

2178  
MAY 1955

---

---

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**

---

---

**DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS**



**EVALUACION DE LA INDUCCION  
MICORRIZICA EN PINOS DEL BOSQUE  
LA PRIMAVERA**

---

---

**TESIS PROFESIONAL**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**INGENIERO AGRONOMO**  
**P R E S E N T A**  
**ROBERTO ESPARZA SANTANA**  
**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL. MARZO DE 1995.**

---

---

A. 2178



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COM. DE TIT.

DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS

OFI83003/95

SOLICITUD Y DICTAMEN

SOLICITUD

M.C. SALVADOR MENA MUNGUJA.  
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION.  
P R E S E N T E.

Conforme lo indica la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara y su Reglamento, así como lo establece el Reglamento Interno de la Facultad de Agronomía, he reunido los requisitos necesarios para iniciar los trámites de Titulación, por lo cual solicito su autorización para realizar mi TESIS PROFESIONAL, con el tema:

EVALUACION DE LA INDUCCION MICORRIZICA EN PINOS DEL BOSQUE LA PRIMAVERA

ANEXO ORIGINAL Y DOS COPIAS DEL PROYECTO DEL TRABAJO DE TITULACION.

MODALIDAD: Individual (x) Colectiva ( ).

NOMBRE DEL SOLICITANTE: ROBERTO ESPARZA SANTANA CODIGO: 078067071

GRADO:        PASANTE:   x   GENERACION: 78-83 ORIENTACION O CARRERA: FITOTECNIA

Fecha de solicitud: 12 DE DICIEMBRE DE 1994

Presidente del Comité Titulante

DICTAMEN

APROBADO (  ) NO APROBADO ( ) CLAVE: OFI83003/95

DIRECTOR: DR. EDUARDO LOPEZ ALCOCER

ASESOR: BIOL. LAURA GUZMAN DAVALOS ASESOR: ING. GREGORIO NIEVES HERNANDEZ

PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION

AUTORIZACION DE IMPRESION

DR. EDUARDO LOPEZ ALCOCER

DIRECTOR

BIOL. LAURA GUZMAN DAVALOS

ASESOR

ING. GREGORIO NIEVES HERNANDEZ

ASESOR

VO. BO. PDTE. DEL COMITE

FECHA: 11 de enero de 1995

Original: Solicitante. Copia: Comité de Titulación.

man

Agradezco sinceramente al MC. Juan Fco. Casas Salas por su apoyo en el análisis estadístico así como en la interpretación de los resultados de este trabajo.

Agradezco muy especialmente a la MC. Laura Guzmán Davalos por sus observaciones y correcciones tan profesionalmente marcadas en este trabajo.

Agradezco de igual manera al MC. Gregorio Nieves Hernandez por su colaboración en la corrección y revisión.

Al Dr. Eduardo López Alcocer, al Ing. Rafael Canales Santos, al ing. Salvador Gomez Franco y al Ing. José Refugio Duran Avila y a todos aquellos que tuvieron una participación directa o indirecta en la realización de este trabajo

A MIS PADRES:

Cesareo Esparza Santana  
y  
Ma. del Refugio Santana Sandoval

A MIS HIJAS:

Andrea y Natali

A MI ESPOSA:

Susy

A MIS HERMANOS:

Jesús (chuto), Lupe, Cesar, Memo, Arturo, Ernesto,  
Jorge, Lety y Esther.

# I N D I C E

	pag.
INDICE CUADROS Y FIGURAS.....	i
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	5
2.1 GENERALIDADES DE LA MICORRIZA.....	5
2.1.1 Definición .....	6
2.1.2 Tipos de micorriza .....	6
2.1.3 Endomicorrizas .....	7
2.1.4 Ectomicorrizas .....	8
2.1.5 Ectendomicorrizas.....	9
2.2 FISIOLOGIA Y MORFOLOGIA DE LA SIMBIOSIS	
ECTOMICORRIZICA .....	10
2.2.1 Fisiología .....	10
2.2.2 Morfología .....	13
2.3 TIPOS DE INOCULO .....	14
2.3.1 Esporas y esporocarpos .....	15
2.3.2 Suelo .....	16
2.3.3 Cultivos puros .....	17
2.3.4 Plantas micorrizadas .....	18
2.4 IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS EN LA FORESTACION.....	18
2.5 TRABAJOS RELACIONADOS .....	19
2.6 <u>Pisolithus tinctorius</u> .....	21
2.7 LOS HOSPEDEROS USADOS .....	22
2.7.1 <u>Pinus michoacana</u> .....	23
2.7.2 <u>Pinus lumholtzii</u> .....	23

2.7.3	<u>Pinus douglasiana</u> .....	23
2.7.4	<u>Pinus oocarpa</u> .....	24
III.	OBJETIVOS E HIPOTESIS .....	25
3.1	Objetivos .....	25
3.2	Hipótesis .....	25
IV.	MATERIALES Y METODOS.....	26
4.1	EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA. (experimento 1).....	26
4.1.1	Metodología.....	26
4.1.2	Preparación del sustrato y camas.....	27
4.1.3	Inoculación.....	28
4.1.4	Siembra de las semillas.....	28
4.1.5	Evaluación.....	29
4.2	DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA INDUCIR LA MICORRIZACION (experimento 2).....	30
4.2.1	Preparación del almácigo.....	30
4.2.2	El sustrato y llenado de bolsas.....	30
4.2.3	Trasplante e inoculación.....	31
4.2.4	Evaluación.....	31
4.2.5	Tratamientos y diseño experimental.....	31
V.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	33
5.1	EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA (Experimento 1).....	33
5.1.1	Número de raíces micorrizadas .....	34
5.1.2	Longitud de tallo .....	35
5.1.3	Longitud de raíz .....	36
5.1.4	Diámetro de tallo .....	37

5.1.5	Volumen de raíz .....	38
5.1.6	Peso seco de tallo .....	39
5.1.7	Peso seco de raíz .....	40
5.2	DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA INDUCIR LA MICORRIZACION (experimento 2).....	40
5.2.1	Número de raíces micorrizadas.....	42
5.2.2	Longitud de tallo.....	45
5.2.3	Diámetro de tallo.....	47
5.2.4	Volumen de raíz .....	48
5.2.5	Longitud de raíz.....	49
5.2.6	Peso seco de tallo .....	50
5.2.7	Peso seco de raíz.....	52
VI.	CONCLUSIONES.....	53
6.1	EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA (experimento 1).....	53
6.2	DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA INDUCIR LA MICORRIZACION (experimento 2).....	54
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	55
VIII.	APENDICE	

## INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1.	Representación de la distribución de los tratamientos en el experimento 2.....	32
Cuadro 2.	Representación de los valores promedio para cada método en el experimento 1.....	33
Cuadro 3.	Representación de los tratamientos y valores promedio de 15 repeticiones para cada una de las variables evaluadas del experimento 2.....	43

### Figuras del experimento 1:

fig. 1	Valores promedio del número de raíces micorrizadas..	34
fig. 2	Valores promedio de longitud de tallo.....	35
fig. 3	Valores promedio de longitud de raíz.....	36
fig. 4	Valores promedio de diámetro de tallo.....	37
fig. 5	Valores promedio de volumen de raíz.....	38
fig. 6	Valores promedio de peso seco de tallo.....	39
fig. 7	Valores promedio de peso seco de raíz.....	40

### Figuras del experimento 2:

fig. 8	Valores promedio del número de raíces micorrizadas..	44
fig. 9	Valores promedio de longitud de tallo.....	46
fig.10	Valores promedio de diámetro de tallo.....	47
fig.11	Valores promedio de peso seco de tallo.....	49
fig.12	Valores promedio de longitud de raíz.....	50
fig.13	Valores promedio de volumen de raíz.....	51
fig.14	Valores promedio de peso seco de raíz.....	52



## I. INTRODUCCION

La deforestación en los bosques es causa principal de la erosión, que a su vez limita las posibilidades de repoblación natural, ya que las plantulas de los árboles forestales necesitan cierta capa de suelo para poder enraizar y subsistir. La explotación forestal inadecuada, sobre todo la clandestina, así como los desmontes para fines agrícolas, ganaderos y habitacionales constituyen factores que restan superficie a los bosques y modifican su composición. El pastoreo, sin embargo, y el uso tradicional del fuego como instrumento de manejo de los pastos, quizá ejercen en la actualidad mayor influencia negativa sobre los pinares, que la suma de todos los demás elementos de disturbio (Rzedowski, 1978). Los hongos micorrízicos favorecen la sobrevivencia de las plántulas, especialmente cuando éstas crecen bajo estrés en suelos con condiciones climáticas y edáficas adversas. Inducir la micorrización en plántulas de árboles forestales en los invernaderos aumenta a éstas las posibilidades de sobrevivencia cuando sean trasladados al lugar definitivo, sobre todo si se consideran combinaciones específicas hongo-hospedero según lo recomiendan Castellano y Trappe (1985), para zonas con estrés ambiental.

En el desarrollo evolutivo, los hongos micorrízicos y sus hospederos ha creado una interdependencia que los conserva intactos tanto tiempo como los factores ambientales internos y externos lo permitan (Hacskaylo, 1969).

La gran mayoría de las plantas vasculares tienen una

dependencia sobre las micorrizas, como la parte metabólicamente más activa de su sistema radical y la mayoría de las plantas herbáceas necesitan las micorrizas para prosperar (Trappe y Fogel, 1977). Las ectomicorrizas son indispensables para que se completen los ciclos de vida y sobrevivencia de los organismos asociados en la ectotrofia (Hacsckaylo, 1969). De las diferentes relaciones simbióticas entre los organismos del suelo y las raíces de las plantas, las micorrizas son las más prevalecientes (Fortin, 1983).

A pesar de su biomasa relativamente pequeña los hongos micorrízicos son vitales para la extracción y acumulación de iones del suelo y traslocación al hospedero debido a su alta capacidad metabólica y a su distribución estratégicamente esparcida entre las capas superiores del suelo (Trappe y Fogel, 1977). Sin embargo, el pH del suelo tiene un profundo efecto sobre el establecimiento de las micorrizas, ya que como una medida de balance de la actividad química ácida y básica en un suelo, el pH indica limitaciones para la disponibilidad de nutrimentos, el patrón de absorción de nutrimentos y el intercambio en la zona radical, tanto para hongos micorrízicos, saprófitos, como para patógenos del suelo (Cordell *et al.*, 1987), Dennis (1985) observó que el crecimiento de los hongos fue afectado por una variación del pH de 2 a 10 en cuarenta especies observadas, encontrando que el óptimo es de 4 a 7.

Por otro lado, los micobiontes producen enzimas, auxinas, vitaminas, citoquininas y otros compuestos que incrementan el

tamaño de las raicillas y su longevidad; además protegen a las raíces de patógenos y absorben y traslocan agua al hospedero (Trappe y Fogel, 1977), Frankenberger Jr. y Poth. (1987) detectaron y aislaron el ácido indol acético (IAA) como un metabolito secundario de *Pisolithus tinctorius* Pers. Coker & Couch, por su parte las raíces del hospedero también exudan sustancias que estimulan el crecimiento de los hongos micorrizicos asociados (Fortin, et al., 1980).

Además de los hongos micorrizicos, existen en el suelo muchos otros organismos que afectan el desarrollo de las plantas de varias maneras, tanto positiva como negativamente; fijando nitrógeno, compitiendo por nutrimentos pero mejorando el grado de mineralización, descomponiendo los minerales, uniendo agregados y liberando un complejo de hormonas, aleloquímicos y quelatos (Perry y Amaranthus, 1988).

