



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ÁREA ACADÉMICA DE INGENIERÍA FORESTAL

**PRODUCCIÓN DE *Pinus greggii* Y *Pinus cembroides* CON
Pisolithus tinctorius Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD**

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN MANEJO DE RECURSOS
FORESTALES**

PRESENTA:

LIZZETE LIMA ROJAS

TULANCINGO DE BRAVO, HGO. MAYO DE 2008

La presente tesis titulada “**PRODUCCIÓN DE *Pinus greggii* Y *Pinus cembroides.*, CON *Pisolithus tinctorius* Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD**”, realizada por **Lizzete Lima Rojas**, bajo la dirección del Comité Revisor, ha sido aprobada y aceptada por el mismo como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN MANEJO DE RECURSOS FORESTALES

COMITÉ REVISOR

DIRECTOR:

Dr. Joel Meza Rangel

ASESOR:

Dr. Rodrigo Rodríguez Laguna

ASESOR:

Dr. Juana Juárez Muñoz

ASESOR:

Dr. Leopoldo Mohedano Caballero

ASESOR:

Dr. José Justo Mateo Sánchez

Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Mayo de 2008

Los autores agradecen al Fondo Sectorial CONAFOR-CONACyT el apoyo recibido para la realización del presente trabajo bajo el financiamiento del proyecto:

CONAFOR-2002-C01-5780 “Estrés hídrico en pinos: estrategias de manejo cultural y respuestas fisiológicas asociadas”.

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes de mi Comité, Dr. Joel Meza Rangel, Dr. Leopoldo Mohedano Caballero, Dr. Rodrigo Rodríguez Laguna, Dra. Juana Juárez Muñoz y Dr. José Mateo Sánchez, por su buena disposición, sus correcciones y sugerencias al presente trabajo.

A cada uno de los profesores de Ingeniería Forestal por compartir sus conocimientos, por su confianza y amistad.

A mis compañeros de grupo por los momentos tan agradables durante la carrera.

DEDICATORIA

A Elizabeth Rojas
mi mejor ejemplo de perseverancia

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
SUMMARY	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1. Descripción de las especies forestales estudiadas	4
3.1.1. <i>Pinus greggii</i> Engelm.	4
3.1.2. <i>Pinus cembroides</i> Zucc.....	6
3.2. Calidad de planta	7
3.2.1. Factores fisiológicos.....	8
3.2.2. Factores morfológicos	9
3.2.3. Prácticas culturales	11
3.3. Dinámica nutrimental en la interfase suelo-raíz.....	12
3.4. Microorganismos de la rizósfera	13
3.4.1. Microorganismos no infecciosos en la rizósfera	14
3.4.2. Micorrizas.....	14
3.5. Ectomicorrizas.....	14
3.6. Taxonomía de <i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker & Couch.....	16
3.7. Especificidad en asociaciones micorrízicas.....	17
3.8. Micorrización de especies forestales	18
3.9. Factores que afectan el desarrollo micorrízico	19

3.10. La ectomicorriza y su relación sobre la fisiología de la planta	20
3.10.1. Efecto sobre la absorción de agua y nutrición de las plantas	20
3.10.2. Efecto sobre el crecimiento	21
3.11. Uso de ectomicorrizas en la restauración de ecosistemas forestales	22
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
4.1. Ubicación del experimento.....	24
4.2. Material biológico, siembra de semillas e inoculación de plántulas	24
4.3. Arreglo experimental.....	25
4.4. Variables evaluadas	26
4.4.1. Colonización micorrízica.....	26
4.4.2. Altura y diámetro del tallo.....	27
4.4.3. Peso seco de la parte aérea	27
4.4.4. Contenido de N, P y K.....	27
4.5. Análisis estadístico	28
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1. Colonización micorrízica.....	29
5.2. Altura y diámetro de tallo.....	33
5.3. Peso seco de la parte aérea	37
5.4. Contenido de N, P y K.....	39
6. CONCLUSIONES.....	47
7. LITERATURA CITADA.....	48

ÍNDICE DE CUADROS

1	Tratamientos establecidos para evaluar la formación micorrízica con <i>Pisolithus tinctorius</i> en plántulas de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus cembroides</i>	26
2	Ecuación y valor de R^2 que representan la dinámica de desarrollo de la infección de la ectomicorriza <i>Pisolithus tinctorius</i> en <i>Pinus greggii</i> Engelm. y <i>Pinus cembroides</i> Zucc., producidos en bolsa.....	30
3	Valores medios de altura (cm) en plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.....	33
4	Valores medios de altura (cm) en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.....	34
5	Valores medios de diámetro (mm) en plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.....	35
6	Valores medios de diámetro (mm) en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.....	35
7	Valores medios de peso seco de la parte aérea (g/planta) en plántulas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.	38
8	Valores medios de peso seco de la parte aérea (g/planta) en plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

1	Dinámica del desarrollo de infección ectomicorrízica en plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm. y <i>Pinus cembroides</i> Zucc., inoculados con <i>Pisolithus tinctorius</i> , producidos en bolsa en invernadero.	30
2	Fotografía (100 x) de una raíz de <i>Pinus greggii</i> Engelm. sin micorrización.....	31
3	Fotografía (100 x) de una raíz de <i>Pinus cembroides</i> Zucc. sin micorrización.	31
4	Fotografía (100 x) de una raíz de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., inoculado con <i>Pisolithus tinctorius</i>	31
5	Fotografía (100 x) de una raíz de <i>Pinus greggii</i> Engelm., inoculado con <i>Pisolithus tinctorius</i>	31
6	Contenido total (mg Kg^{-1}) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm. producido en tubete, en respuesta a la inoculación con <i>Pisolithus tinctorius</i>	42
7	Contenido total (mg Kg^{-1}) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de <i>Pinus greggii</i> Engelm. producido en bolsa, en respuesta a la inoculación con <i>Pisolithus tinctorius</i>	43
8	Contenido total (mg Kg^{-1}) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., producido en tubete, en respuesta a la inoculación con <i>Pisolithus tinctorius</i>	44
9	Contenido total (mg Kg^{-1}) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc., producido en bolsa, en respuesta a la inoculación con <i>Pisolithus tinctorius</i>	45

RESUMEN

Con la finalidad de analizar la influencia de formación micorrízica en la calidad de planta de *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus cembroides* Zucc., mediante la aplicación del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*, se evaluaron la altura, diámetro de tallo, peso seco y el contenido de nitrógeno, fósforo y potasio de la parte aérea de las plántulas. Ambas especies fueron producidas bajo condiciones semicontroladas de invernadero, en envase tipo tubete de 130 ml de capacidad y en bolsa de plástico de 1 litro, en sustrato inerte y fertilizadas con 5 Kg m⁻³ de Osmocotte®. Los resultados obtenidos indican una acelerada colonización del hongo desde la primera semana después de inocular el sistema radical, y una infección micorrízica del 92.30 % en *P. greggii* y 62.50 % en *P. cembroides* al final del experimento. No hubo diferencias estadísticas significativas en la altura, diámetro de tallo y peso seco en las dos especies por efecto de *Pisolithus tinctorius*, únicamente por el envase utilizado, teniendo un mayor crecimiento los pinos producidos en bolsa. Los contenidos de N, P y K no presentaron diferencias significativas consistentes entre los tratamientos micorrizados y no micorrizados, lo que supone una absorción nutrimental normal de acuerdo a los requerimientos de las especies. Los resultados muestran que es posible la formación micorrízica con *Pisolithus tinctorius* en las dos especies bajo estudio, en condiciones normales de operación en viveros comerciales.

Palabras clave: calidad de planta, micorrización, *Pinus*, *Pisolithus tinctorius*

SUMMARY

In order to analyze the effect of mycorrhizal formation on plant quality with *Pisolithus tinctorius* in *Pinus greggii* Engelm. and *Pinus cembroides* Zucc., seedlings were grown in large cavity pots (130 ml) and polyethylene-bags (1000 ml) in a greenhouse by using artificial soil (vermiculite- perlite-peat moss) adding 5 Kg m⁻³ Osmocote® fertilizer. Height, stem diameter, top dry weight and N, P, K concentration of seedlings were assessed to estimate plant quality. Results showed a rapid fungal infection since the first week after inoculation. At the end of the experiment *P. greggii* presented 92.30 % and *P. cembroides* 62.50 % of fungal colonization. There were not statistical differences en height, stem diameter and dry weight of either species due to *Pisolithus tinctorius* inoculation. Seedling growth of both species was greater in polyethylene-bag container. Mycorrhizal infection had no effect on N, P and K concentration in all treatments, assuming a normal nutrimental uptake according to the species needs. In conclusion, it is possible to inoculate *Pisolithus tinctorius* in an operative way in commercial nurseries.

Key words: mycorrhiza, *Pisolithus tinctorius*, *Pinus*, plant quality

1. INTRODUCCIÓN

La recuperación de áreas degradadas a través de programas de reforestación requiere preparar el sitio de forma apropiada, un manejo adecuado de las especies destinadas a la plantación, así como la utilización de plantas de alta calidad. Uno de los principales problemas que afectan el éxito de estos programas es la baja supervivencia de las plántulas en los sitios de reforestación, causada principalmente por la baja calidad de las plantas producidas en vivero. Generando, en consecuencia, no sólo mayores costos, sino el retraso en tiempo para recuperar esas áreas (Duryea, 1985).

La calidad de una planta forestal está determinada por su aptitud una vez que está plantada, en función de su supervivencia inicial y de su desarrollo subsecuente. La supervivencia y desarrollo posterior están directamente relacionados con la capacidad del sistema radical para regenerar con rapidez nuevas raíces (Landis, 1990) y esta calidad está relacionada, en consecuencia, con el estatus nutrimental de las plántulas. La disponibilidad de agua y nutrimentos tales como nitrógeno y fósforo aportan lo necesario para el nuevo crecimiento, siendo necesario que sean suministrados a las plántulas para completar su desarrollo.

Por tanto, es necesario llevar a campo planta de buena calidad que tenga altas posibilidades de supervivencia; sin embargo, su establecimiento en zonas con grandes limitaciones de agua y nutrimentos requiere establecer nuevas estrategias culturales en vivero y campo. Una estrategia ha sido el uso de hongos ectomicorrízicos como *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch el cual facilita la absorción de agua y nutrimentos debido al incremento del área de contacto de las raíces con el suelo, además de proteger a las raíces contra la desecación y hacerlas menos susceptibles al ataque de patógenos, provocando de esa manera, una mayor probabilidad de establecimiento de la plántula en campo (Barea, 1991).

En varias partes de Norte América las micorrizas han demostrado una respuesta significativa al éxito de reforestaciones en una gran variedad de especies de coníferas. La aplicación de hongos micorrízicos en el sistema radical ha ayudado al crecimiento y supervivencia de las plántulas (France y Cline, 1987). En México son pocos los estudios que han abordado este tema, con fines productivos, con la inoculación de *Pisolithus tinctorius*, en especial su dinámica de crecimiento y afinidad con especies forestales.

Dado el marco de referencia anterior, el propósito del presente trabajo es conocer la velocidad y grado de colonización ectomicorrízica con *Pisolithus tinctorius* en dos especies de pinos, *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus cembroides* Zucc., así como su relación con el crecimiento de planta producida en invernadero, previo a su establecimiento en campo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

– Evaluar el efecto de la inoculación de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch en plántulas de *Pinus greggii* Engelm., y *Pinus cembroides* Zucc., producidos en invernadero.

2.2. Objetivos específicos

– Evaluar la velocidad y porcentaje de colonización micorrízica de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch en *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus cembroides* Zucc.

– Determinar la relación entre la inoculación de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch, con el diámetro, la altura, la acumulación de biomasa de la parte aérea, y el contenido de N, P, K, de las plántulas de pino producidas en dos tipos de envase.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

El establecimiento de plantaciones con pinos, ha sido una alternativa para recuperar zonas en estado avanzado de degradación y condiciones ambientales adversas, tales como clima árido y extremo, suelos con escasa fertilidad y disponibilidad de agua. Sin embargo, el éxito no obtenido es evidenciado por la baja supervivencia, principalmente debido a la utilización de plantas que no son producidas para establecerse en suelos pobres, carentes de hongos micorrízicos (Chávez, 1987).

Pinus cembroides Zucc. y *Pinus greggii* Engelm., son especies que generalmente se desarrollan en suelos delgados, pobres en materia orgánica, y expuestos a periodos prolongados de sequía, lo cual representa un verdadero potencial para plantaciones forestales con fines de restauración (Carrera, 2004).

3.1. Descripción de las especies forestales estudiadas

3.1.1. *Pinus greggii* Engelm.

Pinus greggii Engelm. es una especie endémica de México, con amplia importancia ecológica y económica, se distribuye en poblaciones aisladas a lo largo de la Sierra Madre Oriental del Centro y Norte de México, en zonas semiáridas y a veces semitropicales, entre los paralelos 20° 00' a 25° 40' de latitud Norte y meridianos 97° 40' a 101° 20' de latitud Oeste. El intervalo de distribución altitudinal abarca de 1200 a 2700 msnm, presenta diferentes condiciones ambientales debido a su amplia distribución, se desarrolla generalmente en un clima subtropical con precipitación variable de 500 a 2900 mm la temperatura media anual es de 16.8 °C, con extremas máximas de 45 °C y mínimas de -9 °C. Habita en suelos sobre delgados de textura migajón areno arcillosa, pedregosos, café rojizos y calizos, normalmente pobres en materia orgánica. Forma masas puras con frecuencia, pero también se asocia con *Pinus patula*, *P. teocote*, *P. cembroides*, *P.*

arizonica, *Pseudotsuga flahaulti*, *Juniperus* sp., *Liquidambar styraciflua*, *Platanus* sp., *Cupressus* sp. y *Quercus* sp., principalmente (Eguiluz, 1978).

