



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS, EN CIENCIAS FORESTALES

INOCULACIÓN DE *Q. hintonii* Warburg CON HONGOS ECTOMICORRÍZICOS A NIVEL VIVERO

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS, EN CIENCIAS FORESTALES

P R E S E N T A:

NANCY YARIDIA FLORES HERNÁNDEZ

Julio, 2012



La presente tesis, titulada: "Inoculación de *Quercus hintonii* Warburg con hongos ectomicorrízicos", realizada por la alumna Nancy Yaridia Flores Hernández, bajo la dirección del comité asesor indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Ciencias Forestales

Comité asesor

Director:



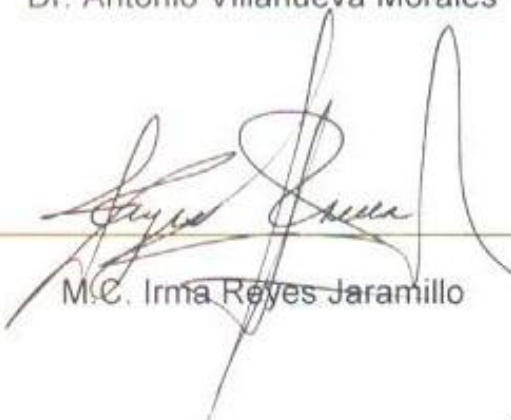
Dra. Elizabeth Hernandez Acosta

Co-director:



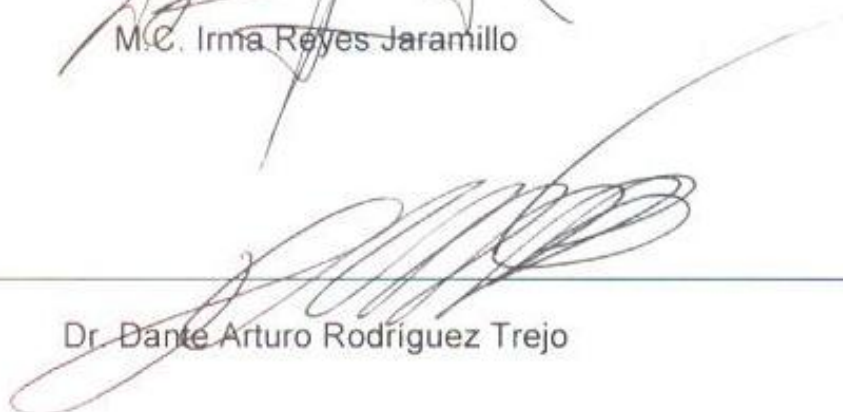
Dr. Antonio Villanueva Morales

Asesor:



M.C. Irma Reyes Jaramillo

Asesor:



Dr. Dante Arturo Rodriguez Trejo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por la oportunidad brindada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico otorgado.

Al Posgrado en Ciencias Forestales por su aceptación para la realización de esta investigación.

Al comité revisor por las atinadas observaciones hechas en este trabajo.

Debo agradecer de manera especial y sincera al Dr. Dante Arturo Rodríguez Trejo, su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis por el valioso tiempo que dedico desde el inicio hasta el final en esta investigación.

A la M. en C. Irma Reyes Jaramillo, por su valioso tiempo dedicado a la revisión y realización de esta tesis, por su incondicional apoyo en el recorrido de campo para el muestreo del material biológico utilizado, así como el resto de sus valiosas aportaciones. Agradezco también de una manera especial, por ser parte importante de mi formación profesional.

A la Dra. Elizabeth Hernández Acosta, por la revisión de la tesis y el apoyo brindado durante el desarrollo del presente trabajo, así como el facilitarme los medios para poder concluir esta meta.

A la M. en C. Silvia Edith García, al Sr. Gerardo Mendoza, a la Sra. Laura, a la Sra. Lorena, al vivero de la UACH y al resto de las personas que hayan aportado en la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

A Dios, a quien agradezco infinitamente, haberme puesto al lado de una familia tan maravillosa, quienes han llenado de dicha y amor cada instante de mi vida.

Mami, no me equivoco si digo que eres la mejor mamá del mundo, gracias por todo tu esfuerzo, tu apoyo y por la confianza que depositaste en mí. Gracias porque siempre has estado a mi lado, a pesar de las dificultades. Este logro también es tuyo.

Papá, éste es un logro que quiero compartir contigo, gracias por creer en mí, por enseñarme a ser fuerte y darme el valor para siempre seguir adelante, sin que nada ni nadie me lo impida. Gracias por tu gran ayuda al establecer mi experimento, se que siempre cuento contigo.

Dieguito, eres un milagro de la vida, gracias por llegar a alegrarnos con tus travesuras y llenar con tu pequeñita presencia cada día. Que haríamos sin tí.

Javier, mi hermano mayor, pero el menor, gracias por ser parte de esta familia y además por tu valiosa ayuda en el establecimiento de mi experimento.

Sara, por enseñarme que con perseverancia, todo es posible y por ser mi amiga.

Kenny, quiero decirte que eres muy especial para mí, prácticamente crecimos juntas, compartiendo gran parte de nuestra niñez, cosas que extraño. Gracias por ayudarme, admiro tu fuerza y tu valor para hacer lo que haces, que Dios te bendiga siempre.

A la memoria de mis abuelos mamá Agustina y papá Román, que siempre creyeron en mí, y viven en mi corazón, quienes desde donde se encuentren sé que me ayudaron a cumplir esta meta tan importante en mi vida.

A tí Germán, por darme ánimos y apoyarme en los momentos difíciles en los que me he encontrado, por estar cuando te necesito, por los maravillosos momentos compartidos y por tu apoyo en el trabajo realizado durante esta investigación.

Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles.

A todos, espero no defraudarlos y contar siempre con su valioso apoyo, sincero e incondicional.

Y no puedo irme sin antes decírles, que sin ustedes a mi lado no lo hubiera logrado. Gracias por su amor entregado a mí, por compartir momentos agradables y tristes, momentos que nos han hecho crecer y valorarnos cada día más, gracias por existir.

LOS AMO...

YARIS

CONTENIDO

Contenido.....	i
Índice de cuadros.....	iv
Índice de figuras.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	4
Objetivo general.	
Objetivos específicos.	
3. Antecedentes.....	5
3.1. El género <i>Quercus</i>	5
3.2. <i>Quercus hintonii</i>	7
Distribución y hábitat.....	9
Usos.....	10
Consecuencias del cambio de uso de suelo.....	10
3.3. La asociación micorrízica.....	12
Clasificación de las micorrizas.....	13
3.4. Ectomicorrizas.....	14
Beneficios que reciben los hongos.....	15
Beneficios que obtienen las plantas.....	16
Transferencia de carbohidratos.....	17
Nutrición, crecimiento y desarrollo.....	18

Tolerancia al estrés hídrico.....	20
Protección contra patógenos.....	20
3.5. Fuentes de inóculo ectomicorrízico.....	20
Suelo.....	21
Carporomicorrización.....	21
Esporomicorrización.....	22
Micelio.....	23
Inóculo comercial.....	23
Factores que influyen en el desarrollo de las ectomicorrizas en vivero.....	24
3.6. Beneficios de las micorrizas en la restauración.....	25
3.7. Pruebas de micorrización.....	27
3.8. <i>Lactarius volemus</i> (Fr.) Fr.....	28
3.9. <i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker et. Couch.....	30
3.10. Indicadores de calidad de planta forestal.....	31
Atributos morfológicos.....	32
Atributos fisiológicos.....	32
Atributos de desempeño.....	33
4. Materiales y métodos.....	34
Descripción del sitio de colecta.....	34
Recolecta de material biológico.....	35
Procesamiento de las muestras.....	36
Bellotas.....	36
Obtención del inóculo.....	36
Establecimiento del experimento.....	37

Diseño experimental y análisis estadístico.....	38
Cosecha y variables evaluadas.....	39
Indicadores morfológicos de calidad de planta forestal.....	39
Crecimiento potencial de la raíz (CPR).....	41
Potencial hídrico.....	42
5. Resultados y discusión.....	43
Supervivencia.....	43
Indicadores de calidad de planta forestal.....	47
Crecimiento potencial de la raíz (CPR).....	53
Potencial hídrico.....	55
6. Conclusiones.....	56
7. Recomendaciones.....	57
8. Bibliografía.....	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1a y 1b. Fertilización química.....	38
Cuadro 2. Resultados. Comparación de medias para supervivencia resultante en cada tratamiento.	43
Cuadro 3. Resultados. Comparación de medias de indicadores de calidad de planta forestal.....	47
Cuadro 4. Resultados. Variables respuesta para la prueba de Crecimiento Potencial de la Raíz (CPR).....	53
Cuadro 5. Regresión lineal entre número de raíces nuevas y tamaño de la planta (altura y diámetro).....	54
Cuadro 6. Comparación de medias de las variables medidas en la prueba de potencial hídrico.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista panorámica del bosque de encino en Tejupilco de Hidalgo, Estado de México.....	8
Figura 2. <i>Quercus hintonii</i> Warb.....	9
Figura 3. Distribución de <i>Quercus hintonii</i> Warb.....	10
Figura 4. <i>Lactarius volemus</i> (Fr.) Fr.....	29
Figura 5. <i>Pisollithus tinctorius</i> (Pers.) Coker et. Couch.....	30
Figura 6. Localización del sitio de estudio, Tejupilco de Hidalgo, Estado de México.....	35
Figura 7. Inóculo ectomicorrízico.....	37

RESUMEN

En México los encinos son el segundo recurso forestal maderable más abundante después de los pinos. A nivel mundial existen alrededor de 500 especies, de las cuales cerca de 167 habitan nuestro país, con un 70% de endemismos. *Quercus hintonii* es endémico de la Cuenca del Balsas, de gran importancia ecológica, afectada por el cambio de uso de suelo y explotación de su madera. El objetivo de este trabajo fue evaluar los parámetros de calidad de planta forestal que responden a la ectomicorrización, comparando el efecto del inóculo comercial *Pisolithus tinctorius* e inóculo micelial aislado en laboratorio de *Lactarius volemus*, el cual crece de manera natural en el bosque donde domina *Q. hintonii*, para realizar una propuesta de restauración forestal para este encino, amenazado en peligro de extinción. En vivero se estableció un diseño en bloques al azar, los tratamientos fueron: encino con inóculo comercial con 1) baja y 2) normal fertilización, encino con inóculo 3) micelial con baja y 4) normal fertilización, además del 5) control. Las plantas se mantuvieron en un vivero por 11 meses, se regaron y fertilizaron. Las variables evaluadas fueron: altura, diámetro, pesos secos, índice de Dickson, de esbeltez y biomasa aérea/biomasa subterránea. Se obtuvo una sobrevivencia del 70%, no hubo diferencia significativa con respecto a la fertilización sobre el desarrollo de las ectomicorrizas, los parámetros de calidad mostraron diferencias significativas con un $\alpha \leq 0.1$ entre las plantas inoculadas con *L. volemus* y *P. tinctorius*, favoreciendo a las plántulas con *L. volemus* para todas las variables medidas. Se concluyó que es factible la inoculación de plántulas de *Q. hintonii* con *L. volemus*, favoreciendo la calidad y sobrevivencia de este encino.

