfuerzo, por apoyarme durante mi carrera y por creer en mi capacidad, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre ha estado brindándome su apoyo, amor y comprensión.

A mi hija Alondra Sarahy Ruiz Cruz por ser mi fuente de motivación e inspiración para superarme cada día más.

A mis padres: Bonifacio Cruz Albino y Celerina Barrera Cristóbal por brindarme su amor, apoyo, comprensión y educación durante esta etapa de mi vida.

A mis hermanos: José Francisco, Santos y Dulce Yoselin por su apoyo de una u otra manera por las cosas los quiero y siempre contarán conmigo.

A mi Tío Hermino Barrera Cristóbal que me apoyo y que siempre estuvo a mi lado alentándome en cada momento para lograr una meta más en mi vida.

# I. ÍNDICE

I. RESUMEN.....	3
II. INTRODUCCIÓN.....	4
III. OBJETIVOS .....	6
3.1. Objetivo General.....	6
3.2. Objetivos Específicos.....	6
IV. HIPÓTESIS .....	6
V. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
5.1. Clasificación taxonómica de <i>Pinus pseudostrobus</i> Martínez (1979).....	7
5.2. Descripción de <i>P. pseudostrobus</i> .....	7
5.2.1. Distribución geográfica .....	8
5.2.2. Clima.....	8
5.2.3. Altitud y topografía.....	9
5.2.4. Suelos.....	9
5.2.5. Floración y fructificación .....	9
5.2.6. Usos.....	10
5.2.7. Plagas.....	10
5.2.8. Enfermedades.....	11
5.3. Descripción de micorrizas en general .....	13
5.4. Tipos de micorrizas .....	14
5.4.1. Ectomicorrizas.....	14
5.4.2. Endomicorrizas .....	15
5.4.3. <i>Orquidoideas</i> o micorrizas de oville .....	18
5.4.4. Ericoides .....	19
5.4.5. Ecto-endomicorrizas .....	19
5.4.6. Arbutoide.....	19
5.4.7. Monotropoide .....	19
5.5. Función de las micorrizas.....	21
VI. MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
6.1. Descripción del área de estudio.....	24
6.2. Trabajo de campo.....	25

6.2.1.	Obtención de las muestras .....	25
6.2.2.	Aplicación del suelo de Bosque de <i>P. pseudostrobus</i> a las plantas .....	25
6.3.	Tratamientos .....	26
6.4.	Diseño experimental. ....	26
6.5.	Riegos .....	26
6.6.	Aislamiento e Identificación de la Micorriza .....	26
6.6.1.	Aislamiento directo de arbusculos .....	27
6.6.2.	Aislamiento interno arbusculos en hipoclorito sodio al 3% con desinfección ...	27
6.6.3.	Aislamiento e identificación de hongos del suelo presentes en las plantas.....	28
	Identificación de hongos o preparación de laminillas .....	28
6.7.	Parámetros Agronómicos.....	30
6.7.1.	Superficie de la raíz micorrizada.....	30
6.7.2.	Longitud y Peso de la raíz.....	30
6.7.3.	Diámetro de la planta.....	30
6.7.4.	Altura de la planta.....	30
6.7.5.	Conteo de Arbusculos.....	30
<b>VII.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>31</b>
7.1.	Identificación de la micorriza .....	31
7.2.	Identificación de hongos.....	32
7.3.	Parámetros Agronómicos.....	34
7.3.1	Altura de la planta. ....	34
7.3.2	Diámetro de la planta .....	36
7.4.	Longitud de raíz .....	37
7.5.	Peso de la raíz .....	38
7.6.	Peso completo de la planta.....	39
7.7.	Conteo de arbusculos.....	40
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>42</b>
<b>IX.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>44</b>
<b>XI.</b>	<b>ANEXO.....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de los HMA de acuerdo con Morton & Benny (1990) y Morton & Redecker (2001).....	16
Cuadro 2. Tipos de micorrizas formados por los principales géneros de especies forestales de clima templado frío en Norte América.....	20
Cuadro 3. Tratamientos aplicados con suelo de Bosque de <i>P. pseudostrobus</i> .....	26
Cuadro 4. Comparación de medias en la altura de las plantas micorrizadas de <i>P. pseudostrobus</i> .....	34
Cuadro 5. Comparación de medias en el diámetro de las plantas.....	36
Cuadro 6. Comparación de medias con longitud de la raíz de la planta.....	37
Cuadro 7. Comparación de medias de peso de la raíz.....	38
Cuadro 8. Comparación de medias de peso completo de raíz.....	39
Cuadro 9. Comparación de medias de conteo de arbusculos.....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Caldo Dextrosa Papa y propagados en agitación constante a 150 rpm durante 7 días a temperatura ambiente.....	29
Figura 2. Crecimiento de <i>Lycoperdon</i> en PDA.....	31
Figura 3. <i>Lycoperdon</i> sp. Observada en microscopio.....	32
Figura 4. Crecimiento de <i>Trichoderma</i> en PDA.....	33
Figura 5. Micelio y esporas de <i>Trichoderma</i> observadas en microscopio.....	33
Figura 6. Altura de las plantas de <i>P. pseudostrobus</i> de tratamientos y testigo.....	35
Figura 7. Arbusculos de los Tratamientos observados con el microscopio.....	41
Figura 8. Comparación de arbusculos de un testigo con una planta de tratamiento uno... 41	41

## ÍNDICE DE GRAFICAS

<b>Grafica 1.</b> Altura de Planta.....	35
Grafica 2. Diámetro de las plantas.....	36
Grafica 3. Longitud de raíz de tratamiento y testigo.....	37
Grafica 4. Peso de raíz de los tratamientos y testigo.....	38
Grafica 5. Peso completos de las plantas de <i>P. pseudostrobus</i> .....	39
Grafica 6. Conteo de los arbusculos de los tratamientos y el testigo.....	40

## I. RESUMEN

Las micorrizas protegen la planta de los patógenos ayudando a la absorción de agua y nutrientes. Con la capacidad de establecer “un puente” entre el suelo y la planta para tener un desarrollo y un crecimiento en las raíces de los árboles. Se realizó la micorrización de plántulas de *Pinus pseudostrobus* en invernadero inoculando suelo recolectado de pinos adultos de su hábitat natural del Ejido Jagüey de Ferniza, Saltillo, Coahuila, con el objetivo de observar los efectos de las micorrizas sobre el desarrollo de estos árboles. Se utilizaron dos tratamientos los cuales son Tratamiento 1 con 20 gr y Tratamiento 2 con 10 gr de suelo nativo, cada uno con tres repeticiones en plántulas de dos años de edad. Las evaluaciones fueron realizadas durante un año, evaluando el efecto de la micorrización midiendo diferentes parámetros agronómicos, como altura, diámetro, peso de la raíz, peso completo de la planta y longitud de la raíz. Se identificó el hongo micorrícico en las plántulas inoculadas por microscopía y claves taxonómicas. El tratamiento que mostró los mejores resultados fue el Tratamiento 1 (20gr), observándose diferencias estadísticas significativas en cuanto a altura, peso y número de arbusculos en comparación con el testigo. En estudio se demostró que con mayor cantidad de suelo se reproducen más micorrizas ayudando a que la planta tenga mayor absorción de los nutrientes, por lo tanto mejor rendimiento y protección. En la identificación taxonómica a nivel género se encontraron un hongo endomicorrizico: *Lycoperdon* sp. un hongo benéfico *Trichoderma*. sp. y diversos hongos fitopatógenos como *Fusarium* sp. Y *Phytophthora* sp. Con estos resultados se comprueba que al inocular micorrizas nativas en pinos *P. pseudostrobus* se desarrollan y establecen en invernadero mejorando el rendimiento de la planta.

**PALABRAS CLAVE:** micorrización, *P.pseudostrobus*, *Lycoperdon* sp y *Trichoderma* sp.

## II. INTRODUCCIÓN

El *Pinus pseudostrobus* es una conífera nativa de México, Guatemala y Honduras; En México se localizan en la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del sur, Eje Neo volcánico, Sierra madre de Chiapas y parte de la Sierra Madre Occidental. La especie se encuentra en las siguientes regiones; Zona norte- centro: Chihuahua; Zona occidente: Jalisco, Colima, Michoacán; Zona Noreste: Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas; Zona Centro: Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro; Zona Metropolitana: Estado de México, Distrito Federal y Morelos; Zona Oriente- Centro: Hidalgo, Puebla y Tlaxcala; Zona Oriente-golfo: Veracruz; Zona Sur: Guerrero, Oaxaca y Chiapas (Sáenz, *et al.*, 2011).

El *Pinus pseudostrobus* es una especie que se encuentra fuera de peligro de extinción de acuerdo a la NORMA OFICIAL MEXICANA 059 (NOM-059-SEMARNAT 2010) (SEMARNAT 2010).

Esta especie es buen productor de resina, es ampliamente explotada en los estados del centro y sur del país. La madera es de buena calidad se usa en aserrío, triplay, chapa, para cajas de empaque, molduras, en la construcción, en la fabricación de ventanas y muebles finos, artesanías, ebanistería y pulpa para papel. Es una especie recomendable para plantaciones comerciales, también para su uso ornamental en campos deportivos y parques, debido a que su follaje semicolgante desprende un aroma agradable a resina (Eguiluz *et al.*, 1978).

Los pinos son atacados por diversas enfermedades entre ellas la pudrición causada por el hongo *Fomes annosus*, el cual causa pudriciones de raíz en *P. pseudostrobus*. Para su control se recomienda la eliminación total de los focos de infección, sacar y quemar los tocones y desinfectar las cepas con Formol (diluido en agua al 2%).

Se conocen muchas especies forestales que se asocian con los hongos micorrizogenos como los pinos, la gran mayoría tiene algún tipo de micorriza especialmente con ecto-micorrizas, denominadas también micorrizas vesiculo

arbúsculares, dado que forman en las raíces, vesículas y formas arborecences. Se sabe que la relación árbol- micorriza, estimula muy activamente el desarrollo de la planta, por lo cual es indispensable garantizar una adecuada inoculación de los hongos micorrizogénicos a los árboles en etapa de vivero (Alvarado, *et al.*, 2004).

El término de micorriza quiere decir “hongo-raíz” así describiendo que es una asociación entre el hongo y la raíz de la planta. (Frank, 1885)

Las especies forman asociaciones simbióticas de micorrización. Las micorrizas son utilizables o se requieren principalmente cuando se introduce una nueva planta o cuando el suelo es muy pobre para poder generar micorrizas o cuando se requiere de algún micorrizadas para tener un mejor desarrollo de especies. (Alvarado, *et al.* 2004).

En general todas las estructuras formadas en el suelo tienen asociaciones de hongo-raíz en la mayoría las plantas la micorrización se presenta cuando se pone en contacto el hongo micorrícicos con las plantas. La micorrización nos indica que es el establecimiento de la simbiosis, mejoran las especies en la absorción de agua y de nutrientes de la raíz permitiendo que las plantas estén protegidas (Frank, 1885)

En este trabajo de investigación, se busca micorrizar a *P. pseudostrobis* utilizando como probable inóculo, suelo del bosque en el cual está presente esta especie, además de identificar la micobiota existente en este mismo suelo. Con la micorrización de *P. pseudostrobis* otro objetivo sería el de obtener una mejor adaptación e incremento de la productividad de la biomasa vegetal para su resistencia y supervivencia en el campo.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la micorrización en plántulas de invernadero de *P. pseudostrobus* inoculadas con suelo nativo del Bosque de la misma especie.

#### 3.2. Objetivos Específicos

1. Evaluar los parámetros agronómicos de las plantas inoculadas como altura, diámetro, longitud de raíz, peso de raíz y peso completo de la planta en la micorrización.
2. Identificar el género del hongo micorrícico que se asocia con plantas producidas en invernadero de *P. pseudostrobus* inoculadas con suelo nativo de este taxón arbóreo.
3. Identificar hongos asociados al suelo de plantas de *P. pseudostrobus* de invernadero.

### IV. HIPÓTESIS

Ho: El suelo colectado en el bosque de *Pinus pseudostrobus*, causa micorrización al aplicarlas a plántulas de la misma especie producidas en vivero.

Ha: El suelo colectado en el bosque de *Pinus pseudostrobus*, no causa micorrización al aplicarlas a plántulas de la misma especie producidas en vivero.

## V. REVISIÓN DE LITERATURA

### 5.1. Clasificación taxonómica de *Pinus pseudostrobus* Martínez (1979)

Reino: *Plantae*

División: *Pinophyta*

Clase: *Pinopsida*

Orden: *Pinales*

Familia: *Pinaceae*

Género: *Pinus*

Especie: *pseudostrobus*

### 5.2. Descripción de *P. pseudostrobus*

De acuerdo con Rendowzki (2005), es un árbol que mide de 15 a 20 metros de altura, con un diámetro de hasta de 1 metro, con corteza lisa durante mucho tiempo, áspera y agrietada hasta la vejez. Las ramas son extendidas y verticiladas, ramillas delgadas y frágiles, con largos entrenudos, con tinte azulado en las partes tiernas, las bases de las brácteas son espaciadas y frecuentemente adheridas a las ramillas y como sumergidas a ellas. Hojas en grupos de 5, de 17 a 24 cm de longitud, muy delgadas, triangulares y flexibles, de color verde intenso, a veces con tinte amarillento o glauco, finamente aserradas con los dienteillos uniformes. Por lo general cuenta con 3 ó 2 canales resiníferos en la parte media, rara vez con uno interno o externo. Las vainas son persistentes, anilladas de 12 a 15 mm (a veces hasta 20), de color castaño oscuro, algo brillantes; yemas oblongo cónicas de color anaranjado, conillos oblongos largamente pedunculados, oscuros, con gruesas escamas provistas de puntas romas.

Los conos son ovoides o largamente ovoides de 8 a 10 cm, a veces más, de color café claro, amarillento o moreno, extendidos, muy levemente encorvados, un poco asimétricos, generalmente en pares; sobre pedúnculo de 10-15 mm de longitud, no se desprende con el cono y con frecuencia queda en la ramilla con algunas escamas basales. Las escamas son delgadas pero duras, desiguales, de 3 a 3.5

cm de largo por 1.5 a 1.8 de ancho, con ápice anguloso; umbo irregularmente cuadrangular; quilla transversal por lo común baja y poco marcada; costilla perpendicular poco visible; apófisis aplanada, en ocasiones saliente y redondeada, cúspide pequeña, deprimida, provista de una punta cónica, frágil y persistente. En México la especie se encuentra entre los 2300 y 3000 (m.s.n.m). (Martínez, *et al.*, 1994).