Esta especie es empleada recientemente en plantaciones y reforestaciones debido a su rápido crecimiento, así como por su capacidad para adaptarse en terrenos degradados y condiciones limitantes de humedad (Vargas y Muñoz, 1988; López y Valencia, 2001), y fuera de su área de distribución natural, ha demostrado buena adaptación, resistencia a plagas y enfermedades y sequías, así como buen crecimiento durante sus primeros años de establecimiento (Eguiluz, 1978). Estas características favorecen su uso en programas de reforestación en diferentes partes de México y en programas de plantaciones comerciales en sitios marginales donde no se adaptan otras especies de *Pinus*. En México, es la cuarta especie de pino en términos de importancia en plantaciones del Programa Nacional de Reforestación. En Sudáfrica, Argentina, Brasil, Colombia, India, entre otros, se han establecido plantaciones con *P. greggii* en localidades con niveles bajos de precipitación pluvial, donde *P. patula* y *P. taeda*, árboles considerados internacionalmente como altamente productivos, no pueden prosperar (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005).

Eguiluz (1978) y Martínez (1992), describen a este árbol de 10 a 25 m de altura y hasta 40 cm de diámetro, con el follaje erguido y cubriendo todas las ramillas. Su corteza es lisa y grisácea cuando joven, y oscura y áspera después. Con ramillas flexibles de color rojizo con tinte grisáceo. Las hojas son ásperas, cortas, derechas y gruesas, de 7-14 cm., de color verde claro brillante, las acículas se presentan en grupos de 3 de bordes aserrados con denticillos muy cortos. Las vainas son persistentes y miden unos 14 mm., pero las viejas con frecuencia se desgarran y caen. Los conillos son laterales, pedunculados, morenos, con anchas escamas provistas de puntas triangulares y extendidas. Sus conos son cónicos, oblicuos, algo encorvados de color ocre lustrosos, miden de 10 a 11 cm. y en ocasiones hasta 15 cm., se encuentran arreglados por pares o en grupos de 5 a 8. Su semilla es oval, oscura, de 6 a 7 mm.; con ala de unos 20 mm de largo por 7 de ancho, engrosada en la base de una faja oblicua.

3.1.2. *Pinus cembroides* Zucc.

Pinus cembroides Zucc., es un árbol perennifolio, de 5 hasta 15 m de altura y un diámetro normal de 30 hasta 70 cm., con corteza cenicienta, delgada, agrietada y dividida en placas cortas e irregulares. Las ramas grandes comienzan desde poca altura y son extendidas y en su mayoría verticiladas; con ramillas grisáceas y ásperas, mostrando las cicatrices foliares. El follaje es rígido y encovado, las acículas se presentan en grupos de tres predominantemente, miden de 2.5 a 3.5 cm de color verde oscuro, algo azulado pálido, a veces amarillento y frecuentemente glaucas en las caras internas. Los conillos son globulosos, de color moreno rojizo, con gruesas escamas. Los conos son subglobosos, colgantes, de color moreno anaranjado o rojizo, casi sésiles, se encuentran aislados o en grupos hasta de 5, caedizos, miden de 5 a 6.5 cm de largo, por 5 a 6 cm de diámetro, con pocas escamas, gruesas en su extremidad y delgadas en los bordes, los cuales se reflejan hacia dentro durante la dehiscencia, sosteniendo la semilla. Las semillas son subcilíndricas y algo triangulares sin ala, unos 10 mm de largo, morenas o negruzcas, abultadas en la parte superior y adelgazadas hacia la base (Martínez, 1992).

Esta especie es originaria de México y es uno de los pinos de mayor distribución (19 estados). Forma masas puras en la Sierra Madre Oriental al norte del Trópico de Cáncer. Las mayores poblaciones están en Chihuahua, Durango, Coahuila, Nuevo León, Hidalgo y Zacatecas y se extiende, al sur de los Estados Unidos, con latitudes variables desde los 18° a 32° N y longitudes desde los 90° a 116° W y con una altitud de 1,350 a 3000 msnm. Es una especie típica de suelos con poca materia orgánica, secos, pedregosos, calizos o calcáreos con alto contenido de yeso, delgados en lomeríos y aluviones en los valles de muy buen drenaje y con pH de 4 a 8, normalmente prefiere los suelos de neutros a alcalinos. Se desarrolla en clima templado seco hasta templado subhúmedo con precipitaciones de 350 a 7000 mm anuales y temperaturas que oscilan entre 7 °C hasta 40 °C con promedios de 18 °C; alcanzando mínimas extremas de -7 °C y máximas de 42 °C o a veces mayores (Eguiluz, 1978; Rzedowski, 1983; Zavala, 1987).

Aunque forma masas puras se puede encontrar asociada con especies de matorral arbustivo, encinares y pinares de climas semidesérticos: *Yucca carnerosana*, *Arbutus xalapensis*, *Larrea tridentata*, *Acacia farnesiana*, *Agave* sp., *Opuntia* sp., *Buddleia* sp., *Juniperus* sp., *Pinus teocote*, *P. arizonica*, *Quercus* sp., entre otras (Eguiluz, 1978).

Es una especie de lento crecimiento pero con alto potencial adaptativo. Las bajas temperaturas influyen favorablemente sobre el crecimiento del piñonero y la producción de conos. Es un pino atractivo para reforestar zonas áridas y semiáridas ya que es una de las especies más resistentes a la sequía (De la Rosa, 1995).

3.2. Calidad de planta

Las plantas de alta calidad pueden ser definidas de diferente manera, pero para propósitos de restauración la calidad se define en términos de rendimiento, como la capacidad de supervivencia y crecimiento una vez establecida en campo (Landis, 1984).

La calidad no es un concepto absoluto sino más bien relativo, así como la especie, el sitio a plantar y los objetivos mismos de la plantación, de modo que se trata de un concepto exponencialmente variable e igualmente importante (Mohedano, 1999). En el caso de la recuperación de las zonas mencionadas anteriormente, una planta de calidad es aquella que sobrevive a un estrés ambiental prolongado y produce un crecimiento vigoroso posterior a su plantación.

La calidad de planta en términos integrales, incluye una serie de factores morfológicos y fisiológicos que pueden ser cuantitativamente eslabonados al éxito de la reforestación (Landis, 1984).

3.2.1. Factores fisiológicos

La fisiología de la planta depende de las condiciones bajo las cuales fue cultivada, y tiene relación directa con su comportamiento en el sitio de plantación. Son muchos los factores fisiológicos que pueden ser usados como indicadores de calidad pero sólo unos pocos han sido estudiados para el caso de pinos (Cano, 1998).

Balance hídrico

El agua constituye más del 80 % del peso fresco en el crecimiento activo de las plantas leñosas, formando una fase líquida desde los pelos de la raíz hasta las paredes celulares del parénquima foliar. Afecta directa e indirectamente a la mayoría de los procesos fisiológicos, permite la difusión y el flujo masivo de solutos y, por esa razón, es esencial para el transporte y distribución de nutrimentos y metabolitos en toda la planta (Landis, 1984). También es importante en las vacuolas de las células vegetales, ya que ejerce presión sobre el protoplasma y la pared celular, manteniendo así la turgencia en hojas, raíces y otros órganos. Por lo tanto, el agua es esencial para la supervivencia, el crecimiento y la actividad metabólica de las plantas (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Nutrición mineral

La nutrición mineral es uno de los aspectos fisiológicos sustanciales de la planta (Wakeley, 1948, citado por Landis, 1984), así como el estado hídrico, siendo ambos factores determinantes para indicar su respuesta al ambiente. Para una especie vegetal y en un ambiente determinado, los factores de crecimiento más importantes son la luz, el CO₂ y los nutrimentos minerales (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Más de la mitad de los elementos minerales que existen en la naturaleza han sido encontrados en los tejidos de las plantas, pero sólo 16 han sido comprobados como esenciales para su desarrollo. De estos 16 nutrimentos, el carbono, el hidrógeno y el

oxígeno son obtenidos a partir del agua y el dióxido de carbono atmosférico, representando el 95 % del peso seco de la planta. Los 13 elementos restantes son absorbidos del suelo y son requeridos para las funciones metabólicas y fisiológicas de la planta (Kramer y Kozlowski, 1979).

La producción de biomasa total, está directamente relacionada con el contenido de nutrimentos. Existen numerosas interrelaciones entre estos y la producción vegetal. Cuando la concentración de un nutrimento es baja se considera deficiente y limita el desarrollo de la planta (Landis, 1984).

3.2.2. Factores morfológicos

Thompson (1984) define la morfología como la estructura de un organismo o cualquiera de sus partes. La morfología de la planta es un indicador del estado fisiológico, ya que varias características morfológicas, tales como la condición de la yema, el color del follaje u hojas secundarias, se correlacionan con diferentes estados de desarrollo fisiológico (Cano, 1998). La facilidad con la cual la mayoría de parámetros morfológicos pueden ser medidos los hace el método más común para determinar la calidad de planta (Thompson, 1984).

Altura

La altura es una de las características de la planta más fáciles de observar. Tiene poco valor como indicador único de la calidad de planta, pero combinado con el diámetro adquiere mayor importancia (Cuevas, 1995; Hernández, 2003).

Una mayor altura relacionada a un mayor número de hojas representa una mejor calidad de planta por tener más capacidad fotosintética y transpiratoria y define la capacidad para almacenar carbohidratos (Thompson, 1984). Una buena relación de altura con peso total de la planta es imprescindible para la supervivencia en campo, especialmente en sitios secos (Cano, 1998).

Diámetro del tallo

El diámetro es el criterio morfológico más usado para evaluar la calidad de planta, puede reflejar el tamaño del sistema radical y el potencial de durabilidad de las plantas. Plantas con diámetros mayores resisten al doblamiento y el daño causado por insectos y otros animales, además la supervivencia y crecimiento están relacionadas con mayor altura y diámetro de las plantas (Duryea, 1985).

En pinos el diámetro está muy relacionado con la cantidad de sustancias de reserva ya que, a mayor diámetro puede existir mayor cantidad de tales sustancias, por lo que esta variable representa un buen parámetro de predicción de crecimiento y supervivencia en campo. El diámetro también se relaciona con las características de la raíz, incluyendo su peso seco y su morfología. Generalmente a un mayor diámetro del tallo se presentan más raíces laterales primarias (Thompson, 1984).

Peso seco

El peso seco se ha correlacionado con la supervivencia en campo y el crecimiento después de la plantación, encontrándose que presenta el mismo nivel de consistencia que el diámetro. Adicionalmente al valor predictivo del peso seco, se ha encontrado una fuerte correlación entre el peso seco del follaje y la altura. Aunque la altura está correlacionada con el número de acículas en pinos, y el número de acículas con el peso de éstas, por lo tanto, puede esperarse una correlación positiva entre el peso de las acículas respecto al crecimiento y la supervivencia, de la misma manera que con la altura. En general una mayor calidad de plántula permitirá producir un mejor crecimiento, en tanto se mantenga el balance de los brotes y la raíz de tal manera que se incremente la supervivencia para una calidad de sitio determinada (Thompson, 1984).

Peso de la raíz

El peso de la raíz también se ha correlacionado con el diámetro de las plántulas, y por tanto, con su supervivencia y crecimiento. Aunque es mejor tomar en cuenta también la

altura, el diámetro y el peso seco de la parte aérea como indicadores de eficiencia. Algunos estudios han mostrado falta de correlación entre las variables mencionadas, lo que puede llevar a pensar que la calidad de la raíz no es importante. Esta apreciación probablemente es equivocada, el problema puede residir en carecer de una buena medida de comparación de los sistemas radicales, y del método para medir la cantidad de raíz necesaria para asegurar la supervivencia y el crecimiento en los sitios de plantación. Sin embargo, a pesar de lo anterior, una planta de calidad es aquella que posee un sistema radical comprimido con un alto porcentaje de raíces fibrosas. La implicación de que un sistema radical sea fibroso, es que presenta una gran superficie para la absorción de agua y nutrientes (Thompson, 1984).

3.2.3. Prácticas culturales

Las prácticas culturales generalmente intentan proveer el ambiente para el crecimiento del árbol, y sólo son efectivas si incrementan la eficiencia total de los procesos fisiológicos que controlan el crecimiento vegetativo y reproductivo (Kramer y Kozlowski, 1979). Un alto porcentaje de supervivencia y un rápido crecimiento en campo se logran cuando las plantas han satisfecho los requerimientos condicionantes en vivero, la forma en que se extiendan afectarán los indicadores morfológicos y fisiológicos de la calidad, así como el comportamiento de la supervivencia y crecimiento en campo (Cano, 1998).

Las prácticas culturales de mayor significancia para determinar la calidad de planta en vivero son fundamentalmente las siguientes:

Fertilización

Probablemente más que ninguna otra práctica de cultivo, con excepción del riego, la fertilización controla tanto la tasa como el tipo de crecimiento (Landis, 1989). El mantenimiento de un nivel adecuado de fertilidad del sustrato es importante para producir plántulas de alta calidad. Las plántulas requieren de cantidades específicas de cada uno de

los elementos esenciales para mantener un crecimiento normal y un estado saludable. Una deficiencia nutrimental moderada puede ocasionar un estrés fisiológico en la planta, lo que reduce el crecimiento y ocasiona alteraciones en la morfología. Las deficiencias nutrimentales se pueden corregir con la aplicación de fertilizantes, pero debe tenerse mucho cuidado de no ocasionar efectos tóxicos por sobrefertilización (Cano, 1998).

Riego

El riego puede afectar el estado nutrimental de las plántulas, positiva y negativamente. Una buena irrigación ayuda a mantener turgentes los tejidos en crecimiento (Kramer y Kozlowski, 1979), por otro lado, un riego excesivo puede filtrar nutrientes solubles de la zona de la raíz y reducir la cantidad disponible a la plántula (Landis, 1984).

Schomaker (1969), citado por Landis (1984), demostró que un riego frecuente en plántulas de *Pinus strobus*, reduce los niveles de concentración de N, P y K. Por otro lado un riego insuficiente puede limitar el desarrollo de las plántulas y cambiar los niveles nutrimentales. Varios estudios han demostrado que la aplicación de déficits hídricos moderados favorecen la distribución de biomasa a la raíz, al reducir la relación parte aérea/raíz (Cano, 1998).