Los suelos que han sufrido talas tienen un potencial micorrizico significativamente menor, que aquéllos que se encuentran sin disturbios y este potencial se reduce todavía más en suelos que han sido talados y quemados (Parke et al., 1984). Al respecto Mejstrik en 1987 citado por Mejstrik (1989), encontró que las paredes de las células de la corteza de raíces sanas contenían calcio, pero este estaba ausente en las células del mismo tipo en árboles dañados; estableció así que esta ausencia de calcio en la corteza podría interferir con el transporte de agua en la planta.

Los bosques de pino se desarrollan con frecuencia en suelos

deficientes en varios componentes minerales (Aguilera *et al.* en 1962, citados por Rzedowski, 1978), y es probable que las micorrizas jueguen un papel significativo en la sobrevivencia y en el potencial competitivo de estos bosques. Aunque las micorrizas en México se han estudiado muy poco, su importancia se deduce por la abundancia en los bosques de hongos que se conocen como formadores de esta asociación simbiótica (Rzedowski, 1978).

Por lo anterior, y con el objeto de determinar la efectividad de micorrización en plántulas de vivero se llevaron a cabo dos experimentos. En uno se compararon dos métodos de inducción micorrízica bajo las mismas condiciones, y en el otro, se trabajó con cuatro especies de pinos nativos del bosque La Primavera con cuatro diferentes dosis de esporas, con el objeto de determinar la cantidad mínima necesaria para la inducción micorrízica.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 GENERALIDADES DE LA MICORRIZA

La rizósfera y los organismos de la superficie de las raíces, por su posición y actividad alteran, por incremento, reducción o cambio de forma, la disponibilidad de nutrimentos para su hospedero así como la disponibilidad de nutrimentos del hospedero hacia las raíces y hacia los organismos de la rizósfera. Además por competencia o antibiosis los organismos de la superficie de las raíces pueden reducir la incidencia de enfermedades o, de otra manera, aumentarlas o causarlas. Entre estas poblaciones de organismos están presentes ciertas especies de hongos bastante consistentes sobre la superficie de las raíces o en los tejidos o células de las raíces de plantas, estas son las micorrizas y conforman un número de tipos comunes alrededor del mundo (Harley, 1989). Por su parte, Brown y Mikola (1974) observaron que muchos líquenes, en particular *Cladonia alpestris*, ejercen un efecto dañino e inhibitorio sobre el crecimiento de plántulas de pino, debido muy probablemente a la liberación de sustancias tóxicas, las cuales afectan adversamente la simbiosis micorrízica de los árboles; mencionaron además que muchos hongos saprofiticos y parasiticos del suelo, también se ven afectados por los líquenes.

### 2.1.1 Definición

La palabra micorriza significa hongo-raíz y comprende una asociación íntima entre las raíces de las plantas y hongos especializados del suelo (Molina y Trappe, 1984).

Por su parte Harley (1989) define la micorriza como una simbiosis mutualista, en la que un hongo y su hospedero coexisten fisiológica, ecológica y reproductivamente en estado activo por largos periodos.

Casi todas las plantas de la tierra forman algún tipo de micorriza con hongos especializados del suelo, aproximadamente el 90% de las especies vegetales pertenecen a familias cuyos miembros son considerados como formadores de micorrizas (Perry y Amaranthus, 1988).

### 2.1.2 Tipos de micorriza

Existen básicamente dos grupos de hongos formadores de micorriza: los que forman ectomicorrizas (EM) llamados así porque presentan una modificación externa obvia de la morfología y el color de la raíz, y los que forman la llamada micorriza "vesículo-arbúscular" (VAM) o endomicorrizas, en los que el nombre viene de las estructuras producidas por el hongo dentro de las células (Hacskeylo, 1969; Perry y Amaranthus, 1988).

Para los viveros forestales las más importantes son las ectomicorrizas ya que todos los miembros de la Familia Pinaceae (*Picea*, *Abies*, *Larix*, *Pinus*, *Pseudotsuga* y *Tsuga*) forman ectomicorrizas, además de algunos miembros de las familias Fagaceae (*Fagus* y *Quercus*) y Betulaceae (*Betula* y *Alnus*) así como *Arbutus* (Ericaceae) y *Tilia* (Tiliaceae), la mayoría de las demás plantas terrestres forman endomicorrizas. Por otra parte, *Eucaliptus*, *Salix* y *Populus* están entre los géneros que forman tanto ecto como endomicorrizas (Hacsckaylo, 1969; Molina y Trappe, 1984; Perry y Amaranthus, 1988).

### 2.1.3 Endomicorrizas

Las endomicorrizas, también llamadas vesículo arbuscular (VA) o micorrizas endotróficas son el tipo de simbiosis más ampliamente distribuido, ya que son muy pocas las especies de plantas que no se asocian con hongos endomicorrizicos (Ferrera-Cerrato, 1989). Las endomicorrizas no son observables a simple vista porque no producen un cambio morfológico en la raíz del hospedero, por lo que se deben teñir y observar al microscopio para determinar su presencia y estructura; de esta manera se pueden apreciar sus ramificaciones y sus características vesículas y arbusculos, por los cuales lleva su nombre.

Las vesículas son órganos de almacén que contienen

carbohidratos y también sirven como estructuras reproductivas; los arbusculos son estructuras intracelulares finamente ramificadas, las cuales toman parte en el intercambio de nutrimentos (Molina y Trappe, 1984; Brown y King, 1982; Perry y Amaranthus, 1988). Los arbusculos se considera que son las estructuras primarias relacionadas con la transferencia bidireccional de nutrimentos entre el hongo simbiote y el hospedero (Brown y King, 1982).

#### 2.1.4 Ectomicorrizas

Una ectomicorriza se define como una asociación hongo-raíz, en la cual el hongo crece como un manto sobre la superficie de la raíz, y penetra la corteza intercelularmente, para producir una red conocida como red de Hartig (Wilcox, 1984).

El prefijo ecto- significa que los micobiontes de este tipo de asociación se encuentran fuera de la célula (Ferrera-Cerrato, 1977).

Las ectomicorrizas se diferencian por tres importantes eventos que dan lugar a estructuras características: 1) la colonización fúngica o envoltura de la raíces alimenticias cortas (manto fúngico); 2) penetración intercelular del hongo entre las células corticales (red de Hartig); 3) diferenciación morfológica de las raíces alimenticias colonizadas, las cuales son estimuladas a ramificarse. Esta última característica, unida a



las frecuentes conexiones miceliarias con el suelo, dan lugar a una actividad altamente absorbente del hongo, el cual coloniza grandes volúmenes de suelo, así, el mayor beneficio hacia el hospedero es el incremento de extracción de agua y nutrimentos, particularmente de iones inmóviles como los fosfatos (Molina y Trappe, 1982-a).

Las ectomicorrizas están bien adaptadas a la absorción de fosfatos y compuestos de amonio de suelos con alto contenido fenólico en donde los nitratos son deficientes. La facilidad de la cubierta fúngica para almacenar nutrimentos y carbohidratos en épocas de abundancia, adapta a este tipo de micorriza para prosperar en climas estacionales que alternan frío y calor, o sequía y humedad (Harley, 1989).

#### 2.1.5 Ectendomicorrizas

En algunas otras formas de infección ectomicorrízica, además de la red de Hartig, ocurren infecciones intracelulares persistentes en las células corticales, y los órganos compuestos son llamados ectendomicorrizas. A pesar de la relativa simplicidad de sus estructuras básicas, las ectendomicorrizas presentan una amplia gama de formas, colores y tamaños, dependiendo de la especie hospedera y hongo (Wilcox, 1971). Las ectendomicorrizas son un subtipo de ectomicorrizas, ya que el manto que éstas forman es delgado y translúcido, las raíces

alimenticias reflejan el color marrón de las células de soporte de la epidérmis. (Molina y Trappe, 1984).

## 2.2 FISILOGIA Y MORFOLOGIA DE LA SIMBIOSIS ECTOMICORRIZICA

### 2.2.1 Fisiología.

En los procesos que las plantas llevan a cabo en la rizosfera utilizan el 80% o más del carbono fijado en la fotosíntesis, dependiendo del medio ambiente. Una parte de este se utiliza en el crecimiento de las raíces, pero la mayor proporción puede ser usada para alimentar a los hongos micorrízicos y otros organismos, esta no es pérdida de energía por la planta, por el contrario los organismos que viven en la rizosfera (la zona de influencia de la raíz) mejoran el crecimiento de la planta a través de los efectos sobre el ciclo de los nutrientes, los patógenos, la aireación del suelo y las características de retención de agua y nutrientes (Perry y Amaranthus, 1988). Bajo condiciones favorables los hongos ectomicorrízicos se extienden rápidamente de un lugar en una raíz a otro, pero puede haber un periodo crítico para el establecimiento de ectomicorrizas, antes que comience el estrés ambiental y el cese del crecimiento de la raíz debido a cambios estacionales (Parke *et al.*, 1984). Las hifas de los hongos ectomicorrízicos se dispersan penetrando entre las

células de la epidermis y es posible que se nutran del material intercelular. A esta dispersión, en la cual el hongo forma un manto compacto alrededor de la superficie, se le conoce como red de Hartig (Molina y Trappe, 1984; Ferrera-Cerrato, 1989).

Nylund y Unestman (1982) observaron que el crecimiento fúngico alrededor y a lo largo de las raíces precede a la infección, esto es, que la envoltura hifal tiene que desarrollarse antes que comience la penetración intercelular.

Una vez que el hongo alcanza la raíz forma una envoltura densa sobre ésta, las hifas originadas en esta envoltura penetran por todas partes de la raíz excepto por el meristemo apical y por la zona de diferenciación. Al momento de la penetración no se observan cambios morfológicos en las células o tejidos del hospedero. Esta penetración de las hifas se lleva a cabo sin la formación de apresorios o estructuras similares, la hifa simplemente presiona entre la lámina media cortical, después de haber penetrado la capa de células muertas de la superficie de la raíz; el proceso es de carácter predominantemente mecánico; la hifa que es casi angular o acuñada, se expande en el tejido del hospedero separando las células de éste y creando espacios para mayor expansión; después de haber penetrado dos o tres células hacia dentro de la raíz la hifa empieza a ramificarse profusamente en el tejido creciendo desde el sitio de invasión en una forma laberíntica en todas direcciones hasta detenerse en la endodérmis o en el tejido de diferenciación cerca del ápice de la

raíz. Este crecimiento se extiende a la superficie de la raíz, la cual se cubre primero con una capa y luego con varias de tejido laberíntico, formando un verdadero manto. Los procesos de formación micorrízica son controlados principalmente por el hospedero, atrayendo al hongo, suprimiendo las enzimas líticas, induciendo cambios morfológicos y estableciendo límites al crecimiento del hongo (Nylund y Unestam, 1982).

Aunque la extracción de nutrimentos es afectada por el pH del suelo, como lo demostró Rygiewicz *et al.* (1984), en un trabajo sobre los efectos de la micorriza y el pH de la solución para determinar los niveles de extracción de nitrógeno por plántulas de cuatro especies de coníferas. Aunque solamente una especie (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) mostró significancia, es evidente que el valor del pH fue importante para el mejor aprovechamiento de dicho nutrimento.

Algunos hongos ectomicorrízicos tienen la habilidad de utilizar péptidos y proteínas como fuente de nitrógeno, por lo que la capacidad proteolítica de un hongo ectomicorrízico podría ser de importancia determinante en la distribución de espacio y tiempo (Abuzinadah y Read, 1986).