Palabras clave: *Quercus hintonii*, *Lactarius volemus*, *Pisolithus tinctorius*, calidad de planta, ectomicorriza, ectomicorrización.

ABSTRACT

In Mexico the oaks are the second most abundant timber forest resources after the pines. Worldwide there are about 500 species, of which about 167 live in our country, with 70% of endemic species. *Quercus hintonii* is endemic to the Balsas Basin, and of great ecological importance. It has been affected by the change in land use and exploitation of its timber. The aim of this study was to evaluate the quality parameters of seedlings in response to ectomycorrhization with commercial inoculum *Pisolithus tinctorius* and mycelial inoculum isolated in laboratory, *Lactarius volemus*, which grows naturally in the forest where dominates *Q. hintonii*, an endangered species, to contribute with information for the restoration of this oak forests. The nursery experiment was established in a randomized block design, the treatments were: oak commercial inoculum with low and normal fertilization, oak mycelial inoculum with low and normal fertilization, as well as a control. The plants were kept in a nursery for 11 months, and were watered and fertilized. We obtained a 70% survival, with no significant difference with respect to fertilization on ectomycorrhiza development. Quality parameters showed significant differences with $\alpha \leq 0.1$ in favor of the seedlings inoculated with *L. volemus*. It was concluded that it is feasible the inoculation of seedlings of *Q. hintonii* with *L. volemus*, promoting the quality and survival of this oak.

Key words: *Quercus hintonii*, *Lactarius volemus*, *Pisolithus tinctorius*, plant quality, ectomycorrhiza.

1. INTRODUCCIÓN

En México los encinos (*Quercus*) son el segundo recurso forestal maderable más abundante después de los pinos. Se considera que a nivel mundial existen alrededor de 500 especies, de las cuales 167 se encuentran en nuestro país, de estas, cerca del 70% son endémicas (Zavala, 2007; Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo, 2009). McVaugh (1974) menciona que ningún otro género, con excepción de *Pinus*, es tan abundante en la vegetación forestal maderable de los sitios montañosos y escarpados de clima templado como *Quercus*, además constituye el elemento dominante de la vegetación de la mayoría de las sierras que forman el territorio mexicano, el mayor número de taxas se distribuye en el Eje Neovolcánico, aunque las especies de *Quercus* se encuentran en todos los estados de la República Mexicana excepto en Yucatán (Zavala, 1990).

Al suroeste del Estado de México, en el municipio de Tejupilco de Hidalgo se localiza un bosque de encino, en clima cálido subhúmedo, compuesto principalmente por cuatro especies: *Q. magnoliifolia* Née, *Q. obtusata* Bonpl., *Q. peduncularis* Née y *Q. hintonii* Warburg las tres primeras especies de encino blanco son de amplia distribución en el país, mientras que el encino rojo *Q. hintonii* es el elemento dominante de este bosque (Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo, 2009; Reyes, 2006). *Q. hintonii* es una especie endémica de la región, es un árbol que puede medir alrededor de 15 m de altura con diámetros de 30-50 cm, hojas grandes y coriáceas de color verde claro y en el envés un tomento que le da un aspecto aterciopelado. Es caducifolio y monoico, con semillas dentro de una bellota (Romero, 2010).

El estado actual de la población de esta especie está fuertemente asociado con las actividades de desarrollo y económicas de las comunidades locales (The Global Trees Campaign, 2012), ya que se ha visto afectada principalmente por el cambio de uso de

suelo como las prácticas agrícolas, aunado a esto la tala inmoderada de estos bosques, sin embargo a pesar de la importancia ecológica de la especie y de ser endémica, no forma parte de los programas de propagación a nivel de vivero ni de reforestación, de acuerdo a información proporcionada por PROBOSQUE, por lo que es de gran importancia que sean incorporados a alguno de estos programas para la urgente conservación de estos ecosistemas.

Los encinos son un componente esencial para el mantenimiento y recuperación de la estructura del suelo, protegiéndolo de la erosión con el aporte de hojarasca, la cual aporta al suelo humus y nutrientes, además las raíces de los encinos participan en el intemperismo físico, químico y biológico de los materiales que encuentran a su paso (Reyes, 2006). El uso de estrategias que aseguren un establecimiento rápido y exitoso de estas especies, es una condición necesaria para asegurar buenos resultados en programas de conservación de suelos.

Dentro de estas estrategias se deben considerar a los hongos ectomicorrízicos (HEM) debido a que incrementan la supervivencia de las plantas después de ser micorrizadas, además por los tantos beneficios adicionales que éstas otorgan a la planta (absorción de nutrientes, resistencia al estrés hídrico, resistencia a fitopatógenos, entre otros.), así como por su contribución en la formación y estabilidad de agregados en el suelo (Tisdall, 1994). La inoculación con ectomicorrizas es la práctica más utilizada en los viveros forestales debido a su fácil manejo, y a la importancia comercial de este grupo de hongos, lo que hace aún más importante la repoblación de áreas forestales con estas especies (Carrera, 2004).

El desconocimiento de las especies de hongos que se asocian con determinadas especies de árboles en México es acentuado, particularmente para el género *Quercus*, y

en particular para *Q. hintonii*. En campo podemos observar las especies de hongos ectomicorrízicos que se asocian a esta especie, uno de estos *Lactarius volemus*, que además de su importancia como simbionte es un hongo comestible, muy apreciado en el Estado de México. Es necesario tener un conocimiento de los hongos que se asocian de manera natural con las especies forestales, para de este modo poder producir planta de calidad donde la micorrización tenga un efecto positivo sobre la planta; por otra parte, existen otro tipo de inoculantes que llegan a hacer simbiosis con muchas especies vegetales, como *Pisolithus tinctorius*, esta especie en particular ha sido estudiada en muchos aspectos, se puede encontrar como un inóculo comercial de los más comunes y es una especie exitosa en ambientes adversos (Pera *et al.*, 1994).

Como se ha mencionado con anterioridad uno de los géneros arbóreos poco estudiados es *Quercus*, el cual es de gran importancia desde el punto de vista forestal y ecológico. Las relaciones ecológicas de estas plantas aún son desconocidas, lo cual ha limitado su aprovechamiento y manejo apropiados. Por lo anterior, el presente estudio tuvo como principal finalidad generar información respecto a la relación hongo-planta y con ella contribuir en el conocimiento de la producción y el manejo de *Q. hintonii* en vivero y su inoculación con *L. volemus* y *P. tinctorius*, de modo que esta especie de encino pueda ser incorporada a los programas de reforestación, y así contribuir a preservar los bosques de encino.

2. OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el desarrollo de plántulas de *Quercus hintonii* Warburg inoculadas con dos hongos ectomicorrízicos, para proponer su aplicación en programas de reforestación y contribuir a la preservación de los bosques de encino.

Objetivos Específicos

- Comparar los efectos de la micorrización de *Q.hintonii* con el inóculo comercial de *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch y de *Lactarius volemus* (Fr.) Fr. (obtenido en el laboratorio), sobre el desarrollo de plántulas de encino en condiciones de vivero, identificando los indicadores de calidad de planta que respondan a la inoculación.
- Realizar prácticas con fertilizantes químicos para evaluar su efecto sobre el desarrollo de las plantas micorrizadas.

3. ANTECEDENTES

3.1. El género *Quercus*

A nivel mundial, los encinos se desarrollan ampliamente y de manera natural en los bosques templados, bosques tropicales, semitropicales y en los matorrales de climas secos del hemisferio norte. Por el contrario, muy pocos encinos se encuentran en los ecosistemas tropicales y semitropicales del hemisferio sur (América del Sur y el sureste de Asia). Los encinos han evolucionado en grandes áreas o centros de diversidad, entre los que destacan el sureste de Asia con alrededor de 125 especies, América con cerca de 250 especies que se distribuyen desde Canadá hasta Colombia (Arizaga, *et al.*, 2009), México también es considerado un centro de diversificación de encinos, con 167 especies (Zavala, 2007), de las cuales alrededor del 70% son endémicas.

El género *Quercus* es el elemento dominante de sitios como la Sierra Madre Oriental, la Sierra Occidental, el Eje Volcánico Transversal en el cual se distribuyen el mayor número de taxas, la Sierra Madre del Sur, Sierras del Norte de Oaxaca y en las de Chiapas y Baja California, encontrando así a este género en todos los estados de la República, excepto Yucatán (Rzedowski, 1978; Zavala, 1990), convirtiéndose en el segundo recurso forestal maderable más abundante después de los pinos, básicamente en los bosques de clima templado del país (De la Paz *et al.*, 2000). También se encuentran representantes tropicales como *Q. oleoides* Schltdl. & Cham. y *Q. sapotifolia* Liebm. que crecen incluso a nivel del mar y en las regiones semiáridas (Pennigton y Sarukhán, 1998; Zavala, 1995), también forman parte de los bosques de coníferas e incluso de pastizales en su forma arbustiva, cubren aproximadamente el 5.5% del territorio nacional debido principalmente a su ubicación geográfica (Rzedowski, 1978).