La semilla es vagamente triangular, de color oscuro, de unos 6 mm y ala de 23 mm de largo por 6 a 9 mm de ancho (Martínez *et al.*, 1948).

### **5.2.1. Distribución geográfica**

La especie *P. pseudostrobus* se reporta como originaria de México, Guatemala y Honduras; en general en latitudes que van desde los 14° N hasta los 26° N. En la República Mexicana su distribución queda comprendida entre los paralelos 17° 15' a 29° 25' de latitud N y los meridianos 92° 05' a 108° 35' de longitud W. Se localiza en la Sierra Madre Oriental, Eje Neovolcánico y en la Sierra Madre del Sur, Sierra Madre de Chiapas y parte de la Sierra Madre Occidental. Se ha registrado en las siguientes entidades federativas: Jalisco, Colima, Estado de México, Hidalgo, Distrito Federal, Puebla, Guerrero, Morelos, Oaxaca, Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Chiapas, Puebla, Querétaro, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y Tlaxcala (Martínez, 1948; Eguiluz, 1978; Perry, 1992; CATIE, 1997 y SEMARNAP, 2006).

### **5.2.2. Clima**

La especie habita en localidades cuya precipitación media anual varía de 1,000 a 1,500 mm y otros autores mencionan de 500 a 2,000 mm anuales, con un régimen de lluvia uniforme durante el verano, la estación seca puede ser de 0 a 3 meses, la temperatura máxima promedio del mes más cálido es de 20 a 26 °C; la del mes más frío de 6-12 °C y la temperatura medio anual oscila de 12 a 19 °C. En las áreas donde se distribuye ésta conífera, la precipitación media anual puede llegar a superar los 1,500 mm y la temperatura media anual es de 16.9 °C; la

temperatura media de enero que es el mes más frío es de 14.4 °C, la del mes más caliente se presenta en mayo con 19 °C, la temperatura mínima extrema se presenta en enero con 2.3 °C y la frecuencia de heladas es de 3 a 5 por año en los meses de enero y febrero. El número de días con lluvia es de 80 a 100 por año distribuidas de mayo a octubre y en ocasiones se presenta la lluvia invernal siendo por lo general menor del 5 % de la anual aunque excepcionalmente ha llegado a ser hasta del 20% (Eguiluz, 1982; CATIE, *et al.*, 1997).

### **5.2.3. Altitud y topografía**

El *P. pseudostrobus* se localiza desde 2,400 a 2,800 msnm, sin embargo, en México se ha encontrado en laderas de montaña con elevaciones de 1,600 a 3,200 msnm (Perry, 1992; CATIE, *et al.*, 1997).

### **5.2.4. Suelos**

Los suelos que prefiere la especie son profundos de 1 a 3 m, ácidos, pardos o café amarillento, de buen drenaje, con textura arena migajosa a migajón arenoso, características que corresponden al tipo andosol. Crece en sitios con suelos de buena calidad, con una capa de humus de 10 a 30 cm y alto contenido de nitrógeno, bajo contenido de fósforo, medianos contenidos de calcio y potasio; aunque también se le puede localizar en otros tipos de suelos como regosol, cambisol, acrisol y luvisol y se desarrolla de manera aceptable en suelos con pH neutro a ligeramente ácidos (4.5 a 7.0), con textura medias o pesadas y que presenten buen drenaje, tal es el caso de la región Suroccidental en “El Varaloso” y “Dos aguas” donde está especie se desarrolla bien en suelos de tipo cambisol y luvisol. Crece en suelos profundos derivados de material volcánico y en el noreste del país se ha encontrado en suelos calizos y delgados (Eguiluz, 1978 y CATIE, *et al.*, 1997).

### **5.2.5. Floración y fructificación**

La floración ocurre desde febrero a marzo, la maduración de los conos se presenta de noviembre a diciembre y la apertura de conos entre octubre y

noviembre, aunque también es posible colectarla en algunas localidades en diciembre y aún en enero, y a partir de esas fechas se presenta la dispersión de la semilla (Patiño *et al.*, 1983).

#### **5.2.6. Usos**

Este árbol lo utilizan para construcción rural, como vigas y de forma aserrada producen tablas para utilizarlas en las paredes de casa. Esta especie es buen productor de resina, es ampliamente explotada en los estados del centro y sur del país. La madera es de buena calidad se usa en aserrío, triplay, chapa, para cajas de empaque, molduras, en la construcción, en la fabricación de ventanas y muebles finos, artesanías, ebanistería y pulpa para papel. Es una especie recomendable para plantaciones comerciales, también para su uso ornamental en campos deportivos y parques, debido a que su follaje semicolgante desprende un aroma agradable a resina (Eguiluz *et al.*, 1978).

#### **5.2.7. Plagas**

*P. pseudostrobus* es afectado por una serie de insectos y plantas parásitas, entre las que se destacan:

*Megastigmus albifrons* (avispa de las semillas). En Michoacán, este insecto tiene como hospederos a *P. pseudostrobus*; la larva consume completamente el interior del embrión y reduce la cantidad de semilla llena. Para su control se recomienda la aplicación de insecticidas sistémicos o de contacto poco antes de la emergencia de los adultos.

*Conophthorus conicolens* (broca de los conos). Este insecto tiene como hospederos a *P. pseudostrobus*. La pérdida de semilla causada por esta plaga es grande, ya que los conos que son atacados no liberan semilla. En áreas y huertos semilleros o en rodales sujetos al tratamiento de regeneración mediante árboles padres, se recomienda la recolección y quema de los conos y conillos que fueron atacados por el insecto o la aplicación de quemas controladas en el piso forestal

*Pissodes zitacuarensis* (picudo del pino). Tiene como principales hospederos a *P. pseudostrobus*. Esta plaga al alimentarse del árbol provoca daños en las puntas

(no fáciles de detectar). Si el adulto se alimenta en árboles mayores de 10 años, los daños no revisten importancia, solo en árboles menores y en viveros (Vázquez, 1993).

*Dendroctonus spp.*, de las plagas más importantes son los insectos del género *Dendroctonus* (descortezadores), entre ellos destacan: *D. mexicanus* Hopkins, *D. adjunctus* Blandford, *D. approximatus* Hopkins y *D. valens*. Para el control de *D. mexicanus* y *D. adjunctus*, se aplican métodos de supresión y de prevención de frentes de ataques. Los primeros son los más utilizados y consisten en derribar los árboles infestados y después tratar los fustes. Sobre troncos no descortezados se aplican insecticidas mezclados con aceite (Cibrián *et al.*, 1995).

*Synanthedon cardinales* (gusano resinero del pino). Tiene como hospederos a *P. pseudostrobus*. Se ha experimentado el control mecánico (extracción manual de larvas) con buenos resultados; aunque tiene el inconveniente de ser lento. En árboles de alto valor y que se encuentren severamente infestados se pueden aplicar insecticidas de contacto al fuste, la aspersion se debe realizar en el tiempo de emergencia de los adultos.

*Eucosma sonomana* (barrenador de brotes). Afecta a *P. pseudostrobus*. Estos insectos se alimentan de brotes y yemas, ocasionando que las puntas de crecimiento se sequen y aumenten el crecimiento de ramas laterales, bajando la calidad comercial de la madera. La eliminación de poblaciones de este barrenador se puede realizar mediante la aplicación de métodos silviculturales y químicos. En el primer caso es necesario definir, como criterio de remoción durante los aclareos, a los árboles con deformaciones en su fuste, sobre todo a los que tengan bifurcaciones o polifurcaciones; (Cibrián *et al.*, 1995).

#### **5.2.8. Enfermedades**

El hongo del género *Polyporus pseudostrobus* afecta la raíz de *P. pseudostrobus* y en bosques naturales no se realiza ninguna actividad de control, pero cuando son árboles plus o de alto valor se recomienda llevar a cabo un tratamiento de fertilización, riego por micro aspersion y la aplicación de materia orgánica para ayudar en la revigorización e incorporación de micorrizas (Vázquez *et al.*, 1993).

El Hongo *Fomes annosus* causa pudriciones de raíz en *P. pseudostrobus*. Para su control se recomienda la eliminación total de los focos de infección, sacar y quemar los tocones y desinfectar las cepas con Formol (diluido en agua al 2%), aplicar Sulfato de cobre y Bórax en la cepa de los árboles que muestran síntomas iniciales (Vázquez *et al.*, 1993)

La marchitez de las acículas de pino es causada por *Lophodermium pinastri* en *P. pseudostrobus*, Se sugiere aplicar los siguientes fungicidas protectores, sistémicos y algunos antibióticos, como los siguientes: Daconil®, Carboxim®; Triadimefon®, Benomyl® y Triforine® (Vázquez *et al.*, 1993).

Se reporta que *Sphaeropsis sapinea* es un hongo de distribución mundial; en Nuevo León este hongo se ha encontrado en *P. pseudostrobus*. Cuando un árbol es atacado por este hongo, las ramillas y los fascículos de hojas, toman un color café de la base hacia la punta, las hojas en ocasiones toman una posición perpendicular con respecto al tallo, también se puede presentar un encorvamiento de la ramilla. Si el hongo se presenta en la base del tallo, al retirar la corteza se observa que el tallo toma una coloración azul oscura, este manchado sube por el tallo y también desciende por la raíz. Para su prevención se debe proporcionar a los arbolitos recién plantados las medidas necesarias para elevar el vigor, ya que el hongo afecta con más facilidad a las plantas sujetas a condiciones desfavorables (Marmolejo *et al.*, 1991).

*Cronartium conigenum*. Ataca a *P. pseudostrobus*. Los daños ocasionados por este hongo es el hinchamiento de conos e infecciones en acículas. Se sugiere usar Clorotalonil (Bravo C/M) en dosis de 500 g/100 L de agua, Daconil® en dosis de 350 g/100 L de agua, además de aplicar fungicidas sistémicos como Carboxin (Vitavax 300 PH® en dosis de 5 g/L de agua (Vázquez *et al.*, 1993)

*Cronartium quercum* (enfermedad de ramas en pino). Tiene como hospederos a *P. pseudostrobus*. Se recomienda hacer aspersiones de fungicidas y dosis como en el caso de *C. conigenum*, a excepción de Clorotalonil® que se recomienda a dosis de 500 a 1,000 g/100 L de agua (Vázquez *et al.*, 1993).

La especie *Colleosporium sp.* (Roya de acículas en pino) tiene como principales hospederos a *P. pseudostrobus*. Causa daños principalmente en las acículas

presentando bandas cloróticas, de las que poco después emergen protuberancias de color blanco; cuando ataca plantas con una edad inferior a los primeros tres años, llega a provocar la muerte. Se recomienda hacer aspersiones de 14 fungicidas y dosis como en el caso de *C. conigenum* (Vázquez *et al.*, 1993).

### **5.3. Descripción de micorrizas en general**

La palabra se ha formado del termino griego “mykos” (hongo) y del vocablo latino “Rhiza” (raíz). El termino micorriza fue nombrado por primera vez por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885 (Frank, 1885 citado por Camargo *et al* 1999).

En esta asociación, la planta le proporciona al hongo carbohidratos y un micro hábitat para completar su ciclo de vida; mientras que el hongo, a su vez, le permite a la planta una mejor captación de agua y nutrimentos minerales con baja disponibilidad en el suelo principalmente del fosforo, así como defensas contra patógenos. Ambos, hongo y planta los beneficios son mayores y recíprocos, lo cual se ve reflejado en incremento en las tasas de crecimiento, reproducción y supervivencia de ambas poblaciones involucradas (Camargo *et al.*, 1999).

En los hongos, las 5000 especies identificadas en las micorrizas pertenecen a las divisiones como lo son: *Basidiomycota*, *Ascomycota* y *Glomeromycota*. (Camargo *et al.*, 1999).

De acuerdo con Finlay, (2008) y Smith y Read, (1998), la acción protectora que las micorrizas ejercen contra los hongos patógenos del suelo, se deben a las siguientes causas:

- El manto fúngico actúa como barrera física.
- Producción de sustancias antibióticas por la micorriza.
- Producción de compuestos fungistáticos, como fenoles, terpenos, ácido isobutírico y etileno entre otros.

#### **5.4. Tipos de micorrizas**

Se pueden distinguir tres grupos fundamentales según la estructura de la micorriza formada: *Ectomicorrizas* o formadoras de manto; *Ectendomicorrizas*, que incluye *Arbutoides* y *Monotropoides*; y las *Endomicorrizas*, caracterizadas por la colonización intracelular del hongo, y que a su vez se subdividen en *Ericoides*, *Orquidoides* y *Arbusculares* (Smith and Read *et al.*, 1997).

A continuación se caracterizan cada uno de los tipos de micorrizas:

##### **5.4.1. Ectomicorrizas**

Son asociaciones simbióticas entre las raíces de diversas especies arbóreas o arbustivas y hongos que pertenecen a su mayoría a los Ascomicetes o Basidiomicetes. El micelio cubre a las pequeñas raíces y la zona de los pelos radicales, formando una estructura denominada red de Hartig. Se presentan como intermediarios entre los tejidos del árbol y el suelo cercano a las raíces aumentando en forma importante la absorción de nutrientes entre ellos el fosforo y el nitrógeno (Guadarrama *et al.*, 2004).

Cuando la micorriza se secciona y su anatomía interna es examinada bajo el microscopio, es posible observar que el crecimiento intercelular del hongo entre las células epidérmicas y corticales que forma la red Hartig. En el interior de esta zona de contacto entre el hongo y las células radiculares, es donde se realiza el intercambio de nutrientes y el agua entre el hongo y el hospedante, recibiendo a cambio azúcares y otros productos de la fotosíntesis generados por la planta (Landis., 1990).

Las hifas cubre completamente las pequeñas raíces y la zona de los pelos radicales que poseen algunas conexiones al suelo que las rodea, y otras hifas que salen del centro del manto y se ramifican entre células de la epidermis y del tejido cortical (Agarwal y Sah, 2009).

Existen más de 5000 especies de hongos (pertenecientes a los Basidiomicetes y Ascomicetes) y alrededor de 2000 plantas (tantas angiospermas como

gimnospermas) que forman simbiosis ectomicorrízicas (Agarwal y Sah, 2009). Las asociaciones ectomicorrízicas son las más importantes dentro de las coníferas.