La translocación del fósforo ocurre a través de los filamentos miceliarios a distancias de hasta 40 cm; el fósforo en forma de fosfatos es acumulado en las raíces micorrizadas y subsecuentemente transportado al tallo de la planta por la red miceliar. Brownlee *et al.* en 1983, citado por Finlay y Read (1986), han sugerido que el movimiento de agua y de iones

disueltos de los micelios ectomicorrízicos hacia la planta, puede darse por una ruta apoplástica a través de los vasos de las hifas.

### 2.2.2 Morfología

Después del contacto entre el micelio del hongo y un primordio de la raíz de una planta, ocurren las manifestaciones morfológicas por la formación de ectomicorrizas, lo cual se da dentro de los cinco días siguientes; las células epidérmicas se tornan necróticas y dentro de los primeros 8 a 9 días después de la inoculación, el ápice de la micorriza comienza a ramificarse dicotómicamente (Fortin et al., 1980). Marx y Bryan (1970) encontraron que el hospedero ejerce una influencia sobre el color y morfología de las ectomicorrizas.

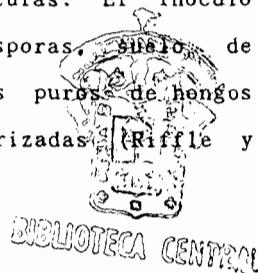
Por otra parte, Zak (1971) mencionó que hongos de la misma especie, que tienen esporocarpos similares debido a diferencias fisiológicas, pueden producir micorrizas completamente distintas con raíces de la misma especie de árbol.

Las ectomicorrizas formadas por *Pisolithus tinctorius* Pers. Coker & Couch, van de un color amarillo a naranja ocre, superficie lisa y lustrosa cuando jóvenes. Sin micelio ni rizomorfos adheridos en forma aparente. Generalmente con ramificaciones cerradas, racimosas y cortas. Con un grosor del manto fúngico de 13.25 micras, generalmente compacto, la red de

Hartig tiene un grosor promedio de 4.25 micras y su penetración es completa (López-Olivares y Fierros-González, 1990).

### 2.3 TIPOS DE INOCULO

El éxito en la inoculación de plántulas depende de la densidad del inóculo usado, del momento de la inoculación, de la colocación del inóculo en el medio de crecimiento, del número de hospederos y hongos que interactúen y del tipo y edad del inóculo usado. Un inóculo eficiente debe ser capaz de establecer rápidamente la relación simbiótica con la planta, estimular el crecimiento de la misma y competir con los micobiontes naturales (Bowen en 1978, citado por McAffe y Fortin, 1988). Ho (1987) observó que las cepas del hongo ectomicorrízico *Laccaria laccata* (*Scop ex Fr.*) Berk. & Br., provenientes de viveros forestales, diferían fuertemente en varias características de aquellas otras de la misma especie provenientes de suelos forestales naturales. Hay tres momentos en que puede usarse el inóculo micorrízico: 1) antes de la siembra de la semilla; 2) al momento de la siembra; 3) después de la emergencia de las plántulas. El inóculo micorrízico consiste en esporocarpos, esporas, <sup>suelo</sup> de plantaciones naturales establecidas, cultivos puros de hongos ectomicorrízicos y plantas y raíces micorrizadas (Riffle y Maronek, 1984).



### 2.3.1 Esporas y esporocarpos

Esporas y esporocarpos de varios hongos han sido usados como inóculo para formar ectomicorrizas específicas sobre plántulas de árboles (Marx y Kenney, 1984). Theodorou en 1971, citado por Theodorou y Bowen (1973), demostró que la inoculación de semillas de Pinus radiata D. Don con basidiosporas frescas de Rhizopogon luteolus Fr. & Nordh, es una manera fácil de introducir hongos micorrízicos a suelos estériles y no estériles, y además observó que a mayor concentración de inóculo mayor incremento de infección y que la respuesta de crecimiento de la plántula está relacionada con la intensidad de infección.

Los esporocarpos enteros o partidos son secados antes de ser usados, éstos son esencialmente el inóculo de esporas, después de que la matriz vegetativa del esporocarpo es eliminada por desecación o por descomposición cuando se adiciona al suelo. El uso de esporas como inóculo tiene ventajas y desventajas, la mayor ventaja es que las esporas no requieren fases extendidas de crecimiento bajo condiciones asépticas, como el inóculo vegetativo. Otra ventaja es que las esporas son muy livianas; un gramo de basidiosporas de *Rhizopogon luteolus* o de *Pisolithus tinctorius* contiene alrededor de un billón de propágulos potencialmente infectivos, esto representa suficientes basidiosporas si se toma en cuenta que un miligramo es suficiente para inocular una semilla o plántula. Otra ventaja de las esporas, al menos para ciertos hongos, es su capacidad para

sobrevivir al almacenaje de una estación a otra. Una de las mayores desventajas de las esporas como inóculo es la falta de pruebas estandar de laboratorio para determinar su viabilidad (Marx y Kenney, 1984).

Una cantidad de esporas adecuada para una correcta infección es de  $3 \times 10^3$  esporas por semilla, aunque se puede lograr mayor infección con niveles más altos de inóculo (Theodorou y Bowen, 1973).

### 2.3.2 Suelo

La fuente de suelo para la inoculación es una determinante crítica para el conjunto de beneficios hacia la planta, esto es cuando el inóculo usado es suelo extraído de lugares donde existen plantas micorrizadas, el suelo inóculo debe provenir de la zona de raíces de plantas sanas, las cuales se supone han de contener los organismos similares de la rizosfera; se tendrá mayor efectividad cuando el suelo colectado sea de la vecindad de plántulas de la misma especie (Perry y Amaranthus, 1988).

El suelo inóculo puede contener una variedad de especies de hongos que formen ectomicorrizas sobre la planta hospedera, pero parece ser que hay más de una respuesta natural que un efecto directo por cualquier especie en la mezcla. Los hongos micorrízicos aislados no son tan capaces de estimular al hospedero, como cuando ellos son parte de la mezcla de suelo;



probablemente por la influencia desconocida de los hongos no micorrízicos que existen en la rizósfera natural (Vozzo, 1971). La fungación o aplicación de fungicidas a los suelos de viveros pueden afectar fuertemente el desarrollo de hongos ectomicorrízicos, como lo demostró Marx *et al.* (1986) en un experimento donde encontró que el Triadimefon inhibe el desarrollo de *Pisolithus tinctorius* significativamente, así como la producción de basidiocarpos de este hongo.

### 2.3.3 Cultivos puros

El uso de cultivos puros debe considerarse como uno de los mejores métodos de inoculación (Ferrera-Cerrato, 1977). Las raíces de los árboles ectomicorrizados soportan un gran número de hongos simbioses, pero sólo unos pocos han sido cultivados y usados como inóculo vegetativo. El uso de este tipo de inóculo ofrece la oportunidad de seleccionar hongos probados altamente benéficos, los cuales están bien adaptados a las plantas de un sitio particular (Riffle y Maronek, 1984).

Con esto es posible escoger el mejor simbionte y buscar en él propiedades colaterales, como producción de antibióticos, resistencia a las condiciones ambientales y probar su capacidad de dispersarse y crecer en el suelo; otra ventaja es evitar el acarreo de patógenos radicales, que lógicamente se introducen cuando se usa suelo como inóculo (Ferrera-Cerrato, 1977).

#### 2.3.4 Plantas micorrizadas

Este método es usado en Indonesia y es llamado método indonesio; las plantas micorrizadas, llamadas también árboles madre, son plantadas en intervalos de 1 a 2 m entre las camas de los viveros. Los años siguientes se plantan alrededor de ellas plántulas de 6 a 8 semanas de edad, y así por esta vía, las plántulas adquieren la infección (Ferrera-Cerrato, 1977, 1987; Marx y Keney, 1984).

Este método se usa también en Francia en la producción de trufas (*Tuber melanosporum*) Ferrera-Cerrato, 1977; Marx y Keney, 1984).

#### 2.4 IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS EN LA FORESTACION

Cada especie tiene propiedades únicas de adaptación para condiciones particulares y aquellas especies que pueden formar más de un tipo de micorriza están amplimente adaptadas (Harley, 1989).

Los árboles ectomicorrizicos deben estar acompañados por su hongo micorrizico para sobrevivir cuando sean plantados en áreas donde éstos hongos no existan. Las ectomicorrizas son el resultado de una simbiosis propia de los árboles forestales y la dependencia que las plántulas de éstos tienen sobre los hongos ectomicorrizicos para soportar las condiciones ambientales

durante sus primeras etapas de crecimiento, demuestra la gran importancia de esta asociación (Molina y Trappe, 1982-a).

Otro aspecto de la importancia de las ectomicorrizas en la forestación, es que los hongos ectomicorrízicos además de estimular el crecimiento, le dan a la planta una gran protección contra patógenos (Sinclair *et al.*, 1982). También los reguladores del crecimiento encontrados e identificados en raíces y sus exudados, conocidos como hormonas del crecimiento vegetativo, influyen en el crecimiento de los hongos micorrízicos y su efecto está en relación a su concentración (Gogala, 1987). Pero la mayor importancia de las ectomicorrizas en la forestación es el incremento en la extracción de agua y nutrimentos, particularmente iones inmóviles como fosfatos (Molina y Trappe, 1982-a).

## 2.5 TRABAJOS RELACIONADOS

Norman y Otta (1981) encontraron que las plántulas de *Pinus ponderosa* Laws. cuyo sistema radical fué producido en suelo de vivero que contenía *Pisolithus tinctorius*, sobrevivieron mejor que aquéllas producidas en vivero donde sólo había hongos micorrízicos nativos. Marx y Bryan (1975) demostraron que *P. tinctorius* puede ser introducido artificialmente a suelos fumigados, ya que compite exitosamente con otras especies de hongos ectomicorrízicos, además desarrolla ectomicorrizas

prolificamente a temperaturas del suelo de 19 a 47°C y debido a esta prolífica formación de micorrizas, incrementa el crecimiento de las plantas más que otros hongos simbioses.

Usando vermiculita, caolin, arena y agua como medios de inoculación, Marx (1976) encontró que los más efectivos en la infestación con basidiosporas de *P. tinctorius* fueron la vermiculita y el caolin y que el crecimiento de las plantas está directamente relacionado con el grado de desarrollo ectomicorrízico, observando además que las esporas de este hongo funcionan con efectividad bajo una variedad de condiciones y poseen una gran viabilidad, ya que fueron usadas después de 34 meses de almacenamiento a 5° C sin tratamiento previo.

Con el propósito de introducir *P. tinctorius* a suelos de vivero y usando micelio vegetativo y basidiosporas como inóculo, Marx et al. (1976) observaron que ambos tipos de inóculo desarrollan micorrización efectiva.

Al evaluar en laboratorio 6 cepas de *P. tinctorius* colectadas en diferentes localidades y sobre diferentes hospederos, Molina (1979) observó marcadas diferencias morfológicas y en el crecimiento radial del hongo. En la micorrización también encontró diferencias significativas en casi todas las cepas, así como en el porcentaje de raíces alimenticias colonizadas, lo que demuestra que la edad de las cepas, su origen (hospedero asociado) y su aislamiento para síntesis de micorrizas, pueden influenciar significativamente en su habilidad para formar micorrizas sobre ciertos hospederos.

## 2.6 *P. tinctorius*

Ya que el caracter fisiológico de un hongo en particular rige el efecto de la infección micorrízica sobre el hospedero, el mayor objetivo en taxonomía es clasificar los organismos sistemáticamente para descubrir sus verdaderas afinidades naturales.

El hongo ectomicorrízico *P. tinctorius* (Pers.) Coker & Couch. pertenece a la clase Basidiomycetes; orden Sclerodermatales; familia Pisolithaceae (Trappe, 1962).

