



Distribución vertical de hongos en hojas de tres especies de pinos en Nuevo León, México

Vertical distribution of fungi on leaves of three pine species from *Nuevo León*, Mexico

José G. Marmolejo Monciváis¹

Abstract

The vertical distribution of fungi in seven types of pine leaves of *Pinus arizonica*, *P. cembroides*, and *P. pseudostrobus* was studied during one year by the method of isolation in culture medium in Petri dishes (indirect method) and by the use of moist chambers (direct method). 57 taxa of fungi were identified by the culture medium method, 56 taxa are adscribed to the Phyla Ascomycota and only one species (*Gymnopus androsaceus*) belongs to the Phyla Basidiomycota; *Lophodermium australe*, *Pestalotia stevensonii* and *Rhizosphaera kalkhoffii* were the most abundant species; *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata* and *Ceuthospora sp.* were the most frequent taxa. By the moist chamber method 28 taxa were determined; *Lophodermium australe*, *Preussia sp.*, and *Pestalotia stevensonii* were the most abundant species; *Preussia sp.*, and *Coniochaeta ligniaria* were the most frequent species. Well defined patterns of fungi were observed in both methods for the three pine species and for the studied leave types. *Pinus arizonica*, registered the bigger fungal diversity followed by *P. pseudostrobus* and *P. cembroides*. As the leaf degradation rate grows, the number of species of fungi decrease.

Key words: Ascomycota, Basidiomycota, fungal diversity, *Pinus arizonica* Engelm., *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus pseudostrobus* Lindl.

Resumen

Se estudió la distribución vertical de hongos en siete tipos de hojas de *Pinus arizonica*, *P. cembroides* y *P. pseudostrobus* mediante los métodos de aislamiento en medio de cultivo en caja de Petri (método indirecto) y con el uso de cámaras húmedas (método directo) durante un año. Por el método de cultivo se obtuvieron 57 taxones, 56 se adscriben al Phyla Ascomycota y solo uno (*Gymnopus androsaceus*) a Basidiomycota; *Lophodermium australe*, *Pestalotia stevensonii* y *Rhizosphaera kalkhoffii* fueron las especies más abundantes; mientras que *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata* y *Ceuthospora sp* resultaron las más frecuentes. Con la cámara húmeda se identificaron 28 taxones; *Lophodermium australe*, *Preussia sp.* y *Pestalotia stevensonii* fueron más abundantes; *Preussia sp.* y *Coniochaeta ligniaria* fueron los hongos más frecuentes. Para los dos métodos, *P. arizonica* presentó la mayor diversidad de hongos, seguida de *P. pseudostrobus* y *P. cembroides*. Se observaron patrones definidos de hongos en cada una de las especies de pinos y para los tipos de hojas estudiados, de estos últimos, las muertas en el suelo y las grises presentaron la diversidad fúngica más alta. Conforme avanza su grado de descomposición, el número de especies de hongos disminuye.

Palabras clave: Ascomycota, Basidiomycota, diversidad fúngica, *Pinus arizonica* Engelm., *Pinus cembroides* Zucc., *Pinus pseudostrobus* Lindl.

Fecha de recepción/Reception date: 21 de marzo de 2018
Fecha de aceptación/Acceptance date: 31 de octubre de 2018

¹Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León. México. Correo-e: jmarmole@gmail.com

Introducción

Los patrones de sucesión en las comunidades de hongos en diversos árboles, tanto de climas templados como tropicales han sido materias de estudio para diversos investigadores: Frankland (1998), discute la naturaleza y los mecanismos de la sucesión de los hongos en el suelo y en la hojarasca; Sieber-Canavesi y Sieber (1993) concluyen que en *Abies alba* Mill. las condiciones edáficas y las prácticas de manejo inciden en dicha sucesión, y clasifican a los hongos de las hojas en tres grupos: 1) endófitos de las hojas vivas; 2) colonizadores y sobrevivientes endófitos de hojas senescentes y hojas muertas adheridas; 3) hongos que colonizan solo hojas muertas; Tokumasu *et al.* (1994), en *Pinus sylvestris* L., separaron los hongos en dos grupos: las de hojas colgantes y recién caídas y los de las hojas en el suelo, concluyeron que su frecuencia se reduce con el avance de la degradación.

Rosenbrock *et al.* (1995) señalan en *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. que la biomasa microbiana disminuyó conforme avanzó la degradación; Sridhara y Ahmad (1993) estudiaron la sucesión de hongos en hojarasca de cuatro especies de árboles de un bosque tropical en la India.

Los hongos endófitos no producen síntomas en sus hospederos, son componentes importantes de la micobiota de las plantas; interaccionan y se sobreponen en función con otros grupos fúngicos importantes que colonizan tejidos vegetales, entre ellos, los micorrícicos, patógenos, epífitos y los saprobios (Porrás-Alfaro y Bayman, 2011).

Dada la importancia ecológica y, en algunos casos, económica de los hongos endófitos, existen numerosos trabajos en especies de plantas, entre ellas los pinos; destacan *Pinus nigra* J.F.Arnold (Kowalski y Zych, 2002); *P. halepensis* Mill. (Botella y Diez, 2011); *P. densiflora* Siebold & Zucc. y *P. koraiensis* Siebold & Zucc. (Yoo y Eom, 2012); *P. thunbergii* Parl. (Kim *et al.*, 2012); *P. wallichiana* A.B.Jacks. (Qadri *et al.*, 2014); *P. massoniana* Lamb. (Yuan y Chen; 2014); *P. sylvestris* L. (Millberg *et al.*, 2015); *P. taeda* L. (Oono *et al.*, 2015); y *P. monticola* Douglas ex D.Don (Bullington y Larkin, 2015).