#### **5.4.2. Endomicorrizas**

Las endomicorrizas o versículo-arbúsculares (VA) no forman ni manto ni red de Hartig, ni los ovillos. En su lugar, en el interior de las células de la raíz presentan unas estructuras muy ramificadas que asemejan unos diminutos arboles llamados arbusculos que absorben el almidón de la célula vegetal y es donde se produce el intercambio entre el hongo y la planta, también presentan una estructuras globosas con material lípido que actúan tanto de reserva del hongo como órganos de reproducción asexual, llamadas vesículas. (Habte *et al.*, 1989)

Algunas hifas emergen de la raíz y se desarrollan formando el micelio externo, cuya función es absorber los nutrientes. La micorriza vesícula-arbúscular cambia poco la morfología de la raíz. La infección se origina por la propagación del micelio en la raíz o por la germinación de clamidosporas o esporas de resistencia que forman apresorios sobre la superficie de la raíz y posteriormente penetra en ella. Las hifas no invaden la endodermis, los tejidos vasculares, ni meristemos (Cruz, 1992 y Brundrett 1996).

La asociación simbiótica Micorrízica – Arbúscular se forma en muchas especies perennes leñosas, incluyendo muchas Gimnospermas aparte de las *Pináceas* (Harley y Smith, 1983). Estos hongos pertenecen al pequeño orden *Glomales* dentro de la clase *Zygomycetes* y su origen está en un rango de 353 a 452 millones de años atrás, estando presentes en familias de plantas que tienen miembros de alta importancia económica (*Poaceae*, *Fabaceae*, *Solanaceae* y *Rosaceae*). Los vegetales asociados a los mismos se benefician por el incremento en la toma de nutrientes como, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, cobre, molibdeno, hierro y manganeso, pues el hongo funciona como una extensión del sistema radical de la planta, facilitando a través de su red de hifas

una mayor absorción de éstos en el suelo (Read, 1999). En esta asociación el componente fúngico de la simbiosis se nutre de los carbohidratos almacenados en las células mesodérmicas en formas sencillas de fructosa, glucosa y sacarosa y de los exudados radicales de las plantas.

#### Diversidad Taxonómica de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)

Los estudios con HMA se han enfocado principalmente en determinar la respuesta de la planta a la micorriza sin considerar detenidamente al endofito, dando la impresión de que estos hongos son funcionalmente equivalentes (Abbot & Robson, 1991), ya que incluso una morfoespecie puede asociarse con un gran número de plantas. Sin embargo, se ha demostrado que estos hongos tienen una gran diversidad fisiológica y probablemente han desarrollado adaptaciones específicas a las condiciones ambientales y edáficas en las que se desarrollan. Se ha observado que las plantas micorrizadas se benefician en diferente magnitud dependiendo de los HMA que las colonicen (Smith., 2000). Los hongos que forman micorriza arbuscular, se ubican en el orden *Glomales* de la clase Zygomycetes y comprenden ocho géneros con alrededor de 150 especies.

**Cuadro 1.** Clasificación de los HMA de acuerdo con Morton & Benny (1990) y Morton & Redecker (2001).

Orden	Suborden	Familia	Géneros
<b><i>Glomales</i></b>	<i>Glomineae</i>	<i>Glomaceae</i>	<i>Glomus</i>
			<i>Sclerocystis</i>
		<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Acaulospora</i>
			<i>Entrophospora</i>
	<i>Gigasporineae</i>	<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>
			<i>Scutellospora</i>
		<i>Paraglomaceae</i>	<i>Paraglomus</i>
		<i>Archaeosporaceae</i>	<i>Archaeospora</i>

*Glomus*. En este género las esporas se producen en el ápice de las hifas o intercaladas en el micelio. Las esporas maduras se conservan restos del micelio que les dio origen en forma de una “hifa de sostén” que en el punto de unión con la espora es recta o cónica. Las esporas pueden poseer pared estructural y paredes internas o solo estructural, asimismo, algunos de los estratos de la pared pueden cambiar de color al adicionar reactivo de Melzer (Anexo 1), ya que contiene yodo y puede producirse una reacción dextrinoide (cambio de color a rosa, rojo, magenta o púrpura) característica de especies particulares. La germinación en este género se da por la emergencia de una o varias hifas que atraviesan las paredes de la espora o bien por el lumen de la hifa de sostén. Este género está representado por más de 100 especies de HMA. (Morton & Benny, 1990)

*Sclerocyttis*. Este género las esporas forman agrupaciones de esporas o más o menos compactas, conocidas como esporo carpos, las cuales se caracterizan por presentar una masa semicompacta de hifas en su parte central, llamada plexo, asimismo en algunos casos es posible observar una cubierta compacta o laxa de hifas denominado peridio. Actualmente existen controversias sobre la existencia de este género y autores, como (Redecker., 2000b) demuestran que presentan características que lo asemejan al género *Glomus*. De este género se conocen ocho especies.

*Entrophospora*. En este caso las esporas se producen intercaladamente a la hifa de sostén, que en uno que se conoce como sáculo. Las esporas maduras pierden los restos de la hifa que se le dio origen y a cambio conservan dos cicatrices como señal de ello, una apuesta a la otra. Las esporas pueden poseer paredes estructurales e internas o solo estructurales. La germinación se da a partir de una estructura conocida como “orbe de germinación “. Se conocen solo siete especies de este género.

*Acaulospora*. En este género las esporas se producen de manera lateral a la hifa de sostén, la cual, como en el caso de *Entrophospora* se encuentra ensanchada

en su ápice (sáculo). En las esporas maduras se pierde en totalidad de la hifa de sostén y a cambio queda en la pared estructural de la espora una cicatriz. Las esporas poseen paredes estructurales e internas o solo paredes estructurales, algunos de los cuyos estratos pueden cambiar de color con el reactivo de Melzer (Anexo 1). Presentan la estructura conocida como “orbe de germinación” de este género se conocen alrededor de 30 especies en el mundo.

*Gigaspora*. Las esporas de este género se producen apicalmente a partir de una hifa de sostén ligeramente ensanchada en su ápice a manera de bulbo. Las esporas poseen solo pared estructural, la cual generalmente incluye de dos a tres estratos, alguno de los cuales cambia de color con el reactivo de Melzer (Anexo 1). La última característica importante del género es que previamente a la germinación se produce un estrato interno adicional, altamente papilado, conocido como “estrato germinal”. Se conoce alrededor de 15 especies de este género en el mundo.

*Scutellaspota*. Como en el caso de *Gigaspora*, las esporas se producen apicalmente a partir de una hifa de sostén en forma de bulbo. Pero, a diferencia de *Gigaspora*, las esporas siempre poseen paredes estructurales e internas y algunos de los estratos cambian de color con el reactivo de Melzer (Anexo 1). La germinación es a partir de una estructura especializada denominada “escudo de germinación”, que es, de hecho, lo que da nombre al género. Se conoce alrededor de 30 de este género.

#### **5.4.3. Orquidoideas o micorrizas de oville**

Son micorrizas de orquídeas, los cuales son imprescindibles para su desarrollo y vida juvenil. Una vez que la planta crece y fotosintetiza, cuando está en la fase adulta generalmente se independiza del hongo (Alvarez y Ramos, 2004).

#### **5.4.4. Ericoides**

Son de tipo más sencillo y simple con raíces muy simples e hifas que penetran en las células para formar ovillos. (Bruns y Shefferson, 1994)

#### **5.4.5. Ecto-endomicorrizas**

Presentan características intermedias entre las *Ectomicorrizas* y las *Endomicorrizas*, pues presentan manto externo, como las *ectomicorrizas*, pero también penetran en el interior de las células, como las *endomicorrizas* y no existen vesículas ni arbusculos. Este grupo se presenta tanto en *Basidiomycota* como *Ascomycota* y son más abundantes en angiospermas que en gimnospermas. (Harley y Smith *et al.*, 1983)

#### **5.4.6. Arbutoide**

Es un tipo de ectoendomicorriza, que simultáneamente el hongo penetra a las células radicales de la planta y formar la red de Hartig. Se encuentran pendientes en plantas de los géneros *Arctosphylos*, *Arbutus* y *Pyrola*, integrantes del orden Ericales, comúnmente conocidas como madroños. Generalmente los hongos que forman micorriza arbutoide son capaces de formar ectomicorriza si interactúan con plantas del genero *Pinus* (Peterson y Far-quhar, 1994).

#### **5.4.7. Monotropoide**

La micorriza la desarrollan especies aclorofilas, es decir que no producen clorofila y los hongos involucrados forman ectomicorrizas con plantas autotróficas cercanas transfiriendo así carbono orgánico, su distribución es en zonas templadas las plantas hospedadas son: monótropas los hongos formados son: Ascomicetos y Basidiomicetos (Alvarez y Ramos, 2004)

Aunque ambos tipos proporcionan funciones y beneficios muy similares hacia su hospedante, difieren fuertemente debido al tipo de hongo involucrado, su morfología y sus aplicaciones potenciales en los viveros forestales, que más

ampliamente se encuentran distribuidas (tanto a nivel geográfico como dentro del Reino Vegetal (Allen., 1991).

**Cuadro 2.** Tipos de micorrizas formados por los principales géneros de especies forestales de clima templado frío en Norte América.

Ectomicorrizas
<i>Betula</i> (Abedul)
<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Abeto Douglas)
<i>Abies</i> (Oyamel)
<i>Tsuga</i> (Abeto)
<i>Larix</i> (Alerce)
<i>Quercus</i> (Encino)
<i>Pinus</i> (Pino)
<i>Picea</i> (Abeto)
Ectomicorrizas y micorrizas vesiculares-arbusculares
<i>Eucalyptus</i> (Eucalipto)
<i>Juniperus</i> (Enebro)
<i>Populus</i> ( Álamo)
<i>Juglans</i> ( Nogal)
Micorrizas vesiculares arbusculares
<i>Fraxinus</i> (Fresno)
<i>Prunus</i> (Capulin)
<i>Acer</i> (Maple)
<i>Sequoia</i> (Sequoia)
<i>Liquidambar</i> (Liquidámbar)
<i>Platanus</i> (Sicomoro)
<i>Thuja</i> (Thuja)
<i>Liriodendron</i> (Árbol de los tulipanes)

## 5.5. Función de las micorrizas

Es proteger la planta de los patógenos ayudando a la absorción de agua y nutrientes para tener un desarrollo y un crecimiento en las raíces de los árboles.

La función más importante de los hongos micorrícicos es la capacidad que tienen de establecer “un puente” entre el suelo y la planta: la hifa de dichos hongos penetra, por una parte, y ocupa las raíces de la planta; por otra parte, entra en contacto directo con el suelo. (Bowen, 1973). Este fenómeno aumenta mil veces la zona de penetración del suelo por el sistema “hongo-raíz” de la planta que micorriza: así, el flujo de agua y nutrientes crece de forma muy importante, facilitando mejores posibilidades de crecimiento de dicha planta. (Frank, 1885).

En la absorción de agua y de los nutrientes, tiene una gran importancia ya que es la principal productividad forestal, la disponibilidad de agua que puedan tener las raíces de los árboles para que los arboles no entren en estrés por falta de agua y puedan desarrollar una fotosíntesis y para que los arboles no puedan ser atacados por insectos. Las plantas micorrizas tienen más vitalidad y compiten mejor dentro de los ecosistemas, contra las plantas no micorrizas. (Marx, 1972).

Cuando la raíz se micorriza, tiene mayor capacidad de absorción, las raíces están ramificadas cuando están micorrizadas aumentando la capacidad de absorción. (Álvarez, 1993). Mayor supervivencia y expansión de las plantas micorrizadas están fomentadas también por otras funciones del proceso micorrícicos: la protección pasiva y activa del sistema de raíces contra las enfermedades contraídas por factores relacionados con el suelo, las modificaciones del entorno biótico de la zona de las raíces, las moléculas del suelo formando aglomerados: que, en definitiva, favorece el aumento de la fertilidad del suelo.

Estas son más frecuentes en el hemisferio norte, sin embargo también se pueden encontrar en bosques tropicales y subtropicales pero donde aún sigue siendo más abundante en los bosques templados y boreales donde una limitante es el

nitrógeno (Allen., 1991). Adquiere importancia en la producción de metabolitos por los hongos micorrícicos, en lo particular los compuestos reguladores del crecimiento, ya que influyen en, los procesos relacionados con el desarrollo de las plantas. Evitando la suberización de las raíces cortas nutritivas, incrementando, por lo tanto su tiempo de funcionalidad. (Pérez, 2004).

Los hongos asociados con las micorrizas es *Trichoderma*, se instala en las raíces de las plantas, no establece una simbiosis (asociación en beneficio de ambos ). *Trichoderma* es altruista, solo beneficia a las plantas, sin obtener nada a cambio, no intercambia nutrientes con las raíces, sino que lo protege de patologías producidas por *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* sp entre otras (De la Cruz *et al.*, 1995; Agrios, 2004; Rey *et al.*, 2000).

Su función es dirigir la materia orgánica que rodea la raíz de la planta, es un hongo muy resistente y de rápida propagación , produce enzimas que aumenta el crecimiento de las plantas, acelera la germinación de las semillas, protege a las semillas contra los hongos no beneficiosos, degrada productos químicos tóxicos como el DDT o el glifosato, aumenta la resistencia de la planta mejora la vida microbiana del sustrato, evita la pudrición de las semillas, raíces y tallos ( Domsch *et al.*, 1980, Grondona *et al.*, 1997; Carsolio *et al.*, 1999).

*Trichoderma* las especies de este género desarrolla en áreas con un alto excesivo contenido de humedad y estancamiento del bióxido de carbono en la atmosfera. El ciclo de vida inicia cuando el organismo crece y se ramifica como una hifa fúngica típica que mide 5-10  $\mu$  de diámetro, la esporulación asexual ocurre cuando las esporas de 3-5  $\mu$  de diámetro son liberadas en un gran número. (Grondona *et al.*, 1997)

*Fusarium* . Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan

forma de medialuna, hialinos y septados. Para su correcta clasificación es importante el largo, ancho, curvatura, septos, agrupaciones mucoides (esporodoquios) y detalles de las células de los extremos (célula apical y pie). Los microconidios, ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovales, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas “falsas cabezas”), en cadenas largas o cortas; todas observables a la lupa (40x). Otro tipo de conidios son los mesoconidios, que son similares pero de menor tamaño que los macroconidios y nunca forman estructuras mucoides. Por último, pueden observarse las clamidosporas características con doble pared gruesa, lisa o rugosa; de manera aislada, en pareja o en grupo. (Leslie, 2006).