Fisionómica y estructuralmente, se distinguen dos tipos de encinares: los matorrales de *Quercus* o encinares arbustivos y los arbóreos (De la Paz Pérez, 2000). Estos últimos constituidos por especies cuyas dimensiones varían entre 15, 30 y hasta 40 m de altura, con diámetros de 30-60 cm y en algunas ocasiones hasta de un metro. Algunas de ellas son las que se emplean en el aprovechamiento de la madera de encino en México (De la Paz, 2000)

En otros países, las especies de encinos son utilizadas muy frecuentemente y en grandes cantidades, en los programas de plantaciones forestales con diferentes fines (Zavala, 1998). En México existe muy poco interés para ensayar y probar nuevas metodologías para transformar la madera de encino en productos mejores y de mayor calidad; a pesar de la gran diversidad de especies con que se cuenta en el país, se importa una gran cantidad de productos de madera de encino de Norteamérica y Canadá, desaprovechando el potencial de los encinos mexicanos (De la Paz Pérez, 2000).

Los encinos son muy longevos y se considera como el género más importante dentro del grupo de las maderas duras (Krochmal y Krochmal, 1982, citado por Zavala, 1998). Su aprovechamiento consiste principalmente en la elaboración de leña y carbón, pero el aprovechamiento industrial sólo se presenta en pequeñas cantidades.

La demanda nacional de productos de encinos, tales como madera aserrada, moldurados y pisos de encino no es cubierta (Quiñones, 1995), debido principalmente a la dificultad que presenta para su trabajabilidad como consecuencia de ser una madera dura, además no se han encontrado los mecanismos adecuados para llevar a cabo su secado, haciéndolo un recurso forestal maderable desaprovechado en el país. México es uno de los cinco primeros países con mayor superficie deforestada anualmente, varía de

316 mil a 769 mil ha/año, debido al desmonte agropecuario, la tala ilegal, alteración de regímenes de fuego y a la sobreexplotación maderera (SEMARNAT, 2011).

Instancias gubernamentales, encargadas de la protección de los ecosistemas, realizan programas de reforestación y regeneración de microcuencas, sin embargo estos no contemplan el uso de especies de encino (Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo, 2009). Dada la importancia ambiental y ecológica del bosque de encino, la introducción de otras especies no es lo más adecuado, por ello es conveniente integrar a los programas de reforestación especies nativas. De este modo, surge la necesidad de buscar mecanismos que permitan maximizar la producción de planta en vivero y así poder incluirla en los programas de reforestación, razón por la cual es necesario desarrollar tecnología adecuada y estrategias útiles para elevar la calidad de planta de encinos producida en vivero. Una de estas estrategias que actualmente está cobrando importancia es el uso de planta ectomicorrizada, sin embargo los estudios realizados sobre los hongos que interactúan con plantas superiores son escasos, pero en relación con los encinos, los trabajos reportados son aún menos.

3.2 *Quercus hintonii* Warburg

Se le conoce comúnmente como encino prieto, pertenece al subgénero *Erythobalanus* o encinos rojos. Es un árbol caducifolio que puede medir alrededor de 15 m de altura, su tronco tiene un diámetro de 30-50 cm, corteza de placas cuadrangulares, que en individuos jóvenes es rugosa; ramillas con abundante tomento blanco amarillento; forma hojas maduras coriáceas, lanceoladas, ovado-lanceoladas, ovadas o elípticas de 5-21 cm de largo y de 3-10 cm de ancho, de color verde claro y en el envés se caracteriza por presentar abundante tomento que le da un aspecto aterciopelado (Figura 2 a y b) (Aguilar y Romero, 1995).

Es una especie monoica que forma flores femeninas y masculinas, en amentos (inflorescencia en racimo). Su semilla la forma dentro de una nuez conocida como bellota (Figura 1 A), la cual mide de 6 a 15 mm de largo y su diámetro es de 9-13 mm, florece en primavera y fructifica en agosto y septiembre del siguiente año. En el interior de la bellota se desarrollan dos cotiledones y un embrión protegidos por un pericarpio; los cotiledones son grandes y contienen grasa y carbohidratos, como una fuente de reserva de energía (Reyes, 2006; Romero, 2000).

Es importante mencionar que la morfología de esta especie varía entre los individuos jóvenes y los adultos, los primeros presentan hojas casi glabras y los adultos hojas densamente pubescentes. En este taxa las características de la pubescencia son importantes, pues debido a ellas se describieron varias especies que ahora son sinónimos (Aguilar y Romero, 1995).



Figura 1. Vista panorámica del bosque de encino fragmentado, en Rincón de Ugarte, Tejupilco de Hidalgo, Estado de México.

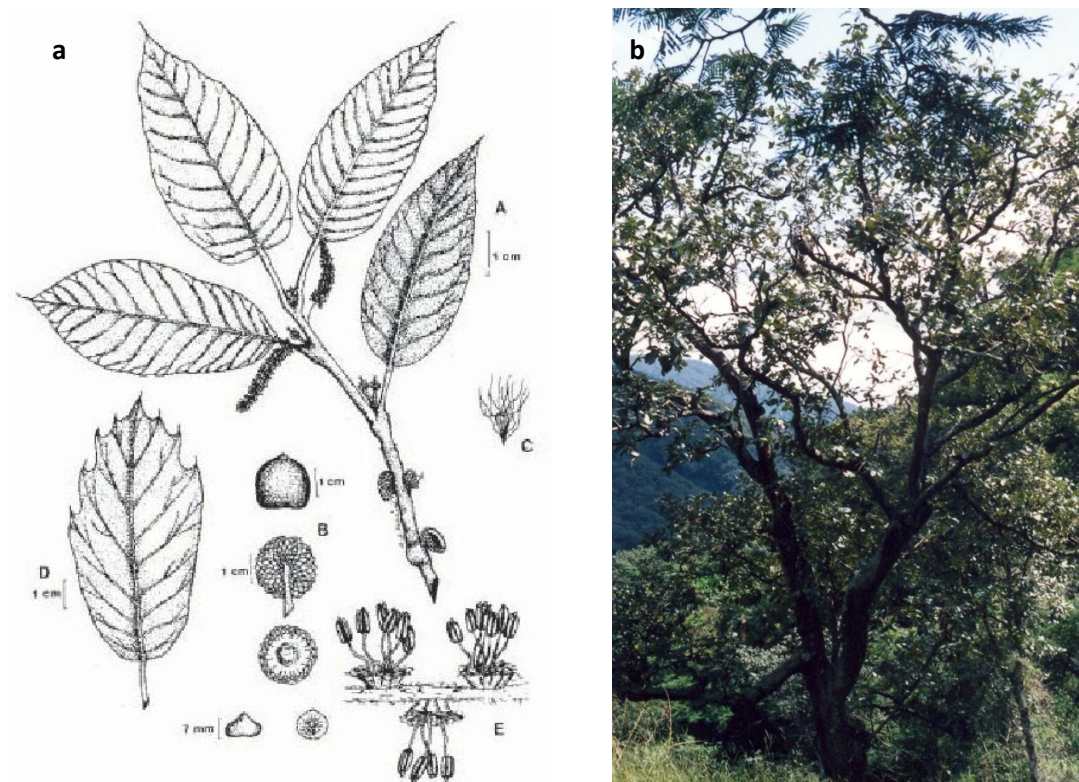


Figura 2. **a)** Características morfológicas de *Q. hintonii*. Rama con inflorescencias, frutos, flores masculinas y hojas (Aguilar y Romero, 1995). **b)** Árbol de *Q. hintonii*.

Distribución y hábitat

Es una especie endémica de la Depresión del Balsas (Figura 2), encontrada en los siguientes municipios del suroeste del Estado de México: Amatepec, San Simón de Guerrero, Sultepec, Tejupilco, Temascaltepec y Tlatlaya, reportándose también para el Estado de Michoacán, en el municipio de Villa Madero (Romero *et al.*, 2000; Reyes, 2006).

El hábitat de *Q. hintonii* son los bosques de encino y de pino, en laderas con pendientes muy pronunciadas, con escaso suelo, sino la roca (esquistos intemperizados), en ocasiones cubierta por una delgada capa de suelo (Leptosoles). En otros sitios el suelo tiene una profundidad de 50 a 90 cm, con características de Cambisol, en altitudes de 1300 a 1950 m snm. Las especies dominantes de estas comunidades son *Q.*

magnoliifolia, *Q. obtusata*, *Q. peduncularis* y *Q. hintonii* y algunas especies del género *Pinus* (Reyes, 2006)



Figura 3. Distribución geográfica de *Q. hintonii* en el Estado de México y Michoacán, (Aguilar y Romero, 1995)

Usos

La madera de *Q. hintonii* es empleada para la elaboración de mangos de herramientas, vigas, postes de cercas, bancos rústicos y en mayor escala como leña y carbón. Sin embargo, estudios realizados sobre las propiedades de su madera muestran que puede utilizarse para fabricar duelas de parquet, lambrín, muebles, durmientes, pilotes para minas y barricas de añejamiento. Los individuos de esta especie poseen hojas de tamaño mediano a grande y pubescencia muy densa con aspecto aterciopelado al igual que las ramillas, características que hacen que pueda utilizarse como ornamental en jardines y zonas urbanas (Romero, 2000).

Consecuencias del cambio de uso del suelo.