En la literatura se citan diversos estudios referentes a inventarios de hongos en la hojarasca de pinos y latifoliadas (Kendrick, 1958; Sankaran, 1994; Parungao *et al.* 2002). Así como investigaciones en las que se evalúa la abundancia y diversidad de hongos en la hojarasca (Bills y Polishook, 1994; Prakash *et al.*, 2015; U'Ren y Arnold, 2016).

La hojarasca juega un papel prominente en los ecosistemas forestales, porque proveen energía, carbón, nitrógeno y nutrientes. La productividad del bosque está directamente relacionada con el grado de degradación de la materia orgánica (Rahman *et al.*, 2013). Por estos motivos numerosos autores han hecho investigaciones sobre el papel de los hongos y los grados de descomposición de diversos árboles (Rihani *et al.*, 1995; Sankaran; 1993; Osono, 2011).

En México, los trabajos de Heredia (1987, 1994) y Arias y Heredia (2014) registran los hongos asociados a especies de árboles en bosques tropicales y bosque mesófilo de montaña. Sin embargo, no hay antecedentes sobre hongos relacionados a la hojarasca de pinos, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar los patrones de distribución vertical de hongos presentes en las hojas de tres especies de *Pinus* en Nuevo León.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Se establecieron tres parcelas de muestreo, una para cada especie de pino, las cuales se detallan a continuación:

1. Bosque Escuela, Iturbide Nuevo León; bosque de pinos con *Pinus pseudostrobus* Lindl., otras especies localizadas dentro de la parcela: *Quercus canbyi* Trel., *Amelanchier denticulata* (Kunth) K. Koch, *Arbutus xalapensis* Kunth, *Prunus serotina* Ehrh. 24°42'51" N, 099°51'67" O; 1 630 msnm.
2. Pablillo, Galeana, Nuevo León; bosque de pinos con *Pinus arizonica* var. *stormiae* Mart. 24°36'51" N, 100°00'16" O; 2 000 msnm.

3. Pablillo, Galeana, Nuevo León; bosque de pinos con *Pinus cembroides* Zucc. 24°37'11" N, 100°00'38 O; 2 000 msnm.

Muestreo de hojas

Cada 15 días, durante un año, se recolectaron en las parcelas seleccionadas 10 fascículos al azar de los siguientes tipos de hojas: hojas verdes, hojas senescentes, hojas muertas aun adheridas al árbol, hojas muertas "colgantes", aquéllas que no han llegado al mantillo y están suspendidas sobre la vegetación, hojas del mantillo que aún no inician el proceso de degradación (L), hojas del mantillo de la capa intermedia con algunos signos de degradación (F1), hojas del mantillo de la capa inferior con signos avanzados de degradación (F2).

Las muestras se utilizaron para el aislamiento de hongos por los métodos que se describen a continuación.

Aislamiento de hongos de las hojas en medio de cultivo

En el laboratorio, se tomaron las medidas de todas las hojas recolectadas y se seleccionaron al azar tres hojas por muestra y se procesaron para el aislamiento de los hongos, mediante una modificación al protocolo propuesto por Kowalski y Zych (2002). Las hojas se esterilizaron, superficialmente, con etanol al 96 % por un minuto. A continuación se trataron luego con hipoclorito de sodio al 3 %, por 10 minutos. Por último, se sumergieron en etanol al 70 %, por 30 segundos. Las hojas tratadas se cortaron transversalmente con una navaja esterilizada (flameada en el mechero). El número de cortes varió según su tamaño. Los cortes se colocaron, con la ayuda de unas pinzas esterilizadas (flameadas en el mechero), en una caja de Petri con extracto de malta agar al 2.5 % y se incubaron a 22 °C, en una incubadora *Shellab* L120, por el tiempo necesario hasta la observación de colonias a simple vista.

Se contaron todas las colonias obtenidas y se identificaron mediante técnicas rutinarias de micología, a partir de observación directa al microscopio compuesto de

preparaciones montadas en ácido láctico, en glicerina alcohol agua (GAW), o en agua destilada. Se utilizaron las obras de Sutton (1980), Minter (1981), Dennis (1981), Ellis (1971, 1976), Arx (1981) y Nag Raj (1993); y se consultó la página web del *Index Fungorum* (2018) (<http://www.indexfungorum.org/>) para corroborar los nombres de las especies y los autores de las mismas.

Se realizaron subcultivos de todas las morfoespecies presentes en las cajas, con el propósito de obtener *vouchers* de los hongos estudiados, los cuales se depositaron en la colección de cepas del Herbario Micológico de la Facultad de Ciencias Forestales (CFNL); así como, de aquellos cultivos, en los que no fue posible la determinación de la especie por no contar, en su momento, con estructuras morfológicas que permitieran su identificación.