El género *Phytophthora* son de los Ficomycetos, hongos caracterizados por un filamento desprovisto de separaciones transversales. El ciclo de este hongo comprende dos fases que se desarrollan diferentemente en función de las condiciones ambientales: una fase de reproducción sexual en condiciones desfavorables o al final del ciclo, con producción del órgano de conservación del patógeno (oospora) y una fase de disseminación y de crecimiento ligado a la reproducción asexual (esporas cotidianas) y al desarrollo del micelio. Estos conidios, cuando la humedad es baja, germinan rápidamente. Cuando la humedad es alta estas evolucionan en esporangios para dar zoosporas, esporas primitivas que necesitan la presencia de agua líquida para desplazarse (como el *Phytium*).

Basándose sobre la reproducción, el hongo se define como perteneciente a la clase de los Oomicetos. La *Phytophthora* toma parte del orden de los Peronosporales y de la familia de los Pitiaceos. Es un hongo del suelo que después de infectar el huésped se desarrollara en el tejido de la planta. El micelio circula entre las células emite unos espolones hacia las células para alimentarse.(Erwin, 1983).

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Descripción del área de estudio

El ejido Jagüey de Ferniza, en dónde se colectó el suelo y es hábitat de *P. pseudostrobus*, se localiza en el municipio de Saltillo. Las coordenadas del Ejido Jagüey de Ferniza Son: latitud 25°13'42"N y longitud 101°2'2"W (INAFED). La localidad se encuentra a una mediana altura de 2020 metros sobre el nivel del mar (INAFED).

#### Clima

Su clima predominante es seco semicálido, con una temperatura media anual de 14°C a 18°C. (INAFED).

#### Flora

Hacia las partes montañosas predominan los bosques de pino-encino, mezclado con matorrales semidesérticos de tipo rosetófilo y pastizales naturales. En las regiones inter montañosas y las llanuras hay una vegetación de matorrales semidesérticos y pastizales inducidos y naturales. (INAFED).

#### Fauna

En la fauna se encuentran a especies del semidesierto como codorniz, conejo de cola blanca, liebre y paloma, entre las especies mayores predomina el venado, el coyote y el leoncillo (INAFED).

#### Tipo de Suelo

Feozem.- Su capa superficial es suave y rica en materia orgánica y nutriente. La susceptibilidad a la erosión depende del tipo de terreno donde se encuentre. (INAFED).

Jagüey de Ferniza.- Ubicada a 35 kilómetros de la cabecera municipal. Sus principales actividades son: agricultura y ganadería (INAFED).

## **6.2. Trabajo de campo**

### **6.2.1. Obtención de las muestras**

Se recolecto el suelo al pie de 10 árboles al azar en un bosque de *P. pseudostrobus*, con la siguiente metodología:

De manera manual, se recolecto 500 gr de suelo excavando en el suelo a una profundidad de 15 cm al pie de cada árbol, teniendo cuidado de coleccionar raíces con hifas adheridas a ellas y se colocará la muestra del suelo en bolsas de papel con su respectiva etiqueta identificadora, anotando lugar y fecha de colecta, una vez colectadas se llevarán al área del vivero e invernadero del Departamento Forestal de la UAAAN, donde se guardará en la bodega del mismo invernadero en condiciones de ausencia de calor y manteniendo la humedad del suelo colectado, hasta el día de la aplicación del suelo a las plántulas bajo condiciones adecuadas de conservación para evitar su deterioro.

### **6.2.2. Aplicación del suelo de Bosque de *P. pseudostrobus* a las plantas**

Se utilizó el suelo colectado en el bosque de *P. pseudostrobus* ya mencionado anteriormente.

Las plantas que se utilizaron tenían un año de edad, las cuales fueron trasplantadas en bolsas de polietileno. A cada planta se le aplico diferente dosis de suelo de bosque de *P. pseudostrobus* al Tratamiento 1 la cantidad de 20 gr y Tratamiento 2 con la cantidad de 10 gr ambas mezclándolas con peat-moss los testigos solo utilizó peat-moss. Cada tratamiento contará con tres repeticiones y cada repetición con 15 individuos. Se realizó la observación por un año para ver el crecimiento de las micorrizas.

### 6.3. Tratamientos

**Cuadro 3.** Tratamientos aplicados con suelo de Bosque de *P. pseudostrobus*

Tratamientos	Sustrato	Dosis de suelo colectado en el bosque de <i>P. pseudostrobus</i>
A	Peat-moss 1000g	20g
B	Peat-moss 1000g	10g
C	Peat-moss 1000g	0g

- A. Tratamiento 1 mezcla de sustrato peat-moss con 20g de suelo
- B. Tratamiento 2 Mezcla de sustrato peat-moss con 10g de suelo
- C. Testigo Sustrato peat-moss (testigo).

### 6.4. Diseño experimental.

El diseño que se utilizó fue el de Bloques Completamente al Azar ya que este es el diseño recomendado para los trabajos de investigación que se realizan en invernaderos. Se realizó la comparación de medias con el Análisis de varianza, mediante el programa SAS para determinar así la existencia o no existencia de diferencia significativa entre los tratamientos.

### 6.5. Riegos

Se realizaron riegos con agua destilada cada tercer día, así como también se realizarán labores de saneamiento como el control de herbáceas conforme se vayan presentando en el envase.

### 6.6. Aislamiento e Identificación de la Micorriza

Se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN)

Se utilizó el agar dextrosa papa (PDA). Este medio se usa para aislar los hongos de interés. Para la preparación se pesará 39g/L de PDA en una báscula de precisión y se le agregó el agua destilada; esta solución se envasará en dos

matraces de (1L), se le colocó un trozo de papel aluminio para taparlo y se esterilizó en olla de presión. Se esterilizó con una presión de 15 libras, se realizó durante 15 minutos, posteriormente el medio esterilizado se dejó enfriar hasta que este se pueda manipular y se colocó en cajas Petri, con una cantidad de 25 ml por caja. Por último se dejó en reposo por un día para asegurarse que no presentarán síntomas de contaminación. Con una aguja de disección se cortaron los arbusculos todo esto en condiciones de asepsia. Posteriormente se colocaron en cajas Petri con PDA. Por último se sellaron las cajas Petri y fueron incubadas a  $28 \pm 2$  °C durante y todos los días se realizó una revisión para el aislamiento y purificaron en PDA.

Para posteriormente observarlas al microscopio a diferentes enfoques y de esta manera poder hacer una identificación morfológica con las claves taxonómicas a nivel género.

#### **6.6.1. Aislamiento directo de arbusculos**

Se tomaron plantas al azar de los tratamientos, posteriormente se observaron con el estereoscopio, con una aguja de disección se cortaron los arbusculos todo esto en condiciones de asepsia. Posteriormente se colocaron en cajas Petri con PDA. Por último se sellaron las cajas Petri y fueron incubadas a  $28 \pm 2$  °C durante y todos los días se realizó una revisión para el aislamiento y purificaron en PDA los diferentes hongos presentes en las cajas Petri.

#### **6.6.2. Aislamiento interno arbusculos en hipoclorito sodio al 3% con desinfección**

Se tomaron plantas al azar de los tratamientos, posteriormente se observaron con el estereoscopio, con una aguja de disección se cortaron los arbusculos y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 3% durante tres minutos, después se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron en papel filtro estéril todo esto en condiciones de asepsia. Posteriormente se colocaron en cajas Petri con PDA. Por último se sellaron las cajas Petri y fueron incubadas a  $28 \pm 2$

°C durante y todos los días se realizó una revisión para el aislamiento y purificaron en PDA los diferentes hongos presentes en las cajas Petri.

### **6.6.3. Aislamiento e identificación de hongos del suelo presentes en las plantas**

Se aislaron hongos provenientes de suelo por la metodología de diluciones, en la cual se preparará una solución madre que contendrá 1 gr de suelo del bosque de *P. pseudostrobus* en 9 ml de agua destilada estéril adicionada con Ácido Láctico (200µL/L) (inhibir crecimiento bacteriano), el suelo será previamente tamizado para separar las partes gruesas (hojas, piedras, ramillas). Posteriormente se realizó 4 diluciones en tubos con 9 ml de agua destilada estéril agregando consecutivamente un mililitro de cada dilución, desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-4}$ , de la cuarta dilución se tomaron 500 µL, los cuales se agregaron a una caja Petri con PDA, y serán diseminados con una asa bacteriológica de vidrio. Las cajas se incubaron a  $28 \pm 2$  °C durante 5 a 7 días. Se aislaron y se purificarán en PDA los diferentes hongos presentes en las cajas Petri.

Se cortaron las raíces en trozos de diferentes plantas al azar y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 3% durante tres minutos, después se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron en papel filtro estéril, todo esto en condiciones de asepsia. Posteriormente se colocaron los trozos de raíz en cajas Petri con PDA. Por último se sellaron las cajas Petri y fueron incubadas a  $28 \pm 2$  °C durante 5 a 7 días. Se aislaron y se purificaron en PDA los diferentes hongos presentes en las cajas Petri.

### **Identificación de hongos o preparación de laminillas**

Para finalizar con el trabajo de laboratorio se realizó el montaje en laminillas colocando una muestra (pequeña parte del micelio) en un portaobjetos limpio, sobre una gota de solución (lacto fenol), se tomó la muestra con una aguja de disección raspando ligeramente el tejido del hongo y se colocó cuidadosamente

sobre el portaobjetos dentro de la gota, posteriormente suavemente se cubrió con un cubreobjetos. Para posteriormente observarlas al microscopio a diferentes enfoques de hongos asociados al suelo de plantas de *P. pseudostrobilus* de invernadero y de esta manera poder hacer una identificación morfológica.

### **Postulados de Koch**

Los aislamientos fúngicos obtenidos que fueron considerados probables micorrizas de acuerdo a las características morfológicas conocidas, serán inoculados en caldo Dextrosa Papa y propagados en agitación constante a 150 rpm durante 7 días a temperatura ambiente. Posteriormente fueron inoculados por medio de jeringa al cepellón de plántulas de invernadero de 1 año de edad, se realizarán 5 repeticiones y un testigo absoluto con el fin de comprobar la presencia de micorrización arbuscular.

**Figura 1.** Caldo Dextrosa Papa y propagados en agitación constante a 150 rpm durante 7 días a temperatura ambiente.



## **6.7. Parámetros Agronómicos**

### **6.7.1. Superficie de la raíz micorrizada**

Se realizó el conteo de los arbusculos tomando 4 áreas al azar de cada planta contando los arbusculos y los lóbulos que tiene cada uno de esta manera se obtiene el porcentaje del área en cual se tenga presencia de micorrizas.

### **6.7.2. Longitud y Peso de la raíz**

Se tomaron 21 plantas de cada uno de los tratamientos así como del testigo para desmenuzar la raíz, medir y pesar el área radicular de estas plantas para tener una referencia del crecimiento radicular.

### **6.7.3. Diámetro de la planta**

Se midieron todas las plantas de los diferentes tratamientos sobre la base del tallo en mm con ayuda de un vernier digital (Plastic Caliper Modelo 700-130B).

### **6.7.4. Altura de la planta**

La altura de la planta se midió en cm desde la base del tallo hasta la yema apical, utilizando un flexómetro. Durante el periodo del experimento se realizaron 4 mediciones.

### **6.7.5. Conteo de Arbusculos**

Se seleccionaron las plantas completamente al azar de los tratamientos para el conteo de arbusculos, se tomaron 4 cuadrantes de cada planta cada cuadrante de 5 cm.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

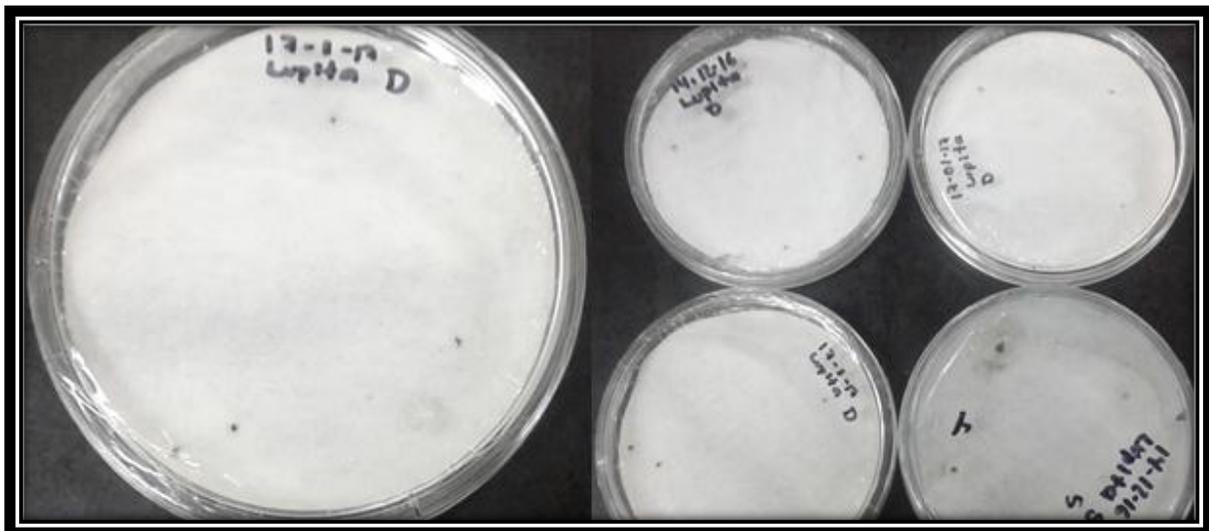
En la realización de la investigación se lograron obtener los siguientes resultados