Los factores a considerar para definir un nivel moderado de riego incluyen la especie, el tamaño de las plántulas, la humedad del aire, las características del sustrato, entre otros. El riego debe regularse de acuerdo con los requerimientos de la planta. (Morby, 1982, citado por Cano, 1998).

3.3. Dinámica nutrimental en la interfase suelo-raíz

La rizósfera está caracterizada por gradientes en dirección radial y longitudinal a lo largo de la raíz, los cuales pueden producirse por nutrientes minerales, pH, potencial redox, exudados de la raíz y actividad microbiana. Estos gradientes que están determinados

por factores del suelo y de la planta, afectan fuertemente la adquisición de nutrimentos minerales y juegan un papel importante en la adaptación de las plantas a condiciones adversas. Las concentraciones y dinámica de los minerales en la rizósfera no sólo están determinadas por la capacidad para absorber nutrimentos y agua, en diversas zonas, a lo largo de las raíces principales, sino también por el grado de suministro de los nutrimentos, vía flujo de masas y difusión, desde el suelo hacia la superficie radical. El pH en la rizósfera puede ser distinto al resto del suelo dependiendo de la forma en que se encuentra disponible el nitrógeno, el genotipo y el estado nutrimental de las plantas, y la capacidad de amortiguamiento del pH del suelo. En la mayoría de los casos estos cambios de pH son causados por diferencias en la excreción neta de H^+ , debido a un desequilibrio en la absorción de cationes-aniones. En este aspecto la absorción de NH_4^+ y NO_3^- es de particular importancia por ser iones requeridos por las plantas en grandes cantidades. Como resultado de una alta movilidad de NO_3^- en el suelo y por ser suministrado más rápidamente a las raíces por flujo de masas y difusión. Estos cambios inducidos en la raíz, tienen importantes efectos en el pH de la rizósfera, por ejemplo, en la solubilidad, y por tanto en la adquisición de nutrimentos minerales (Marschner, 1991).

Las cantidades de carbono orgánico que las raíces liberan en la rizósfera pueden alcanzar hasta el 40 % de la producción total de materia seca en una planta. Varias formas de estrés como resistencia mecánica, anaerobiosis y deficiencia nutrimental (ejemplo de P, K, Zn y Fe) pueden aumentar fuertemente la liberación de carbono. La liberación de exudados de la raíz es de particular importancia en relación a la dinámica nutrimental en la rizósfera. Algunos de estos exudados están directamente involucrados en la movilización de los nutrimentos minerales solubles, y otros más indirectamente afectan la actividad microbiológica de la rizósfera (Marschner, 1991).

3.4. Microorganismos de la rizósfera

La asociación entre dos organismos con beneficio recíproco, llamado simbiosis, es un fenómeno general entre los vegetales (Le Tacon, 1985). Para la dinámica nutrimental en la rizósfera y la adquisición nutrimental existen dos grupos de microorganismos que son de

particular importancia, aquellas especies que no infectan, limitadas a la rizósfera, y los que infectan, que forman micorrizas (Marschner, 1991).

3.4.1. Microorganismos no infecciosos en la rizósfera

Dado que las raíces actúan como una fuente de carbono orgánico, la densidad de población de microorganismos, especialmente bacterias, es considerablemente más alta en la rizósfera que en el resto del suelo. Los microorganismos no infecciosos presentes en la rizósfera pueden afectar la nutrición mineral de las plantas directa e indirectamente, los efectos directos pueden ser causados por procesos como movilización, mineralización de nitrógeno orgánico y nitrificación. Por otro lado, pueden dañar la nutrición mineral de las plantas, por ejemplo, competencia por fósforo, desnitrificación, o utilización de exudados de la raíz como fuentes de carbono (Marschner, 1991).

3.4.2. Micorrizas

Micorriza es la asociación mutualista entre las raíces de las plantas y el micelio de un hongo. La planta suministra al hongo fuentes de carbono procedentes del producto de la fotosíntesis, y a su vez el hongo aporta y asimila nutrimentos minerales del suelo. De todas las interacciones entre plantas y microorganismos, las micorrizas son las que han mostrado una mayor proyección nutrimental (Thompson, 1984). La planta por sí sola no puede absorber a través de sus raíces más que los elementos minerales solubles, que se encuentran en cantidades muy pequeñas en el suelo en condiciones naturales. Las micorrizas facilitan la absorción de todos los elementos minerales, pero sobre todo de los elementos menos solubles y menos móviles en el suelo (Le Tacon, 1985).

3.5. Ectomicorrizas

Actualmente se reconocen siete tipos de simbiosis micorrízicas: arbuscular, ectomicorriza, ectoendomicorriza, arbutoide, monotropoide, ericoide y de orquídeas. Aun y

cuando estos 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 invernaderos y viveros forestales (Castellano y Molina, 1989). Uno de los más importantes tipos de asociaciones micorrízicas, desde el punto de vista ecológico y biogeográfico, es la ectomicorriza, en esta simbiosis el hongo asociado cubre las raíces cortas formando un manto. Las hifas crecen de este manto hacia afuera, en el sustrato, y hacia dentro entre los espacios intersticiales de las células corticales de la raíz, formando un complejo sistema intercelular denominado "red de Hartig" sin que exista, generalmente, penetración intracelular en las plantas asociadas (Pérez-Moreno y Read, 2004).

Las hifas ectomicorrízicas pueden rodear completamente las raíces laterales y así impedir la adquisición directa de nutrientes minerales por esas raíces, y el micelio externo de por lo menos algunas especies, movilizan los nutrientes minerales de fuentes que no están disponibles para las raíces hospederas, por ejemplo liberando proteasas y así utilizar proteína-N, y por la excreción de ácidos orgánicos y fenólicos. Esta capacidad adicional de las ectomicorrizas puede ser de particular importancia para la nutrición mineral en árboles bajo dos circunstancias: (1) sitios con limitación de nitrógeno donde el carbono adicional se introduce en las estructuras micorrízicas, y la rotación es recompensada por una mejor accesibilidad para el nutriente de crecimiento más limitado, y (2) en sitios pobres en nutrientes donde el suelo mineral es pobremente accesible para las raíces, y donde la mayoría de las raíces están limitadas a la capa de humus. Aquí el contacto entre las raíces y el sustrato es pobre y el micelio externo actúa como conector entre la planta y el sustrato (Marschner, 1991).

La simbiosis ectomicorrízica se establece principalmente entre especies gimnospermas y angiospermas leñosas por una parte, y hongos de los grupos basidiomicetes y ascomicetes por la otra (Pérez-Moreno y Read, 2004). Esta simbiosis se presenta en árboles económicamente importantes, en géneros de gimnospermas como *Pinus*, los cuales hoy en día son casi exclusivamente ectomicorrízicos (Smith y Read, 1997), además de, *Picea*, *Abies*, *Pseudotsuga*, *Cedrus* y *Larix*. Entre los géneros de

angiospermas se incluyen *Quercus*, *Fagus*, *Salix*, *Populus*, entre otros (Marx, 1976; Kramer y Kozlowski, 1979; Pérez-Moreno y Read, 2004).

El conocimiento convencional ha generalizado el hecho de que la mayoría de los hongos ectomicorrízicos son de amplio espectro respecto al hospedero y expresan poca especificidad hospedera. Sin embargo, los hongos ectomicorrízicos varían desde un rango reducido de hospederos hasta un rango amplio. De la misma manera los hospederos pueden asociarse relativamente con pocos hasta un gran número de especies de hongos; algunas especies de plantas muestran fuerte coevolución con grupos particulares de hongos, por consiguiente no son compatibles todas las combinaciones hongo-hospedero. La coincidencia entre hospederos para compartir compatibilidad con hongos comunes determinara su potencial de acoplamiento. Determinar este potencial de acoplamiento es decisivo para evaluar la mediación micorrízica en interacciones de plantas (Molina *et al.*, 1992)

3.6. Taxonomía de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch

Pisolithus es un miembro del *phylum* Basidiomycete, de la clase Gasteromycete. El orden es Esclerodermatacales, en tanto que la familia es Sclerodermataceae. *Pisolithus* significa piedra de chícharo, esto en referencia a los peridiolos y *tinctorius* por el colorante que presenta al madurar el cual se le utiliza en la elaboración de tintes de colores café brillante y negro (Calonge, 1990).

Pisolithus tinctorus es comúnmente aislado de tejidos de esporocarpos jóvenes y no dañados, pero también puede ser aislado de otras porciones del hongo. El mayor interés en esta especie se deriva de su éxito en la inoculación de plantas forestales. *Pisolithus* es especialmente tolerante a condiciones extremas de suelo, como altas temperaturas, sequía y altas concentraciones de metales tóxicos, que frecuentemente matan o inactivan otros hongos ectomicorrízicos menos tolerantes y a sus árboles hospederos. Estas características, combinadas con la habilidad para formar extensas relaciones micorrízicas con numerosas especies de árboles, lo ha hecho popular en los esfuerzos de restauración, de igual manera

ha mostrado que fomenta la habilidad de las plántulas para crecer y prosperar en sitios adversos. Se ha observado que las concentraciones de nutrimentos esenciales son mucho más altas en aquellos árboles que forman una asociación ectomicorrizica con *Pisolithus* (Cordell *et al.*, 1988).

3.7. Especificidad en asociaciones micorrízicas

En la patología de plantas la especificidad implica una asociación muy limitada entre especies hospederas y especies o cepas de patógenos. No es de sorprender entonces que las revisiones bibliográficas sobre micorrizas a menudo generalizan que las asociaciones micorrízicas no expresen fuerte especificidad. Molina *et al.* (1992) reconocen seis fenómenos que abarcan el espectro de especificidad en asociaciones micorrízicas:

1. Dependencia *vs.* independencia: define si la planta forma o no forma micorriza.
2. Simbionte facultativo *vs.* simbionte obligado: define la capacidad o incapacidad de los simbiontes para completar su ciclo de vida en ausencia de la formación micorrízica.
3. Fidelidad (afinidad) a una clase de micorriza: reconoce que la mayoría de simbiontes forman una clase de micorriza (ejemplo vesículo arbuscular o ectomicorriza) pero que algunos pueden formar dos o más clases.
4. Rango de hospederos del hongo: describe un espectro que varía de un rango reducido, prácticamente limitado a un género de hospederos, a un rango intermedio, a menudo limitado a una familia de hospederos, a un rango amplio, que se extiende en una diversidad de familias y ordenes.
5. Receptividad hospedera: define los números y diversidad de hogos micorrízicos aceptados por un hospedero determinado, también en rangos de estrechos (número bajo) a amplio (número alto).
6. Especificidad ecológica: la influencia de factores bióticos y abióticos en la capacidad de la plantas para formar micorrizas funcionales con un hongo determinado en suelos naturales.

3.8. Micorrización de especies forestales

La variación de la micorrización en especies forestales puede ser a diferentes escalas: dentro de ecosistemas, dentro de hábitats, dentro de especies y aún en forma individual. Es posible encontrar no sólo algunas especies susceptibles a ser micorrizadas, sino un gran rango en la densidad de infección de raíces de las plantas hospedadas. Aun las plantas que se encuentran creciendo junto a especies bien micorrizadas, pueden mostrar una variación considerable en cualquier momento, con respecto a las plantas adyacentes, además se puede observar esta variación entre las partes de un sistema radical de un solo individuo. Esta tendencia en el rango de infección se puede apreciar en todas las escalas, lo que sugiere que la distribución de la infección puede ser fractal. Por una parte, se sugiere que la intensidad de la infección es un fenómeno altamente controlado, determinado por la planta (y/o por el hongo), en respuesta tanto a los flujos de materiales, a través de la interfase planta-hongo, como a algún otro beneficio o costo intercambiable. Por otra parte, es posible ver la variación de infección como un fenómeno aleatorio, resultado de la presión ambiental que determina el crecimiento de las raíces o del hongo, y de la distribución del hongo en espacio y tiempo. Lo anterior implica que hay un estrecho mutualismo y que los beneficios para ambos organismos pueden ser fácilmente demostrados, aunque estos pueden ocurrir más esporádicamente o ser más difusos, y ciertamente más difíciles de detectar (Fitter y Merryweather, 1992).

Los mismos autores sugieren que la naturaleza de beneficios para ambos está bien establecida. El hongo es un simbiote obligado y sólo puede recibir carbono (y posiblemente otros recursos) de la planta. La planta puede recibir una gran cantidad de beneficios, incluyendo el consumo de iones inmóviles y mejorar las relaciones hídricas, probablemente una consecuencia normal del suministro de fósforo, de esto se sostiene que el suministro de fósforo es el más importante. Está bien establecido que la fertilización de plantas con fósforo tiende a reducir la infección, pero es menos claro cómo estas respuestas son cuantitativas (a menor fósforo disponible, mayor infección) o cualitativas. La evidencia para la adquisición de fósforo bajo condiciones cultivadas es abrumadora, pero no puede decirse lo mismo para plantas creciendo en condiciones naturales en campo. Se ha

demostrado que el beneficio en tales condiciones no siempre es exitoso por el hecho de que las tasas de crecimiento de las plantas, en condiciones naturales, son casi siempre limitadas por otros factores que por una deficiencia de fósforo. Se ha medido la absorción de fósforo en un número de especies bajo condiciones naturales y casi siempre tienen una magnitud más baja que aquellas medidas bajo condiciones agrícolas o en maceta. Parece que estos bajos valores del flujo de fósforo pueden ser logrados sin la micorriza de por medio, aunque en la práctica mucho de este consumo puede seguir siendo por vía fúngica en las plantas que son infectadas.