Se distingue por una serie de cámaras (peridiolos), los cuales maduran apicalmente dentro de un cuerpo fructífero, que va de una forma oval a agregada, con olor fétido ( Miller, Jr., 1984)

Según Marx y Bryan (1975), *P. tinctorius* ha sido encontrado en diversas especies de árboles, 25 especies o variedades de *Pinus*, 3 especies de *Betula*, 2 de *Eucaliptus*, 2 de *Populus* y 6 de *Quercus*. Schramm en 1966, Lampky y Peterson en 1963, Meyer en 1968, Hile y Hennen en 1969, Marx en 1977 y Medve *et al.* en 1977 citados por Marx *et al.* (1982), observaron esporóforos y ectomicorrizas formadas por *P. tinctorius* sobre raíces de varias especies de árboles creciendo sobre desechos de minas de carbón y caolín y otros sitios diversos. Estos sitios se caracterizan por tener altas temperaturas del suelo durante el verano, acidés extrema, sequías fuertes, baja fertilidad o altos niveles de metales tóxicos. Las ectomicorrizas que este hongo forma son de color amarillo brillante, cambiando con la edad a un color café

dorado, el manto superficial es algo tomentoso con abundantes redes y filamentos hifales (Molina y Trappe, 1982-b). En condiciones de laboratorio este hongo fue capaz de crecer de 40 a 42°C y creció más rápidamente de 28 a 30°C (Marx *et al.*, 1970). Otros hongos ectomicorrízicos probados tienen una tolerancia a la temperatura mucho más baja, así como la óptima. Puede ser fácilmente propagado en laboratorio sobre una variedad de medios sólidos o líquidos. El color de sus hifas facilita la detección y valoración cuantitativa de ectomicorrizas sobre las raíces de las plántulas y produce abundantes filamentos en cultivos puros y en las raíces de plantas. Por sus características puede ser una herramienta biológica para aumentar la sobrevivencia y crecimiento de los pinos en sitios pobres y degradados (Marx *et al.*, 1982).

## 2.7 LOS HOSPEDEROS USADOS

Aunque hay algunas especies en México que crecen a menos de 200 msnm, como es el caso de *Pinus caribea* var. *hondurensis* Barrett & Golfari, única especie registrada para Quintana Roo (Eguiluz-Piedra, 1988), las alturas promedio en que los pinos vegetan se encuentran entre los 1800 a 4000 msnm (Martínez, 1948).

Los hospederos usados en este trabajo son algunas de las especies de pinos que se encuentran en el Estado de Jalisco y

cuya ubicación geográfica y distribución natural, según Eguiluz-Piedra (1988), es la siguiente:

2.7.1 *Pinus michoacana* var. *cornuta* Martínez

PRECIPITACION ANUAL: 650-1600 mm

TEMPERATURA ANUAL: -8 a 45<sup>o</sup>C media de 18<sup>o</sup>C

ALTITUD: 1350 - 2600 msnm

LATITUD NORTE: 16<sup>o</sup> 50' - 23<sup>o</sup>35'

LONGITUD OESTE: 93<sup>o</sup> 40' - 103<sup>o</sup>55'

Se encuentra en los estados de Chiapas, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Zacatecas.

2.7.2 *Pinus lumholtzii* Rob. & Fern.

PRECIPITACION ANUAL: 342 - 1071 mm

TEMPERATURA ANUAL: -23 a 40<sup>o</sup> C media de 16<sup>o</sup>C

ALTITUD: 1600 - 2300 msnm

LATITUD NORTE: 19<sup>o</sup> 35' - 28<sup>o</sup>20'

LONGITUD OESTE: 102<sup>o</sup>30' - 108<sup>o</sup>00'

Se encuentra en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, Sinaloa, Sonora, Nayarit y Zacatecas.

2.7.3 *Pinus douglasiana* Martínez

PRECIPITACION ANUAL: 700 a 1600 mm

TEMPERATURA ANUAL: -2 a 44<sup>o</sup> C

ALTITUD: 1400 a 2500 msnm

LONGITUD NORTE: 16° 30' a 28° 10'.

LONGITUD OESTE: 96° 40' a 108° 05'.

Se encuentra en los estados de Chiapas, Chihuahua, Durango, Guerrero, Jalisco, México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca y Sinaloa.

#### 2.7.4 *Pinus oocarpa* Schiede

PRECIPITACION ANUAL: 650 - 2600 mm

TEMPERATURA ANUAL: 0 a 45° C media de 19° C

ALTITUD 200 - 2400 msnm

LATITUD NORTE: 15° 00' - 28° 10'

LONGITUD OESTE: 92° 00' - 108° 50'

Se encuentra en los estados de Chiapas, Chihuahua, Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelia y Nayarit.



### III. OBJETIVOS E HIPOTESIS

#### 3.1 Objetivos

1. Evaluar y comparar dos métodos de inoculación micorrízica sobre plantulas de pino de la especie *Pinus douglasiana* usando como inóculo el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*.
2. Evaluar la dosis mínima de esporas de *Pisolithus tinctorius* sobre el desarrollo de cuatro especies de pinos nativos del bosque La Primavera.

#### 3.2 Hipotesis

1. La efectividad de la micorrización en *Pinus douglasiana* inducida mediante el método de esporas de *Pisolithus tinctorius* es mejor a aquélla inducida mediante plantas previamente inoculadas con el mismo hongo, y que crecen en la misma área (plantas madre).
2. La inducción de la micorrización en pinos, por medio de diferentes dosis de inóculo de esporas de *Pisolithus tinctorius*, es mayor en aquéllos tratamientos que hayan recibido la mayor dosis.

#### IV. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo consistió en dos experimentos, el primero enfocado a determinar el mejor método de inducción micorrízica para la producción de árboles forestales en viveros, mediante la inducción de la micorrización por el método de "planta madre" y por el método de esporas como inóculo. El segundo experimento fue enfocado a determinar la dosis mínima de esporas, necesaria para inducir la micorrización en cuatro especies forestales nativas del bosque La Primavera. Ambos experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones e invernadero del Laboratorio Bosque la Primavera de la Universidad de Guadalajara.

#### 4.1 EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA

(experimento 1)

##### 4.1.1 Metodología

Para la evaluación de los métodos de la inducción micorrízica se utilizó la especie Pinus douglasiana Mart. como organismo hospedero y como huésped, el hongo ectomicorrízico Pisolithus tinctorius (Pers.) Coker & Couch., ambos provenientes del bosque La Primavera. Para el caso del hongo se colectaron sólo los cuerpos fructíferos sanos, jóvenes y cerrados de los

cuales se extrajo las esporas (basidiosporas).

El método por esporas, consistió en la inducción de la micorrización mediante la adición de esporas al sustrato, sobre el cual se depositaron las semillas previamente desinfectadas.

El método por planta madre, consistió en la inducción de la micorrización mediante plantas previamente micorrizadas, alrededor de las cuales se sembraron las semillas previamente desinfectadas.

#### 4.1.2 Preparación del sustrato y camas

Se utilizó una cama del vivero de 1 metro de ancho x 10 metros de largo y 50 cm de profundidad, sobre la cual se depositó la mezcla de sustrato preparado con suelo agrícola 50%, materia orgánica 25% y arena 25%. El sustrato y la cama fueron cubiertos con polietileno y fumigados con 375 g de bromuro de metilo; el plástico fue retirado dos días después de la fumigación. La cama fué dividida en dos, utilizando para esto un material plástico, con el fin de evitar el cruce del hongo de un lugar a otro de la cama y obtener así dos camas de 1m x 5m cada una, para ser utilizadas una en cada método.

#### 4.1.3 Inoculación

Después de tres días de la fumigación se adicionó a la cama correspondiente, la cantidad de esporas adecuada para obtener una dosis de 5 mg por plántula, mezclándolas con el sustrato. A su vez, se colocaron en la otra cama las "plantas madre" distanciadas 50 cm una de otra, las cuales se inocularon con el mismo hongo, adicionando al sustrato de siembra inóculo vegetativo.

#### 4.1.4 Siembra de las semillas

Las semillas utilizadas, fueron obtenidas mediante colectas realizadas en el bosque La Primavera. Una vez preparadas las camas, se procedió a la siembra de las semillas. Estas fueron previamente desinfectadas superficialmente con una solución de peróxido de hidrógeno al 30% durante 30 minutos, como lo recomiendan Parke *et al.* (1983) y Haug (1989), y depositadas a una distancia de 15 cm entre ellas, a una profundidad de 1.5 cm. Las camas se cubrieron a lo largo con plástico transparente, formando un "microtunel", aislando así el experimento del resto del vivero y evitando al mismo tiempo la entrada de otros organismos.

#### 4.1.5 Evaluación

La evaluación de la micorrización se llevó a cabo cuando las plántulas alcanzaron los ocho meses de edad, en el laboratorio con la ayuda del microscopio estereoscópico, contando el número de raíces micorrizadas de cada tres raíces elegidas al azar, y promediando los valores de quince repeticiones para cada tratamiento. Se evaluaron además las variables: longitud de tallo, tomando ésta desde la base del tallo hasta la punta del follaje; longitud de raíz, tomando como dato la raíz principal; diámetro de tallo, se tomó con la ayuda de un vernier, tomando como base la zona de división raíz-tallo; volumen de raíz, utilizando un matraz volumétrico por desplazamiento de líquido, peso seco de tallo y peso seco de raíz, para la evaluación de estas dos variables se utilizó la estufa de secado por 36 hrs. a 70 °C, después de lo cual se pesó en balanza granataria.

El método estadístico de evaluación utilizado en este trabajo fue el de datos apareados, en el cual se hace una comparación de medias entre los tratamientos. Este método consiste básicamente en el estadístico t de Student:

$$t = \frac{D}{ETD}$$

Donde D es la diferencia de las medias y ETD el error típico de la diferencia.



BIBLIOTECA CENTRAL

## 4.2 DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA INDUCIR LA MICORRIZACION EN PINOS. (Experimento No.2).

### 4.2.1 Preparacion del almacigo

Se preparó una mezcla de suelo agrícola 50%, materia orgánica 25% y karlita 25%, la cual fué desinfectada a 18 lb/pulgada cuadrada, durante tres horas y utilizada en el llenado de las charolas de germinación de 50 x 30 cm, con compartimientos de 24 cm<sup>3</sup> c/u, y las cuales fueron previamente desinfectadas con hipocloritio de sodio. Las semillas de *Pinus douglasiana*, (obtenidas del bosque La Primavera), se desinfectaron superficialmente con una solución de peróxido de hidrógeno al 30% (Parke *et al.*, 1983 y Haug, 1989), después de lo cual fueron depositadas una a una en los compartimientos y colocadas bajo condiciones de invernadero, manteniendo la humedad constante hasta su germinación, lo cual ocurrió entre los 10 y 12 días después de la siembra.

### 4.2.2 El sustrato y llenado de bolsas

El sustrato se preparó con una mezcla de suelo agrícola 50 %, arena 25 % y materia orgánica 25 %, la cual fue desinfectada con 400 g de bromuro de metilo, cubriéndola con plástico durante

2 días, después de los cuales se procedió al llenado de las bolsas de polietileno negro, con capacidad de 450 cm<sup>3</sup> y las cuales se llenaron al 90 %.

#### 4.2.3 Trasplante e inoculación

El trasplante se realizó cuando las plantas tenían 3 meses de edad, haciendo un pequeño hoyo en el suelo de cada bolsa con un espeque de madera para introducir en éste la raíz de la plántula y así evitar maltratarla, depositando previamente en este mismo hoyo, la cantidad de esporas correspondiente para cada tratamiento (punto 4.2.5).