### 7.1. Identificación de la micorriza

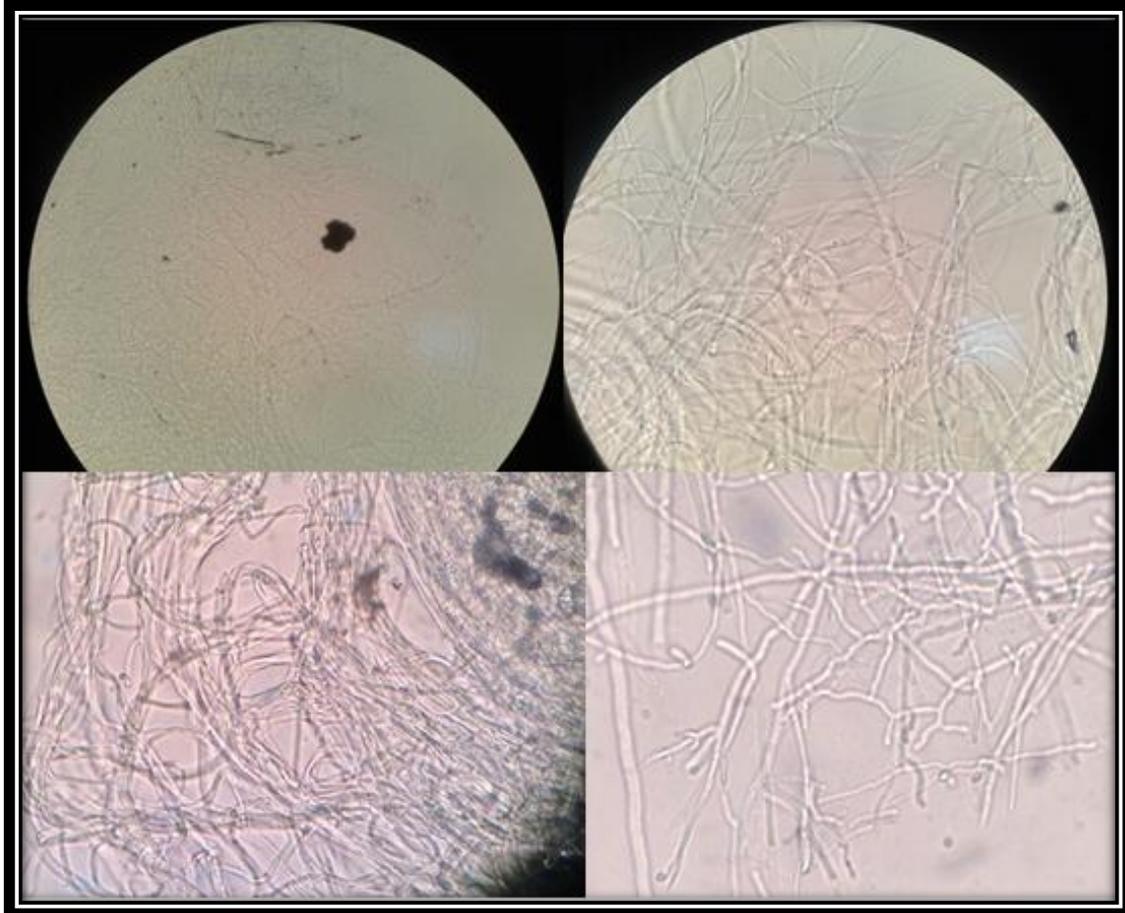
Descripción: Micelio pardo, pardo-oscuro. Micelio aéreo blanco, abundante, aunque a veces irregularmente distribuido, con algunos tonos rosáceos a crema-parduzco hacia los bordes.

En estudio que se realizó la micorriza que asociada con los *P.pseudostrobus* es *Lycoperdon sp.* que ayuda a la absorción de nutrientes y la protege de plagas y enfermedades. Obteniendo mejores resultados en su crecimiento de altura como de diámetro. *Fernández et al. (2014)* evaluaron plantas de *Picea mexicana*, micorrizadas con el hongo *Lycoperdon perlatum* presentando características similares a las del micelio de esta misma especie.

**Figura 2.** Crecimiento de *Lycoperdon* en PDA.



**Figura 3.** *Lycoperdon* sp. Observada en microscopio.



En el hongo endomicorrizico: *Lycoperdon* sp está formado por hifas hialinas, no septadas, de pared delgada dispuestas en paralelo, constituyendo una capa muy compacta. Las hifas del capilicio pueden ser ramificadas o no, pared gruesa y porada; algunas presentan falsos septos.

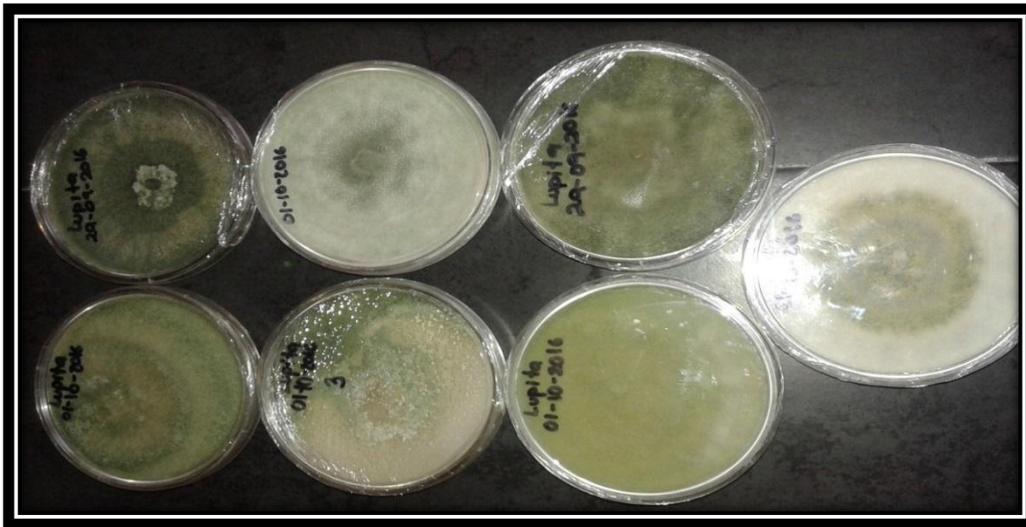
## **7.2. Identificación de hongos**

En el suelo de bosque de *P. pseudostrobus* se encontró el hongo del genero *Trichoderma*, por su rápido crecimiento y su coloración, blancas-verde, amarillo-verdosas; áreas con conidias presentando anillos concéntricos, son hongos que se

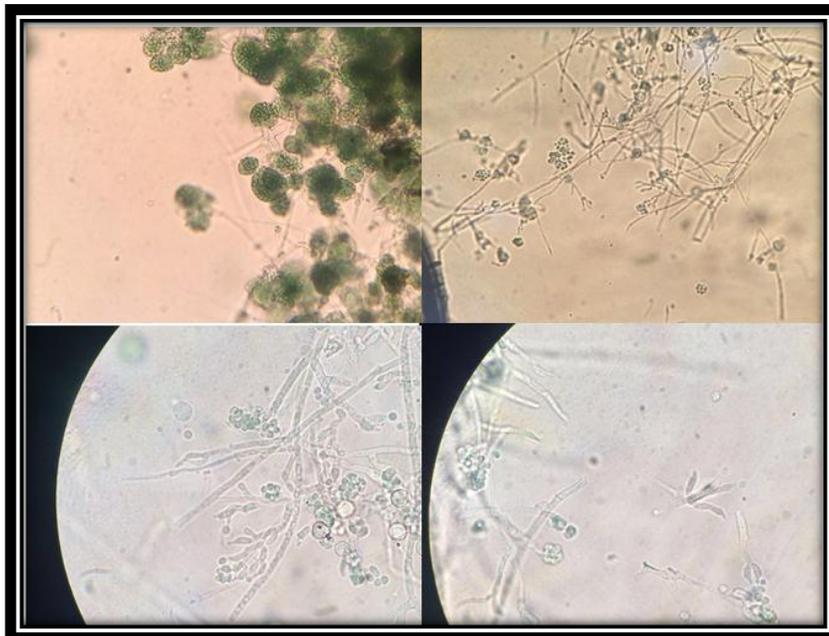
encuentran principalmente en materia orgánica en descomposición (*Grondona et al., 1997*).

En la etapa temprana del *Trichoderma sp.* el color del micelio es blanco y eventualmente desarrolla un color verde oscuro después su esporulación, las colonias crecen y maduran rápidamente a los 5 días de incubación en medio de cultivo de PDA. También forman clamidosporas intercaladas de forma individual también se pueden presentar dos juntas.

**Figura 4.** Crecimiento de *Trichoderma* en PDA.



**Figura 5.** Micelio y esporas de *Trichoderma* observadas en microscopio.



También se encontró *Fusarium* al observarlo al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados.

Otro tipo de hongo encontrado fue *Phytophthora* son de los Ficomicetos, hongos caracterizados por un filamento desprovisto de separaciones transversales.

Es un hongo del suelo que después de infectar el huésped se desarrollara en el tejido de la planta.

### 7.3. Parámetros Agronómicos

#### 7.3.1 Altura de la planta.

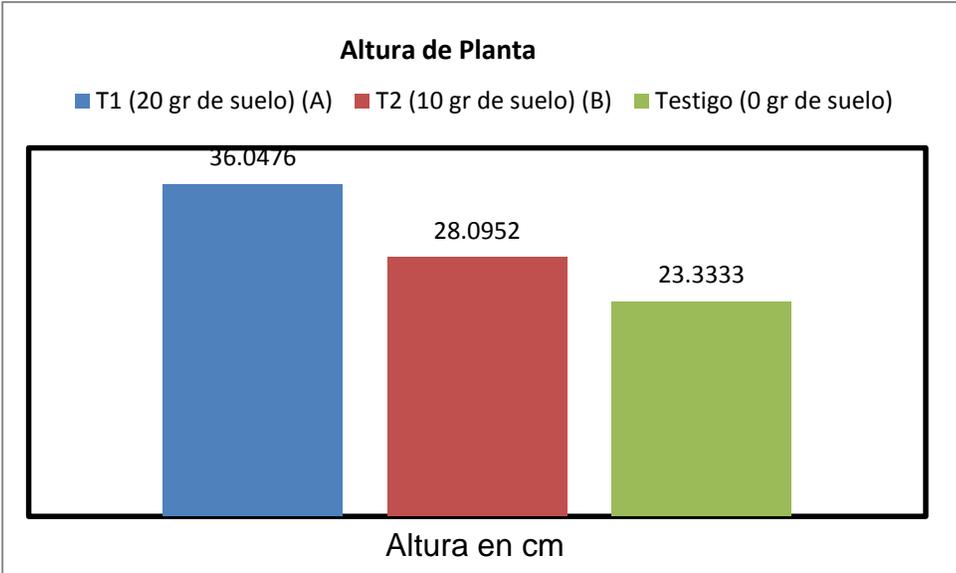
Las plantas del Tratamiento 1 alcanzaron una mayor altura, seguidas del tratamiento 2, comparadas con el testigo que presentó menor crecimiento, se observó una diferencia significativa, Grafica No 1 demostrando que las plantas micorrizadas tienen mayor altura. *Fernández et al. (2014)* evaluaron plantas de *Picea mexicana*, micorrizadas con el hongo *Lycoperdon perlatum* y plantas no micorrizadas en un periodo de 8 meses donde el Tratamiento 1 (30 gr de suelo) obtuvo mayor altura. (*García et al., 1992*) evaluó el efecto de las micorrizas en diferentes localidades de plantas de *Pinus hartwegii* observando mayor altura en las plantas micorrizadas.

**Cuadro 4.** Comparación de medias en la altura de las plantas micorrizadas de *P. pseudostrobus*

TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	57.27 A
T2 (10 gr de suelo)	54.19 B
Testigo (0 gr de suelo)	51.69 C
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.01	

\*Medias dentro de la columna seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 1.** Altura de Planta



**Figura 6.** Altura de las plantas de *P. pseudostrobus* de tratamientos y testigo.



### 7.3.2 Diámetro de la planta

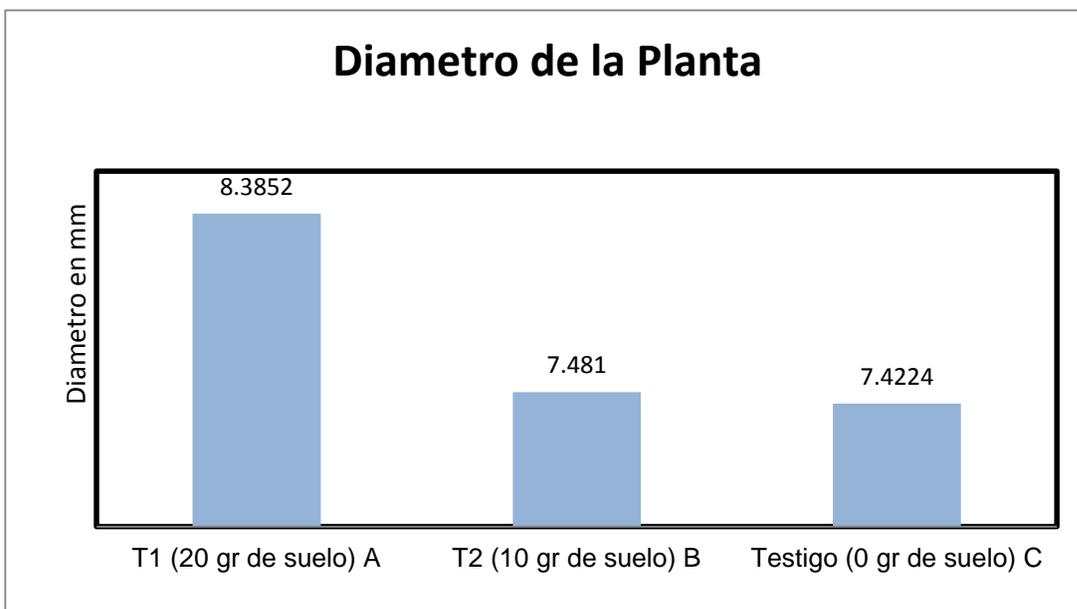
En las plantas del Tratamiento 1 se registró mayor incremento en el diámetro (8.38 cm) seguido por el tratamiento 2 (7.48 cm) y por último el Testigo (7.4224 cm). *Fernández et al. (2014)*, *Grafica No 2* en su evaluación su tratamiento con mayor diámetro fue el tratamiento 1, el tratamiento 2 con menor diámetro y el testigo con menor promedio. *Roldán et al. (1996)*, establecieron plantaciones de *Pinus halepensis* inoculados con *Pisolithus tinctorius* en zonas de suelos muy degradados en el sudeste de la península, aplicando distintos sistemas de preparación del terreno. La inoculación con *Pisolithus tinctorius* incrementó significativamente el crecimiento en diámetro y altura de los pinos.