Hongos de las hojas en cámaras húmedas

De cada muestra recolectada quincenalmente en los sitios de muestreo y por tipo de hoja, se seleccionó al azar un fascículo de hojas y se colocó en cámara húmeda, la cual consistió en una caja de Petri con papel estraza esterilizado humedecido con agua destilada estéril. Estas cajas se mantuvieron en condiciones húmedas por un mes. Después de este tiempo se pusieron en un congelador *Acros* modelo ART14JKX a una temperatura de 5 °C por una semana para prevenir una infestación por ácaros. Enseguida, las muestras se examinaron en un microscopio *Karl Zeiss Axiostar Plus*, de acuerdo a las técnicas micológicas de rutina (Hawksworth, 1974). La identificación de las especies se hizo con base en la literatura especializada las (Sutton, 1980; Minter, 1981; Dennis, 1981; Ellis, 1971, 1976; Arx, 1981; Nag Raj, 1993).

La información por colecta y tipo de hoja se integró en una hoja de cálculo de *Excel* 2013, para estimar la riqueza, abundancia y frecuencia de los hongos asociados a las hojas. La riqueza correspondió al número de especies de hongos observadas (total, por tipo de hojas, por especie de pino); la abundancia absoluta (Aba) al número de individuos por especie, con respecto al número total de individuos presentes en el

área de estudio (ni). La frecuencia absoluta se obtuvo a partir del número de puntos con la especie entre el total de puntos muestreados; para comparar el patrón de hongos en cada una de las hojas estudiadas, se realizó un análisis de conglomerados, con el programa estadístico *PAST3* (Hammer *et al.*, 2001).

Resultados y Discusión

Diversidad de hongos mediante el método de cultivo en placa de Petri

Se realizaron 26 muestreos de hojas para cada una de las especies consideradas. Se procesaron 1 638 muestras para las tres especies de pinos.

El análisis incluyó un total de 23 332 colonias de hongos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Colonias estudiadas por especie de pino.

Especie de pino	Número de colonias
<i>Pinus arizonica</i> Engelm.	10 146
<i>Pinus cembroides</i> Zucc.	1 636
<i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl.	11 550

Asimismo, se obtuvieron 1 953 subcultivos, de los cuales se determinaron 57 taxones fúngicos, de ellos 56 se adscriben al Phyla Ascomycota y solo uno (*Gymnopus androsaceus*) al Basidiomycota. Voříšková y Baldrian (2013) indican que Ascomycota fue el más abundante en hojas verdes y en senescentes, con 88.5 % y 99.5 % de amplificaciones, respectivamente. Lo cual coincide con este trabajo; si bien, dichos autores usaron un método molecular para la determinación de los hongos.

Haňáčková *et al.* (2015) con el método de cultivo y uno molecular concluyeron que con ambos se obtuvieron especies dominantes similares y en el estadio temprano de la

degradación, los ascomicetos son predominantes, y los basidiomicetos solo se presentan ocasionalmente, lo cual, también coincide con los resultados aquí documentados.

Se registraron 40 taxones de hongos para *Pinus arizonica*, 28 para *P. cembroides* y 32 para *P. pseudostrobus*. La lista completa se detalla en el Cuadro 2. Las especies más abundantes fueron *Lophodermium australe* Dearn., *Pestalotia stevensonii* Peck y *Rhizosphaera kalkhoffii* Bubák; mientras que *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. y *Ceuthospora* sp. fueron las más frecuentes. Yuan y Chen (2014) señalan a los taxa de *Lophodermium* como pioneras frecuentes en las hojas y que juegan un papel importante en la degradación de la hojarasca.

Cuadro 2. Taxones registrados de hongos por especie de *Pinus*.

Especies	<i>Pinus arizonica</i>	<i>Pinus cembroides</i>	<i>Pinus pseudostrobus</i>
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	X	X	X
<i>Aspergillus</i> sp.	X	X	
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud	X		X
<i>Ceuthospora</i> sp.	X	X	X
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	X	X	X
<i>Conoplea elegantula</i> (Cooke) M.B. Ellis	X	X	X
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	X	X	X
<i>Fusarium lateritium</i> Nees	X	X	
<i>Gymnopus androsaceus</i> (L.) Della Magg. & Trassin.	X		
<i>Leptostroma</i> sp.	X		
<i>Lophodermium australe</i> Dearn.			X
<i>Mycoglaena</i> sp.	X		
<i>Nigrospora oryzae</i> (Berk. & Broome) Petch	X		
<i>Penicillium</i> sp.	X	X	X

<i>Pestalotia stevensonii</i> Peck		X	
<i>Pestalotiopsis funerea</i> (Desm.) Steyaert	X		X
<i>Phialophora</i> sp.	X	X	X
<i>Phoma</i> sp.	X		X
<i>Preussia</i> sp.	X	X	
<i>Pseudopithomyces chartarum</i> (Berk. & M.A. Curtis) Jin F. Li, Ariyaw. & K.D. Hyde	X		
<i>Rhizosphaera kalkhoffii</i> Bubák		X	
<i>Sarea resinae</i> (Fr.) Kuntze			X
<i>Scolecobasidium</i> sp.			X
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & B. Sutton	X		X
<i>Torula herbarum</i> (Pers.) Link			X
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai			X
<i>Tritarachium</i> sp.	X		
<i>Ulocladium</i> sp.			X
No identificado 01	X	X	X
No identificado 02	X		
No identificado 03	X		X
No identificado 04	X	X	X
No identificado 05	X	X	X
No identificado 06		X	
No identificado 07	X		X
No identificado 08	X		X
No identificado 09	X		X
No identificado 10	X		X
No identificado 11			X
No identificado 13		X	X