La región del Balsas es una zona donde los bosques están bajo una fuerte presión antropogénica por la tala clandestina, alteración de regímenes de fuego, cambio de uso de suelo por actividad pecuaria y agrícola donde se encuentra la mayor concentración y

diversidad forestal. Al tratarse *Q. hintonii* de una especie endémica de esta región, su población se ha visto reducida drásticamente como consecuencia de la pérdida de su hábitat ligado a las actividades económicas realizadas por las comunidades locales, hasta el punto de ser una especie amenazada, en peligro de extinción de acuerdo a The Global Trees Campaign (2012).

Los bosques de encino de Tejupilco de Hidalgo, al igual que de los otros municipios, no forman parte de ningún programa de aprovechamiento ni manejo forestal. La mayoría de los predios son propiedades privadas y algunas comunales. Lo anterior se ve reflejado en la continua tala de encinos, para abrir áreas de uso ganadero, agrícola, creación de carreteras o brechas y para asentamientos humanos. En la actualidad se sigue extrayendo leña de estos bosques, para hornear pan comercialmente y para cocinar (Reyes, 2006).

Las medidas de conservación deben incluir la participación de las autoridades locales y propietarios de tierras, capacitación sobre la propagación de plantas, la investigación de campo, y el desarrollo de una campaña de educación. La investigación en colaboración entre los expertos mexicanos de la Universidad de Puebla y el personal de los Jardines de Sir Harold Hillier y Arboretum en el Reino Unido condujo al desarrollo de una estrategia de conservación de *Q. hintonii*, presentado a los presidentes de los municipios y las autoridades encargadas de la reforestación, tal estrategia incluye una guía para la conservación de especies y un acuerdo para proporcionar la capacitación local en técnicas de propagación de esta especie (The Global Trees Campaign, 2012).

3.3. La asociación micorrízica

El término de micorriza fue acuñado en 1885, por el patólogo forestal Anton Bernhard Frank, que en términos generales es una de las asociaciones simbióticas de mayor importancia ecológica y fisiológica establecida por las raíces de las plantas, y las hifas de ciertos hongos superiores, mismos que conviven en simbiosis casi siempre de tipo mutualista con la mayoría de las plantas vasculares (Pimentel, 2009). Se cree que esta asociación surgió junto con las primeras plantas terrestres (Ferrera-Cerrato y Pérez Moreno, 1995), actualmente se encuentran distribuidas en todos los ecosistemas terrestres, aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo, debido principalmente a que no podrían soportar por sí mismas la dinámica de las comunidades que habitan los suelos forestales (Pritchett, 1986). En ellos, estas simbiosis juegan un importante papel en su funcionamiento y mantenimiento, tanto en las regiones templadas como en las tropicales (Allen, 1993; Heijden *et al.*, 1998; Read y Pérez-Moreno, 2003).

La incapacidad de los hongos de elaborar su propio alimento, los obliga a vivir como saprobios, parásitos o como simbiontes con otras plantas, tal es el caso de los hongos micorrízicos, donde la planta suministra al hongo hidratos de carbono, procedentes de la fotosíntesis, y el hongo constituye una extensión del sistema radical, favoreciendo una mejor absorción de agua, y nutrimentos esenciales (Le Tacon, 1986).

La función más importante de las raíces en la actividad de los microorganismos, es que crean un nicho ecológico único, el cual da por resultado una población muy distinta del suelo fuera de la rizosfera. Esta diferencia se debe a la liberación de sustancias orgánicas e inorgánicas por parte de las raíces, las cuales son utilizadas por los microorganismos que se hallan en sus proximidades. Por su parte, el hongo ayuda a

la planta en la absorción de nutrimentos minerales del suelo, que muchas veces están fuera del alcance de sus raíces. (Harley y Smith, 1983).

Clasificación de las Micorrizas

Basándose en el arreglo de la hifa vegetativa del hongo en los tejidos corticales de la raíz, las micorrizas se han clasificado en tres tipos básicos: ectotróficas, endotróficas y ectendotróficas (Brundrett, 2003).

Las micorrizas ectotróficas, denominadas ectomicorrizas, son el grupo que incluye aquellas en las cuales el hongo, normalmente de micelio septado, forma un verdadero manto de hifas (manto fúngico) que rodea a la raíz. El desarrollo del hongo es intercelular, dando el aspecto de una red, la cual es denominada Red de Hartig. Algunos hongos ectomicorrízicos (ECM) están asociados a un solo hospedante, mientras que otros tienen un rango muy amplio, como es el caso de *P. tinctorius*. Por otro lado, un solo hospedante es capaz de establecer asociación con muchas especies de hongos. La mayoría de los árboles están asociados con el grupo de los Basidiomycetes.

En el caso de las micorrizas endotróficas, mejor conocidas como endomicorrizas, el hongo forma una trama de hifas sobre la superficie del sistema radical, o raicillas, pero no desarrolla el manto fúngico característico de la ectomicorriza. Las hifas penetran dentro de la epidermis, avanzando hasta las células corticales de la raíz, ocupando los espacios inter e intracelulares. Es importante señalar que este tipo de hongos no infecta las células meristemáticas o tejidos vasculares. Los hongos que forman endomicorrizas pertenecen al Phylum Glomeromycota (Schchüßler *et al.*, 2001).

Contrario a la ectomicorriza, la infección endomicorrícica, no provoca cambios muy conspicuos en la apariencia de la raíz; por esta razón para detectarla, es necesario procesar las raíces, para teñir las hifas y observar al microscópio. Las micorrizas

ectoendotróficas, mejor conocidas como ectendomicorrizas, muestran rasgos tanto de ectomicorrizas como de endomicorrizas, dado que presentan manto fúngico, red de Hartig y penetración intracelular. Aparentemente las ectendomicorrizas son muy limitadas y, en árboles, generalmente aparecen en raíces colonizadas por hongo ectomicorrízicos.

3.4. Ectomicorrizas

Uno de los más importantes tipos de asociaciones micorrízicas, desde el punto de vista ecológico y biogeográfico, es la ectomicorriza, término propuesto por Peyronel *et al.* (1969). En esta simbiosis el hongo asociado cubre las raíces cortas, formando un manto o vaina. Las hifas forman la red de Hartig sin que exista generalmente penetración intracelular en las plantas asociadas (Pérez-Moreno y Read, 2004).

Las estructuras diagnósticas de la ectomicorriza son el manto fúngico, la red de Hartig, y el micelio externo vegetativo que emerge a partir de las raíces, de este modo la actividad de la ectomicorriza, por ejemplo, en árboles de zonas templadas se fundamenta en la absorción nutrimental (Vogt *et al.*, 1982). Además, dicha simbiosis proporciona a los fitobiontes mayor captación de agua, fitohormonas (Harley y Smith, 1983; Marks y Kozlowski, 1973; Smith y Read, 1997), incremento en la longevidad de las raíces (Marshall y Perry, 1987) y protección contra patógenos, lo cual se explicará más adelante.

La simbiosis ECM se establece principalmente entre alrededor de 3000 especies de plantas angiospermas y gimnospermas y 5000 especies de hongos, principalmente de los grupos de los Basidiomycetes y Ascomycetes (Malloch *et al.*, 1980; Molina *et al.*, 1992), dentro de los Basidiomycetes se incluyen importantes familias como Amanitaceae, Russulaceae, Paxillaceae, Boletaceae y Strobilomycetaceae. Algunas espe

cies, como *Pisolithus tinctorius*, tienen la habilidad de formar simbiosis ECM con una gran cantidad de plantas, incluyendo especies vegetales de diferentes familias, lo mismo sucede con algunas especies del género *Lactarius* (Pérez-Moreno, 2004). En contraste, otras especies fúngicas se asocian con un restringido número de especies vegetales que integran a un género o una familia; por ejemplo, *Suillus* coloniza y forma simbiosis restringida en la familia Pinaceae (Molina *et al.*, 1992).

Las ectomicorrizas también son clasificadas o identificadas por su color, patrón de ramificación, caracteres superficiales y estructura del manto fúngico. Haciendo énfasis en las estructuras ectomicorrícicas que se aprecian en las raicillas, asemejan distintas formas, dependiendo del tipo de hongo que las origina: simples o no ramificadas (*Cenococcum*), que semejan por su forma deditos individuales o solitarios; monopódica-pinnada (*Russula*), forman sus estructuras simples o bifurcadas sobre un eje principal; monopódica-piramidal (*Lactarius*), sus estructuras están dispuestas sobre un eje principal en forma verticilada; dicotómica (*Laccaria lacata*), se separan desde su base formando dos o más deditos; irregularmente pinnada; coraloide (*Rhizopogon*), estructuras dispuestas sobre un eje principal en forma redondeada y tuberculada (*Suillus*) que penden de las raicillas simulando tubérculos (Pimentel, 2009; Carrera, 2004).

Beneficios que Reciben los Hongos

Los hongos carecen de clorofila, por lo tanto no pueden formar sus propios elementos nutritivos utilizando la energía de la luz solar, como se presenta en las plantas verdes, por lo cual se ven obligados a vivir a expensas de otros organismos (Le Tacon, 1986). Por esta razón, éstos pueden ser saprófitos, parásitos o en todo caso forman la simbiosis de la cual hemos hablado.

En estudios realizados se ha estimado que aproximadamente del 10 al 15 % de la producción de fotosintatos por parte de las plantas es transferido a los hongos, aunque esto solo se ha evaluado en bosques de clima templado (Voigt *et al.*, 1991, citado por Ferrera- Cerrato y Pérez-Moreno, 1995); lo cual demuestra los beneficios que brindan las plantas a los hongos. Además, las raíces de las plantas secretan hormonas de crecimiento, las cuales influyen en el crecimiento y desarrollo de los hongos, la germinación se incrementa al estar en contacto con las raíces vivas de los árboles (Ferrera-Cerrato y Pérez-Moreno, 1995).