**Cuadro 5.** Comparación de medias en el diámetro de las plantas.

TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	8.38 A
T2 (10 gr de suelo)	7.48 B
Testigo (0 gr de suelo)	7.42 C
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.01	

\*Medias dentro de la columna seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 2.** Diámetro de las plantas



#### 7.4. Longitud de raíz

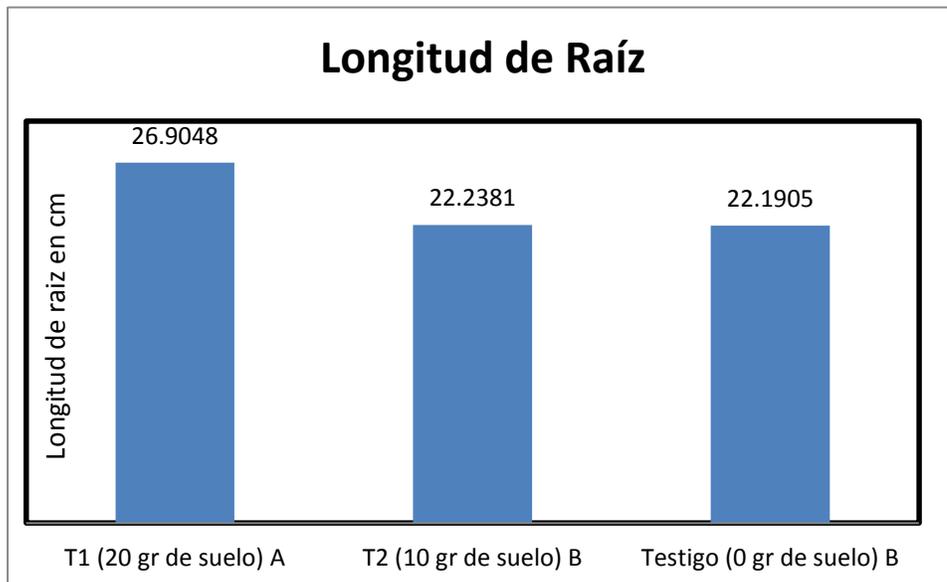
La micorrización del suelo de bosque de *P. pseudostrobus* es significativa ya que en los 2 tratamientos que se le aplicó el suelo hubo micorrización, se realizó una comparación de medias se puede observar que el mejor tratamiento uno fue el mejor con 26.90 de

**Cuadro 6.** Comparación de medias con longitud de la raíz de la planta.

TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	26.90 A
T2 (10 gr de suelo)	22.23 B
Testigo (0 gr de suelo)	22.19 B
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.01	

\*Medias dentro de la columna seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 3.** Longitud de raíz de tratamiento y testigo.



### 7.5. Peso de la raíz

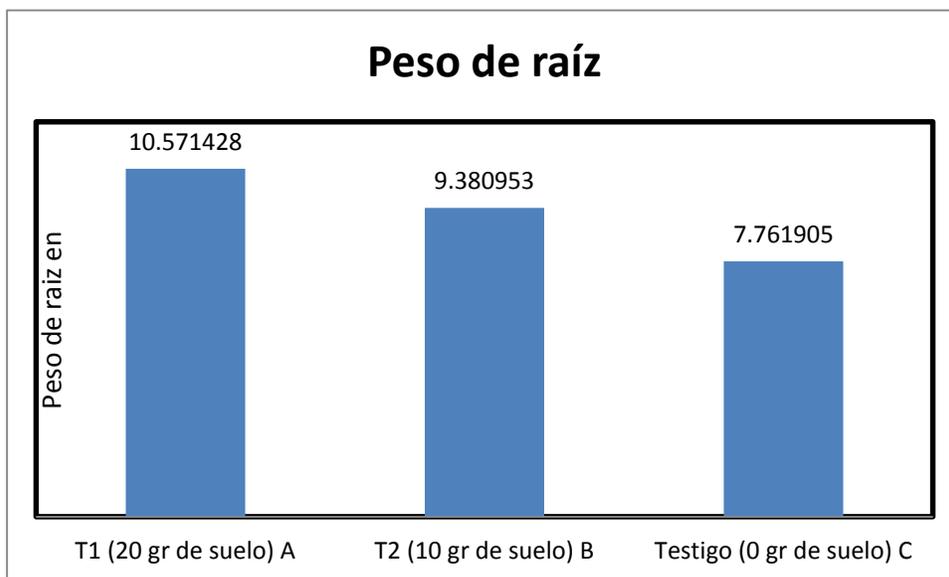
En la micorrización de *P.pseudostrobis* en el Tratamiento uno 10.57 se puede observar que le ayudó a las plantas para tener mayor número de ramificaciones en la raíz al igual que al Tratamiento dos pero en menor cantidad con 9.38 en el Testigo se puede observar que la raíz no se desarrolló tanto como en los tratamientos por la falta de micorrización.

**Cuadro 7.** Comparación de medias de peso de la raíz

TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	10.57 A
T2 (10 gr de suelo)	9.38 B
Testigo (0 gr de suelo)	7.76 C
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.05	

\*Medias dentro de la hilera seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 4.** Peso de raíz de los tratamientos y testigo.



### 7.6. Peso completo de la planta

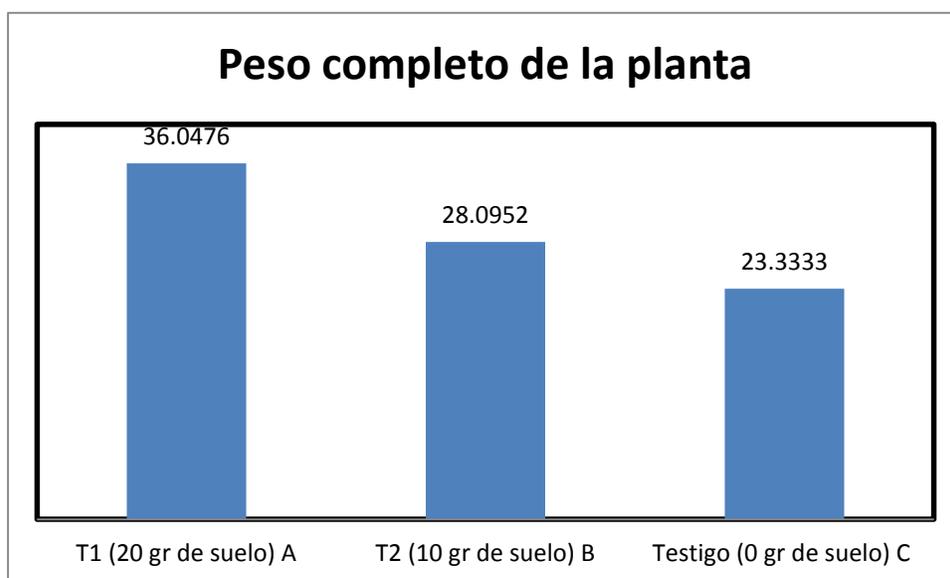
La micorrización ayudo al crecimiento tanto en diámetro, altura y longitud de la raíz de las plantas, en el Tratamiento uno con un peso completo de 36.0476, seguido del Tratamiento dos con un peso completo de 28.0952, en el Testigo con menor peso completo de la planta de 23.3333 por falta de micorrización no logro desarrollarse con la misma rapidez que el Tratamiento uno.

**Cuadro 8.** Comparación de medias de peso completo de raíz

TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	36.04 A
T2 (10 gr de suelo)	28.09 B
Testigo (0 gr de suelo)	23.33 C
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.01	

\*Medias dentro de la columna seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 5.** Peso completos de las plantas de *P. pseudostrobus*



### 7.7. Conteo de arbusculos

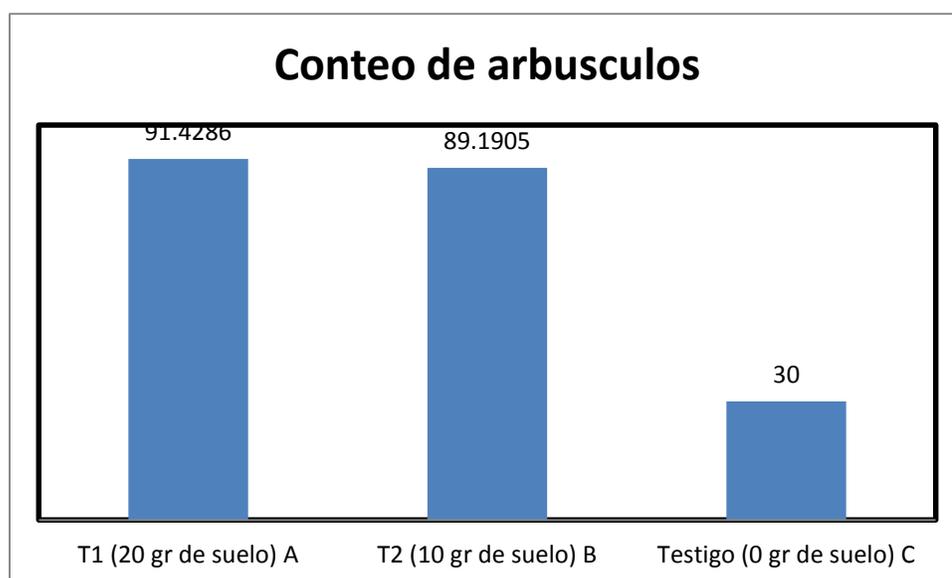
En el conteo de arbusculos con mayor numero fue el Tratamiento uno con 91.4286 promedio ayudando a la planta a absorber mejor los nutrientes para su desarrollo, seguido del Tratamiento dos con 89.1905 y con un menor número de arbusculos fue el Testigo con 30.0000 en el cual por la falta de arbusculos las plantas se desarrollaron muy lento y las plantas no pudieron absorber los nutrientes.

**Cuadro 9.** Comparación de medias de conteo de arbusculos

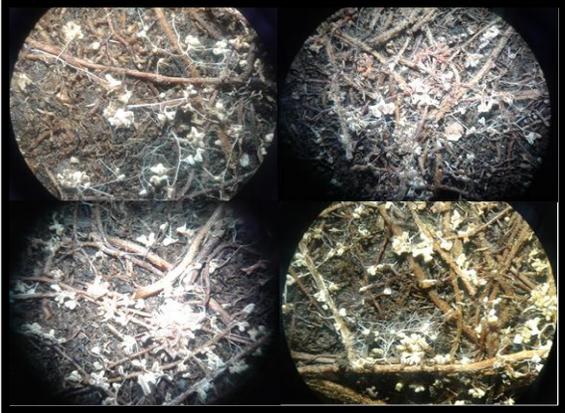
TRATAMIENTO	MEDIA
T1 (20 gr de suelo)	91.42 A
T2 (10 gr de suelo)	89.19 B
Testigo (0 gr de suelo)	30.00 C
NIVEL DE SIGNIFICANCIA=0.01	

\*Medias dentro de la columna seguidas por la misma letra son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.01 determinadas por Tukey.

**Grafica 6.** Conteo de los arbusculos de los tratamientos y el testigo.



**Figura 7.** Arbusculos de los Tratamientos observados con el microscopio.



**Figura 8.** Comparación de arbusculos de un testigo con una planta de tratamiento uno.



## VIII. CONCLUSIONES

La micorrización de *P. pseudostrobus* con el suelo nativo del bosque de esta especie, en la comparación de medias nos indica que al menos un tratamiento tiene un resultado significativo, por lo tanto se rechaza la  $H_0$ . En el Tratamiento 1, donde se aplicó una mayor cantidad de suelo (20 gr), se observó un mejor resultado en los parámetros agronómicos evaluados, mostrando mayores rendimientos en la planta, en el Tratamiento 2 también hubo micorrización pero en menor cantidad de arbusculos, en comparación con el Testigo donde se encontró escasa micorrización casi nula. El suelo colectado en el bosque de *P. pseudostrobus* es eficiente para la micorrización, ayudando a los tratamientos para mejor absorción de nutrientes y protegerlos de enfermedades es recomendable mezclar el sustrato con suelo para tener una micorrización y un desarrollo rápido de las plantas de *P. pseudostrobus* o de cualquier otra especie de *Pinus*.

## **IX. RECOMENDACIONES**

- Identificar el hongo micorrízicos del suelo en el laboratorio y posteriormente realizar la inoculación.
- Realizar el experimento en un área donde las condiciones sean iguales para todas las plantas que no estén demasiado juntas para que no tengan que competir por luz y obtener mejores resultados.
- Evaluar la supervivencia de las plantas.

## X. BIBLIOGRAFÍA

Abbot L.K, & Robson A.D. 1991. Factores Influencing the Occurrence of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. *Agric Ecosyst Environ.* 35:121-150.

Agarwal, P. and Sah, P. 2009. Ecological importance of ectomycorrhizae in word forest ecosystems. *Nature and Science* 7(2): 107-116 pp.

Agrios, G. 2004 *Fitopatología*. Editorial Limusa. Noriega Editoriales 838 pp.

Allen, M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Ed. Cambridge University Press.

Alvarez, J. y Ramos Zapata J. 2004. "Hongos y Plantas". Beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. 39-45 pp.

Alvarez F. 1993 Congreso Forestal Español. Lourizan. Pag 137- 141.

Bowen, G. D., 1973 Mineral Nutrition in ectomycorrhizae. In: G.C. Marks y T.T Kozlowski (eds). *Ectomycorrhizae the Ecology and Physiology*. Academic Press. New York. Pp. 151-197.

Brundrett M. 1996. Diversity and Classification of Mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* (79): 473-495 pp.

Bruns T.D y Shefferson R.P. 2004. Evaluationary studies of ectomycorrhizal fungi: recent advances and future directions. *Can J. Bot.* 1122-1132 p.

Camargo R. S. L. 1999. Hongos micorizógenos arbusculares. *Contactos*, 31: 62-67.

CATIE. 1997. Nota técnica sobre manejo de semillas forestales. *Pinus pseudostrobus* Lindl. No. 13. Turrialba, Costa Rica.

Cibrián T. D., Méndez M. R. J. T., Campos B., Yates I. H. O. y Flores L. J. E. 1995. Insectos Forestales de México. Publicación No. 6. Universidad Autónoma Chapingo-Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre/United Status Departament of Agricultura/Natural Resources Canada/Comisión Forestal de América del Norte. Chapingo, México. 453 p.