No identificado 14	X	X	X
No identificado 15	X	X	
No identificado 16		X	
No identificado 17		X	X
No identificado 18		X	X
No identificado 19	X	X	
No identificado 20	X		
No identificado 21	X		
No identificado 22	X		
No identificado 23		X	
No identificado 24	X	X	
No identificado 25	X	X	
No identificado 26		X	
No identificado 27			X
No identificado 28	X		
No identificado 29	X	X	
No identificado 30	X		X

El taxón que presentó la mayor riqueza de hongos fue *P. arizonica*, seguido de *P. pseudostrobus* y *P. cembroides*. Sin embargo, la cantidad más grande de colonias se registró en *P. pseudostrobus* seguido de *P. arizonica*. El número de colonias en *P. cembroides*, comparado con los otros pinos, fue de 10 a 11 veces menor. Lo anterior puede relacionarse con la longitud de la hoja. Los promedios de largo de hojas muestreadas fueron de 173.9 mm, para *P. pseudostrobus*; 156.1mm, para *P. arizonica*; y de 27 mm, para *P. cembroides*. Los números mínimo, promedio y máximo de especies de hongos por especie de pino y tipo de hoja se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Números mínimos, promedios y máximos de especies de hongos.

Tipo de hoja	<i>P. arizonica</i>			<i>P. cembroides</i>			<i>P. pseudostrobus</i>		
	Mín.	Prom.	Máx.	Mín.	Prom.	Máx.	Mín.	Prom.	Máx.
Verdes	0	1.9	6	0	0.4	3	0	1.7	5
Senescentes	1	2.8	5	0	1.5	4	1	2.8	6
Adheridas	2	3.7	7	1	2.9	5	1	3.7	7
Colgantes	2	4.2	9	2	3.4	5	1	4.5	8
En el suelo	2	5.3	8	2	3.0	6	3	4.8	10
Grises	2	5.1	8	0	2.7	5	3	5.0	8
Fragmentadas	1	1.7	4	1	2.1	4	1	2.0	4

Las hojas muertas en el suelo y las hojas grises, en todos los casos presentaron la riqueza más alta. A las hojas verdes les correspondió la menor riqueza, lo cual fue particularmente notorio para *P. cembroides*. Conforme avanza el grado de descomposición de las hojas, el número de especies de hongos siempre disminuyó. Tokumasu *et al.* (1994) citan resultados similares, consignan que las hojas colgantes y las del suelo mostraron el mayor número de aislamientos.

Al considerar la cantidad de colonias, las hojas muertas colgantes y las hojas muertas en el suelo tuvieron el mayor número. Las hojas fragmentadas y las verdes fueron las que menos colonias registraron (Figura 1).



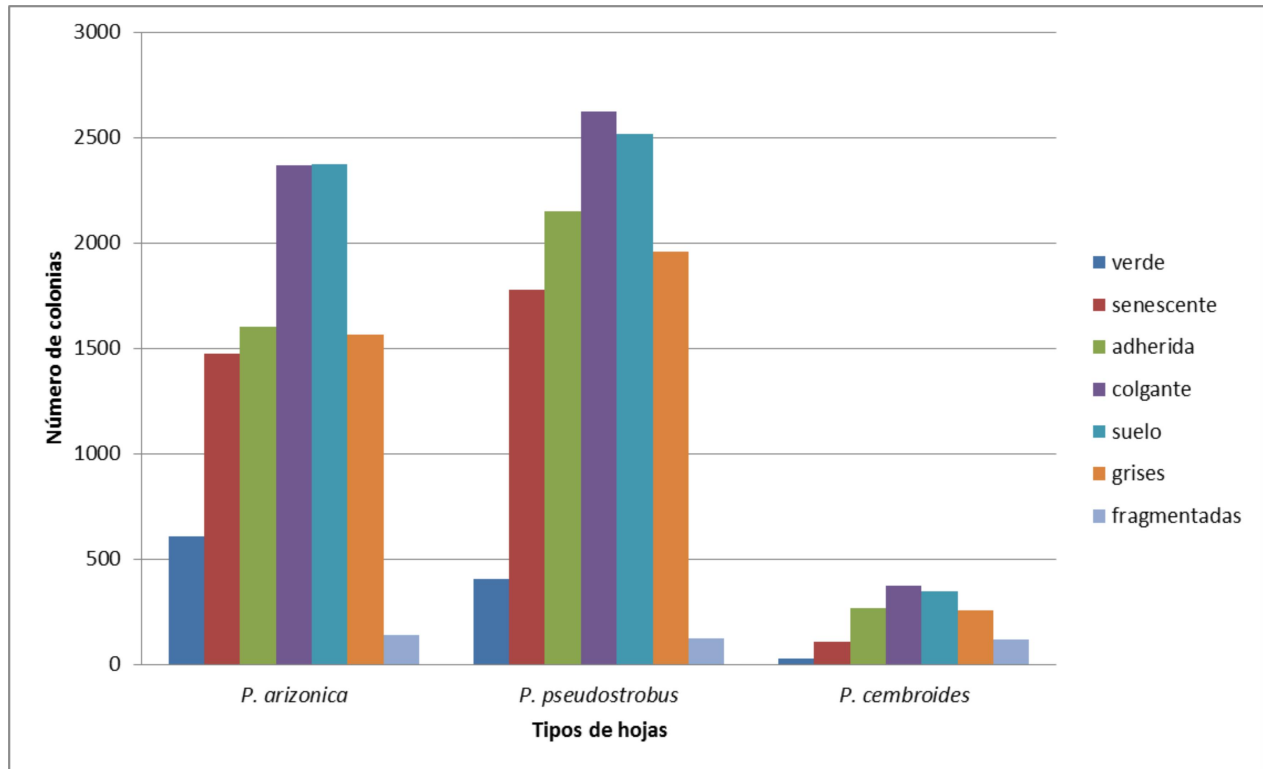


Figura 1. Número de colonias por tipo de hoja en las especies de pino estudiadas.