Beneficios que obtienen las plantas

El suelo es una parte vital del ecosistema, donde existen diversos microorganismos, los cuales participan intensamente en los procesos ecológicos. Este es el caso de los hongos micorrízicos que cumplen funciones importantes en el crecimiento sano de las especies forestales (Pritchett, 1986). Los beneficios que pueden obtener las plantas, principalmente las superiores, al formar estructuras micorrízicas se ven reflejados en un mayor y mejor crecimiento y desarrollo de las plantas

Las comunidades microbianas en el suelo están integradas por bacterias, actinomicetes, hongos, algas, protozoarios, nematodos y micro artrópodos como colembola (Sylvia *et al.*, 1998), presentando una mayor densidad en la rizósfera debido a que las raíces proporcionan mayores nutrimentos y factores de crecimiento cuya función es estimular la actividad microbiana (Bolton *et al.*, 1993).

Un componente dominante de la comunidad microbiana de la rizósfera de árboles de zonas forestales templadas son los hongos ECM (Smith y Read, 1997). Dada la naturaleza heterótrofa de los micobiontes, éstos obtienen compuestos de carbono derivados fotosintéticamente (Harley, 1989) a partir del hospedero, por su parte los

fitobiontes reciben una mayor cantidad de nutrimentos minerales y agua, ya que las micorrizas sirven como extensiones de la raíz, así como protección contra patógenos y metales pesados (Duddridge *et al.*, 1980), ya que se ha observado que la reducida formación micorrízica o su ausencia influye en su vulnerabilidad al estrés ambiental y por patógenos (Hampp *et al.*, 1999).

Entre los beneficios que producen las micorrizas en las plantas asociadas, se pueden destacar los siguientes: facilitan su nutrición, crecimiento y desarrollo, mejoran su tolerancia frente al estrés hídrico y a los agentes patógenos; facilitan su adaptación a suelos salinos y contribuyen con la disminución de la erosión en las áreas aledañas, además de mejorar la estructura del suelo (Molina *et al.*). A continuación se detallan los beneficios que otorgan las micorrizas al árbol.

Transferencia de carbohidratos

Dentro de los múltiples beneficios que el fitobionte proporciona al micobionte se encuentra la transferencia de carbohidratos, ya que el hongo es incapaz de utilizar polisacáridos complejos como fuentes de carbono y energía (Bowen y Theodorou, 1973), la cual puede ser medida como una correlación negativa entre el crecimiento de la planta y la biomasa fúngica (Nylund y Wallander, 1989; Colpaert *et al.*, 1992). En estudios realizados por Bauer *et al.* (1991) se demostró la transferencia de carbohidratos hacia el córtex, la red de Harting y el manto fúngico, dando evidencia de que potencialmente todos los carbohidratos necesarios para el crecimiento, tanto del hongo como de la planta, pueden ser proporcionados en los estadios iniciales de la formación de la ectomicorriza, por la fotosíntesis.

Las hifas ECM sólo pueden utilizar hexosas como fuente de carbono y glucosa, las cuales son el resultado del catabolismo de la sacarosa considerada como la fuente

primaria de carbono en las EM (Hampp *et al.*, 1999). La sacarosa es hidrolizada en la interfase apoplástica, y los monosacáridos son así tomados por el micobionte y las células corticales de la raíz. Por lo que el fitobionte reduce su capacidad e importarlos, debido probablemente al suministro de aminoácidos derivados al micobionte, ya que hasta un 30% de la producción de fotoasimilados totales son transferidos. Los monosacáridos no son sólo importantes para el crecimiento fúngico y su función, sino que también constituyen señales moleculares que regulan al hongo y la expresión de genes en la simbiosis (Nehls y Hampp, 2000). La planta compensa esta pérdida de carbohidratos por un incremento en su eficiencia fotosintética. Se ha encontrado que la colonización por ECM incrementó considerablemente el área foliar específica, resultando en un incremento en la asimilación de carbono del hospedero (Harris *et al.*, 1985). Por otra parte se reporta que la tasa fotosintética específica del hospedero incrementó diferencialmente por la infección de algunas especies de hongos micorrizicos y dado que los compuestos carbonados provienen de la fotosíntesis, se espera una mayor aportación de la planta al hongo (Dosskey *et al.*, 1990; Miller *et al.*, 1998).

Nutrición, crecimiento y desarrollo

El beneficio de las micorrizas se traduce en mayor crecimiento y desarrollo de las plantas en beneficio de la adaptación y eficiencia de éstas al facilitar una mayor absorción de nutrimentos minerales del suelo. Este beneficio se basa en que las plantas requieren de diferentes iones de minerales para un óptimo crecimiento y desarrollo; las micorrizas pueden ayudar a las plantas a incrementar esta captación, tanto de forma directa como indirecta (Bolan, 1991; Fitter & Garbaye, 1994). De forma directa las micorrizas aumentan en las raíces la toma de nutrimentos minerales y agua del suelo

debido a que poseen micelio externo que explora gran volumen de suelo que no está micorrizado (Maldonado y Ramírez, 1997). En este proceso se acepta que el papel clave de las micorrizas radica en que las hifas del hongo extienden el campo de absorción de la raíz más allá de la zona normal de agotamiento radicular (en 1-5 mm), y permiten a la raíz incrementar su superficie de absorción y explorar un volumen de suelo mayor del que lo hacen las raíces no micorrizadas. Las raíces micorrizadas absorben más eficazmente los fosfatos que las no micorrizadas (Molina *et al.*, 2005).

Maldonado y Ramírez (1997), consideran que las micorrizas permiten lograr una mayor absorción de nutrientes en la solución del suelo, en especial de elementos poco móviles, fundamentalmente el fósforo y otros como el zinc, azufre, calcio, molibdeno y boro.

En el caso del fósforo (P), es un factor limitante en el crecimiento de las plantas, ya que participa en funciones metabólicas importantes. Del 100% del fósforo absorbido, el 90% se acumula en el hongo en formas de poli fosfato, forma inactiva común en sistemas simbióticos que muestran una rápida absorción de fósforo, en la micorriza el transporte al interior ocurre en 24 hrs y solo el 10% es utilizado por el hospedero (Garza, 2000). El manto fúngico sirve como depósito de P cuando las hifas del hongo dejan de estar conectadas con la raíz de la planta. Por otro lado la transferencia de fósforo inorgánico entre el hongo micorrízico y la raíz huésped se produce en tres etapas: transporte activo dentro del hongo y el exterior de la raíz, transporte pasivo del hongo en la interfase raíz-hongo y transporte activo dentro de la raíz (Bolan, 1991).

Cabe mencionar que el beneficio no solo se debe al establecimiento de los hongos en el sistema radical, sino que también intervienen diversos factores edáficos y ambientales e incluso de manejo de los sistemas forestales, que interactúan

potencializando la capacidad del hongo para compensar o superar las funciones de la raíz en la absorción de nutrimentos y agua.

Se ha reportado además la producción de hormonas estimulantes para el crecimiento y desarrollo de las plantas, sin embargo se discute que resulta difícil diferenciar los efectos producidos por las hormonas del hongo, de los producidos por las hormonas vegetales y de los producidos indirectamente por el estado nutricional de las plantas como consecuencias de la micorrización (Raddatz, 2002 y Molina *et al.*, 2005).

Tolerancia al estrés hídrico.

Una de las mayores bondades que tienen las micorrizas es su capacidad de absorción de agua y por lo tanto, permiten mayor resistencia de la planta a la sequía. Esta resistencia es debida al incremento de la conductividad hídrica de la planta o a la disminución de la resistencia al flujo de agua a través de ella. Está relacionado también a la mayor absorción a través de la extensa red de hifas externas del hongo, extendidas más allá de la zona a la cual tiene acceso directo el sistema radical (Brundrett, 2004; Molina *et al.*, 2005).

Protección contra patógenos.

Las ECM protegen la raíz, ya que reciclan los carbohidratos, aminoácidos y otros compuestos producidos por las raíces, capaces de atraer agentes patógenos (Whipps, 2004). Además proveen una barrera física a patógenos debido a la formación de la red de Harting, la cual puede sintetizar un compuesto llamado diatretinenitrilo, el cual presenta un efecto antibiótico.

3.5. Fuentes de inóculo ectomicorrízico.

La fuente de inóculo y la técnica de inoculación pueden variar de acuerdo a las necesidades y al presupuesto de cada proyecto, se debe tomar en cuenta que la

micorrización se puede realizar de manera casual o accidental, dado que la diseminación de esporas es fácil que se efectúe por el viento, sobre todo cuando los viveros se encuentran cercanos a las áreas forestales; pero una manera segura de obtener una micorrización efectiva, es realizándola intencionalmente y con un método predeterminado. A continuación se describen los métodos de inoculación más comunes:

- **Suelo** (tierra de monte).

Consiste en extraer suelo de los sitios naturales donde existan plantas o árboles de especies a producir en vivero, con lo cual se llenarán los contenedores; o bien, mezclándola con otro tipo de tierra y en la proporción deseada, para lo cual es suficiente del 5 al 10% de tierra de monte para propiciar una buena infección micorrízica (Ferrera *et al.* 1993). También se recomienda usar una proporción del 20 al 40% (Pimentel, 2009).

Este tipo de sustrato tiene que ser de la capa superior del suelo, no mayor a los 50 cm, dado que está demostrado que después de los 5 a 10 cm de profundidad, las estructuras dispersantes de los hongos disminuyen considerablemente.

Este método puede llegar a ser relativamente barato para muchos viveros; sin embargo se requiere de una gran cantidad de suelo, lo cual lleva al deterioro del sitio de extracción de este; además, existen posibilidades de llevar patógenos y plagas al vivero.

- **Carpomicorrización.**

Este método consiste en hacer una mezcla del material o sustrato a utilizar en el llenado de los envases con los cuerpos fructíferos de las especies de hongos deseados. Para ello se debe hacer una recolecta de los hongos micorrízicos de interés, que se realiza durante su época de abundancia, ya que se requiere una cantidad considerable

para asegurar una proporción mínima de 0.5 Kg/m³ de sustrato. Una vez que se tienen los carpóforos, se realiza la mezcla, primero se desintegran, triturándolos con auxilio de una licuadora, en la proporción 250 g de hongos por litro de agua. Este concentrado se diluye en 10 litros de agua, con la cual se va humedeciendo y revolviendo la tierra, buscando tener una homogeneización adecuada de los hongos licuados con el sustrato (Pimentel, 2009).