Corsolio. C., Benhomou, N., Haran, S., Cortes, C., Gutierrez A., Chet, I. and Herrera Estrella, A. 1999, Role of Trichoderma Harzianum Endochitinase gene, ech42, In Mycoparasitism. Applied and Enviromental Microbiologi. Vol.65., No. 3. 929- 935 pp.

Cruz B. 1992. Micorrizas un caso de simbiosis entre plantas y hongos. Tesis Colegio de Ciencias y Humanidades. UNAM.Mexico. 247 pp.

De la Cruz, J., Pinto-Toro,J., Benitez T. And Llobell, A. 1995 Purification and Characterization of an Endo- $\beta$ - 1,6- Glucanase from Thichoderma that is related to its mycoparasitism. Journal of Bacteriology Vol. 177. No.7. p. 1864- 1871 pp.

Eguiluz, T. 1978. Ensayo de Integración de Conocimientos sobre el Género Pinus en México. Tesis Profesional. Departamento de enseñanza Investigación y Servicios en bosques. Universidad Autonoma de Chapingo. México.

Eguiluz P. T. 1982. Clima y distribución del género Pinus en México. Cien. For. 7 (38):30-44.

Erwin, D.C., Bartnicki-Garcia, S., and Tsao eds. 1983 Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology and pathology. The American Pthytopothological Society, St. Paul, Mannesota.

Fernandez. G. P .2014. Evaluacion y Caracterizacion de Micorrizas Asociadas al Bosque de Picea Mexicana Martinez en la Sierra el Coahuilon Artega , Coahuila.

Tesis Profesional de Licenciatura UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila.Mexico.  
30- 37 p.

Finlay R.D. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extra radical mycelium. *Journal of Experimental Botany*, 59:1115-1126.

Guadarrama-Chávez P., Sánchez-Gallén I., Álvarez-Sánchez J. y Ramos-Zapata J. 2004. Hongos y plantas: beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias*, 73: 38-45 pp.

Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M., Mateos, P.1997. Physiological and Biochemical Characterization of *Trichoderma harzianum* a Biological Control Agent against Soilborne Fungal Plant Pathogens Applied and Environmental Microbiology. Vol. 63. No.8 3189- 3198 pp.

Habte, M. 1989 . Impact of simulated on the abundance and activity of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal endophytes in on oxisol. *Biol. Fertil. Soils*, 164-167.

Harley. J.L. and Smith , S.E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Toronto.

Hernández, M. I. 2000. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [Tesis de Maestría], INCA.

Landis, T.D., Tinus. R.W, McDonald, S.E y Barnett J.P.1990. The Biological component : Nursery Pest and Mycorrhizae. In: *The Container Tree Nursery Manual*. USDA. Forest service. Washington. 1239-1345 pp.

Leslie J.F. Summerell B.A 2006 . The Fusarium Laboratory Manual. Ed. Wiley-Blackwell.

Martínez M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de las plantas mexicanas. Fondo de Cultura. Económica, México, D. F.

Marx D.H. 1992. Ectomycothizae as deterrents to pathogeniz root infetions. Annu. Rev. Phytopathol.10: 429-454 p.

Miller, R. M. y Jastrow J. D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function (Y Kapulnik y DD Douds Jr, eds), pp 3-18. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Morton, J. B y G. L Benny 1990. Revised Classification of arbuscular mycorrhizal fung ( Zygomycetes); a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae with and amendment of Glomaceae. Mycotaxon 37 (1): 47 (-49) p.

Morton, J. B. y Redecker, D. 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters. Mycologia 93:181-195.

Morton, J. B. y Benny G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. Mycotaxon 37:471-491

Perez M. J. y Read, D.J 2004. Los hongos ectomicorrizicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. Interciencia. 29 (5): 239-247 pp.

Patiño V. F. 1973. Floración, fructificación y recolección de conos y aspectos sobre semillas de pinos mexicanos. Revista Bosques y Fauna. Vol. 10. No. 4. SAG. México, D. F.

Peterson, R.L y M. L. Farquhar 1994; "Mycorrhizae-integrated development between roots and fungi", *Mycologia*, 86(3), 311-326.

Perry J. P. 1992. The Pines of México and Central América. Timber Press. Portland, Oregon. USA. 231 p.

Read, D.J. 1999. The ecophysiology of mycorrhizal symbioses with special reference to impacts upon plant fitness. *Physiological Plant Ecology*. Malcom. C. P.; D.S Julie y G. B. Barker (Eds) Blackwel. I Science, Great Britain: 133-152 pp.

Read, D.J. Mycorrhiza. 1999. The state of the art. En: *Mycorrhiza* 2nd. (A. Varma y B. Hock, eds.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. p. 3-34.

Redecker., J.B. Morton y T. D. Bruns 2000. Molecular Phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Sclerocystis coremioides*. *Mycologia* 92:282-285.

Rey, M., Delgado Jarana, J., Rincon, A., Limon, C. y Benitez, T. 2000. Mejora de Cepas de *Trichoderma* para su empleo como Biofungicidas. *Revista Iberoamericana de micología*. Vol. 17:31-36 pp.

Roldan A.A. 1996 Inoculación controlada con hongos ectomicorrizicos en la producción de la planta destinada a reproducciones. España, 7- 10 p.

Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores, 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a. ed., 1a reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión

Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán), 1406 pp.

Sáenz R.J.T, Muñoz. F. J y Rueda.S. A., 2011. Especies promisoras de clima templado para plantaciones forestales comerciales en Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Uruapan. Libro Tecnico Núm.10.

SEMARNAP. 2006. Especies con usos no maderables en bosques de encino, pino y pino-encino en los estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. *Pinus pseudostrobus* Lindl. Procymaf. In: <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/Pinuspseudostrobus.html>

Smith , S. E., and Read, D. J. 1997. Mutualism and Parasitism: Biodiversity in function and structure in the arbuscular (VA) Mycorrhizal Symbiosis.

Smith, A.E y D. J Read 2000. Mycorrhizal Symbiosis. "a ed. Academic Press. Londres. 605 p.

Smith, S. E. and Read, D. J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, New York, USA.787 p.

Vázquez C., I., A. Villa R., A. del Río M. y R. Sánchez R. 1993. Diagnóstico de Plagas y Enfermedades de la Meseta Purépecha. Fundación Produce Michoacán- INIFAPCOFOM. Uruapan, Mich. p. 12. Inédito.

Ecto-Rhyza. Recuperado el 29 Abril de 2015; <http://www.phcmexico.com.mx/phcmicorrizas.html>

---SEMARNAT-2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059. [http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM\\_059\\_SEMARNAT\\_2010.pdf](http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf).

---Trabajo de nutrición vegetal. Recuperado el 29 de Abril de 2015, de [http://www.bioscripts.net/col/Apuntes/Nutricion\\_Vegetal/Trabajo\\_de\\_nutricion\\_vegetal.pdf](http://www.bioscripts.net/col/Apuntes/Nutricion_Vegetal/Trabajo_de_nutricion_vegetal.pdf)

----Enciclopedia de Municipios de Coahuila

<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM05coahuila/municipios/05030a.html>

## XI. ANEXO

Anexo 1

### DICHOTOMOUS KEYS

Key to hypocrea species with Green ascospores based on teleomorphs 1

1. Stromata formed of loosely interwoven hyphae, readily forming in culture; no Conidiophores observed in culture.....*H. spinulosa* (28)  
Stromata formed of pseudoparenchymatous tissue, perithecia rarely formed in culture;rarely on herbaceous substrata.....2
2. Part-ascospores on average  $\geq 8.5 \mu\text{m}$  diam.....3  
Part-ascospores on average  $< 8.5 \mu\text{m}$  diam .....4
3. Stromata pulvinate, with whitish tomentum on the surface, 1.0-2.5 mm diam; distal part-ascospores  $11.4-13.0 \times 11.0-12.5 \mu\text{m}$ , proximal part-ascospores  $11.5-13.5 \times 10.8-13.2 \mu\text{m}$ .....*H. macrospora* (22)  
Stromata tuberculate, hirsute, 0.6-0.9 mm diam; distal part-ascopores  $10.2-11.5 \times 9.5-10.5 \mu\text{m}$ , proximal part-ascospores  $9.5-10.7 \times 8.5-9.0 \mu\text{m}$  .....*H. tuberosa*(37)  
Distal part-ascospore on average  $> 7.0 \mu\text{m}$  long .....5  
Distal part-ascospore on average  $< 7.0 \mu\text{m}$  long .....8
5. Stromata light orange, KOH-; ascospores dimorphic, distal part subglobose to elipsoidal,  $(6.0-7.0-8.2(-9.0) \times (5.5-6.5-7.0(-8.5) \text{ m}$ ; known only from Czech Republic .....*H. velenovskyi* (38)  
Stromata and ascospores not as above; known from Asia or Neotropics .....6

6. Stromata greyish-yellow to yellow-orange, KOH+; ascospores monomorphic, globose to subglobose, distal part-ascospores 7.0-7.5 × 6.5- 7.0 μm, proximal part-ascospores 6.7-7.5 × 6.2-6.7 μm; Neotropical .....*H.virescentiflava* (40)  
 Stromata and ascospores not as above, Asia .....7
7. Stromata pale greyish yellow, 1-2 mm diam, KOH+; distal part-ascospores 7.3-8.0 × 5.8-6.0 μm, proximal part-ascospores 7.1-7.6 × 5.5-6.0 μm *H.centristerilis* (6)  
 Stromata greyish yellow to greyish orange, 2-12 mm diam, KOH-; distal part-ascospores 7.2-8.2 × 6.2 -7.0 μm, proximal part-ascospores 7.5-8.5 × 5.7-6.5 .....*H. albocornea* (9)
8. Distal part-ascospores 6.5-7.0 μm long, proximal part-ascospore 7.0-7.7 μm long, stromata brownish-orange, KOH+ .....*H. cuneispora/T.cuneisporum* (17)  
 Distal and proximal part-ascospores on average <6.5 μm long .....9
9. Part-ascospores monomorphic, almost globose; stromata in various shades of yellow.....10  
 Part-ascospores dimorphic, globose, subglobose, wedge-shaped, or subcylindrical; stromata of various colours .....14
10. Part-ascospores on average 3.3-4.0 μm diam.....11  
 Part-ascospores on average 4.5-5.7 μm diam.....12
11. Stromata yellow to brownish orange, 1.5-2.5 mm diam, somewhat flattened; ascospores slightly warted, part-ascospores 3.5-4.0 μm diam; known only from Northern Europe.....*H. aureoviridis/T. aureoviride* (3)  
 Stromata pale greyish yellow, 0.7-1.0 mm diam, pulvinate; ascospores warted part-ascospores 3.3-3.5 μm diam; know only from Costa Rica.....*H. candida/T. candidum* (4)
- 1 Values given represent 95% confidence intervals
12. Stromata yellowish, opaque, KOH+; anamorph gliocladium-like .....*H. virens/ T. virens* (39)  
 Stromata yellowish, waxy, somewhat transparent, KOH-; anamorph not gliocladium-like, with sinuous conidiophores and branches .....13
13. Stromata generally gregarious, with a constricted base; distal part-ascospores 5.5-5.7 × 5.0-5.5 μm, proximal part-ascospores 5.0-5.3 × 4.5 – 4.7 μm ;

conidiophores and branches somewhat wide, phialide L/W 2.0-2.2, conidia length 4.5-4.7  $\mu\text{m}$  , conidia L/W 1.2-1.3; colony radius on SNA after 3 d at 25 °C 40-46 mm, at 30 °C 43-47 mm .....H. chlorospora/T. chlorosporum (9)

14. Distal part-ascospores on average < 4.0  $\mu\text{m}$  diam.....15

Distal part-ascospores on average > 4.0  $\mu\text{m}$  diam.....18

15. on decaying leaves of *Clusia* sp.; stromata KOH+; distal part-ascospores 2.8-3.0  $\times$  2.5 -2.7  $\mu\text{m}$  .....H. clusiae (12)

16. Stromata dark Brown almost black, 6-15 mm diam, surface tomentose, distal part-ascospores 2.5-3.3  $\mu\text{m}$  .....H. cornea (13)

Stromata whitish to pale yellow, 0.6-7.8 mm diam, surface smooth or tomentose, tissue not coriaceous.....17

17. stromata white, 1.8-7.8 mm diam, surface tomentose, distal part-ascospores 2.5-3.3  $\mu\text{m}$  diam; distinct macroconidia present; on wood; known from Indonesia.....H. sulaweswnsis (32)

Stromata pale yellow, 0.6-8.0 mm diam, surface hirsute, distal part-ascospores 3.5-3.7  $\mu\text{m}$  diam; anamorph gliocladium-like, not forming macroconidia; on hymenium of Thelephoraceae; known from U.S.A.....H.thelephoricola/T. thelephoricola (36)

18. Stromata very dark brown or green, often appearing black .....19

Stromata in pale shades of yellow, brown and orange .....21

19. stromata 2.5-5.0 mm diam; distal part-ascospores 5.0-5.0  $\times$  4.5 – 4.8  $\mu\text{m}$ ; anamorph gliocladium-like (similar to *G. viride*) .....H. melanomagna/T.melanomagnum (23)

Stromata on average < 1.5 mm diam.....20

20. Stromata 1.0 -1.5 mm diam, surface smooth; distal part-ascospores 4.3-4.4  $\times$  3.9-4.0  $\mu\text{m}$  ; anamorph pachybasium- to *Trichoderma*-like, conidia subglobose.....H.lixii/T.harzianum(21)

Stromata 0.5-1.0 mm diam, surface tuberculate;distal part-ascospores 6.0-6.5  $\times$  5.5 – 6.0  $\mu\text{m}$ ; anamorph gliocladium- like .....H. nigrovirens/T.nigrovirens (24)

21. stromata yellow to yellow-orange, cylindrical, surface flat to somewhat concave, seated on a thick subiculum..... H. substipitata (31)