3.9. Factores que afectan el desarrollo micorrízico

Generalmente cualquier tipo o condición en que se encuentre el suelo, que afecte en el crecimiento de la raíz, influye en el desarrollo de la micorriza. Los principales factores que afectan la susceptibilidad de la infección micorrízica en las raíces de los árboles parecen ser el potencial fotosintético y la fertilidad del suelo. Una alta intensidad de luz y una baja, o moderada, fertilidad de suelo aumenta el desarrollo micorrízico, por consiguiente, los extremos contrarios de estas condiciones lo reducen o aún más y hasta lo pueden impedir. La intensidad de luz y fertilidad influyen en cualquier estado de las raíces absorbentes, controlando los niveles de azúcares o la formación de nuevas raíces, los cuales son indispensables para la infección simbiótica. Los factores que afectan directamente a los hongos simbiotes son aquellos que regulan el crecimiento y supervivencia de los propágulos en las raíces. Temperaturas extremas en el suelo, pH, humedad, y la presencia de microorganismos antagónicos pueden afectar la supervivencia de los simbiotes y perjudicar el potencial micorrízico del suelo (Marx, 1976).

En bosques naturales las ectomicorrizas siempre están presentes aún después de la deforestación, aunque la desaparición del huésped conlleva rápidamente la desaparición de los hongos simbióticos que no pueden sobrevivir solos. Las esporas de los hongos, sus órganos de propagación, pueden subsistir en el suelo durante varios años pero después pierden su poder germinativo. Constantemente llegan nuevas esporas a través del viento,

procedentes de zonas boscosas, incluso bastante alejadas. El potencial de infección de las micorrizas, por tanto, nunca es nulo, pero en la mayoría de los casos es bastante bajo en suelos deforestados (Le Tacon, 1985). En sitios donde las asociaciones micorrízicas están ausentes en forma natural los profesionales forestales han reconocido la necesidad de introducirlas inoculando el suelo o sustratos en los viveros (Trappe y Strand, 1969, citado por Sáenz 1986).

3.10. La ectomicorriza y su relación sobre la fisiología de la planta

La micorriza juega un papel importante en la fisiología del árbol incrementando la absorción de minerales. Si bien los árboles pueden crecer exitosamente sin micorriza bajo condiciones seguras, tales como una alta fertilidad del suelo, usualmente crecen mejor con micorriza, de hecho en casi todos los sitios el hongo micorrízico parece ser requerido para la supervivencia del árbol (Kramer y Kozlowski, 1979).

Los árboles con abundante ectomicorriza tienen una mejor actividad fisiológica, así como una mayor área de absorción de agua y nutrientes debido a la extensión vegetativa de hifas dentro del suelo. La ectomicorriza es capaz de acumular nitrógeno, fósforo, potasio y calcio en los mantos fúngicos más rápidamente y por largos periodos de tiempo, que las raíces no micorrizadas, además de solubilizar minerales y descomponer sustancias orgánicas en el suelo, y transmitir los nutrientes al árbol (Marx, 1976).

3.10.1. Efecto sobre la absorción de agua y nutrición de las plantas

La capacidad de la planta para captar los distintos elementos minerales dependerá de las características morfológicas y geométricas del sistema radical, que van a determinar sus posibilidades para explorar el suelo y de las características fisiológicas y bioquímicas, que influyen en la cinética de absorción (Pedraza, 1998).

Las ectomicorrizas son capaces de absorber varias formas nitrogenadas: amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), aminoácidos, y otros nutrientes, y transferirlos a la raíz de la planta a través del micelio externo (Rousseau *et al.*, 1994). Si bien la mayoría de los hongos ectomicorrízicos emplean el nitrógeno amoniacal, muchos de ellos están equipados desde el punto de vista enzimático para absorber y reducir la forma nítrica. La transferencia del nitrógeno de los hongos a la planta hospedera aún está por estudiarse (Le Tacon, 1985). Las hifas micorrízicas tienen la capacidad de extraer nitrógeno del suelo y transportarlo a la planta por el hecho de haber aumentado el área de absorción, así mismo, el hongo micorrízico contiene enzimas capaces de descomponer el nitrógeno orgánico, también contiene la enzima N reductasa para alterar las formas de nitrógeno en el suelo (Allen, 1996).

La importancia del micelio ectomicorrízico en la traslocación de nutrientes a la planta hospedera forma el axioma central, que resalta la importancia de la micorriza en el crecimiento vegetal, enfatizado en muchos estudios micorrízicos, aunque existen pocas evidencias de este proceso. El estudio de la fase micorrízica es complicado por su naturaleza delicada e inaccesibilidad, y hasta ahora existen pocos elementos para las estimaciones cuantitativas del flujo de nutrientes (Finlay, 1992).

3.10.2. Efecto sobre el crecimiento

El crecimiento de las plantas está regulado por el suministro de nutrientes al sistema radical y por el ritmo de absorción de las células de la raíz (Pedraza, 1998). Los efectos del hongo micorrízico en el crecimiento de la planta pueden ser directos e indirectos. Las hifas pueden absorber nutrientes como el fósforo, transportarlos a la planta hospedera y así incrementar directamente la adquisición de nutrientes (George *et al.*, 1991). Algunas vitaminas sintetizadas por la planta estimulan el desarrollo del hongo y son indispensables para la formación de sus órganos de reproducción. En cambio, algunas sustancias de crecimiento sintetizadas por los hongos ectomicorrízicos tienen un efecto directo sobre el crecimiento del sistema radical de la planta hospedera, así como en el crecimiento del tronco, del tallo y hojas (Le Tacon, 1985).

Por otro lado, la colonización del hongo micorrízico en el sistema radical causa cambios morfológicos y fisiológicos en la planta hospedera (George *et al.*, 1991). Los hongos desempeñan un papel indirecto en el crecimiento de la planta, inhibiendo el desarrollo de algunos microorganismos patógenos del suelo. Sin conferir a las plantas una total inmunidad contra las bacterias o los hongos patógenos del suelo, las ectomicorrizas pueden aumentar la resistencia de las plantas mediante varios mecanismos (Le Tacon, 1985), al aumentar el diámetro de las raíces cortas por el manto alrededor de las raíces formado por las hifas e incrementando la bifurcación de las raíces cortas (Rousseau *et al.*, 1994).

3.11. Uso de ectomicorrizas en la restauración de ecosistemas forestales

Los hongos micorrízicos actúan como proveedores y protectores para las plantas, por ejemplo, en el caso de zonas degradadas de zonas mineras y de desechos, el nitrógeno, fósforo, y el potasio son deficientes y pueden incrementarse en la planta por las micorrizas (Norland, 1993). Otros elementos esenciales tales como calcio, magnesio, azufre, fierro, zinc, aluminio, y sodio, se pueden incrementar por la presencia de las micorrizas. Así mismo, altas concentraciones de metales pesados pueden existir en el suelo y ser filtrados hasta niveles tolerables para las plantas (Norland, 1993). El incremento de los niveles hormonales y su acción como barrera contra patógenos es otra acción benéfica de las micorrizas. No únicamente las micorrizas pueden favorecer el crecimiento, sino también proveer resistencia a la sequía y la salinidad (Duvert *et al.*, 1990).

Desde finales de los años setenta, se han realizando estudios referentes al uso de las micorrizas, principalmente en Estados Unidos de Norteamérica, y sus aplicaciones en viveros forestales, plantaciones, recuperación de minas y producción de árboles de navidad. objetivota finalidad de estos estudios ha sido la aplicación práctica del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*, en el manejo de la tierra forestal. En especies de pinos plantados en sitios pobres ha incrementado su crecimiento y supervivencia hasta un 25 % (Cordell *et al.*, 1988).

Pisolithus tinctorius puede ser más benéfico en el establecimiento de árboles en zonas mineras y otras tierras afectadas que otras especies de hongos ectomicorrízicos. La introducción del hongo en los viveros ha mejorado significativamente la calidad de las plántulas en comparación con el estándar de crecimiento en algunas especies de pinos. Se han demostrado incrementos entre 100 y 150 % después de las primeras etapas de crecimiento en *Pinus taeda*, *P. strobus* y *P. virginiana* con la inoculación de *Pisolithus tinctorius* (Marx, 1976).

El uso de *Pisolithus tinctorius* en programas de investigación sobre restauración, en sitios mineros abandonados, muestra una adaptación ecológica a esos sitios adversos. Sin excepción, las plántulas con inoculadas con el hongo desarrollan raíces más rápidamente y esas raíces son rápidamente colonizadas. El crecimiento radical es precedido por una producción prolífica de cuerpos fructíferos en las cercanías de los árboles inoculados (Cordell *et al.*, 1988).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del experimento

El presente estudio se llevó a cabo en invernadero semitecnificado con condiciones ambientales semicontroladas, perteneciente al Área Académica de Ingeniería Forestal de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en el Rancho Universitario en Tulancingo de Bravo, Hgo., durante el periodo 2005-2006.

4.2. Material biológico, siembra de semillas e inoculación de plántulas

Se utilizaron semillas de *Pinus greggii*, colectadas en el ejido “La Hierbabuena” municipio de Zimapán, Hgo., a una altitud de 1780 msnm, sobre las coordenadas 20° 49’ 29” LN y 98° 20’ 29” LW, con una precipitación media anual de 391 mm y una temperatura media de 18.3 °C. La procedencia de la semilla de *P. cembroides* fue de una colecta anual en la comunidad de “Ponthadó” municipio de Meztlán, Hgo., sobre las coordenadas 20° 28’ 01.6” LN y 98° 54’ 22” LW, a una altitud de 2,220 msnm, con una precipitación de 600 mm y una temperatura media de 16 °C. Las semillas de ambas especies fueron colectadas en el año 2005.

El sustrato utilizado para la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas fue el mismo y consistió en una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita en proporción 1:1:1, en volumen, por cada metro cúbico de mezcla se agregaron 5 kg de fertilizante Osmocote® (18: 6: 12), de liberación lenta de 6-9 meses, dosis recomendada en el producto para especies forestales. Se utilizaron envases tipo tubete con capacidad de 130 ml y bolsas de polietileno de 1 litro de capacidad previamente perforadas a 1 cm de la base para facilitar el drenaje. Ambos tipos de envases fueron llenados manualmente con el sustrato.

Previo a la siembra las semillas de ambas especies fueron cubiertas con fungicida en polvo (Captan® M-50). La siembra se realizó a finales del mes de junio, se colocó una semilla por envase a una profundidad de dos veces el tamaño de la semilla aproximadamente, seguido de un riego hasta capacidad de campo. Después de 30 días se aplicó en el riego con una mezcla de fungicida Captan® M-50 en una proporción de 2 g/litro de agua, una vez por semana durante 30 días para evitar la presencia de *Damping off*.

A los cinco meses de edad las plantas fueron inoculadas en su sistema radicular aplicándoles 0.25 ml de una solución concentrada de 1×10^8 esporas por gramo del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*, con el uso de una pipeta graduada. Para preparar la solución inoculante se pesaron 2.1 g del inóculo de esporas liofilizadas y se diluyeron en un litro de solución activadora, suministrada con el producto comercial EctoRIZE® DC.

Todas las plantas fueron cultivadas en el invernadero durante 12 meses, siendo la principal labor de mantenimiento el riego periódico tres veces por semana en promedio. Las plantas producidas en bolsa fueron colocadas sobre un plástico para evitar contacto directo con el suelo y los tratamientos micorrizados y no micorrizados se colocaron separados para prevenir contaminación entre ellos. En tanto, los tubetes fueron colocados en caballetes a 1 m de altura del suelo e igualmente separados los tratamientos micorrizados y no micorrizados.

4.3. Arreglo experimental

Dentro del invernadero las plantas fueron asignadas en secciones separadas e identificadas para evitar confusión. Las plantas se agruparon en micorrizadas y no micorrizadas. Además, se maneja cada especie por separado identificando el tratamiento correspondiente. Los tratamientos resultantes fueron los mostrados en el Cuadro 1. Cada tratamiento consistió de un total de 100 plantas, considerando a cada planta como unidad experimental. El muestreo fue al azar en cada tratamiento para realizar el análisis destructivo y no destructivo.

Cuadro 1. Tratamientos establecidos para evaluar la formación micorrízica con *Pisolithus tinctorius* en plántulas de *Pinus greggii* y *Pinus cembroides*

<i>Pinus cembroides:</i>	<i>Pinus greggii:</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Tubete sin micorriza (100 plantas) • Tubete con micorriza (100 plantas) • Bolsa sin micorriza (100 plantas) • Bolsa con micorriza (100 plantas) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tubete sin micorriza (100 plantas) • Tubete con micorriza (100 plantas) • Bolsa sin micorriza (100 plantas) • Bolsa con micorriza (100 plantas)

4.4. Variables evaluadas

4.4.1. Colonización micorrízica

Para obtener el porcentaje de colonización y comprobar la asociación micorrízica en el sistema radical, se cosecharon al azar tres plántulas por especie, inoculadas y producidas en bolsa, exclusivamente, cada semana durante las 8 semanas posteriores a la inoculación. Las raíces se procesaron de acuerdo a la técnica de aclareo y tinción de Philips y Hayman (1970), que consistió en examinar microscópicamente muestras de raíces teñidas que previamente fueron clareadas con KOH y H₂O₂ al 10 %, y acidificadas con HCl al 10 %. Posteriormente fueron teñidas con azul tripano al 0.05 % en lactoglicerol. El porcentaje de colonización se calculó con base a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Colonización} = \frac{\text{Número de campos observados}}{\text{Número de campos colonizados}} \times 100$$

La cuantificación del grado de colonización se realizó con la colaboración del M.C. David Jaen Contreras del laboratorio de Fruticultura del Colegio de Posgraduados.

4.4.2. Altura y diámetro del tallo

A partir de la inoculación realizada a los cinco meses de edad de los pinos, se evaluaron la altura y diámetro inicial de cada planta por tratamiento. Posteriormente cada mes se realizaron las mediciones de estas variables teniendo un total de 5 muestreos.