Las concentraciones de esporas dentro de la suspensión resultante son determinadas mediante un hematocimetro y es almacenada bajo refrigeración en completa oscuridad (5° C) hasta que vaya a ser usada. Se recomienda utilizar esporas frescas siempre que sea posible (Cruz, 1999). Otra manera de realizar esta técnica, es utilizando hongos secados en una estufa a una temperatura no mayor de 37 °C, e inocular directamente con pequeñas cantidades de himenio ricas en esporas.

- **Esporomicorrización.**

Técnica de inoculación mediante el empleo directo de las esporas de los hongos micorrízicos. Para ello, se requiere obtener las esporas en condiciones puras. Las esporas se pueden obtener, colocando los píleos boca abajo en hojas de papel limpio, si es posible esterilizados, para lograr la cosecha de las esporas. La inoculación puede realizarse empapando las semillas antes de sembrarlas con una solución de esporas (Marx, 1976; Landis *et al.*, 2004); o bien, depositando las esporas al momento de efectuar el trasplante, lo cual se logra con el auxilio de la punta de un palillo, que introducida en el polvo de esporas, se introduce en un pequeño orificio hecho en el sustrato antes de colocar la plántula (Cruz, 1999).

- **Micelio** (cultivos puros).

En ocasiones es difícil obtener el micelio, ya que muchos hongos no se desarrollan sin la presencia del simbiote obligado; sean estos arbusculares o ectomicorrízicos; además de requerirse una gran cantidad de ellos para satisfacer las necesidades de un vivero. El micelio es producido bajo diversas técnicas como las presentadas por Marx (1976) y Molina y Trappe (1982).

Una vez que se tiene el micelio, se aplica directamente al momento del trasplante, colocando una pequeña porción (1/4 de cucharadita) en el orificio donde se colocará la plántula; o bien revolviéndolo con el sustrato a envasar, en la proporción 50 ml de inóculo por litro de sustrato, se debe tomar en cuenta la temperatura del ambiente para hacer dicha aplicación, dado que los rayos calientes del sol pueden matar el micelio (Pimentel, 2009).

- **Inóculo comercial.**

Actualmente, en la preparación de inoculantes comerciales basados en hongos ECM, se continúan utilizando diversas especies de hongos Gasteromycetes, dentro de los géneros *Pisolithus*, *Scleroderma* y *Rhizopogon*, y adicionalmente algunos Agaricales, dentro de los géneros *Laccaria*, *Suillus* y *Paxillus*. Tanto las esporas como los cultivos miceliales de dichos hongos han sido utilizados para inocular semillas o plantas de importancia forestal tanto en regiones templadas como tropicales (Castellano y Molina, 1989; Brundrett *et al.*, 1996). Sin embargo, el hongo ECM que ha sido utilizado con mayor frecuencia en la preparación de dichos inoculantes comerciales, es *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch. Actualmente, existen diversas compañías internacionales que comercializan micelio de hongos ECM, esporas o una mezcla de

ambos. Independientemente de las limitaciones que pudiera tener la producción de inoculantes basados en micelio o esporas de hongos ECM, las ventajas que presentan, originan que esta biotecnología tenga un gran potencial de aplicación en México.

Un criterio, recomendado por Trappe (1977), al seleccionar las especies a emplearse como fuente de inóculo ECM, es la comestibilidad de las mismas. En México, se conocen más de 220 especies de hongos comestibles silvestres (Villarreal y Pérez-Moreno, 1989). Más de 100 de estas especies son objeto de autoconsumo, principalmente en la población rural del país; y más de diez de ellas, tienen un alto valor en los mercados internacionales en Estados Unidos de América, Canadá y diversos países europeos y del sureste asiático (Pérez Moreno y Ferrera-Cerrato, 1996).

Si se desarrollara un programa de inoculación con especies de hongos comestibles en las especies de árboles utilizadas en plantaciones o reforestaciones, se podría tener, previo a los aprovechamientos forestales, un producto forestal no maderable de alto valor alimenticio.

- **Factores que influyen en el desarrollo de las ectomicorrizas en vivero.**

La formación de las micorrizas está influenciado por diversos factores ambientales (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000), estos pueden afectar tanto a las raíces de los árboles como a los hongos que se asocian con los árboles para formar las estructuras micorrízicas (Pritchett, 1986). La intensidad de luz, la fertilidad del suelo reflejada en los niveles de potasio, fósforo, calcio y magnesio, la baja tasa de descomposición de materia orgánica, la relación Carbono/Nitrógeno), temperatura, humedad, textura, pH, y la presencia de algún elemento contaminante en el suelo, son algunos factores que pueden afectar positiva o negativamente el desarrollo de las micorrizas (López, 1990).

Resulta de gran importancia tener cuidado con los productos químicos que se utilicen ya que al suministrar un producto sin conocimiento daña el desarrollo y multiplicación del hongo. A continuación se mencionan algunos de los productos fungicidas utilizados según el Gobierno del Estado de México, SEDAGRO y Probosque, 2007:

Fungicidas Recomendados: Thiram (tersan), Zineb, Manzate (Dithane M-22, Mate), Cholorothalonil (Bravo, Daconil 2787), Captan (Orthothocide), Mancozeb (Dithane M- 45), Cuprocide.

Fungicidas NO Recomendados: Grupo Carboxinas, Grupo Benzamidazoles, Benlate, Tersán, Cercovin, Cloroneb, Derosal, Ridomil Golld, Alliete, Rizsolex, Banrot.

Se recomienda no administrar productos químicos 15 días antes de una aplicación de micorrizas; solamente se puede hacer después de un mes con productos recomendados.

3.6. Beneficios de las Micorrizas en la Restauración.

Muchos de los ecosistemas forestales han sido perturbados por diferentes razones, tales como; la obtención de madera, la actividad agrícola o pecuaria, estas actividades afectan seriamente la biodiversidad y el ciclaje de nutrimentos, la fertilidad del suelo declina, se deterioran las propiedades físicas y biológicas del suelo y ocurre una invasión de plantas oportunistas, estos son obstáculos que perjudican la regeneración del bosque. Cualquier perturbación que afecte a la planta y al suelo presupone una reacción fúngica, ya que la micorriza se considera una triple asociación de planta, hongo y suelo (Salas, 2009).

La utilización de las micorrizas genera una amplia gama de beneficios para la recuperación de áreas degradadas, debido principalmente a que se incrementa la

posibilidad de sobrevivencia de las plantas. Además, propician la formación de la microflora del suelo y cubierta vegetal, con lo cual se da un restablecimiento del equilibrio ecológico natural (Moncayo, 2004). Son mediadoras de muchas de las acciones e interacciones de la microflora y microfauna, que ocurren en el suelo alrededor de las raíces, por otro lado mejoran la agregación del suelo y además las hifas de absorción se asocian con la materia orgánica acelerando el proceso de mineralización (Blanco y Salas, 1997), de este modo el uso de planta micorrizada en áreas degradadas puede ser una alternativa en los programas de reforestación implementados para la recuperación de estas áreas.

En la recuperación de ecosistemas naturales degradados (entre ellos, los mediterráneos), se considera que las micorrizas son claves en estrategias destinadas a frenar la erosión y la desertificación, basadas en la revegetación con especies arbustivas autóctonas (Azcón y Barea, 1980). Para el caso de suelos contaminados con metales pesados, se ha comprobado que las plantas micorrizadas tienen un efecto benéfico, debido a que la planta tiene la capacidad de inmovilizar metales en la raíz reduciendo así su traslocación a la parte aérea de la planta y, en consecuencia, el flujo de metales a la cadena trófica (Moncayo, 2004). La utilización de plantas propagadas en vivero bien micorrizadas para la conservación y regeneración de suelos, es una alternativa que debe tomarse en cuenta para favorecer la supervivencia y adaptación de muchas especies a las condiciones típicas de áreas erosionadas, además se considera que es muy redituable (Ferrera-Cerrato y Pérez-Moreno, 1995).

Las plantas micorrizadas presentan un desarrollo muy superior a las no micorrizadas, en sus primeros años de vida. El número de muertes de plantas por causas abióticas o bióticas, tras ser colocadas en el campo, es muy bajo en estos casos.

La implantación de micorrizas en el sistema radical de las especies vegetales superiores, establece una interacción triple como consecuencia de la cual, se originan en el suelo una serie de procesos físicos, químicos y biológicos, que inciden finalmente en un mejor crecimiento de las plantas micorrizadas. Así, las raíces de las plantas exudan una serie de elementos que colonizan la rizosfera, induciendo una mayor facilidad para la micorrización de ciertos hongos. Una vez establecidas las micorrizas, controlan éstas los exudados radicales, realizando una absorción directa de nutrimentos del suelo a la planta simbiote (Rodríguez, 1989).

3.7. Pruebas de micorrización.

Existen algunos reportes acerca de la inducción a la micorrización en México, tanto a nivel de campo como de laboratorio. Por ejemplo *Pisolithus tinctorius* y *Laccaria laccata* se han cultivado en frascos de vidrio de 2 litros, conteniendo solución nutritiva de Melin y Norkrans (NMN) a pH de 5.5, en una mezcla de vermiculita y turba, en una proporción 1:14:10; o sea, 60:840:600 ml de solución (NMN), vermiculita y turba. La inoculación de los frascos se hace con discos miceliales del hongo. La incubación es a 28 °C durante 3 meses. Los dos hongos inoculados formaron ectomicorriza en las 8 especies probadas; destacándose el *Pinus pseudostrobus* Lindl., que tuvo un incremento en altura de 144% cuando se inoculó con *Pisolithus tinctorius*, y de 82% con *Laccaria laccata*, comparadas con las plántulas no inoculadas. *Pinus radiata* D. Don incremento su crecimiento 79% en presencia de *P. tinctorius* y en un 59% con *Laccaria laccata*. *Pinus teoconte* Schel. Et Cham.