En cuanto a los patrones de riqueza de hongos en los siete tipos de hojas, en el análisis de conglomerados (Figura 2) se distinguen tres grupos: uno formado por las hojas verdes y senescentes, otro por las hojas muertas (adheridas, colgantes y en el suelo) y un tercero solo por las hojas fragmentadas.



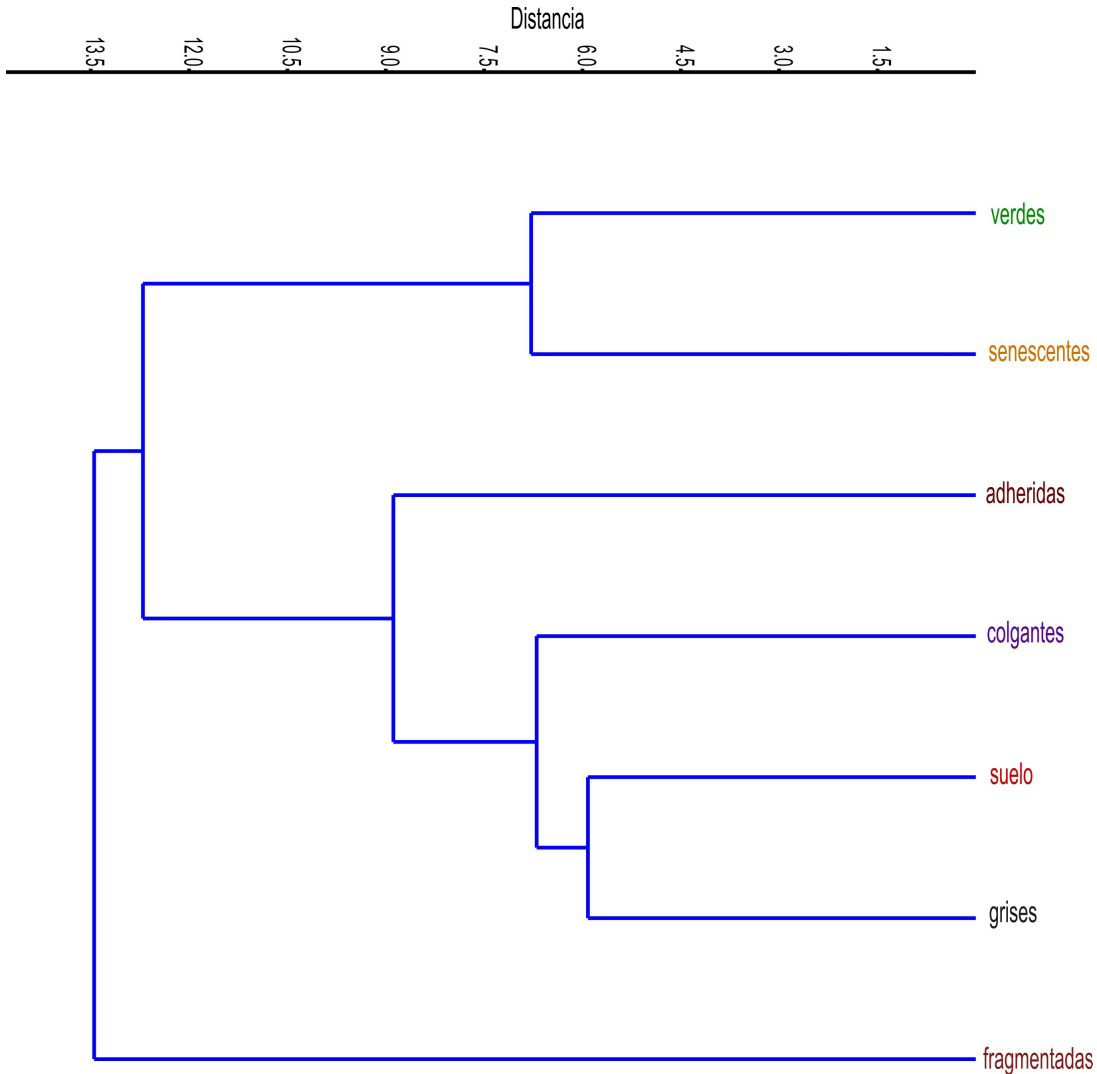


Figura 2. Análisis de conglomerados de la riqueza de hongos en los tipos de hojas en las tres especies de pinos estudiadas

Diversidad de hongos de la hojarasca mediante el uso de cámaras húmedas

Se realizaron 27 muestreos para *Pinus arizonica* y *P. cembroides* y 26 para *P. pseudostrobus*. Se analizaron un total de 400 muestras, en las que se identificaron 28 taxones de hongos de las hojas adheridas, las hojas colgantes y las hojas muertas en el suelo. La lista completa de los especies se presenta en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Listado de taxones de hongos obtenidos mediante el método de cámara húmeda.