La medición de la altura se realizó desde la base del tallo hasta la yema apical de la planta utilizando una regla graduada (cm). El diámetro del tallo se tomó en la base del mismo, al ras del sustrato utilizando un vernier digital marca Mitotoyo con precisión a 0.01 mm.

4.4.3. Peso seco de la parte aérea

Para la determinación de esta variable se cosecharon tres plántulas en forma aleatoria, por tratamiento, se realizaron 5 muestreos de plántulas en las semanas 1, 2, 4, 8 y 29 después de la inoculación. Mediante análisis destructivo se extrajeron las plántulas de los envases separando la planta en dos partes: raíz y tallo. La parte aérea de cada planta se puso en bolsas de papel perforadas y fueron colocadas en una estufa a 70 °C durante 72 horas, después de lo cual se pesaron en una balanza analítica (Sartorius, modelo) para obtener el peso seco (g).

4.4.4. Contenido de N, P y K.

El análisis de N, P y K se realizó de la parte aérea para las dos especies estudiadas, micorrizadas y no micorrizadas, durante la primera, cuarta y octava semanas posteriores a la inoculación. Las plántulas utilizadas para este análisis fueron tomadas de las muestras del análisis de peso seco, correspondientes a cada tratamiento. El contenido de nitrógeno se determinó mediante digestión diácida y por arrastre de vapor (Bremmer, 1965). El fósforo por fotolorimetría por reducción con molibdato-vanadato (Harris y Warren, 1962) y el

contenido de potasio por espectrofotometría de emisión de flama (Alcántara y Sandoval, 1999). El análisis de los tres elementos minerales se realizó en el laboratorio de análisis de suelos de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco México.

4.5. Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, las variables se evaluaron por especie, a las cuales se les realizó el análisis de varianza correspondiente y la prueba de comparación de medias por el método de Tukey con $P \alpha \leq 0.05$. Para lo anterior se utilizó el paquete estadístico SAS® ver. 8.0. Además, se realizó un análisis de regresión y correlación con el programa Sigma Plot® ver. 9.0 para determinar el mejor ajuste de los datos obtenidos del análisis de colonización micorrízica.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Colonización micorrízica

Como se muestra en la Figura 1, para ambas especies, la dinámica de colonización de las raíces de *P. greggii* y *P. cembroides* producidos en bolsa con capacidad de 1 litro tuvo un comportamiento típico de cinética de crecimiento microbiano. La ecuación que representa esta dinámica se muestra en el Cuadro 2, con un comportamiento de tipo sigmoidal. Cabe mencionar que el experimento para observar la evolución del crecimiento de la micorriza se condujo durante ocho semanas, por tanto se lograron identificar únicamente dos fases de la curva de crecimiento: la fase *lag* en la que tiene lugar la germinación de las esporas y comienza la colonización de las raíces por las hifas, y posteriormente se observa la fase de crecimiento exponencial, con un desarrollo intensivo de la infección; no se pudo observar la tercera fase de la curva donde ésta se vuelve asintótica, y la proporción entre raíces micorrizadas y no micorrizadas no varía; sin embargo, en el caso de *P. greggii* los porcentajes cercanos al 100 % indican un punto cercano al de inflexión de la curva. Cabe resaltar que el valor promedio final de micorrización para *P. greggii* fue de 92.30 % y para *P. cembroides* de 62.50 %, lo cual manifiesta una mayor afinidad de la ectomicorriza con *Pinus greggii*.

Algunos autores mencionan el hecho de que el crecimiento de las ectomicorrizas puede ser inhibido o retrasado por altos niveles de fertilización (Marx y Barnett, 1975; Dixon *et al.*, 1981; Torbert *et al.*, 1986; Newton y Pigott, 1991). Sin embargo, en el caso del presente estudio no existió un efecto negativo aparente en la infección de las raíces, a pesar de que se aplicaron 5 Kg de fertilizante por metro cúbico al sustrato utilizado; este dato es importante dado el hecho de que se puede afirmar que la fertilización recomendada para especies forestales no es inhibitoria del crecimiento de *Pisolithus tinctorius* y por tanto las recomendaciones surgidas de este estudio pueden aplicarse sin problema en viveros comerciales.

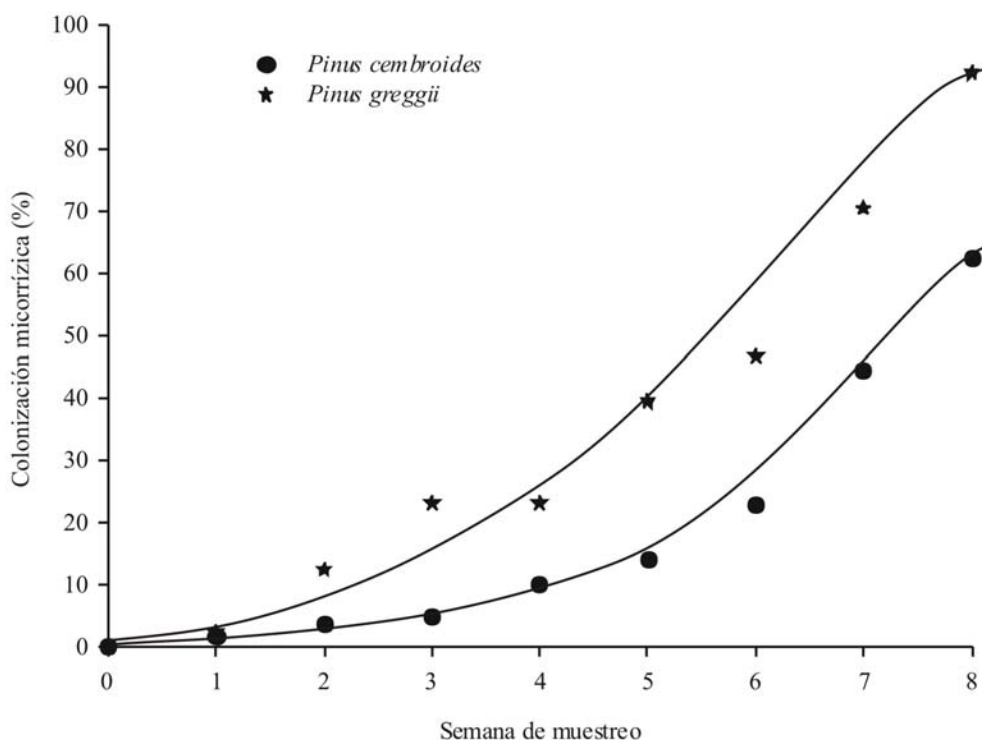


Figura 1. Dinámica del desarrollo de infección ectomicorrizica en plántulas de *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus cembroides* Zucc., inoculados con *Pisolithus tinctorius*, producidos en bolsa en invernadero.

En el Cuadro 2 se muestra la ecuación que representa la relación entre la velocidad de colonización micorrizica (Y) y el tiempo (x); así mismo, el valor del coeficiente de determinación (R^2).

Cuadro 2. Ecuación y valor de R^2 que representan la dinámica de desarrollo de la infección de la ectomicorriza *Pisolithus tinctorius* en *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus cembroides* Zucc., producidos en bolsa.

Especie	Ecuación ^a	R^2
<i>Pinus greggii</i>	$Y = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x-x_0}{b}\right)}}$ $Y = \frac{276}{1 + e^{-\left(\frac{x-9.721}{2.496}\right)}}$	0.9941
<i>Pinus cembroides</i>	$Y = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x-x_0}{b}\right)}}$ $Y = \frac{156.7}{1 + e^{-\left(\frac{x-8.63}{1.62}\right)}}$	0.9917

^a ecuación tipo sigmoide, donde Y representa el porcentaje de colonización, x el tiempo, x_0 y b los parámetros de la ecuación.

Las figuras 2, 3, 4 y 5 muestran imágenes obtenidas con un microscopio compuesto (aumento de 100 x). En las figuras 2 y 3 se observan las raíces sin colonización micorrízica de *Pinus greggii* y *Pinus cembroides* respectivamente, mientras que en las figuras 4 y 5 se muestra el crecimiento típico de la ectomicorriza en las raíces de las dos especies estudiadas.



Figura 2. Fotografía (100 x) de una raíz de *Pinus greggii* Engelm. sin micorrización.



Figura 3. Fotografía (100 x) de una raíz de *Pinus cembroides* Zucc. sin micorrización.

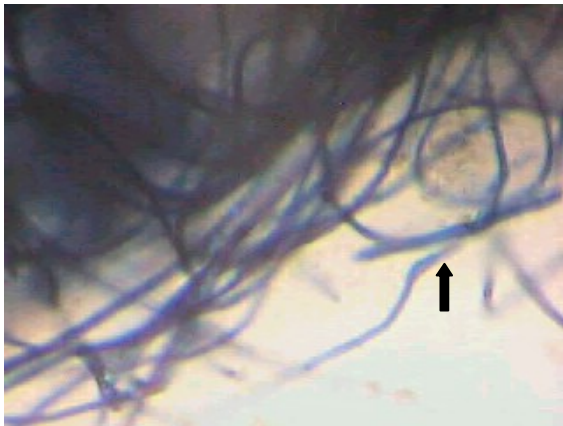


Figura 5. Fotografía (100 x) de una raíz de *Pinus greggii* Engelm., inoculado con *Pisolithus tinctorius*. La flecha indica la formación de hifas.



Figura 4. Fotografía (100 x) de una raíz de *Pinus cembroides* Zucc., inoculado con *Pisolithus tinctorius*. La flecha indica la formación de hifas.

Quiñones (1991), utilizando diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius* encontró el mayor porcentaje de micorrización para *Pinus cembroides* Zucc., a los 20 meses de edad, de 44.6 % con una dosis de 81.7 mg/litro de suelo, porcentaje menor al obtenido en este estudio, lo cual puede deberse a factores como son el tiempo de inoculación, el medio de crecimiento, entre otros, que retrasaron el desarrollo micorrízico, sumado al hecho de que en este estudio se utilizó inóculo producido biotecnológicamente con una alta concentración de esporas. También, como se observa en la Figura 1 la velocidad de crecimiento micorrízico fue mayor ya que a las siete semanas de inoculado se alcanzó lo encontrado por Quiñones.

Bajo condiciones naturales se ha encontrado a *Pisolithus tinctorius* en asociación con especies de los géneros de *Betula*, *Eucalyptus*, *Pinus*, *Quercus*, entre otros. Algunos resultados han mostrado que también puede ser introducido artificialmente en suelos fumigados y formar ectomicorriza en varias especies de pinos, bajo diversas condiciones culturales usadas en invernaderos convencionales (Marx *et al.*, 1976).

Sáenz (1986) en un estudio para conocer el grado de asociación micorrízica formada por *Pisolithus tinctorius* con tres especies de pinos, entre ellas *Pinus greggii* y *Pinus cembroides* de 7.5 meses de edad, encontró la mejor interacción de la concentración de inóculo por especie, para *P. greggii* alcanzando valores de 92, 94, 96 y 100 % de asociación micorrízica al aplicar 10, 20, 30 y 100 cm³ de inóculo de *Pisolithus tinctorius* respectivamente, mientras que *P. cembroides* tuvo poca diferencia entre los niveles, obteniendo 21.4 % en el nivel de 100 cm³ de inóculo aplicado.

Como han señalado otros autores, como Castellano y Molina (1989), la micorrización de otras especies forestales, tanto latifoliadas como coníferas, puede ser diferente en cuanto el grado de infección, identificándose a la fecha las principales relaciones ectomicorrízicas entre hongos-leñosas. Otros estudios mencionan que la micorrización puede verse afectada por la adición de nitrógeno (Alexander y Fairley, 1983), variando la proporción de las micorrizas presentes, tanto en tipos como en abundancia relativa.

5.2. Altura y diámetro de tallo

Los resultados obtenidos para las variables altura y diámetro de tallo se presentan por separado para cada especie estudiada, iniciando el primer muestreo a los cinco meses y terminando a los nueve meses de edad de las plántulas.

Pinus greggii mostró diferencias significativas en su crecimiento en altura al ser cultivado en dos tipos de contenedores. En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos a los 5, 6, 7, 8 y 9 meses de edad, mostrando los valores más altos las plántulas producidas en bolsa e inoculadas con el hongo ectomicorrízico aunque la altura final no presenta diferencias significativas.

La altura para *P. cembroides* (Cuadro 4) sólo reflejó diferencias significativas entre tipo de envase utilizado, destacando las plántulas producidas en bolsa. La micorrización no mostró efectos significativos siendo similares los valores para los ejemplares micorrizados y no micorrizados en tubete, lo mismo que en bolsa, presentando valores ligeramente más altos las plántulas micorrizadas, lo que se atribuye, en parte, a que esta especie presenta en sus primeras etapas de crecimiento, bajos crecimientos en altura.

Cuadro 3. Valores medios de altura (cm) en plántulas de *Pinus greggii* Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	ALTURA (cm)				
	5 ^z	6	7	8	9
Tubete sin micorriza	11.45 c ^y	12.09 c	12.48 c	12.92 c	14.19 b
Tubete con micorriza	11.07 c	11.53 c	11.93 c	12.38 c	13.08 b
Bolsa sin micorriza	15.31 b	18.38 b	19.21 b	23.09 b	29.24 a
Bolsa con micorriza	16.59 a	19.73 a	20.76 a	24.39 a	28.72 a

^z Edad de la planta en meses.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

Cuadro 4. Valores medios de altura (cm) en plántulas de *Pinus cembroides* Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	ALTURA (cm)				
	5 ^z	6	7	8	9
Tubete sin micorriza	7.52 b ^y	7.69 b	8.00 b	8.22 b	8.85 b
Tubete con micorriza	7.42 b	7.88 b	8.17 b	8.35 b	8.96 b
Bolsa sin micorriza	8.18 a	9.56 a	9.91 a	10.59 a	12.75 a
Bolsa con micorriza	8.78 a	9.42 a	9.89 a	10.59 a	12.84 a

^z Edad de la planta en meses.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

En *Pinus greggii* el tratamiento que estimuló el mayor grosor del tallo en cada mes evaluado fue el de bolsa con micorriza (Cuadro 5), con una diferencia mayor de 40 % a los tratamientos en tubete, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos micorrizados y no micorrizados.