En un estudio que se realizó para conocer cómo se comportaba una especie de encinos en la etapa de germinación cuando era inoculada, se obtuvieron los siguientes resultados. A los tres meses, la germinación fue del 62.5% con rebozuelo (*Cantharellus*

cibarius) y del 43.75% con trufa negra (*Tuber melanosporum*), mientras que la germinación en este tiempo de las plantas control (sin inocular), había sido del 8.33% (Arias y Gimeno, 1994). Sin embargo, esto depende de otros factores como la procedencia, y calidad de la semilla, elemento esencial en la reforestación. El crecimiento de la planta es tanto más vigoroso cuanto mayor es el grado de micorrización conseguido.

En España por ejemplo se han realizado estudios sobre micorrización dirigida y se trabaja con las especies *Boletus edulis*, *B. aereus*, *B. pinophilus*, *B. reticulatus* (*B. aestivalis*) y *B. fragans*. Actualmente existen parcelas experimentales de castaños, abetos rojos, pino negro, pino insigne, etc., micorrizadas con *Boletus*, obteniendo resultados positivos en el desarrollo y sobrevivencia de las plantas en campo (Morcillo, 2002).

Estudios realizados con *Pinus pátula* y *P. greggii*, mostraron que las plantas inoculadas con *Laccaria laccata* y *Suillus pseudobrevipens* presentaron un alto porcentaje de colonización micorrízica, obteniendo valores promedios altos con respecto a la altura, peso seco y diámetro del tallo en comparación con planta no micorrizada (Carrera y López-Ríos, 2007).

3.8. *Lactarius volemus* (Fr.) Fr.

El género *Lactarius* se ubica taxonómicamente en la división Basidiomycota, dentro de los Agaricomycetes, en la familia Russulaceae; este género comprende alrededor de 28 especies, destacando las más estimadas entre las comestibles, por ejemplo: *L. deliciosus*, *L. vellereus*, *L. salmonicolor*, *L. índigo* y *L. volemus*. En general son hongos que al cortarlos segregan un látex más o menos lechoso, las láminas son de inclinadas a ligeramente arqueadas o decurrentes, pero nunca bifurcadas.

Particularmente *L. volemus* (Fr.) Fr. (Figura 3), es una especie con píleo de hasta 15 cm de diámetro en la madurez, sub-globoso y pronto ligeramente aplanado; margen grueso, incurvado, liso (sin arrugas) y del mismo color que la cutícula, cutícula seca, mate, de color anaranjado cremoso a anaranjado-rojizo, algo aterciopelada, su himenio es denso, de color crema y con manchas marrón oscuras en las zonas dañadas, su estípite, puede llegar a medir alrededor de 10 cm de longitud, también es de color anaranjado, cilíndrico, atenuado hacia la base, de consistencia más dura que el píleo, al corte oscurece y vira a marrón; produce esporas de color blanco, su látex es muy abundante, blanco y dulce con un olor agradable. Es una especie muy apreciada por su comestibilidad.

Cuando en el ambiente hay un alto porcentaje de humedad, es uno de los más abundantes al finalizar agosto, hasta octubre y ocasionalmente se ha encontrado al inicio del mes de noviembre (Reyes, 2004).

Además de la importancia que tiene este hongo como comestible, es un hongo de relevancia ecológica, ya que es una especie simbiote que se asocia principalmente con especies de *Quercus*.



Figura 4. Cuerpos fructíferos de *Lactarius volemus* en bosque de encino.

3.9. *Pisollithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch.

Pisollithus a diferencia de *Lactarius* es un género del orden de los Boletales, de la familia Sclerodermales. Es un hongo que desarrolla cuerpos fructíferos de 5-30 cm de altura y hasta 20 cm de diámetro. Tienen forma redondeada de jóvenes pero luego se hacen claviformes, de color pardo negruzco y liso, con la superficie seca y lisa, a veces con abultamientos. Al madurar se abre por la parte superior, ya que el peridio, simple, se rompe en placas poligonales para dejar libres las esporas, las cuales maduran del exterior al interior haciéndolo pulverulento, formando una esporada pardo amarillenta. La base es estéril y aparece prolongada en un estípite que está unida al micelio del hongo, rizomorfos de color amarillento. Presenta un olor aromático al principio que después se va volviendo fuerte (Menéndez, 2007).

P. tinctorius es un hongo comestible en estadios juveniles, y además se utiliza en la elaboración de tintes de colores café brillante y negro (Lincoff, 1984). El mayor interés en esta especie se deriva de su éxito en la inoculación de plantas forestales en países de los cinco continentes. Las plantas con las que establece simbiosis ECM incluyen más de 20 géneros de gimnospermas y angiospermas con distribución mundial (García *et al.*, 2006).



Figura 5. Fructificación de *Pisollithus tinctorius*

Tomada de:

http://www.morelmushroomhunting.com/pisolithus_tinctorius.htm

La existencia natural de *P. tinctorius* ha sido confirmada en 33 países del mundo y en 38 estados de E.U.A. Este hongo se encuentra asociado con varias especies de árboles en viveros, áreas urbanas, bosques y áreas degradadas. Bajo condiciones naturales, se le ha encontrado en asociación con tres especies de *Betula*, dos especies de *Eucalyptus*, nueve especies de *Pinus* y ocho especies de *Quercus*; además con *Populus tremuloides*, *Pseudotsuga grandidentata* y *Salix humilis*.

P. tinctorius es una de las pocas especies ectomicorrízicas ecológicamente adaptadas a sitios adversos, con suelos empobrecidos o terrenos muy perturbados así como en suelos de alta acidez, o con altas concentraciones de metales pesados y resiste periodos de estrés por sequía (Baéz, 2011).

La aplicación de *P. tinctorius* a plantas de vivero incrementa significativamente la calidad de la planta, por su amplio espectro se asume que la micorrización con el hongo mencionado, es un instrumento necesario en el establecimiento de árboles en áreas erosionadas (Iglesias, 1986).

3.10. Indicadores de calidad de planta forestal.

Para asegurar buena supervivencia en la plantación, sólo las plantas saludables, con buen crecimiento, con el tamaño apropiado y con buen balance entre las biomásas aérea y subterránea son enviadas al sitio de plantación. Las plantas que no cubren tales características son eliminadas. El control de calidad de planta en el vivero se debe visualizar de dos formas: la primera para alcanzar ciertos estándares, morfológicos y fisiológicos, que denotan calidad; la segunda se relaciona con la especificación de tales estándares comprobados estadísticamente en campo.

La planta de calidad es aquella que posee ciertas propiedades morfológicas y fisiológicas que le permiten establecerse, crecer y desarrollarse vigorosamente en el sitio

de plantación (Rodríguez, 2008). Aquí la importancia de la ectomicorrización, ya que como se ha mencionado, esta práctica mejora la calidad de la planta. Debe señalarse que aunque algunos atributos son útiles en una diversidad de situaciones (altura y diámetro), otros son más específicos (por ejemplo crecimiento potencial de la raíz CPR).

Atributos morfológicos

Estos rasgos pueden ser observados rápidamente y medidos con facilidad, tales como la altura del tallo, el diámetro del cuello de la raíz, volumen de la raíz y peso seco de la raíz y el tallo, número de raíces laterales, biomasa subterránea y biomasa total, entre otras. Se espera que una o varias características morfológicas al término del ciclo productivo en el vivero, se correlacionen con supervivencia y crecimiento, tiempo después de establecida la plantación. Estas características se pueden ver reflejadas por ejemplo a mayor diámetro del cuello de la raíz se espera una mayor sobrevivencia y crecimiento en volumen, y mayor resistencia a daños por animales o por calor; a mayor altura se espera tener una planta que compita de mejor manera con hierbas y arbustos; si se tiene un sistema radical fibroso habrá una mayor exploración del suelo por agua y nutrientes; en cuanto a la relación altura/diámetro, si esta es baja se tendrá una mayor resistencia a desecación por viento, mayor supervivencia y crecimiento en sitios secos (Johnson y Cline, 1991).

Atributos fisiológicos.

Estos rasgos no pueden ser fácilmente observados y para ser medidos, se requiere de equipo y procedimientos de laboratorio. Contrariamente a las características morfológicas, los atributos fisiológicos cambian constantemente y algunas veces de manera dramática durante el proceso desde la cosecha hasta la plantación. Por lo tanto, cualquier medición de la calidad fisiológica es una condición instantánea relevante, por

sólo un breve tiempo. Algunos atributos fisiológicos comunes incluyen el potencial hídrico y la resistencia al frío por mencionar algunos.

Atributos de desempeño.

Estos rasgos pueden ser evaluados sólo si la planta es sometida a ciertas pruebas con protocolos predefinidos, y observando posteriormente cómo se comportan. Las pruebas de desempeño son de gran valía dado que permite evaluar e integrar a la vez un amplio espectro de rasgos morfológicos y fisiológicos.

Desafortunadamente, las pruebas de desempeño son muy laboriosas, consumen mucho tiempo y por tanto, son muy caras. Una de las más antiguas y más comúnmente utilizadas en la actualidad es el Crecimiento Potencial de la Raíz (CPR) (Ritchie *et al.*, 2010), aunque algunos autores se refieren a esta como un atributo fisiológico (Rodríguez, 2008), otras de estas pruebas son resistencia al estrés y dormancia de la yema.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del sitio de recolecta.

El sitio de recolecta de las especies en estudio se localiza en Rincón de Ugarte, municipio de Tejupilco de Hidalgo, ubicado en el SW del Estado de México, entre los paralelos 18°56'27'' de latitud norte y 100° 09'20.9'' de longitud oeste a 1 500 m s.n.m. (Figura 5).