Aureobasidium pullulans (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud

Chaetomium sp.

Chloridium sp.

Coniochaeta ligniaria (Grev.) Cooke

Desmazierella acicola Lib.

Discosia strobilina Lib. ex Sacc.

Fusarium lateritium Nees

Herpotrichia sp.

Lachnum sp.

Leptomelanconium pinicola (Berk. & M.A. Curtis) R.S. Hunt

Leptostroma sp.

Lophodermium australe Dearn.

Gymnopus androsaceus (L.) Della Magg. & Trassin.

Meloderma desmazieri (Duby) Darker

Mytilinidion mytilinellum (Fr.) H. Zogg

Niesslia exilis (Alb. & Schwein.) G. Winter

Oidiodendron griseum Robak

Penicillium sp.

Periconia byssoides Pers.

Pestalotia stevensonii Peck

Pestalotiopsis funerea (Desm.) Steyaert

Phoma sp.

Preussia sp.

Rhinocladiella sp.

Rhizosphaera kalkhoffii Bubák

Scolecobasidium sp.

Septonema sp.

Sphaeropsis sapinea (Fr.) Dyko & B. Sutton

Se registraron nueve especies para *Pinus cembroides*, de las cuales *Rhizosphaera kalkhoffii*, *Pestalotia stevensonii* y *Preussia* sp. fueron las más comunes en hojas adheridas. *Desmazierella acicola* y *Discosia strobilina* fueron los hongos más comúnmente encontrados en hojas en el suelo (Cuadro 5). Tokumasu *et al.* (1994) observaron patrones similares para *Pinus sylvestris* en Europa y citaron la presencia de *D. acicola* en hojas en el suelo.



Cuadro 5. Frecuencias absolutas de los hongos aislados.

<i>Pinus</i>	<i>P.cembroides</i>			<i>P. pseudostrobus</i>			<i>P. arizonica</i>		
	A	C	S	A	C	S	A	C	S
<i>Aureobasidium pullulans</i>	5	6							
<i>Chaetomium</i> sp.							1		1
<i>Chloridium</i> sp.							1		1
<i>Coniochaeta ligniaria</i>	1		1	3			7	7	4
<i>Desmazierella acicola</i>	4	5	21			1			
<i>Discosia strobilina</i>		1	12			6			1
<i>Fusarium lateritium</i>							1		
<i>Gymnopus androsaceus</i>				10	9	1	1	1	
<i>Herpotrichia</i> sp.						7			
<i>Lachnum</i> sp.							3	1	
<i>Leptomelanconium pinicola</i>							6	5	1
<i>Leptostroma</i> sp.									1
<i>Lophodermium australe</i>				27	25	19			
<i>Meloderma desmazieri</i>				2	3	3			
<i>Mytilinidion mytilinellum</i>						3			
<i>Niesslia exilis</i>				12	9	2	1		1
<i>Oidiodendron griseum</i>				1					1
<i>Penicillium</i> sp.							2	6	4
<i>Periconia byssoides</i>	8	7	3				1		
<i>Pestalotia stevensonii</i>	15	17	12				1		
<i>Pestalotiopsis funerea</i>							3	2	1
<i>Phoma</i> sp.		2							
<i>Preussia</i> sp.	14	19	6	2	6	2	5	2	
<i>Rhinocladiella</i> sp.				3	1		1	1	
<i>Rhizosphaera kalkhoffii</i>	18	14	2						
<i>Scolecobasidium</i> sp.				1					
<i>Septonema</i> sp.									1
<i>Sphaeropsis sapinea</i>				3					

A = Hojas adheridas; C = Hojas colgantes; S = Hojas en el suelo.

En *P. pseudostrobus* se identificaron 14 especies fúngicas: *Lophodermium australe*, *Niesslia exilis* y *Gymnopus androsaceus* fueron las más abundantes en hojas adheridas; y *Lophodermium australe* y *Discosia strobilina* en las hojas en el suelo.

En *P. arizonica* se registraron 18 taxones. Esta especie de pino presentó la más alta riqueza, también le correspondieron las frecuencias absolutas más bajas.

Se observaron patrones definidos para las tres especies de pinos (Figura 3). Solo *Discosia strobilina* y *Preussia* sp. fueron comunes en los pinos estudiados.

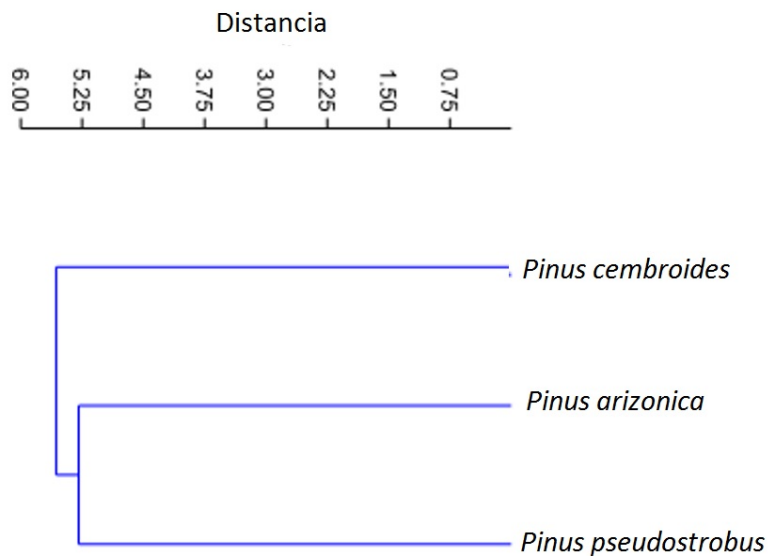


Figura 3. Análisis de conglomerados de la riqueza de hongos de las hojas en las tres especies de pinos.