Las plántulas de *Pinus cembroides* producidas en tubete son las que mejor mostraron el efecto de la micorrización al presentar los valores más altos respecto a las no micorrizadas (Cuadro 6). Aunque de la misma manera que en la variable altura, el diámetro de tallo presentó diferencias estadísticas únicamente entre tipo de envase en las dos especies estudiadas.

El tamaño de envase es uno de los factores más significativos que afectan el tamaño final de las plantas forestales y en este trabajo se encontró que el crecimiento en altura y diámetro en ambas especies aumenta con el volumen del envase, siendo la bolsa de 1 litro de capacidad la que propició un mayor crecimiento, notándose grandes diferencias desde los primeros 5 meses de edad de las plántulas; sin embargo, como lo mencionó Landis (1990), el mejor contenedor para determinado propósito, dependerá de los objetivos específicos del vivero y del sistema de plantación.

Cuadro 5. Valores medios de diámetro (mm) en plántulas de *Pinus greggii* Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO (mm)				
	5 ^z	6	7	8	9
Tubete sin micorriza	1.86 c ^y	2.42 c	2.53 b	2.94 b	3.15 b
Tubete con micorriza	1.81 c	2.30 c	2.52 b	2.90 b	3.10 b
Bolsa sin micorriza	2.77 b	3.60 b	3.93 a	5.08 a	5.90 a
Bolsa con micorriza	3.14 a	3.79 a	4.09 a	5.21 a	5.98 a

^z Edad de la planta en meses.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

Cuadro 6. Valores medios de diámetro (mm) en plántulas de *Pinus cembroides* Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	DIÁMETRO (mm)				
	5 ^z	6	7	8	9
Tubete sin micorriza	2.45 c ^y	3.05 b	3.23 b	3.64 b	3.91 b
Tubete con micorriza	2.61 bc	3.18 ab	3.33 ab	3.71 b	3.95 b
Bolsa sin micorriza	2.65 b	3.41 a	3.54 a	4.19 a	4.48 a
Bolsa con micorriza	2.85 a	3.22 ab	3.41 ab	4.09 a	4.42 a

^z Edad de la planta en meses.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

Quiñones (1991) no encontró diferencias significativas en el diámetro de tallo de *Pinus cembroides* a los 12 meses bajo diferentes dosis de inóculo con espora de *Pisolithus tinctorius*, obteniendo el valor más alto de 4.6 mm con una dosis de 81.7 mg·litro de suelo, y fue hasta 8 meses después que encontró diferencias significativas respecto al testigo.

Sáenz (1986) probando diferentes niveles de inóculo de *Pisolithus tinctorius* obtuvo los valores más altos en la altura de plántulas de *Pinus greggii* y *Pinus cembroides* a los 7.5 meses de edad de 22.11 y 12.96 cm respectivamente al aplicar 100 cm³ de inóculo, aunque en los otros niveles probados (menores a 100 cm³) no encontró diferencias significativas en *P. greggii* comparadas con el control.

Mohedano (1999) obtuvo los mejores valores en los tratamientos micorrizados en el diámetro de *Pinus cembroides* Zucc., al comparar la intensidad de poda aérea y micorrización, interpretándolo como resultado de la influencia de la simbiosis fúngica, aunque estadísticamente no se manifestaron diferencias significativas entre los valores medios de todos los tratamientos al final de su experimento. Para la variable altura, independientemente de la intensidad de poda aplicada a esta especie, no encontró diferencias significativas entre las micorrizadas y no micorrizadas. Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos en las demás variables evaluadas, como en el caso de área foliar, peso seco radical y longitud de raíz, encontró una buena relación entre la poda y micorrización al observar un mayor incremento en las plántulas inoculadas, atribuyéndolo a la influencia positiva de la simbiosis micorrízica a esta especie para sobreponerse más rápidamente, así mismo obtuvo los mejores resultados en los tratamientos micorrizados para el índice de transpiración, índice de calidad de Dickson y cantidad de carbohidratos en los tejidos.

El mismo autor utilizó suelo rizosférico natural (dentro del cual no identificó la presencia de *Pisolithus tinctorius*) para la inoculación micorrízica, buscando asegurar la adecuada micorrización de las plántulas, como él mismo lo expresó, mostrando un número de estructuras micorrízicas muy superior, y con una tendencia creciente y sostenida en los tratamientos a los cuales les aplicó el suelo rizosférico. Finalmente, concluye que la especie *Pinus cembroides* Zucc., muestra una gran afinidad micorrízica.

En Estados Unidos de Norteamérica, Marx *et al.*, (1977) compararon el rendimiento en campo de plántulas de especies de pinos con ectomicorriza formada por micelio y esporas de *Pisolithus tinctorius*, y ectomicorriza formada por hongos producidos naturalmente en invernaderos (principalmente *Thelephora terrestris*), después de dos años observaron incrementos significativos en el crecimiento y supervivencia de las especies con *Pisolithus tinctorius* sobre las especies con ectomicorriza natural, en donde también encontraron que *P. tinctorius* persistió en las raíces de las plántulas y produjo abundantes basidiocarpos cerca de todas las especies especialmente en los sitios pobres.

El éxito de la micorrización en general en vivero, con árboles de especies coníferas y latifoliadas, ha sido desigual en cuanto al incremento en altura y diámetro de las plántulas. En este sentido Castellano y Molina (1989) han generado una lista tanto de latifoliadas como de coníferas inoculadas específicamente con *Pisolithus tinctorius*, en ella se observa que en la mayoría de los casos no existe un efecto significativo en el crecimiento de las especies estudiadas.

De igual manera, Cuevas (1979) no encontró incrementos en el desarrollo de plántulas de *Pinus montezumae* con respecto al control al inocularlas con *Pisolithus tinctorius* lo que coincide con el presente estudio, como se observa en los cuadros correspondientes a altura y diámetro.

5.3. Peso seco de la parte aérea

El peso seco de la parte aérea representa la cantidad de materia seca que se acumuló durante el crecimiento de la plántula. Thompson (1984) propone una correlación entre el peso seco de la parte aérea y la supervivencia en campo por ser un indicador de la eficiencia fisiológica durante el desarrollo de la plántula.

Los valores de peso seco de la parte aérea se encuentran representados en los Cuadros 7 y 8 para *P. cembroides* y *P. greggii*, respectivamente. Al realizar la prueba de comparación de medias, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos para *Pinus cembroides* en ninguna de las semanas (Cuadro 7).

El peso seco para *Pinus greggii* tuvo diferencias significativas entre tipo de envase, los tratamientos de bolsa fueron los que presentaron los valores más altos, aunque dentro de cada tipo de envase no fueron estadísticamente diferentes (Cuadro 8). Sin embargo, los resultados de las semanas 8 y 29 indican que los tratamientos con micorriza en ambas especies tuvieron mejor respuesta que los tratamientos sin micorriza, lo cual refleja el efecto de la micorrización después de siete meses de crecimiento de la planta. Lo anterior coincide con los resultados encontrados por Quiñones (1991), quien concluye que la

infección micorrízica con *Pisolithus tinctorius* sólo influye estadísticamente en el peso seco, volumen de la parte aérea y en el número de raíces secundarias de *P. greggii* y *P. cembroides* después de 12 meses de edad de los pinos.

En otro experimento para observar el efecto de inoculación con especies seleccionadas de hongos ectomicorrizicos en *Pinus banksiana* (Lamb.) y *Picea mariana* (Mill.), realizado por Marx y colaboradores (1977), se observó que algunos de los hongos, entre ellos *Pisolithus tinctorius*, produjeron altos niveles de colonización mientras que el peso seco del tallo resultó igual, estadísticamente, en las dos especies y aún algunos pesos secos resultaron menores comparados con las plántulas no inoculadas. Con lo cual sugirieron que las diferentes especies de hongos probablemente establecen diferentes demandas de carbohidratos en el árbol hospedero.

Cuadro 7. Valores medios de peso seco de la parte aérea (g/planta) en plántulas de *Pinus cembroides* Zucc., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	Peso seco (g/planta)				
	1 ^z	2	4	8	29
Tubete sin micorriza	.33a ^y	.51a	.53a	.77a	1.14a
Tubete con micorriza	.41a	.51a	.52a	.93a	1.77a
Bolsa sin micorriza	.38a	.64a	.67a	1.12a	1.12a
Bolsa con micorriza	.39a	.57a	.83a	1.40a	1.21a

^z semanas después de la inoculación.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

Cuadro 8. Valores medios de peso seco de la parte aérea (g/planta) en plántulas de *Pinus greggii* Engelm., micorrizadas y no micorrizadas, producidas en dos tipos de envase.

TRATAMIENTOS	Peso seco (g/planta)				
	1 ^z	2	4	8	29
Tubete sin micorriza	.46a ^y	.51c	.59b	.89c	1.63b
Tubete con micorriza	.39a	.75bc	.57b	.97c	2.14b
Bolsa sin micorriza	.77a	2.24a	2.50a	3.87b	10.30a
Bolsa con micorriza	.91a	1.67ab	2.78a	4.85a	11.17a

^z semanas después de la inoculación.

^y Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo a la prueba Tukey con $P \alpha \leq 0.05$

La utilización de inóculo artificial comparado con inóculo natural de *Pisolithus tinctorius* ha incrementado significativamente el crecimiento en altura, diámetro y peso seco total de otras especies de coníferas como *Picea engelmannii* y *Pseudotsuga menziessii*, como lo encontraron France y Cline (1987), no así en diámetro y altura para *Pinus contorta*; sin embargo, el peso seco de esta especie fue 12 % mayor con inoculación artificial, por lo cual recomiendan tener cuidado al seleccionar las fuentes de inóculo micorrízico ya que también influye en el grado de formación micorrízica.

5.4. Contenido de N, P y K

El contenido de N, P y K se evaluó en la primera, cuarta y octava semanas después de inocular con *Pisolithus tinctorius* cada especie, en ambos tipos de envase, con el propósito de observar el estado nutrimental al inicio, a la mitad y al final del experimento.

En las plántulas de *P. greggii* producidas en tubete e inoculadas con *Pisolithus tinctorius* (Figura 6) el contenido de N, P, K, fue mayor en la primera semana de evaluación mientras que en las semanas 4 y 8 disminuyó significativamente, respecto al tratamiento no micorrizado. En el tratamiento en bolsa e inoculado con *Pisolithus tinctorius* (Figura 7) el contenido de N, P, K, fue menor en la primera semana y en las semanas 4 y 8 el contenido de N fue igual; el fósforo siguió con la misma tendencia al encontrarse en menor cantidad y el K aumentó significativamente respecto al tratamiento sin micorriza.

Para *P. cembroides* el tratamiento micorrizado y producido en tubete (Figura 8), el contenido de P y K aumentó en la última semana de evaluación con 3 500 y 6 400 mg Kg⁻¹ respectivamente. En el tratamiento en bolsa y micorrizado (Figura 9) sólo se observaron incrementos significativos en el contenido de K, ya que el contenido de N y P disminuyó significativamente al final del experimento, debido posiblemente al abastecimiento de la micorriza de N y P.

Melin (1917) citado por Iglesias (1986) aseguró que las micorrizas son esenciales en la nutrición de los árboles; concluyó que algunos compuestos nitrogenados pueden ser absorbidos por las hifas de los hongos y trasladados en los tejidos de la raíz. Posteriormente el mismo autor analizó los tejidos de pinos ectomicorrizados encontrando incrementos de un 86 % de nitrógeno, 23 % de fósforo y 65 % de potasio.

Torbert *et al.* (1986) encontraron que la infección micorrízica disminuyó al incrementarse los niveles de N y F, lo que llevó a un aumento del peso seco del tallo en *Pinus taeda*, por lo que precisaron que niveles altos de nutrientes puede ser una desventaja para las plántulas que serán plantadas en ambientes severos, por requerir mayores cantidades de humedad para satisfacer las demandas de mayor biomasa en el follaje. La probabilidad de un establecimiento exitoso se logró incrementando el grado de infección micorrízica en los árboles más pequeños que recibieron bajos niveles nutrimentales. Otros autores como Dixon y colaboradores (1981) han demostrado una correlación negativa entre el contenido de carbohidratos en las raíces y la alta fertilidad en el medio de crecimiento, reduciendo la susceptibilidad de las raíces cortas a micorrizarse a causa de una disminución en la concentración de azúcares.

Bougher *et al.* (1990) encontraron que cuando inocularon plantas de *Eucalyptus urophylla* con *Pisolithus tinctorius*, la aplicación de fósforo no tuvo efectos significativos en la acumulación de biomasa en tanto los niveles de fósforo fueron los adecuados en el suelo, observando un efecto sólo si el suelo era deficiente en este mineral. En el mismo sentido, Daping *et al.* (1994) trabajaron con varias ectomicorrizas y su efecto en cuatro procedencias de *Eucalyptus urophylla*, y observaron que en particular con *Pisolithus tinctorius* las diferencias en cuanto a absorción de fósforo, y la acumulación de materia seca tenían diferente efecto (positivo y negativo), pero en todas ellas las diferencias eran más evidentes en suelos infértiles y menores si eran fertilizadas. Lo anterior coincide con lo encontrado en este trabajo, es decir, bajo buen suministro de nutrientes las diferencias en cuanto a absorción de los mismos, y su tasa de crecimiento es poco significativa.

Los múltiples beneficios de los hongos ectomicorrízicos hacia las plantas han sido manifestados y reportados una vez que las plantas son llevadas a campo, Scagel y Linderman (1998) encontraron que la inoculación con hongos ectomicorrízicos incrementó la concentración de ácido indolacético en las raíces de las plantas transplantadas del vivero al campo, causando de ese modo una proliferación de raíces laterales. Meza *et al.* (2005) reportaron que la inoculación en raíces de plántulas de *Pinus greggii* y *Pinus cembroides* con *Pisolithus tinctorius* en combinación con la aplicación de hidrogel y fertilización aumentó la supervivencia después de un año de plantación en campo.