#### 4.2.4 Evaluación

La evaluación se efectuó a los ocho meses de la germinación de las plantas, y se utilizó el mismo procedimiento que en el punto 4.1.5. Las variables evaluadas fueron las mismas que en el experimento 1 (punto 5.1).

#### 4.2.5 Tratamientos y diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar en arreglo factorial 4 x 4 (dosis x especies), para lo cual se

estableció un experimento en el que se compararon 16 tratamientos (Cuadro 1), con 15 repeticiones por tratamiento para obtener un total de 240 unidades experimentales.

CUADRO 1. REPRESENTACION DE LA DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS EN EL EXPERIMENTO 2.

		ESPECIES DE PINOS				
		Pm	Pl	Pd	Po	
D O S I P S O R A D S E	E	0 mg	Pm 0	Pl 0	Pd 0	Po 0
	S	5 mg	Pm 5	Pl 5	Pd 5	Po 5
	O	10 mg	Pm 10	Pl 10	Pd 10	Po 10
	A	15 mg	Pm 15	pl 15	Pd 15	Po 15

Nomenclatura: Pm: Pinus michoacana  
 Pl: Pinus lumholtzii  
 Pd: Pinus douglasiana  
 Po: Pinus oocarpa



## V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA  
(experimento 1)

Las variables evaluadas y sus promedios se encuentran en el cuadro 2, que además muestra los valores encontrados para  $t$ .

CUADRO 2. REPRESENTACION DE LOS VALORES PROMEDIO DE 25 REPETICIONES ENCONTRADOS PARA CADA METODO EN CADA UNA DE LAS VARIABLES EVALUADAS

variables	método por esporas	método por planta madre	valor de $t$
(NRM)	8.88	12.2	3.35 **
(LT)	30.42	28.06	1.22 NS
(LR)	29.36	24.82	2.23 *
(DT)	4.82	2.82	3.12 **
(VR)	2.10	1.28	2.57 *
(PST)	3.15	1.49	3.49 **
(PSR)	0.43	0.28	2.63 *

(NRM) Número de raíces micorrizadas

(LT) Longitud de tallo (cm)

(LR) Longitud de raíz (cm)

(DT) Diámetro de tallo (cm)

(VR) Volumen de raíz (cm<sup>3</sup>)

(PST) Peso seco de tallo (g)

(PSR) Peso seco de raíz (g)

\* Significativo al 5%

\*\* Significativo al 1%

NS No significativo

### 5.1.1 Número de raíces micorrizadas

Con el método de inducción por planta madre, se obtuvo una micorrización promedio de 12.2 raíces micorrizadas. Como se muestra en el cuadro 2 este método fue superior al método de inducción por esporas, donde el valor promedio fue de 8.88 raíces micorrizadas y una diferencia entre ambos métodos estadísticamente significativa (Fig.1).

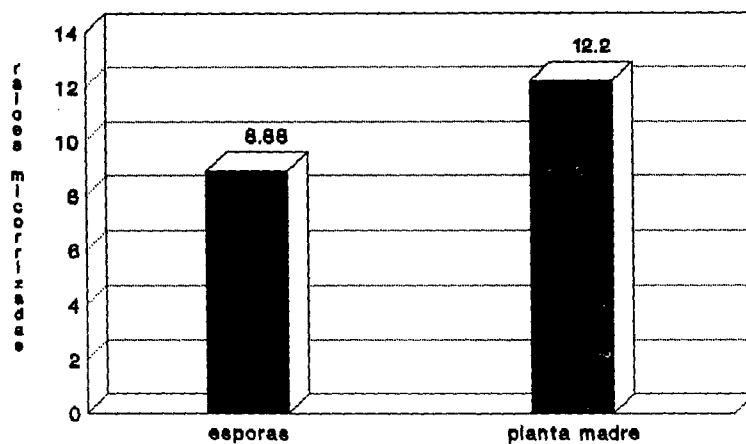


Fig. 1. Valores promedio del número de raíces micorrizadas de acuerdo a los métodos de inducción usados

### 5.1.2 Longitud de tallo

El valor promedio registrado en el método de inducción por esporas para la longitud de tallo fue 30.42 cm, mientras que en el método por planta madre se registró un valor promedio de 28.06 cm, esta diferencia de 2.36 cm en favor del método por esporas, no es estadísticamente significativa (Fig.2).

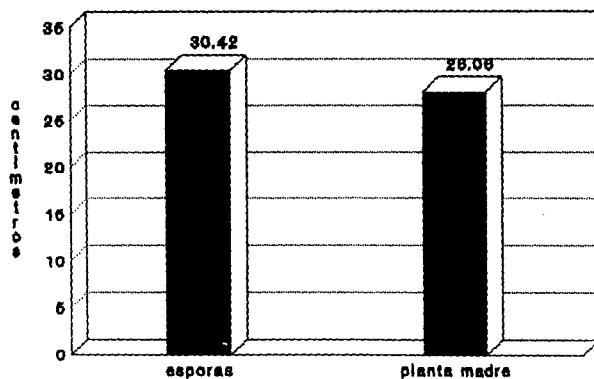


Fig. 2. Valores promedio de longitud de tallo de acuerdo a los dos métodos de inducción usados

### 5.1.3 Longitud de raíz

En la variable longitud de raíz, la diferencia entre los valores promedio encontrados en los dos métodos de inducción micorrizica, favorece al método de inducción por esporas, con un valor promedio de 29.36 cm, contra 24.82 cm registrados en el método de inducción por planta madre (Fig.3). Esta diferencia de 4.54 cm en la longitud de raíz es estadísticamente significativa.

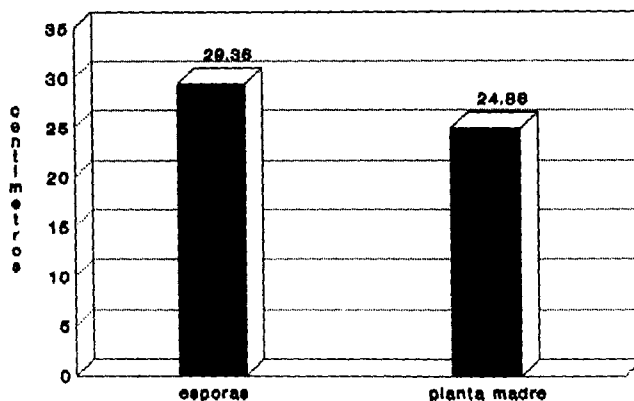


Fig.3. Valores promedio de longitud de raíz de acuerdo a los dos métodos de inducción usados

#### 5.1.4 Diámetro de tallo

En los métodos de inducción de la micorrización por esporas y por planta madre para la variable diámetro de tallo, los valores promedio encontrados fueron respectivamente 4.82 cm y 2.82 cm, con una diferencia de 2.04 cm a favor del método por esporas, que estadísticamente es significativa (Fig.4).

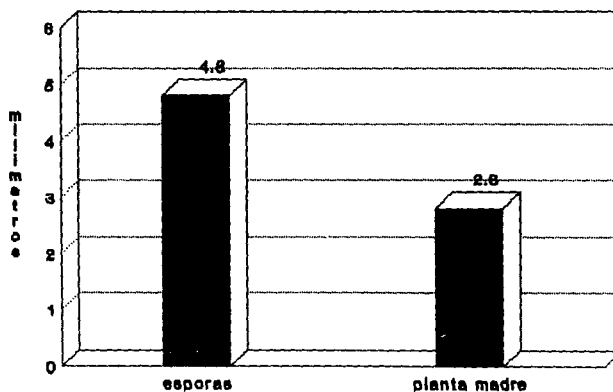


Fig.4. Valores promedio de diámetro de tallo de acuerdo a los dos métodos de inducción usados

### 5.1.5 Volumen de raíz

Como se puede ver en el cuadro 2, el método de inducción de la micorrización por esporas, cuyo valor promedio es de  $2.1 \text{ cm}^3$  fue superior al registrado por el método de inducción por planta madre, el cual registró un valor de  $1.28 \text{ cm}^3$ , y una diferencia entre ambos de  $0.82 \text{ cm}^3$ , que estadísticamente es significativa (Fig.5).

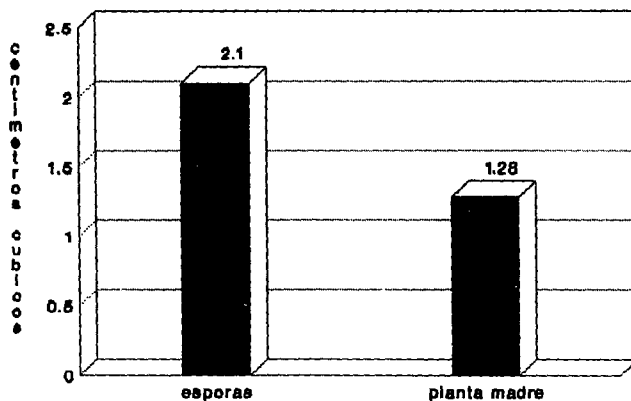


Fig. 5. Valores promedio de volumen de raíz de acuerdo a los dos métodos de inducción usados

### 5.1.6 Peso seco de tallo

El método de inducción por esporas en la variable peso seco de tallo, fue superior al método de inducción por planta madre, donde los valores promedio encontrados fueron respectivamente: 3.15 g y 1.49 g, con una diferencia entre ambos de 1.66 g, la cual es estadísticamente significativa (Fig.6).

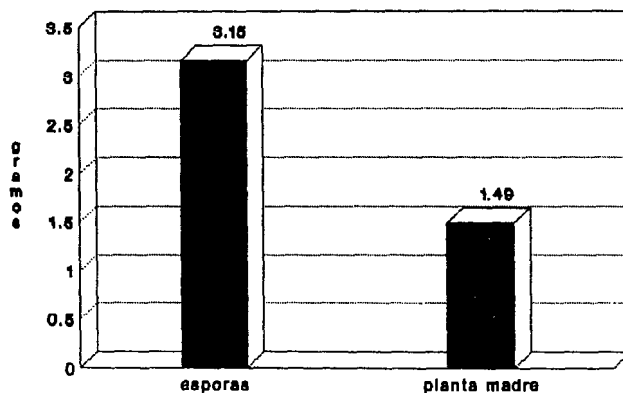


Fig. 6. Valores promedio de peso seco de tallo de acuerdo a los dos métodos de inducción usados

### 5.1.7 Peso seco de raíz

En los valores promedio registrados por los dos métodos de inducción micorrizica para la variable peso seco de raíz que se muestran en el cuadro 2, el método de inducción por esporas superó al método por planta madre, con valores promedio de 0.43 g y 0.28 g respectivamente, y una diferencia estadísticamente significativa de 0.15 g de peso promedio entre ambos (Fig.7).