La comparación de los resultados obtenidos mediante las dos técnicas empleadas, la cámara húmeda (método directo) resultó más efectiva para la determinación de las especies de hongos. Parungao *et al.* (2002) llegaron a conclusiones similares, en su estudio sobre diversidad de hongos en un bosque tropical. El aislamiento en medio de cultivo (método indirecto), aun cuando permitió obtener el doble de los taxones con el método directo, presentó la desventaja de que muchos cultivos no formaron

estructuras reproductivas, por eso la lista de especies no identificadas fue grande (50.87 %) Este problema lo discuten Bills y Polishook (1994) y Polishook *et al.* (1996), quienes consignan entre 37 y 45 % de taxones no identificables. Asimismo, se definieron mejores patrones para cada especie de pino mediante la técnica de la cámara húmeda. Muchos de los taxa registrados por la técnica de la cámara húmeda no se aislaron en medio de cultivo. Un ejemplo de ello fue *Desmazierella acicola*, muy frecuente en las hojas muertas de *Pinus cembroides*; la cual, Ponge (1991) también señaló como un hongo frecuente en hojas muertas de *Pinus sylvestris* en el suelo. Con ambos taxones se identificaron 13 especies; de ellas, *Lophodermium australe* fue el hongo más abundante.

Conclusiones

La riqueza de hongos asociados a las hojas de *Pinus arizonica*, *P. cembroides* y *P. pseudostrobus* es alta: 57 taxones mediante el método indirecto y 28 taxones con el directo. Con el método indirecto directo se obtienen el doble de taxones que con el método indirecto, pero el número de hongos no identificables es alto (50 %). Para estimar la riqueza de hongos es necesario usar más de un método. La riqueza y abundancia de hongos es diferente en las especies de pinos y los tipos de hojas.

Las hojas muertas colgantes y las hojas muertas en el suelo presentan la mayor cantidad de colonias de hongos. Conforme avanza el grado de degradación disminuye la riqueza de hongos.

Agradecimientos

Se agradecen al Conacyt y la Universidad Autónoma de Nuevo León, el apoyo otorgado para la realización de este estudio.

Contribución por autor

El autor hizo el muestreo, la identificación de las especies, el análisis de los datos y el manuscrito de esta publicación.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Arias, R. M. and G. Heredia. 2014. Fungal diversity in coffee plantation systems and in a tropical montane cloud forest in Veracruz, México. *Agroforestry Systems* 88: 921-933.
- Arx, J. A. von. 1981. The genera of fungi sporulating in pure culture. Cramer. Vaduz, Liechtenstein. 424 p.
- Bills, G. F. and J. D. Polishook. 1994. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. *Mycologia* 86: 187-198.
- Botella, L. and J. J. Diez. 2011. Phylogenic diversity of fungal endophytes in Spanish stands of *Pinus halepensis*. *Fungal Diversity* 47:9-18.
- Bullington, L. S. and B. G. Larkin. 2015. Using direct amplification and next-generation sequencing technology to explore foliar endophyte communities in experimentally inoculated western white pines. *Fungal Ecology* 17:170-178.
- Dennis, R. W. G. 1981. British ascomycetes Cramer. Vaduz, Liechtenstein. 585 p.
- Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, UK. 608 p.
- Ellis, M. B. 1976. More dematiaceous hyphomycetes. CMI, Kew. Surrey, Reino Unido. 507 p.
- Frankland, J. C. 1998. Fungal succession ± unravelling the unpredictable. *Mycological Research* 102(1)1-15.

- Hammer, Ø., D. A. Harper and P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1):1-9.
- Haňáčková, Z., O. Koukol, M. Štursová, M. Kolařík and P. Baldrian. 2015. Fungal succession in the needle litter of a montane *Picea abies* forest investigated through strain isolation and molecular finger printing. *Fungal Ecology* 13:157–166. doi: 10.1016/j.funeco.2014.09.007.
- Hawksworth, D. L. 1974. *Mycologist's Handbook. An Introduction to the Principles of Taxonomy and Nomenclature in the Fungi and Lichens.* Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, UK. 231 p.
- Heredia, G. 1987. Mycoflora associated with green leaves and leaf litter of *Quercus germana*, *Quercus sartorii* and *Liquidambar styraciflua* in a mexican cloud forest. *Cryptogamie Mycologie* 14: 171-183.
- Heredia, G. 1994. Hifomicetes dematiaceos en bosque mesófilo de montaña. Registros nuevos para México. *Acta Botánica Mexicana* 27: 15-32.
- Kendrick, W. B. 1958. Micro-fungi in pine litter. *Nature* 181: 432.
- Kim, C. K., J. K. Eo and A. H. Eom. 2012. Molecular identification of endophytic fungi isolated from needle leaves of *Pinus thunbergii*. *Korean Journal of Mycology* 40(4): 183-186.
- Kowalski, T. and P. Zych. 2002. Endophytic fungi in needles of *Pinus nigra* growing under different site conditions. *Polish Botanical Journal* 47(2): 251–257.
- Millberg, H, J. Boberg and J. Stenlid. 2015. Changes in fungal community of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles along a latitudinal gradient in Sweden. *Fungal Ecology* 17: 126-139.
- Minter, D. W. 1981. *Lophodermium* on Pines. *Mycological Papers* 147: 1-54.
- Nag Raj, T. R. 1993. *Ceolomycetous anamorphs with appendage-bearing conidia.* Mycologue Publications. Waterloo, Ontario, Canada. 1101 p.