Stromata yellow to brown, not on a thick subiculum and not cylindrical.....	22
22. Stromata in shades of brown (but not appearing black).....	23
Stromata in shades of yellow .....	30
23. Stromata reddish brown, deeply furrowed or wrinkled; distal part-ascospores 5.2-5.5 x4.7-5.0 µm, proximal part- ascospores 5.0-6.0 x 4.5 -4.7 µm; known only from India and Sri Lanka .....	H. rugulosa (26)
Stromata not deeply furrowed or wrinkled; not known from Sri Lanka or India .....	24
24. Distal part-ascospores on average 5.3-6.5 long .....	25
Distal part-ascospores on average < 5.3 µm long.....	26
Hypocrea/Trichoderma with green ascospores .....	34
25. Stromata KOH+, brownish orange; distal part-ascospores 5.8-6.5 x 4.0-5.0 µm; anamorph pachybasium-like .....	H. atrogelatinosa (2)
Stromata KOH-, brown, violet-brown, or dark reddish brown; distal part-ascospores 5.3-5.0 x 4.5-5.0 µm; anamorph verticillium-like .....	H.tawa (34)
26. Stromata brownish orange, 5.0-0.7 mm diam, waxy, somewhat transparent; distal part-ascospores 4.3-4.5 x 4.0-4.2 mm, proximal part-ascospores 4.8-5.2xm3.5-3.7 m; anamorph gliocladium-like, phialides 10.5-11.5 x 3.3 – 3.5 µm (L/W 3.1 . 3.5), conidia conspicuously held in drops of clear green liquid .....	H. gelatinosa/T. gelatinosum (19)
Stromata characters not in above combination ; conidia apparently held in dry heads.....	27
27. Stromata reddish brown ( brick red), opaque, 0.8 – 1.7 mm diam; distal part-ascospores 3.9 -4.7 x 3.4 – 4.2 µm, proximal part-ascospores 4.2 -5.2 x 3.1- 3.7 µm; anamorph pachybasium-like, conidia 3.3-3.7 x 2.7 3.0 (L/W 1.1- 1.3) .....	H. ceramic / T. ceramicum (8)
Stromata and anamorph characters not in above combination .....	28
28. Stromata brown to light brown, KOH-, opaque; phialides 9.0 10-.3 x 3.7 – 4.0 µm, conidia 4.2 – 4.5 x 3.3 -3.5 µm .....	H. cinnamomea/ T. cinnamomeum (11)

Stromata brownish orange or pale to dark reddish brown, KOH+, waxy, semitransparent; phialides 6.5 – 8.0 µm long, conidia 3.0 – 3.7 × 2.3 – 3.2 µm ...	29
29. Distal part-ascospores 4.5 -4.7 × 4.0- 4.2 µm, proximal part-ascospores 4.8 – 5.0 × 3.5 – 3.7 µm ; anamorph pachybasium to gliocladium-like, conidia 3.4-3.7 × 3.0 -3.2 µm; known only from U.S.A .....	H. ceracea / T. ceraceum (7)
Distal part-ascospores 3.5 – 4.0 × 3.5 – 4.0 µm, proximal part-ascospores 4.0 × 3.0 -3.5 µm; anamorph pachybasium- like, conidia 3.0 × 2.3 – 2.5 µm; known only from France .....	H. phyllostachydis/ T. phyllostachydis (25)
30. Stromata KOH+ .....	31
Stromata KOH- .....	36
31. Distal part-ascospores on average < 4.5 µm long, proximal part-ascospores 4.2 – 4.7 × 3.5- 3.8 µm.....	32
Distal part-ascospores on average ≥ 4.5 µm long, proximal part-ascospores on average > 4.5 µm diam.....	33
32. Stromata generally gregarious, pale yellow, 0.9- 1.2 mm diam, distal part-ascospores 4.2- 4.3 × 4.0 – 4.2 µm, proximal part-ascospores 4.2 – 4.5 × 3.6 -3.8 µm anamorph with few phialides formed; phialides hooked or twisted; conidia pale green; known only from U.S.A .....	H. chromosperma/ T. chromospermum (10)
Stromata not gregarious, yellowish brown, 1.4-2.1 mm diam; distal part-ascospores 4.0- 4.3 × 3.8 -4.0 µm, proximal part-ascospores 4.5 – 4.7 × 3.5 -3.7 µm; anamorph with pachybasium – and gliocladium- like branches, abundant phialides; phialides straight, conidia green; known only from Thailand .....	H. thailan/T. Thailandicum (35)
33. Distal part-ascospores 4.5- 5.0 × 3.7 – 4.0 µm, proximal part-ascospores 4.5- 5.3 × 2-3.7 µm.....	37
Distal part-ascospores 5.0 – 5.5 µm diam, proximal part-ascospores 5.0 -6.2 × 4.2 -5.2 µm .....	35
34. Stromata 1-4 mm diam; greyish yellow to greyish orange; known only from Brazil.....	H. gyrosa (20)

Stromata 0.1- 1.0 mm diam, pale yellow to greyish yellow; known only from Sri Lanka.....H. straminea / T. stramineum (29)

35. Phialides 14.7 -18.2 × 2.5 – 3.0 µm (L/W 5.4 – 7.9); conidi 4.0 – 4.2 × 3.2 – 3.5 µm H. estonica/ T. estonicum (18)

Phialides 7.2-7.7 × 4.0-4.2 µm ( L/W 1.8-2.0); conidia 4.5-4.7 × 3.5-3.7 µm .....H. strictipilosa/T. strictipile (30)

36. Anamorph verticillium-like; phialides 16.0-25.5 × 2.7 -4.0 µm (L/W 5.5-7.2) .....H. costaricensis (14)

Anamorph Trichoderma or pachybasium-like; phialides 5.5- 13.0 × 2.7-4.2 µm (L/W 1.4-4.2).....37

37. Phialides 5.5-7.2 × 3.2-4.2 µm (L/W 1.4-2.2); conidia 3.5-4.0 × 2.3-2.7 µm (L/W 1.4-1.6) .....H. catoptron / T. catoptron (5)

Phialides 8.5-13.0 × 2.7-4.0 µm (L/W 2.2-4.2); conidia 4.0-5.0 × 3.5-4.0 µm (LW 1.1-1.3) .....38

38. Stromata 0.9-1.2 mm diam; distal part-ascospores 5.5-6.0 × 5.2-5.5 µm, proximal part-ascospores 5.7-6.2 × 4.7-5.2 µm; phialides 10.5-12.7 × 2.7 – 3.2 µm (L/W 3.5-4.2);conidia 4.0-4.5 × 3.5-3.7 µm (L/W 1.1 – 1.2) .....H. cremea/T. cremeum (6)

Stromata 1.5-2.6 µm; distal part-ascospores 5.0-5.5 × 5.0-5.5 µm, proximal part-ascospores 4.7-5.2 × 4.5-4.7 µm; phialides 8.5-9.5 × 3.7-4.0 µm (L/W 2.2-2.6); conidia 4.5-5.0 × 3.7-4.0 µm (L/W 1.2-1.3).....H. surrotunda/T.surrotundum (3)

Key to Hypocrea species with Green ascospores based on anamorph characters

Conidia on average > 5 µm long, green .....2

Conidia on average < 5 µm long, green .....6

Anamorphs gliocladium-like; conidia 6.0-6.5 × 4.5-5.0 µm .....3

Anamorphs verticillium or pachybasium-like; conidia 5.0-6.0 × 3.2-4.0 µm.....4

Conidiophores generally arising from the surface of the agar; phialides 13.5-15.5 × 3.5-4.0 µm (L/W 3.5-4.0); stromata black, strongly tuberculate .....H. nigrovirens/T. nigrovirens (24)

Conidiophores arising from aerial hyphae; phialides 13.5-15.7 × 4.3-4.6 (L/W 3.1-3.6); conidia 6.0-6.5 × 4.7-5.0 µm (L/W 1.3); postulate anamorph sometimes

formed; phialides from postulate anamorph  $4.4-9.5 \times 3.0-3.7 \mu\text{m}$ ; stromata yellowish, pulvinate, not tuberculate.....*H. crassa*/*T. Crassum* (15)

Anamorph pachybasium-like, conidiophore elongations present, fertile or not, verticillium-like synanamorph rarely present; phialides  $6.0-7.2 \times 3.7-4.0 \mu\text{m}$  .....*H. cuneispora*/*T. cuneisporum*(17)

Anamorphs verticillium-like, conidiophore elongations absent; phialides  $14-26 \times 2.7- 4.0 \mu\text{m}$ .....5

Phialides  $16.0-25.5 \times 2.7-4.0 \mu\text{m}$  (L/W 5.5-7.2); conidia  $5.2-6.0 \times 3.2-4.0 \mu\text{m}$ (L/W 1.5-1.8); abundant chlamydospores formed; stromata pale yellow.....*H. costaricensis* (14)

Phialides  $14.0-16.0 \times 3.0-3.2 \mu\text{m}$  (L/W 4.7-5.5); conidia  $5.2-6.0 \times 3.5-3.7 \mu\text{m}$  (L/W 1.4-1.6); no chlamydospores formed; stromata brown, brown-violet or orange-brown .....*H. tawa*/*T.tawa* (34)

Anamorph forming micro- and micro-conidia; micro-conidia green, aseptate, ellipsoidal; macro-conidia hyaline, subulate, with a rounded, somewhat thick-walled basal cell, often multiseptate.....*H. sulawesensis* (32)

Anamorphs not forming macro-conidia.....7

Anamorphs gliocladium-like .....8

Anamorphs trichoderma-,pachybasium-, or verticillium-like .....11

Conidiophores formed in irregular fascicles throughout the plate; phialides  $10.5-11.5 \times 3.3-3.5 \mu\text{m}$  (L/W 3.1-3.5); conidia  $4.0-4.3 \times 3.3-3.5 \mu\text{m}$  (L/W 1.2-1.3), held in drops of clear green liquid.....*H.gelatinosa*/*T. gelatinosum* (19)

Conidiophores not in fascicles,rather arising singly from agar or from aerial hyphae; phialides on average  $> 11.5 \mu\text{m}$  long.....9

Hypocrea/Trichoderma with green ascospores

5. Conidiophores generally arising from aerial hyphae;  $8.8-9.2 \times 4.0-4.2 \mu\text{m}$  (L/W 2.2-2.3); conidia  $4.5-4.7 \times 3.8-4.0 \mu\text{m}$  (L/W 1.2), held in drops of clear Green liquid; abundant chlamydospores formed.....*H. virens*/*T. virens* (39)

Phialide L/W $> 4.5$ ; conidia  $3.2-3.7 \times 2.5-3.2 \mu\text{m}$  .....10

10. Discrete conidiophore, branching 3-4 times (penicillus ter- to quaterverticillate); phialides  $11.5-13.0 \times 1.7-2.0 \mu\text{m}$  (L/W 5.8-6.8); conidia stromata black, 2.5-5.0 mm diam, on decorticated wood.....H. melanomagna/T. melanomagnum (23)
- More or less discrete conidiophores, branching 2-3 times ( penicillus bi- to terverticillate); phialides  $12.0-13.5 \times 2.5-2.7 \mu\text{m}$  (L/W 4.6-5-3); conidia  $4.0-4.5 \times 2.8-3.0 \mu\text{m}$  (L/W 1.4-1.6); stromata yellowish, 0.6-0.8 mm diam, on hymenium of Thelephoraceae .....H. telephoricola/T. telephoricola (36)
11. Anamorph odd gliocladium-like conidiophores with verrucose base generally very few phialides formed; phialides lageniform, more often hooked or twisted,  $6.9-14.5 \times 2.5-3.5 \mu\text{m}$  (L/W 2.5-4.8); conidia pale green,  $4.0-6.5 \times 3.7-3.8 \mu\text{m}$  (L/W 1.4-1.7); found in Eastern U.S.A .....H. chromosperma/ T. chromospermum (10)
- Anamorph characteristics not in the above combination .....12
12. Pachybasium-like anamorphs with conidial L/W 1.4 on average.....13
- Various types of anamorphs with conidial L/W < 1.4 on average .....15
13. Conidia  $3.0-3.2 \times 2.0-2.2 \mu\text{m}$  (L/W 1.4-1.5 ); sinuous conidiophore elongations present; verticillium-like synanamorph present; phialides  $4.7 -5.0 \times 3.0-3.2 \mu\text{m}$ ; known only from Sri Lanka.....H. straminea/ T. stramineum (29)
- Conidia on average > 3.5  $\mu\text{m}$  long and > 2.5  $\mu\text{m}$  wide .....14
14. Gliocladium-like synanamorph formed abundantly in aerial hyphae; phialides from postulate anamorph  $4.4-9.5 \times 3.0-4.2 \mu\text{m}$ ; conidia  $3.7 -5.3 \times 2.6-3.7 \mu\text{m}$  (L/W1.4); phialides from gliocladium-like anamorph  $13.5-15.7 \times 4.3-4.6 \mu\text{m}$ ; conidia  $5.9-6.4 \times 4.7- 4.9 \mu\text{m}$  .....H. crassa/T.crassum (15)
- Verticillium-like synanamorph formed in areas of effuse conidiation; phialides of pachybasium-like anamorph  $5.5-7.2 \times 3.2-4.2 \mu\text{m}$ ; conidia  $3.5-4.0 \times 2.3 - 2.7 \mu\text{m}$  (L/W 1.4-1.6) .....H. catoptron/T.catoptron (5)
15. Phialides on average > 8.5  $\mu\text{m}$  long .....16
- Phialides on average < 8.5  $\mu\text{m}$  long .....21

16. Phialides on average < 15 µm long .....17  
 Phialides 14.7 – 18.2 × 2.5 – 3.0 µm (L/W 5.4 -7.9); conidia 4.0-4.2 × 3.2-3.5 µm (L/W 1.2-1.3); stromata pale yellow to greyish yellow, KOH+ .....*H. estonica* /*T. estonicum* (18)
17. Anamorph pachybasium-like; phialide L/W < 2.9 on average .....19
18. Phialides 9.0 -10.3 × 3.7-4.0 µm (L/W 2.4-2.8), conidia 4.2-4.5 × 3.3-3.5 µm (L/W 1.2-1.3); colony radius on PDA at 25 °C after 3 d 2-6 mm; stromata brown to light brown .....*H. cinnamomea*/*T. cinnamomeum* (11)  
 Phialides 8.5 -9.5 × 3.7-4.0 µm (L/W 2.2-2.6); conidia 4.5-5.0 × 3.7 -4.0 µm (L/W 1.2-1.3); colony radius on PDA at 25 °C after 3 d 26-32 mm; stromata pale yellow.....*H. surrotunda*/*T. surrotundum* (33)
19. Phialides 10.5 -12.7 × 2.7–3.2 µm; conidia 4.0-4.5 × 3.5-3.7 µm (L/W 1.1-1.2); colony radius on PDA at 25 °C after 3 d 63-72 mm, stromata pale yellow .....*H. cremea*/ *T. cremeum* (16)