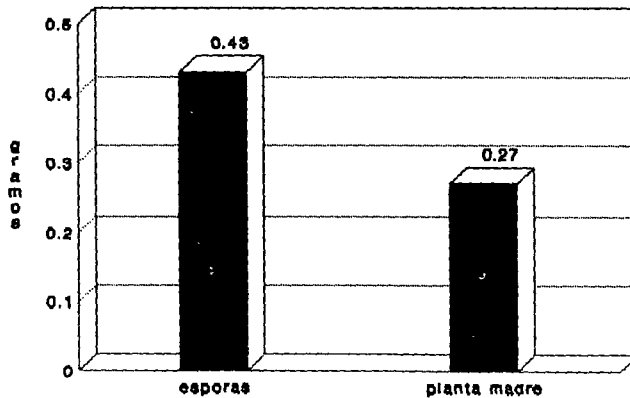


Fig. 7. Valores promedio de peso seco de raíz de acuerdo a los dos métodos de inducción usados



De los resultados anteriores, podemos deducir que el efecto de la micorrización, es superior en el método de inducción por esporas, ya que en todas en la variables evaluadas excepto en el número de raíces micorrizadas, los valores promedio superaron al método de inducción por planta madre. Lo anterior se debe muy probablemente, al efecto de competencia que en el método de inducción por planta madre se dá entre las plantas a micorrizar y las plantas utilizadas como fuente de inóculo, ya que estas tienen un potencial de extracción de nutrimentos y agua mucho mayor que el de las plántulas a micorrizar, debido a la diferencia en el desarrollo del sistema radicular y al mismo tiempo a que estas plantas (plantas madre), ya cuentan con los beneficios de la asociación simbiótica desde el momento de ser colocadas sobre la cama del vivero, por lo que los nutrimentos en el sustrato de alguna manera se encuentran reducidos cuantitativamente para las plántulas a lo largo del experimento. Por otro lado, la competencia de luz también puede haber afectado a las plántulas, ya que estas se encontraban bajo y alrededor de las "plantas madre".

En cuanto a la micorrización fue más efectivo el método de inducción por planta madre, ya que la diferencia entre ambos métodos en el número de raíces micorrizadas superó al método por esporas significativamente; lo que podría explicarse por el tiempo que toma la germinación de las esporas y el contacto del hongo con las raíces del hospedero en el caso de inducción por esporas, y en el otro caso se debe tomar en cuenta que el hongo

ya se encuentra establecido en las raíces del hospedero, fuente de inóculo, cuando se inicia el experimento.

## 5.2 DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA INDUCIR LA MICORRIZACION EN PINOS (experimento 2)

Los resultados se muestran en el cuadro 3, con los valores promedio de cada variable por tratamiento. Como se puede apreciar, el tratamiento *Pinus lumholtzii* con 10 mg de esporas, fue el que mostró mejor respuesta a esta asociación simbiótica, tanto para los valores en peso seco de biomasa, compuesta por las variables peso seco de tallo (PST) y peso seco de raíz (PSR), como para las variables diámetro de tallo (DTA) y volúmen de raíz (VOL).

### 5.2.1 Número de raíces micorrizadas

La variabilidad expresada por el número de raíces micorrizadas en el análisis estadístico (ver apéndice) mostró alta significancia, tanto para los factores dosis y especies, como para la interacción entre ambos, y así mismo la variabilidad resultante de la reacción de cada especie a las diferentes dosis de inóculo es significativa. La especie que mostró mayor respuesta a la inoculación en cuanto a la formación de micorrizas

CUADRO 3. REPRESENTACION DE LOS TRATAMIENTOS Y VALORES PROMEDIO DE 15 REPETICIONES PARA CADA UNA DE LAS VARIABLES EVALUADAS.

		DOSIS DE ESPORAS				
		0mg	5mg	10mg	15mg	SP.
V A R I A B L E S  E V A L U A D A S	NRM	3.4	14.8	9.4	9.4	- Pm
		8.0	9.0	13.2	9.4	- Pl
		8.4	11.9	17.0	16.8	- Pd
		2.0	25.6	15.8	10.3	- Po
	LTA	13.8	11.4	11.7	12.7	- Pm
		19.2	22.4	29.3	23.0	- Pl
		27.0	32.4	32.8	30.8	- Pd
		22.0	27.0	24.5	25.5	- Po
	DTA	8.9	9.2	8.0	7.7	- Pm
		5.8	5.0	11.9	7.5	- Pl
		4.7	6.1	6.3	4.2	- Pd
		0.1	8.0	6.8	9.7	- Po
VOL	5.0	6.0	6.1	5.3	- Pm	
	4.5	3.5	7.4	5.5	- Pl	
	3.7	5.8	6.5	3.7	- Pd	
	5.0	4.0	5.2	6.3	- Po	
LRA	32.9	30.1	31.0	29.8	- Pm	
	26.2	34.2	29.5	30.0	- Pl	
	34.0	37.1	34.4	32.3	- Pd	
	25.0	32.0	30.3	33.2	- Po	
PST	7.3	7.5	6.4	6.5	- Pm	
	3.5	3.3	8.6	4.7	- Pl	
	2.5	7.4	5.4	4.2	- Pd	
	3.0	3.3	4.9	5.2	- Po	
PSR	1.7	2.3	2.2	1.8	- Pm	
	1.5	1.8	2.9	2.3	- Pl	
	1.1	2.0	2.1	1.8	- Pd	
	1.5	1.4	1.8	1.9	- Po	

(NRM) número de raíces micorrizadas

(LTA) longitud de tallo (cm)

(DTA) diámetro de tallo (cm)

(VOL) volumen de raíz (cm<sup>3</sup>)

(LRA) longitud de raíz (cm)

(PST) peso seco de tallo (g)

(PSR) peso seco de raíz (g)

SP. (especie)

Pm<sup>3</sup> (*Pinus michoacana*)

Pl (*Pinus lumholtzii*)

Pd (*Pinus douglasiana*)

Po (*Pinus oocarpa*)

fue *Pinus oocarpa* con 5 mg de esporas (Fig. 8), siendo este valor con respecto a los demás tratamientos de la especie estadísticamente significativo. Así mismo los valores promedio presentados por *P. douglasiana* con 10 y 15 mg de esporas, fueron los más altos registrados en cuanto al número de raíces micorrizadas para esta especie (cuadro 3), y ambos significativamente diferentes respecto al testigo; lo que quiere decir que 10 mg de esporas de *Pisolithus tinctorius* son suficientes para inducir en esta especie una micorrización aceptable. Por su parte, la especie *Pinus michoacana* con 5 mg de esporas mostró diferencia significativa con respecto a los demás

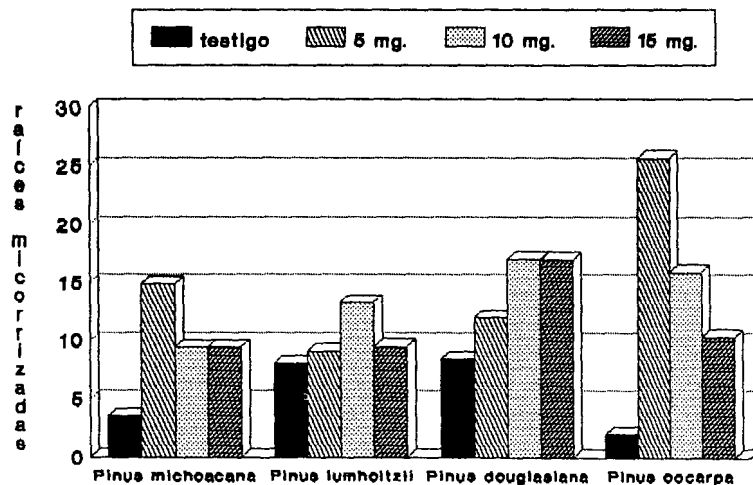


Fig.8. Valores promedio del número de raíces micorrizadas con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

tratamientos de la especie, lo que indica que 5 mg de esporas del hongo utilizado son suficientes para inducir sobre esta especie una buena micorrización. El tratamiento *P. lumholtzii* con 10 mg, sólo presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto a tratamiento con 15 mg de esporas, y aunque este fue superior a los demás tratamientos (0 y 5 mg.), la diferencia no fué significativa estadísticamente.

La variable número de raíces micorrizadas fue además la que mostró estar en mayor relación con el factor dosis.

### 5.2.2 Longitud de tallo

En el análisis de varianza de la longitud de tallo, el factor especie al igual que el factor dosis, muestran alta significancia estadística a diferencia de la interacción entre ambos (ver apéndice), lo que indica que la variación en las dosis de esporas no interfiere en los rendimientos de longitud de tallo de las especies estudiadas, ni éstas influyen en el efecto de una distinta dosis. Por otro lado, el valor promedio más alto encontrado como expresión de la dosis sobre una especie se registró en *Pinus lumholtzii* con 10 mg de esporas (Fig. 9), siendo además la única especie que mostró significancia estadística por efecto de tratamiento, lo que muestra una buena asociación simbiótica entre ambos organismos. Aunque el valor promedio más alto registrado por los tratamientos efectuados, se

encontró en la especie *P. douglasiana* con 10 mg de esporas (cuadro 3), la diferencia de éste con respecto a los demás no fué significativa, lo que indica que la longitud de tallo en esta especie así como en *P. michoacana* y *P. oocarpa* no es una variable dependiente de esta asociación simbiótica, pero si lo es en *P. lumholtzii*.

Como se esperaba, esta variable fue la que mostró mayor relación con el factor especie.

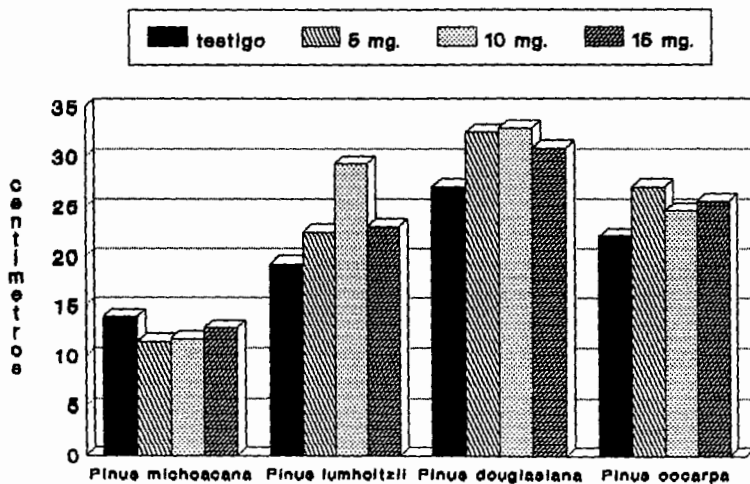


Fig. 6. Valores promedio de longitud de tallo con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

## 5.2.3 Diámetro de tallo

La variación de los valores registrados para el diámetro de tallo por el factor especie, fue altamente significativa, así mismo la expresada por la interacción entre éste y el factor dosis, aunque este último no mostró significancia estadística, (ver apéndice). Los valores promedio se muestran en el cuadro 3 y en la Fig. 10, en donde se puede apreciar que el tratamiento que registró mayor respuesta al inóculo en cuanto a diámetro de tallo fue *Pinus lumholtzii* con 10 mg de esporas, siendo estadísticamente significativo con respecto a los valores promedio del testigo y 5 mg. Por su parte, *P. michoacana* presentó su valor más alto con 5 mg, aunque esta diferencia con respecto a

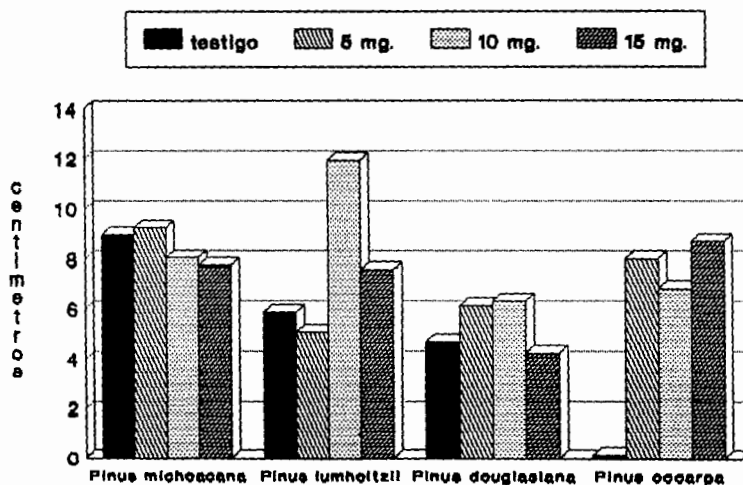


Fig.10. Valores promedio de diámetro de tallo con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

los demás tratamientos dentro de la especie no fue significativa estadísticamente. Al igual que en la especie anterior, en *P. douglasiana* no hubo significancia estadística entre los tratamientos, observándose en esta especie el valor más alto con 10 mg de esporas (Fig. 10). En *P. oocarpa*, en cambio, los tratamientos inoculados fueron todos con respecto al testigo estadísticamente diferentes, lo que indica que en esta especie el diámetro del tallo se ve incrementado por la asociación de ambos organismos. Esta variable mostró además estar en relación con el peso seco de tallo, peso seco de raíz y volumen de raíz.