Aunque los niveles nutrimentales en la parte aérea de las plantas fueron variables en los tratamientos a lo largo del experimento, los contenidos de N, P y K no se encontraron en rangos deficientes o de toxicidad para las plantas, de acuerdo a los estándares de niveles foliares de nutrimentos para especies de coníferas recomendadas por Youngberg (1984). La infección micorrízica tampoco se vio afectada ya que desde la primera semana después de inocular con *Pisolithus tinctorius* se contaba con 1.60 y 2.30 % de colonización en *P. cembroides* y *P. greggii*, respectivamente, y continuó incrementándose hasta la semana 8 como lo mostrado en la figura 5, lo que supone una adecuada fertilización requerida para el crecimiento de las plántulas y el desarrollo ectomicorrízico con *P. tinctorius*.

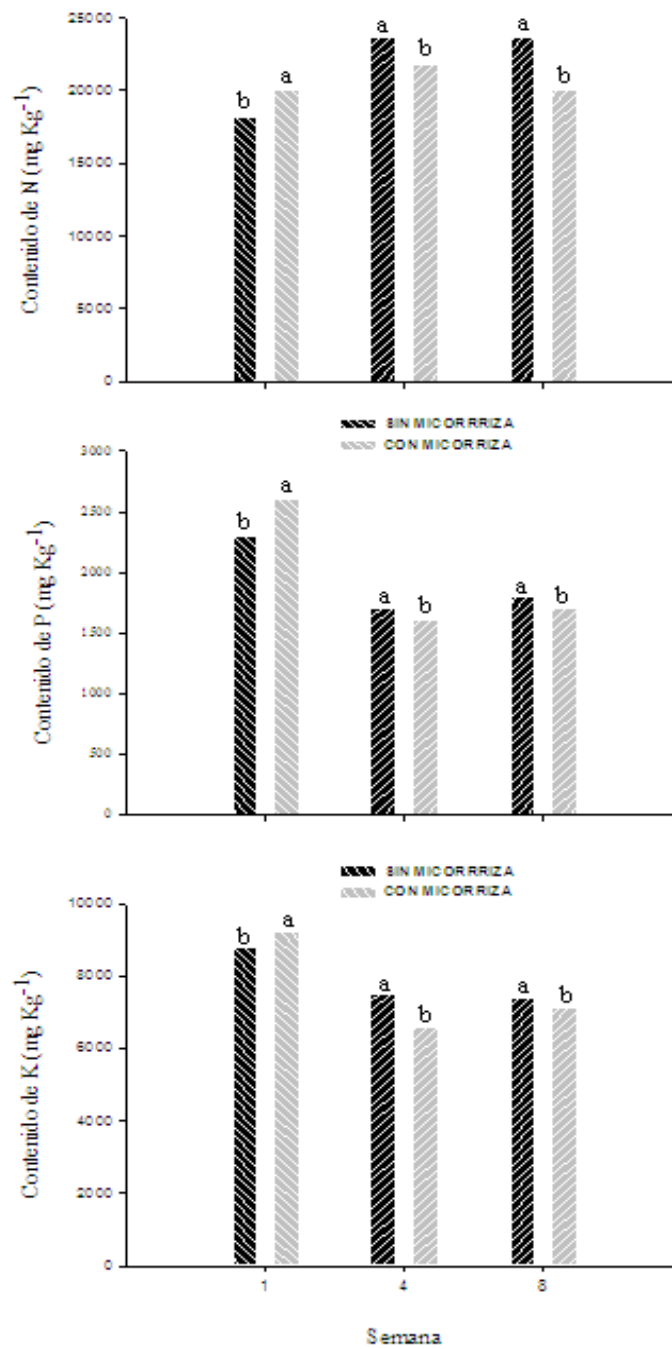


Figura 6. Contenido total (mg Kg^{-1}) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de *Pinus greggii* Engelm. producido en tubete, en respuesta a la inoculación con *Pisolithus tinctorius*.

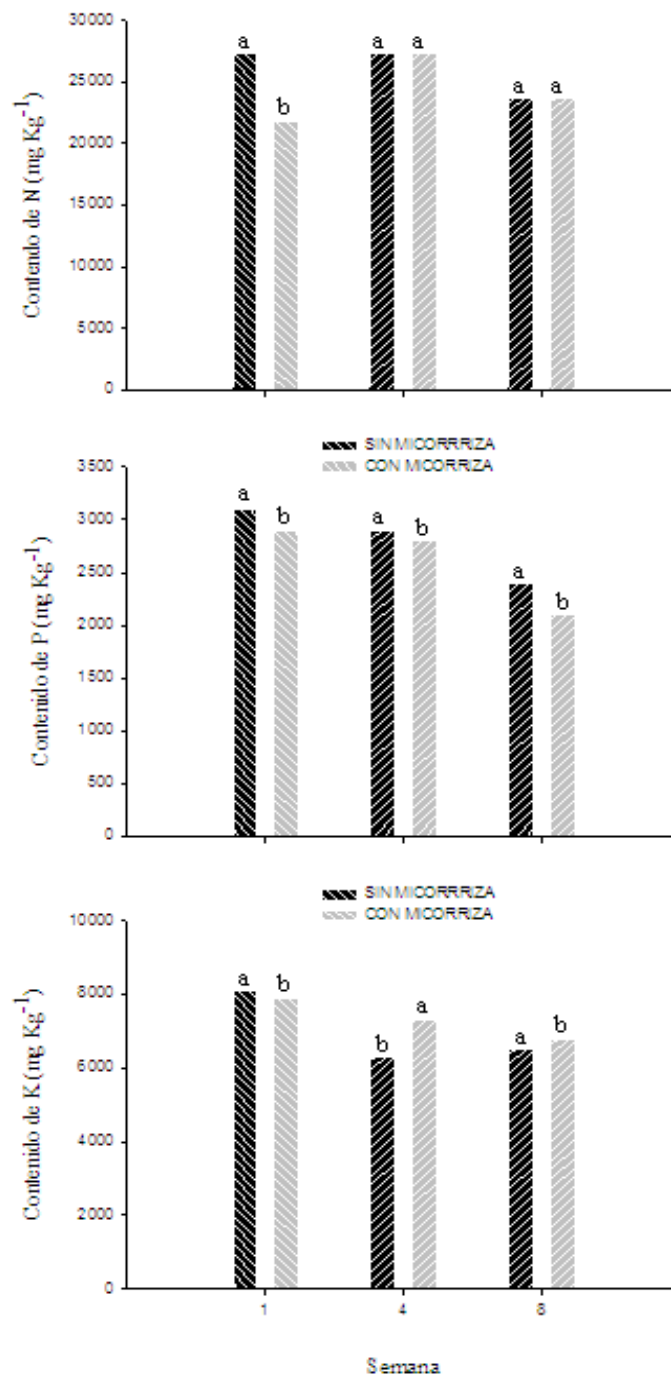


Figura 7. Contenido total (mg Kg⁻¹) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de *Pinus greggii* Engelm. producido en bolsa, en respuesta a la inoculación con *Pisolithus tinctorius*.

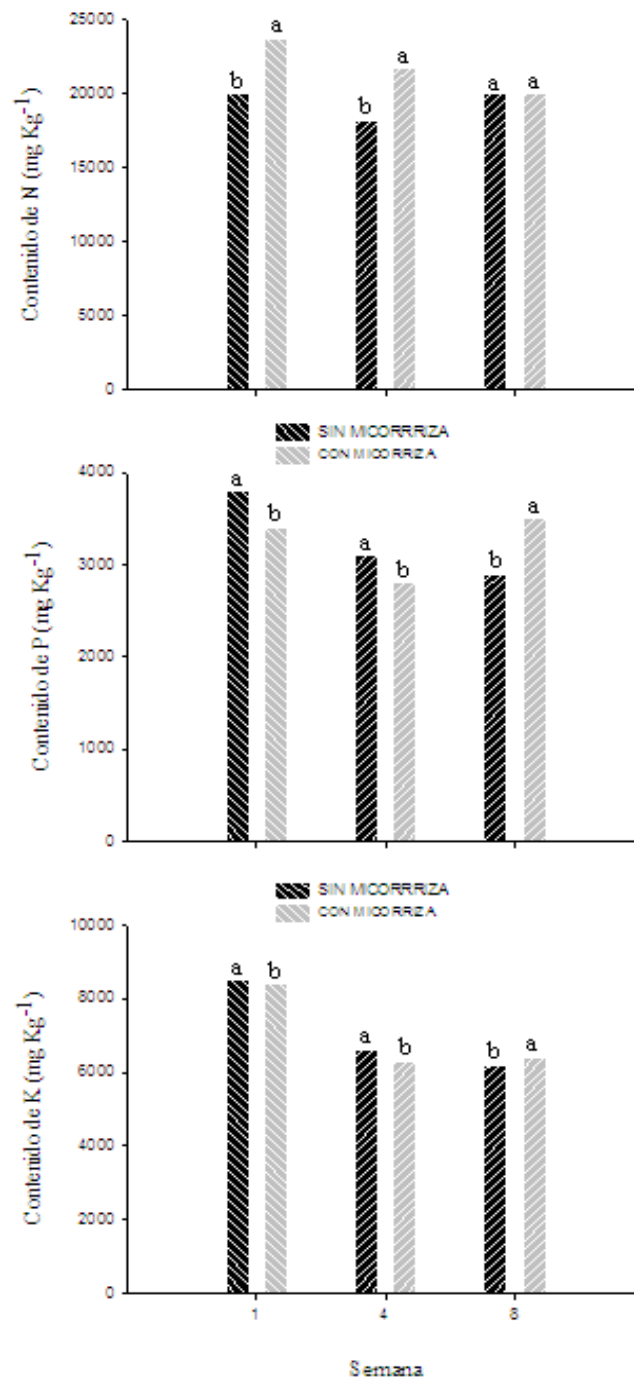


Figura 8. Contenido total (mg Kg⁻¹) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de *Pinus cembroides* Zucc., producido en tubete, en respuesta a la inoculación con *Pisolithus tinctorius*.

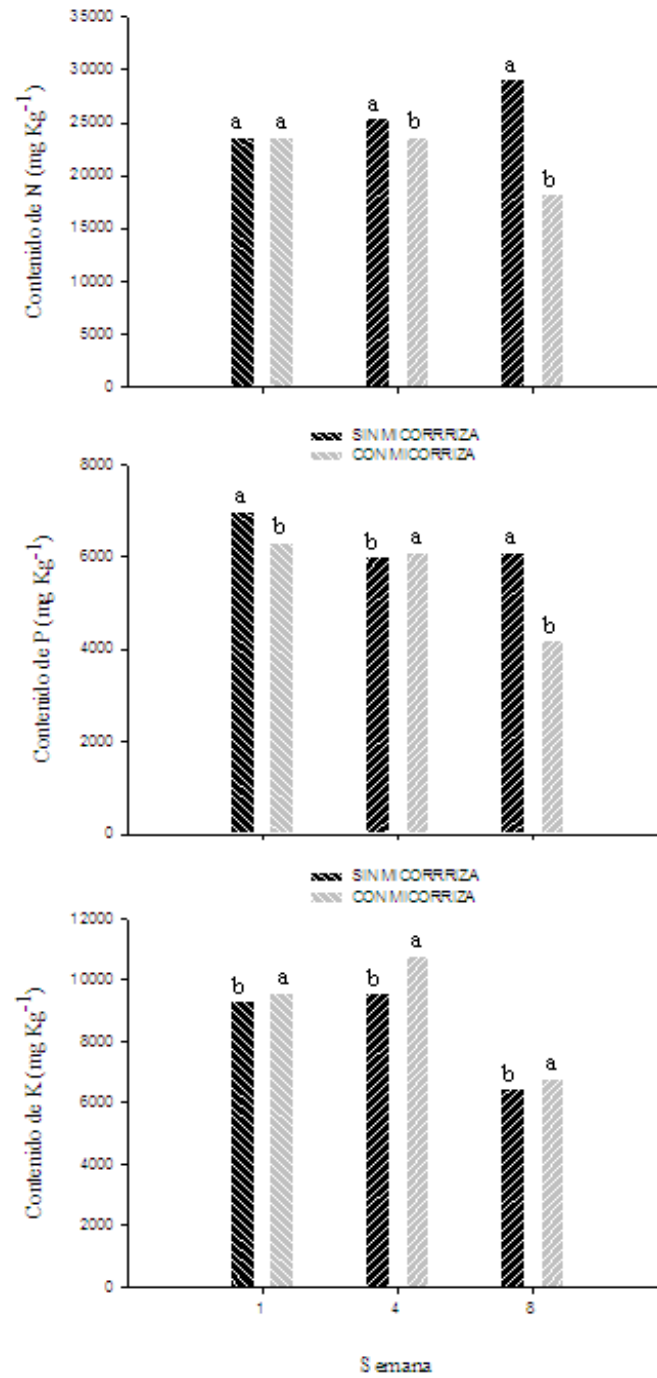


Figura 9. Contenido total (mg Kg⁻¹) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) en la parte aérea de plántulas de *Pinus cembroides* Zucc., producido en bolsa, en respuesta a la inoculación con *Pisolithus tinctorius*.

La calidad de planta en las dos especies de pinos estudiadas en este trabajo no se vio incrementada por efecto de la inoculación con *Pisolithus tinctorius* y en algunas etapas del estudio los resultados se mostraron menores que en los pinos no micorrizados, por ejemplo, en la disminución de fósforo en los tratamientos micorrizados, en bolsa, lo que puede explicarse por razones de tiempo en que se realizó la evaluación, ya que el desarrollo de la colonización fúngica coincidió con el crecimiento inicial de las plántulas, y ambos, fitobionte y micobionte, requerían de nutrimentos necesarios para suplir sus demandas y establecer la simbiosis. Además, como lo expresó Mohedano (1999), el micobionte se sirve también de la asociación de una manera aparentemente parasítica, cuando las condiciones del medio son adecuadas para el crecimiento del hospedero.