- Oono, R., E. Lefèvre, A. Simha and F. Lutzoni. 2015. A comparison of the community diversity of foliar fungal endophytes between seedling and adult loblolly pines (*Pinus taeda*). *Fungal Biology* 119: 917-928.
- Osono, T. 2011. Diversity and functioning of fungi associated with leaf litter decomposition in Asian forests of different climatic regions. *Fungal Ecology* 4: 375-385.
- Parungao, M. M., S. C. Fryar and K. D. Hyde. 2002. Diversity of fungi on rainforest litter in North Queensland, Australia. *Biodiversity and Conservation* 11: 1185-1194.
- Polishook, J. D., G. F. Bills and D. J. Lodge. 1996. Microfungi from decaying leaves of two rain forest trees in Puerto Rico. *Journal of Industrial Microbiology* 17: 284-294.
- Ponge, J. F. 1991. Succession of fungi and fauna during decomposition of needles in a small area of Scots pine litter. *Plant and Soil* 138: 99-113.
- Prakash, C. P., E. Thirumalai, M. B. Govinda Rajulu, N. Thirunavukkarasu and T. S. Suryanarayanan. 2015. Ecology and diversity of leaf litter fungi during early-stage decomposition in a seasonally dry tropical forest. *Fungal Ecology* 17: 103-113.
- Porras-Alfaro, A. and P. Bayman. 2011. Hidden Fungi, Emergent Properties: Endophytes and Microbiomes. *Annual Review of Phytopathology* 49: 291-315.
- Qadri, M., R. Rajput, M. Z. Abdin, R. A. Vishwakarma and S. Riyaz-Ul-Hassan. 2014. Diversity, molecular phylogeny, and bioactive potential of fungal endophytes associated with the Himalayan blue pine (*Pinus wallichiana*). *Microbial Ecology* 67(4): 877-887
- Rahman, M. M., J. Tsukamoto, M. Rahman, A. Yoneyama and K. M. Mostafa 2013. Lignin and its effects on litter decomposition in forest ecosystems. *Chemistry and Ecology* 29(6): 540-553.
- Rihani, M., E. Kiffer and B. Botton. 1995. Decomposition of beech leaf litter by microflora and mesofauna. I. In vitro action of white-rot fungi on beech leaves and foliar components. *European Journal of Soil Biology* 31: 57-66.
- Rosenbrock, P., F. Buscot and J. C. Munch. 1995. Fungal succession and changes in the fungal degradation potential during the initial stage of litter decomposition in black alder forest (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.). *European Journal of Soil Biology* 31: 1-11.

- Sankaran, K.V. 1993. Decomposition of leaf litter of albizia (*Paraserianthes falcataria*, eucalypt (*Eucalyptus tereticornis*) and teak (*Tectona grandis*) in Kerala, India. *Forest Ecology and Management* 56: 225-242.
- Sankaran, K. V. 1994. Fungi associated with the decomposition of teak and Albizia leaf litter in Kerala. *Indian Forester* 120: 446-454.
- Sieber-Canavesi, F. and T. N. Sieber. 1993. Successional patterns of fungal communities in needles of European silver fir (*Abies alba* Mill.). *New Phytologist* 125: 149-161.
- Sridhara, S. and R. Ahmad. 1993. Succession of mycoflora on leaf litter of *Careya arborea* Roxb., *Terminalia paniculata* Roth., *Grewia microcos* Linn. and *Xylia xylocarpa* (Roxb.) Theob. In Kaiga forest. *Journal of Phytological Research* 6: 19-24.
- Sutton, B. C. 1980. *The Coelomycetes. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata.* Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, UK. 696 p.
- Tokumasu, S., T. Aoki and F. Oberwinkler. 1994. Fungal succession on pine needles in Germany. *Mycoscience* 35: 29-37.
- U'Ren, J. M. and A. E. Arnold. 2016. Diversity, taxonomic composition, and functional aspects of fungal communities in living, senesced, and fallen leaves at five sites across North America. *PeerJ* 4:e2768. DOI 10.7717/peerj.2768.
- Voříšková, J. and P. Baldrian. 2013. Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. *International Society Microbial Ecology Journal* 7: 477-486.
- Yoo, J. J. and A. H. Eom. 2012. Molecular identification of endophytic fungi isolated from needle leaves of conifers in Bohyeon Mountain, Korea. *Mycobiology* 40 (4): 231-235.
- Yuan, Z. and L. Chen. 2014. The Role of Endophytic Fungal Individuals and Communities in the Decomposition of *Pinus massoniana* Needle Litter. *PLoS ONE* 9(8): e105911.