#### 5.2.4 Volumen de raíz

En el análisis estadístico de los valores del volumen de raíz, la variabilidad expresada por el factor especie no mostró diferencia significativa, en cambio el factor dosis así como la interacción de ambos factores en esta variable si presentaron diferencia significativa (ver apendice). Las especies *Pinus lumholtzii* y *P. douglasiana* mostraron con 10 mg de esporas sus valores más altos (cuadro 3 y Fig. 13), siendo éstos significativos estadísticamente entre tratamientos. Por su parte, las especies *P. michoacana* y *P. oocarpa* no mostraron en sus valores promedio diferencias significativas entre tratamientos, encontrándose con 10 y 15 mg de esporas respectivamente, los valores promedio más altos para estas especies.



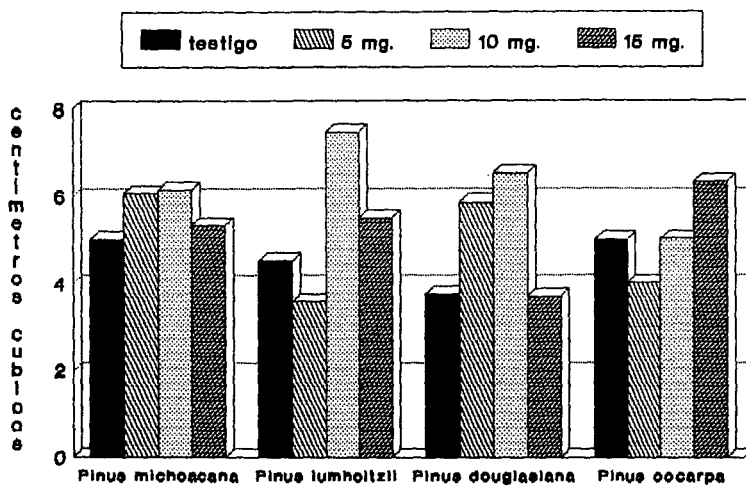


Fig.11. Valores promedio de volumen de raíz con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

### 5.2.5 Longitud de raíz

En el análisis estadístico de la longitud de raíz se obtuvo una variabilidad significativa sólo para el factor especie, ya que el factor dosis y la interacción de éste y el factor especie no expresaron significancia estadística en dicho análisis (ver apéndice). Lo que indica que la variación en las dosis de esporas no interfiere en los valores registrados para esta variable en las especies estudiadas. En los tratamientos *P.lumholtzii* y *P.douglasiana* con 5 mg de esporas se encontraron los valores promedio más altos (cuadro 3 y Fig. 12), aunque ningún

tratamiento mostró diferencias significativas en sus valores promedio, lo que muestra que la longitud de la raíz, no depende en este caso de la cantidad de micorrización inducida por ninguna de las dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius* sobre las especies evaluadas.

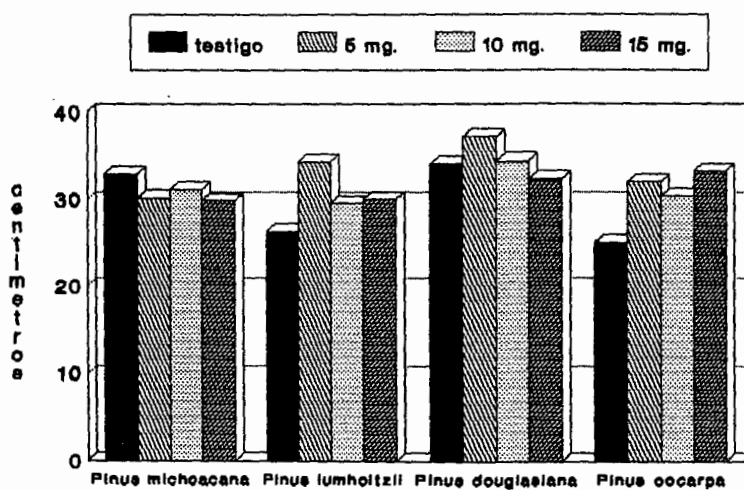


Fig.12. Valores promedio de longitud de raíz con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

#### 5.2.6 Peso seco de tallo

La variabilidad expresada por el factor especie en el análisis estadístico de los valores del peso seco de tallo fué significativa a diferencia del factor dosis en donde no hubo diferencia estadística; sin embargo, si hubo significancia en la

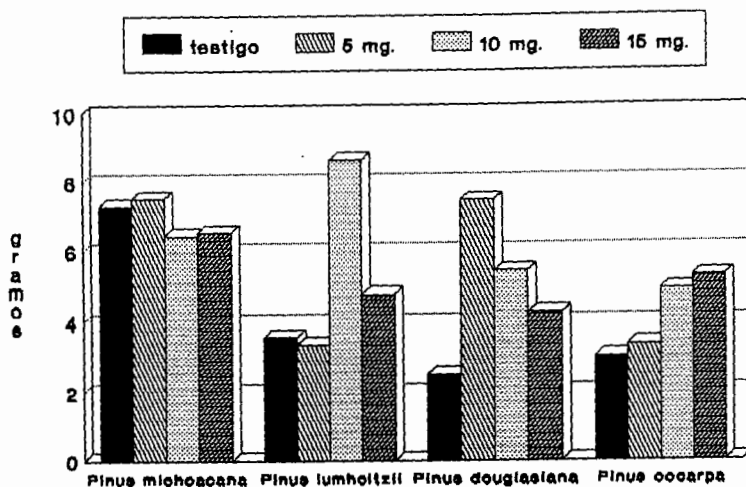


Fig. 18. Valores promedio de peso seco de tallo con diferentes dosis de esporas de *Pisolithus tinctorius*

expresión dada por la interacción de ambos factores (ver apéndice). La especie que mostró el valor más alto en cuanto al peso seco de tallo fue *P. lumholtzii* con 10 mg de esporas (Fig. 11 y cuadro 3), mostrando además significancia estadística con respecto a los tratamientos testigo y 5 mg. El tratamiento *P. douglasiana* con 5 mg resultó ser también significativo estadísticamente con respecto al testigo, cuyo valor promedio es el más bajo de los tratamientos evaluados, y es por lo tanto el peso seco de tallo en esta especie, una variable dependiente de la micorrización; las especies *P. michoacana* y *P. oocarpa* no presentaron diferencias significativas entre sus tratamientos, lo que indica que en ninguna de ellas hubo incremento en peso seco de tallo por efecto de la micorrización.

### 5.2.7 Peso seco de raíz

En el análisis estadístico del peso seco de raíz, sólo el factor dosis expresó variabilidad significativa, mientras que el factor especie y la interacción de ambos factores, no presentaron significancia estadística, según lo mostró el análisis de varianza (ver apéndice). El valor promedio más alto registrado en esta variable por efecto de una dosis sobre una especie, fue el que presentó *Pinus lumholtzii* con 10 mg de esporas (cuadro 3 y Fig. 14), aunque ninguno de los tratamientos presentó diferencia significativa.

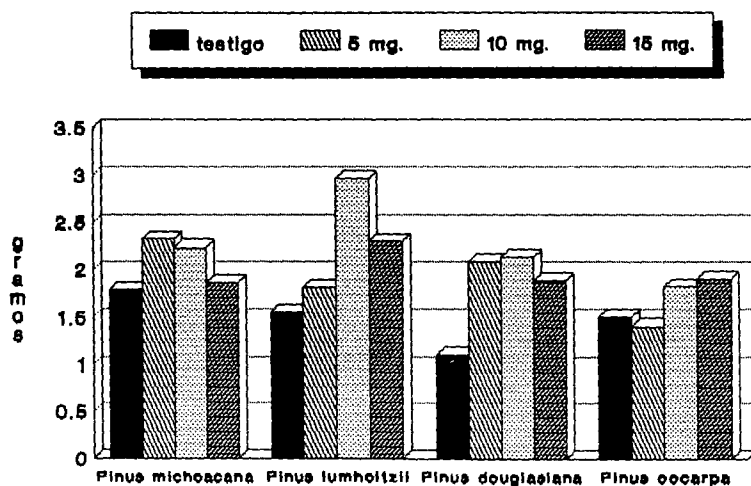


Fig.14. Valores promedio de peso seco de raíz con diferentes dosis de esporas de *Pezizolus tinctorius*

## VI. CONCLUSIONES.

## 6.1 EVALUACION DE DOS METODOS DE INDUCCION MICORRIZICA

(experimento 1)

a) La especie *Pinus douglasiana*, usada como hospedera en este trabajo es aceptable para la inoculación micorrizica con *Pisolithus tinctorius*.

b) Bajo las condiciones en que se llevó a cabo el experimento, el método de inducción por planta madre indujo una mayor micorrización que el método de inducción por esporas, aunque el primero presentó la desventaja de la competencia desigual sobre las plántulas a micorrizar.

c) La cantidad de raíces micorrizadas por el método de inducción por esporas es aceptable, ya que aunque fue menor que la cantidad de raíces micorrizadas por el método de inducción por planta madre, el de esporas tuvo la ventaja de que la competencia por los nutrimentos del suelo entre las plántulas a micorrizar es equilibrada.

6.2 DETERMINACION DE LA CANTIDAD MINIMA DE ESPORAS PARA LA MICORRIZACION EN CUATRO ESPECIES DE PINOS (experimento 2)

- a). La especie *Pinus lumholtzii* con 10 mg de esporas, fue el tratamiento con mejor respuesta a esta asociación simbiótica; sin embargo, se puede concluir que 5 a 10 mg de inóculo de esporas del hongo ectomicorrízico usado, son suficientes para una inducción efectiva de la micorrización para cualquiera de las especies usadas en este experimento.
- b). Cualquiera de las especies utilizadas como hospederas en este trabajo es susceptible de ser micorrizada con *Pisolithus tinctorius*.
- c). El hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* utilizado como inóculo en este trabajo, no afectó la longitud de raíz significativamente en ninguna de las especies de *Pinus* probadas.
- d). En la evaluación de la producción de biomasa, la especie de pino mostró ser un factor importante, pero fué aún más importante determinar la dosis mínima de inóculo para inducir en ella una micorrización adecuada.