Por lo anterior, es preferible llevar la planta micorrizada del vivero al campo para no retrasar el establecimiento micorrízico después del trasplante, y de acuerdo con lo referido por Thompson (1984), y Castellano y Molina (1989), independientemente de cómo la inoculación micorrízica afecte el crecimiento en los viveros, las plantas deben establecerse y crecer una vez que han sido plantadas en campo. La inoculación micorrízica puede no producir crecimiento de las plantas en el vivero, pero pueden proporcionar a éstas una mejor oportunidad para sobrevivir o crecer mejor, una vez que sean plantadas. En los sitios que son extremadamente difíciles de regenerar (aquellos que han sido reforestados en numerosas ocasiones sin buenos resultados), la supervivencia de las plantas es fundamental. La calidad de planta debería tener una asociación micorrízica benéfica para asegurar una máxima probabilidad de supervivencia y crecimiento. Este requerimiento es probablemente más importante cuando las plantas son destinadas a sitios adversos.

6. CONCLUSIONES

Es posible micorrizar *Pinus greggii* y *Pinus cembroides* con inóculo de *Pisolithus tinctorius* producido artificialmente.

La velocidad y grado de colonización de las dos especies de pino difieren con el tiempo con el hongo ectomicorrizico *Pisolithus tinctorius*. *Pinus greggi* presenta mayor afinidad a micorrizarse que *Pinus cembroides*.

Los pinos producidos en envase tipo bolsa de 1 litro de capacidad tienen un mayor crecimiento inicial que los pinos producidos en envase tipo tubete de 130 ml de capacidad.

Pisolithus tinctorius no estimuló el crecimiento en diámetro y altura de la plántulas de *Pinus greggii* y *Pinus cembroides*, pero tampoco se encontró un efecto negativo al compararlas con las plantas no inoculadas.

La dinámica nutrimental de N, P y K siguió un proceso de acuerdo a la tasa de crecimiento de ambas especies.

La aplicación de 5 kg m⁻³ de fertilizante de liberación lenta no inhibió el crecimiento de la ectomicorriza *Pisolithus tinctorius*, por lo que es factible inocular exitosamente bajo condiciones de manejo común en los invernaderos forestales.

7. LITERATURA CITADA

- Alcántar, G.; V. M. Sandoval. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, Texcoco, Edo. de México.
- Alexander, I. J.; R. I. Fairley. 1983. Effects of N fertilization on populations of fine roots and mycorrhizas in spruce humus. *Plant and Soil* 71: 49-53.
- Allen, M. F. 1996. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press. Cambridge, RU. 196 p.
- Azcón-Bieto, J.; M. Talón. 2000. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. 522 p.
- Barea, J. M. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. *Adv. Soil Science* 15(1): 1-40
- Bremner, J. M. 1965. Total nitrogen. *In*: C. A. Black (ed.). *Methods of soil analysis Part 2* *Agonomy* 9: 1149-1178. American Society of Agonomy, Madison, Wisconsin.
- Bougher, N. L.; T. S. Grove; N. Malajczuk. 1990. Growth and phosphorus acquisition of karri (*Eucalyptus diversicolor*) seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply. *New Phytologist* 114:77-85.
- Browning M., H. R.; R. D. Whitney. 1991. Responses of jack pine and black spruce seedlings to inoculation with selected species of ectomycorrhizal fungi. *Can. J. For.* 21: 701-706.
- Calonge, F. D. 1990. *Setas (Hongos): Guía ilustrada*. 2da. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 398 p.
- Cano P., A. 1998. Tamaño y calidad de planta de *Pinus greggii* Engelm., en dos sistemas de producción en vivero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. 81 p.
- Carrera N., A. 2004. Inoculación con hongos ectomicorrizicos en *Pinus patula* Schl et Cham. y *Pinus greggii* Engelm., en invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. pp: 4-37.
- Castellano, M. A.; R. Molina. 1989. Mycorrhizae. *In*: Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett. *The Container Tree Nursery Manual*. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. Forest Service 5: 101-167.

- Chávez O., D. 1987. Efecto de la densidad de población y fertilización química en dos especies de pino cultivadas a raíz desnuda. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. 203 p.
- Cordell, C. E.; L. F.; D. H. Marx. 1988. Mycorrhizal fungi and trees a succesful reforestation alternative for mineland reclamation. *In*: Mumroese, R. K., L. E. Riley and T. D. Landis. National proceedings forest and conservation nursery association-1999, 2000, and 2001. Proceedings RMRS-P-24. Ogden, U.T.:USA. Forest service. Rocky Mountain Research Station: pp: 206-212.
- Cuevas R., R. A. 1979. Prueba de inoculación con el hongo micorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch, en plántulas de *Pinus montezumae* Lamb. en suelos de vivero. *Ciencia Forestal* 4(19): 46-62.
- Cuevas R., R. A. 1995. Viveros forestales. Calidad de planta. Publicación Especial No. 3. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. México. pp: 108-119.
- Daping Xu.; N. Malajczuk; T. S. Grove. 1994. Effects of ectomycorrhiza fungal inoculation on growth and phosphorus uptake of four provenances of *Eucalyptus urophilla*. *In*: Mycorrhizas for plantation forestry in Asia. pp: 91-94
- De la Rosa, A. 1995. Evaluación de dos Fuentes nitrogenadas en embriones de pino piñonero (*Pinus cembroides*) *in vitro*. Tesis profesional, FES-Cuatitlán, UNAM. México. pp: 7-24.
- Dixon, R. K.; H. E. Garrett.; J. A. Bixby.; G. S. Cox; J. G. Tompson. 1981. Growth, ectomycorrhizal development, and root soluble carbohydrates of black oak seedlings fertilized by two methods. *Forest Science* 27: 617-624.
- Duvert, P.; R. Perrin; C. Plenchette. 1990. Soil receptiveness to VA mycorrhizal association: concept and method. *Plant and soil* 124: 1-6.
- Duryea, M. L. 1985. Evaluating Seedling Quality: importance to reforestation. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. Oregon, USA. pp: 1-4.
- Eguiluz P., T. 1978. Ensayo de integración de los conocimientos sobre el género *Pinus* en México. Tesis Profesional. Departamento de Bosques. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, Edo. de México. 614 p.
- Finlay, R. D. 1992. Uptake and translocation of nutrients by ectomycorrhizal fungal mycelia. *In*: Read D. J., D. H. Lewis, A. H. Fitter and I, J. Alexander. 1992. Mycorrhizas in ecosystems. CAB International. USA. pp: 91-97.
- Fitter, A. H.; J. W. Merryweather. 1992. Why are some plants more mycorrhizal than others? An ecological enquiry. *In*: Read D. J., D. H. Lewis, A. H. Fitter and I, J. Alexander. 1992. Mycorrhizas in ecosystems. CAB International. USA. pp: 26-36.

- France, R. C.; M. L. Cline. 1987. Growth response of five rocky mountain conifers to different ectomycorrhizal inocula. *Tree Planters' Notes* 38:18-21.
- George, E.; K. Häussler; S. K. Kothari; X.-L. Li; H. Marschner. 1991. Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants. *In: Read D. J., D. H. Lewis, A. H. Fitter and I, J. Alexander. 1992. Mycorrhizas in ecosystems. CAB International. USA. pp: 42-47.*
- Harris, C. I.; G.F. Warren. 1962. Determination of phosphorus fixation capacity in organic soils. *Soil Science. Soc. Am. Proc.* 26:381.
- Hernández M., M. 2003. Inoculación micorrízica y su efecto en el crecimiento de dos leguminosas arbóreas, establecidas en tres tipos de suelos. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. pp: 11-22.
- Iglesias G., L. 1986. Efecto de fungicidas en la micorrización de pinos con *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. pp: 6-10.
- Kramer, P. J.; T. T. Kozlowski. 1979. *Physiology of woody plants.* Academic Press. USA. 811 p.
- Landis, T. D. 1984. Mineral nutrition as an index of seedling quality. *In: Duryea, M. L (ed.). 1985. Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures, and Predictive Abilities of Major Test. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. Oregon, USA. pp: 29-48.*
- Landis, T. D. 1989. Mineral nutrients and fertilization. *In: Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett. The Container Tree Nursery Manual. Agric. Handbbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. Forest Service 4: 1-67.*
- Landis, T. D. 1990. Containers: types and functions. *In: Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett. The Container Tree Nursery Manual. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service 2: 1-40.*
- Le Tacon, F. 1985. Las micorrizas, una cooperación entre plantas y hongos. *Mundo Científico* 5(49): 776-784.
- López L, M.; M. S. Valencia. 2001. Variación de la densidad relativa de la madera de *Pinus greggii* Engelm. del norte de México. *Madera y Bosques* 7(1): 37-46
- Marschner, H. 1991. Nutrient Dynamics at the Soil-Root Interface (Rizosphere). *In: Read D.J., D. H. Lewis, A. H. Fitter and I, J. Alexander. 1992. Mycorrhizas in ecosystems. CAB International. USA. pp 3-12.*
- Martínez, M. 1992. *Los pinos mexicanos.* 3ra. Ed. Editorial Botas. México. 361 p.

- Marx, D. H. 1976. Use of specific mycorrhizal fungi on tree roots for forestation on disturbed surface areas. *In*: Conf. on forestation of disturbed areas (K. A. Utz, ed.). Birmingham, Alabama, 14-15. USDA. Forest Service. Atlanta, Georgia. pp: 47-65
- Marx, D. H.; J. P. Barnett. 1975. Mycorrhizal and containerized forest seedlings. *In*: Tinus, R. R., W. I. Stein and W. E. Balmer, (eds.). Proceedings North American containerized forest tree seedling symposium. Great Plains Agric. Counc. Publ. 68: 85-92.
- Marx, D. H.; W. C. Bryan; C. E. Cordell. 1976. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soils infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Science* 22:91-100.
- Marx, D. H.; W. C. Bryan; C. E. Cordell. 1977. Survival and growth of Pine seedlings with *Pisolithus* ectomycorrhizae after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. *Forest Science* 23:363-373.
- Meza R., J.; R. Rodríguez L.; M. Ortiz O.; M A. Félix; A. Hernández T. 2005. Manual de uso de coadyuvantes en plantaciones de reforestación. Informe técnico. CONACyT-CONAFOR. México. 48 p.
- Mohedano C., L. 1999. Micorrización y poda aérea en la calidad de planta de *Pinus cembroides* Zucc., producida en vivero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. 98 p.
- Molina R.; H. B. Massicotte; J. M. Trappe. 1992. Ecological role of specificity phenomena in ectomycorrhizal plant communities: potentials for interplant linkages and development. *In*: 1992. Mycorrhizas in ecosystems. CAB International. USA. 106-111.
- Newton A. C.; C. D. Pigott. 1991. Mineral nutrition and mycorrhizal infection of seedling oak and birch. II. The effect of fertilizers on growth, nutrient uptake and ectomycorrhizal infection. *New Phytologist* 117: 45-52.
- Norland, M. 1993. Soil factors affecting mycorrhizal use in surface mine reclamation. Bureau of mines information circular. United States Department of the Interior.
- Pedraza S., M. E. 1998. Uso de hongos endomicorrízicos arbusculares en la aclimatación y desarrollo de plantas ornamentales propagadas *in vitro*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. 181 p.
- Pérez-Moreno, J.; D. J. Read, 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *INCI*. 29(5): 239-247.
- Phillips, J. M.; D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.

- Quiñones Ch., A. 1991 Dosis de esporas en la micorrización de *Pinus cembroides* Zucc., con *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker and Couch. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. pp: 28-48.
- Ramírez-Herrera, C.; J. J. Vargas-Hernández; J. López-Upton. 2005. Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*. Programa Forestal. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. Acta Botanica Mexicana 72: 1-16
- Rousseau J. V. D.; D. M. Sylvia; A. J. Fox. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. Forest Ecology and Management 40: 639-644.
- Rzedowski, J. 1983. Vegetación de México. Ed. LIMUSA, 2ª reimp. México, D.F. 432 p.
- Sáenz, G. J. 1986. Efecto de diferentes niveles de inoculación de *Pisolithus tinctorius* en el desarrollo de *Pinus cembroides*, *Pinus greggii* y *Pinus maximartinezii*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México. 54 p.
- Scagel, C. F.; R. G. Linderman. 1998. Influence of ectomycorrhizal fungal inoculation on growth and root IAA concentrations of transplanted conifers. Tree Physiology 18: 739-747.
- Smith S. E.; D. J. Read 1997. Micorrhizal Symbiosis. 2nd ed. Academic Press. London. 605 p.
- Thompson, B. E. 1984. Seedling morphological evaluation – what can you tell by looking. In: Duryea, M.L (ed.). 1985. Evaluating Seedling Quality: principles, procedures, and predictive abilities of major test. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. Oregon, USA. pp: 59-71.
- Torbert, J. L.; J. A. Burger; R. E. Kreh. 1986. Nutrient concentration effects on *Pisolithus tinctorius* development on containerized loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seedlings. Tree Planters' Notes 37: 17-22.
- Treviño G., J. L. 1981. Influencia del pH del agua de riego en el desarrollo y micorrización de dos especies de pino en invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 131 p.
- Vargas H., J. J.; A. O. Muñoz. 1988. Resistencia a sequía: II. Crecimiento y supervivencia en plántulas de cuatro especies de *Pinus*. Agrociencia 72: 197-208.

Youngberg, C. T. 1984. Soil and tissue analysis: tools for maintaining soil fertility. *In*: Duryea, M. L. and T. D. Landis (eds.). Forest Nursery Manual: Production of bare-root seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Boston. pp: 75-80.

Zavala Ch, F. 1987. Estudio de la primera etapa del desarrollo de conos femeninos de *Pinus cembroides* Zucc. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo. de México. 113 p.