## VII. BIBLIOGRAFIA.

- Abuzinadah, R.A. y D.J.Read, 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 103 : 481-483.
- Brown, R.T. y P. Mykola, 1974. The influence of fruticose soil lichens upon the mycorrhize and seedlings growth of forest trees. *Acta forestalia fennica.* 141: 5 -23.
- Brown, M.F. y E.J.King, 1982. Morfology and histology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. IN: Schenck, N.C.(ed.), *Methods and principles of mycorrhizal research.* pp.15-23. St.Paul.
- Castellano, M. y J.M.Trappe, 1985. Mycorrhizal association of five species of monotropoidea in Oregon. *Can. For. Res.* 15: 613-617.
- Cordell, E.C., J. H. Owen y D.H. Marx. 1987. Mycorrhizae nursery management for improved seedling quality and field performance. Intermountain Forest Nursery Association Meeting, Oklahoma.
- Dennis, J.J., 1985. Effect of pH and temperature on *in vitro*

- growth of ectomycorrhizal fungi. Can. For. Service, Pacific Forestry Centre. 18 p.
- Eguiluz-Piedra, T., 1988. Distribución natural de los pinos en México. Centro de Genética Forestal A.C., Nota Técnica. 1-6 p.
- Ferrera-Cerrato, R., 1977. Micorriza. Examen predoctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México. 96 p.
- Ferrera-Cerrato, R., 1989. El uso de la micorriza en la producción agrícola. Compendio de programas del curso de edafología, Colegio de Postgraduados. Centro de Edafología, Sección Microbiología, Chapingo, pp. 407-449.
- Finlay, R.D. y D.J. Read, 1986. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. II The uptake and distribution of fosforus by mycelial strands interconnecting host plants. *New Phytol.* 103 : 157-165.
- Fortin, J. A., Y. Piché y M. Lalone, 1980. Technique for the observation of the early morfological changes during ectomycorrhiza formation. *Can. J. Bot.* 58: 361-365.
- Fortin, J. A. 1983. Fifth Northamerican Conference on



Mycorrhizae. Can. J. Bot. 61 (3): 907.

Frankenberger Jr., W.T. y M. Poth, 1987. Biosynthesis of indol-3-acetic acid by the pine ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. Applied and environmental microbiology. Am. Soc. for Microbiology 53 (12): p. 2908-2913.

Gogala, N., 1987. Growth substances in root exudate of *Pinus sylvestris* their influence on mycorrhizal fungi (effects of jasmonic acid). Agriculture, Ecosystems and Environment. 28:151-154.

Hacskeylo, E., 1969. Metabolite exchanges in ectomycorrhizae, IN: Hacskeylo, E. (editor). Micorrhizae. U.S. Dept. Agric., Forest Service. Washington, D.C. pp. 175-182.

Harley, J. L., 1989. The significance of mycorrhiza. Mycol. Res. 92 (2): 129-139. Haug, I., 1989. Mycorrhization of *Picea abies* with *Pisolithus tinctorius* at different nitrogen levels. Agriculture, Ecosystems and Environment. 28: 167-170.

Ho, I., 1987. Enzyme activity and phytohormone production of a mycorrhizal fungus, *Laccaria laccata*. Can. J. For. Res. 17: 855-858.

López-Olivarez, C.R. y A.M. Fierros-González., 1990. Estudio

morfológico de ectomicorrizas en plantaciones de *Pinus caribea* var. *hondurensis* en La Sabana, Oaxaca, México. Micol. Neotrop. Apl. 3 : 31-39.

Martínez, M., 1948. Los pinos mexicanos. Ed. Botas. Segunda edición. 360p. México, D.F.

Marx, D. H. y W. C. Bryan, 1970. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on different conifer hosts. Can. J. Bot. 48 (3): 639-643.

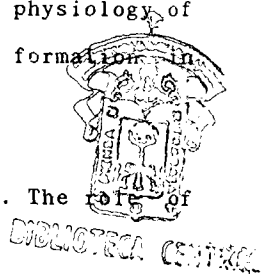
Marx, D: H. y W. C. Bryan, 1975. Growth and ectomycorrhizal development of Loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. Forest Sci. 22 (3): 245-254.

Marx, D. H., 1976. Synthesis of ectomycorrhizae on Loblolly pine seedlings with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*. Forest Sci. 22 (1): 13-20.

Marx, D. H. , W. C. Bryan y Ch. E. Cordell, 1976. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. Forest Sci. 22 (1): 91-100.

- Marx, D.H., J.L.Ruehle, D.S.Kenney, C.E.Cordell, J.W.Riffle, R.J.Molina, W.H.Pawuk, S.Navratil, R.W.Tinus y O.C.Goodwin, 1982. Comercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on container-grown tree seedlings. Forest Sci. 28(2): 373-400.
- Marx, D. H. y D. S. Kenney, 1984. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. IN: Schenck, N. C.(ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. pp. 131-146. St. Paul.
- Marx, D. H., C.E.Cordel, y R.C. France, 1986. Effects of Triadimefon on growth and ectomicorrhizal development of Loblolly and Slash pines in nurseries. Phytopatology 76: 824-831.
- McAffe, B.J. y J.A.Fortin, 1988. Comparative effects of the soil microflora on ectomycorrhizal inoculation of conifer seedlings. New Phytol. 108: 443-449.
- Mejstrik, V. 1989. Ectomycorrhizas and forest decline. Agriculture, Ecosystems and Enviroment 28 :325-337.
- Miller, Jr., O.K., 1984. Taxonomy of ecto- and ectendomycorrhizal fungi. IN: Schenck, N. C. (ed.) Methods and principles of mycorrhizal research. pp. 91-101. St. Paul.

- Molina, R., 1979. Ectomycorrhizal inoculation of containerized Douglas-fir and Lodgepole pine seedlings with six isolates of *Pisolithus tinctorius*. Forest Sci. 25 (4): 585-590.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1982-a. Applied aspects of ectomycorrhizae. IN: N. S. Subba Rao (ed.) Advances in agricultural microbiology. pp. 305-323. New Delhi.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1982-b. Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among pacific northwest conifers and fungi. Forest Sci. 28 (3): 423-458.
- Molina, R. y J. M. Trappe, 1984. Mycorrhiza mangement in bareroot nurseries In: Duryea, M.L. y D. Thomas (eds.). Forest nursery manual: Production of bareroot seedlings. 386p. Oregon State University. Corvallis.
- Norman, W. B. y J.D. Otta, 1981. Outplanting survival and growth of Ponderosa pine seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius* in South Dakota. Forest Sci. 27 (2): 277-280.
- Nylund, J.-E. y T. Unestam, 1982. Structure and physiology of ectomycorrhizae. I. The process of mycorrhiza formation in Norway spruce in vitro. New Phytol. 91: 63-79.
- Parke, L. J., R. G. Linderman y C. H. Black, 1983. The role of



- ectomycorrhizas in drought tolerance of douglas-fir seedlings. *New Phytol.* 95, 83-95.
- Parke, L. Jennifer, R. G. Linderman y J. M. Trappe, 1984. Inoculum potential of ectomycorrhizal fungi in forest soils of southwest Oregon and northern California. *Forest Sci.* 30 (2):300-304.
- Perry, D. A. y M. P. Amaranthus, 1988. The use of mycorrhizal fungi and associated organisms in forest restoration In: Restoring the Earth - National Conference Proceedings. 8pp.
- Riffle, W. J. y D. M. Maronek, 1984. Ectomycorrhizal inoculation procedures for greenhouse and nursery studies. IN: Schenck, N. C. (ed.) *Methods and principles of mycorrhizal research.* pp. 147-155. St. Paul, Minnesota.
- Rygiewics, P. T., C. S. Bledsoe y R. J. Zasoski, 1984. Effects of ectomycorrhizae and solution pH on nitrate uptake by coniferous seedlings. *Can. J. For. Res.* 14: 893-899.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México.* Ed. Limusa. 283-315 pp.
- Sinclair, W. A. , D. M. Sylvia, A. O. Larsen, 1982. Disease suppression and growth promotion in Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. *Forest Sci.* 28

(2): 191-201.

Theodorou, C. y G. D. Bowen, 1973. Inoculation of seeds and soil with basidiospores of mycorrhizal fungi. Soc. Biol. 5: 765-772.

Trappe, J.M., 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. Bot. Rev. 28: 538-606

Trappe, J. M. y R.D. Fogel, 1977. Ecosystematic functions of mycorrhizae. Pacific Northwest Forest and Range Experimental Estation. Forest Service, U.S. Dept. of Agric. Corvallis. pp.05-214.

Vozzo, J. A., 1971. Field inoculations with ectomycorrhizal fungi. IN: Mycorrhizae. Proceedings of the First North American Conference on Mycorrhizae, MISC. Publication 1189. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, pp.187-196.

Wilcox, H. E. 1971. Morphology of ectendomycorrhizae in *Pinus resinosa*. IN: Mycorrhizae. Proceedings of the First North American Conference on Mycorrhizae. MISC. Publication 1189. U.S. Department of Agriculture. Forest Service. pp. 54-68.

Wilcox, H. E., 1984. Morfology and development of ecto- and

ectendomycorrhizae. IN: Schenck, N. C. (ed.). Methods and principles of mycorrhizal research. pp. 103-113. St. Paul.

Zak, B., 1971. Characterization and identification of Douglas-fir mycorrhizae. IN: Mycorrhizae, First Northamerican Conference on Mycorrhizae. MISC. Publication 1189 U.S. Department of Agriculture. Forest Service. pp. 38-53.

## VIII. APENDICE

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE NUMERO DE RAICES MICORRIZADAS CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.1

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	3020.31	201.35	6.72	0.0001
Especies	3	836.79	278.93	9.31	0.0001
Dosis	3	1457.10	485.70	16.22	0.0001
Interacción	9	726.41	80.71	2.70	0.0062
Error	151	4521.58	29.94		
Total	166	7541.90			

C.V. 45.92

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE LONGITUD DE TALLO CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.2.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	11096.18	739.74	23.56	0.0001
Especies	3	10439.51	3479.83	110.84	0.0001
Dosis	3	915.19	305.06	9.72	0.0001
Interacción	9	0.00	0.00	0.00	1.0000
Error	151	4740.53	31.39		
total	166	15836.71			

C.V. 24.94

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE DIAMETRO DE TALLO CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.3.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	766.04	51.06	9.71	0.0001
Especies	3	299.60	99.86	19.00	0.0001
Dosis	3	33.69	11.23	2.14	0.0980
Interacción	9	432.74	48.08	9.15	0.0001
Error	151	793.86	5.25		
Total	166	1559.91			

C.V. 29.85



## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PESO SECO DE TALLO CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.4.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	419.29	27.95	2.53	0.0023
Especies	3	105.41	35.13	3.18	0.0259
Dosis	3	36.23	12.07	1.09	0.3544
Interacción	9	277.64	30.84	2.79	0.0047
Error	151	1669.76	11.05		
Total	166	2089.05			

C.V. 54.97

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE LONGITUD DE RAIZ CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.5.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	1034.94	68.99	1.45	0.1333
Especies	3	493.84	164.61	3.45	0.0182
Dosis	3	144.43	48.14	1.01	0.3908
Interacción	9	399.65	44.07	0.92	0.5068
Error	151	7208.94	47.74		
Total	166	8243.88			

C.V. 21.58

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE VOLUMEN DE RAIZ CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.6.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	187.23	12.48	1.84	0.0344
Especies	3	6.39	2.13	0.31	0.8157
Dosis	3	58.58	19.52	2.87	0.0383
Interacción	9	122.25	13.58	2.00	0.0432
Error	151	1026.82	6.80		
Total	166	1214.05			

C.V. 46.53

## ANALISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE PESO SECO DE RAIZ CORRESPONDIENTE AL PUNTO 5.2.7.

FACTOR DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F	PR > F
Tratamiento	15	23.53	1.57	1.36	0.1721
Especies	3	6.05	2.01	1.75	0.1584
Dosis	3	8.81	2.93	2.55	0.0577
interacción	9	8.67	0.96	0.84	0.5829
Error	151	173.86	1.15		
Total	166	197.41			

C.V 52.44