La orografía del municipio es bastante accidentada, dando origen a diferentes formaciones cerriles y sierras como la Sierra de Pericones, cuya elevación más destacada es La Muñeca. Esta Sierra se prolonga hasta el Puerto de Salitre, donde se levanta la Sierra de Nanchititla o Cinacantla, para terminar en el margen del río Cutzamala (Reyes, 2006; Cardoso y Agallo; 2012).

Por el norte y con la misma dirección, desprendiéndose de la sierra de Temascaltepec, penetra con la Sierra de la Cumbre, el Cerro de Cacalotepec, El Cardosanto, Jumiltepec, El Fraile y La Rayuela, para ir a terminar al río Pungarancho. Se encuentran además desprendimientos como el de La Cantería, La Cadena, El Cerro del Venado, El Estanco, Piedra Grande y Jalpan, formando así dos valles fértiles; uno pequeño donde se encuentra la villa de Tejupilco y otro más grande donde se localiza el poblado de San Martín Luvianos; así mismo, hay cañadas como Los Arrayanes, Nanchititla y Piedra Grande, además podemos encontrar dos volcanes apagados, el Cerro Gordo y La Tinaja. La geología de la zona está compuesta principalmente de rocas metamórficas, específicamente esquistos. El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano (Reyes, 2006; Cardoso y Agallo; 2012).

En esta región se establece un bosque de encino compuesto principalmente por *Quercus hintinii*, *Q. magnoliifolia*, *Q. obtusata* y *Q. peduncularis*.

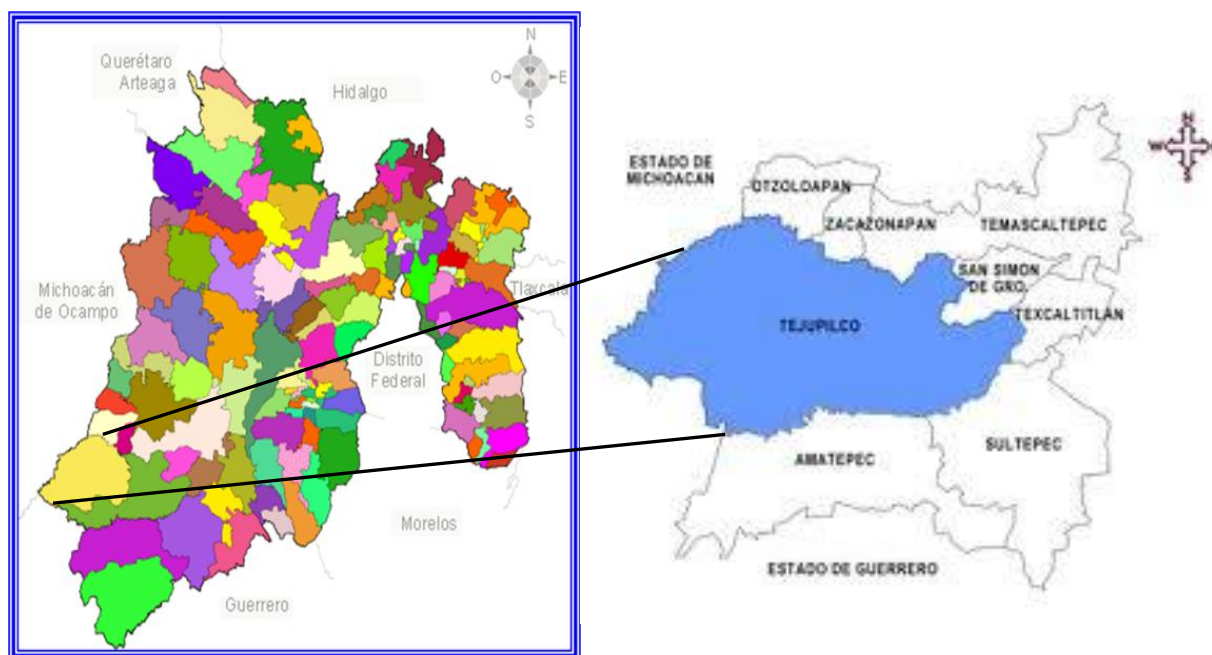


Figura 6. Localización de Tejupilco de Hidalgo dentro del Estado de México.

Recolecta de material biológico.

Se recolectaron aproximadamente 2 000 bellotas de *Q. hintonii* durante el período de fructificación de los encinos el 19 de septiembre del 2010. Se seleccionaron las bellotas maduras del suelo cercano a los árboles en fructificación. Se confirmó la madurez por medio de indicadores tales como el color del pericarpio y de los cotiledones, así como la separación entre la cúpula y la bellota, se seleccionaron los frutos sanos de los maduros por el método de flotación en agua (Bonner, 2003).

En esta misma fecha se recolectaron cuerpos fructíferos de *Lactarius volemus* del encinar de la zona de estudio, se eligieron los más cercanos a los encinos y los que estuvieran en mejores condiciones. Se guardaron en bolsas de papel, eliminando previamente restos de suelo y hojarasca.

Una vez en el laboratorio las bellotas y los carpóforos se almacenaron en refrigeración a 7°C, hasta su procesamiento.

Procesamiento de las muestras.

- Bellotas.

Las bellotas se almacenaron en refrigeración durante dos meses, en recipientes de plástico recubiertos internamente con toallas de papel absorbente y desecador Easy Dry[®], lo anterior con el fin de mantener la humedad relativa constante y así las bellotas se conserven en buen estado (Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo, 2009).

Para su uso se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 10% en tres repeticiones, y se lavaron con abundante agua destilada estéril, seguido a esto se escarificaron manualmente con ayuda de una lija de grano medio.

- Obtención del inóculo.

Para obtener el inóculo miceliar de *L. volemus*, se preparó el medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) BD Bioxon y se vertió en cajas petri de plástico estériles desechables los carpóforos fueron lavados con abundante agua destilada estéril. Se colocó un trozo pequeño del hongo dentro de la caja con medio (PDA) las cajas fueron selladas con Parafilm[®] M Barrier Film, e incubadas en una estufa a 23°C, durante siete días (Figura 7b) (Gastón *et al.*, 1983).

El inóculo esporal de *P. tinctorious* fue el PHC[®] ECTO-RHYZA (Figura 6a), el cual es un inoculante comercial ectomicorrízico y biofungicida para coníferas, nogal y encino, formulado con esporas vivas de *P. tinctorius* 250 millones de ufc/g y hongos antagonistas *Trichoderma harzianum* cepa T-22 (KRL-AG2) 5×10^4 unidades formadoras de colonias/g.

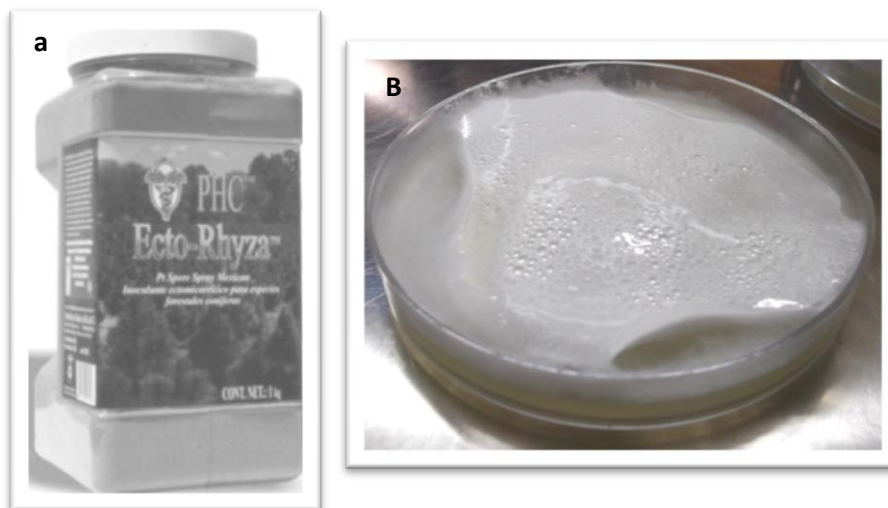


Figura 7. Inóculos a) *Pisollithus tinctorius*, presentación del inóculo comercial. b) Inoculo micelial puro de *Lactarius volemus*.

Establecimiento del experimento.

La siembra se efectuó el 9 de diciembre de 2010, se utilizaron contenedores tipo tubete de plástico negro de 220 mm de capacidad (lavados con abundante jabón y agua), con 54 cavidades de las cuales solamente se utilizaron 30, se colocó una bellota por cavidad. El sustrato consistió de 40% de turba de musgo KEKKILA[®], 42% de vermiculita INSULEX[®] y 18% de agrolita, además de 800 g. de fertilizante de liberación controlada OSMOCOTE 15-9-12[®] (Rodríguez, 2008). En total se prepararon 175 L de sustrato, para 750 tubetes.

Se emplearon 115 cajas petri de la cepa de *L. volemus*, las cuales se mezclaron con 70 lt de sustrato para llenar 250 tubetes, posteriormente se realizó la siembra, en el caso del inóculo esporal de *P. tinctorius* los contenedores fueron llenados con el sustrato y regados con una solución de 5 g de polvo esporal en 3 L de agua a capacidad de campo. Después de tres meses se realizó una segunda inoculación. Para *P. tinctorius* se siguió el mismo procedimiento, sin embargo para *L. volemus* se batió el micelio en una licuadora y se mezcló con agua para su aplicación por riego a capacidad de campo,

directamente sobre el sustrato dentro de los tubetes. El experimento se mantuvo en el invernadero de la UACh ubicado entre los paralelos 19°29'23.08''N y 98°52'18.68''O a una altitud de 2 278 m snm durante 11 meses a partir del 9 de diciembre del año 2010. Los riegos se realizaron por aspersión, la fertilización se aplicó con una regadera manual de metal galvanizada limpia, los datos de los fertilizantes empleados se muestran en los Cuadros 1a y 1b. Las plántulas estuvieron en el invernadero durante ocho meses, posteriormente se sacaron al aire libre para su lignificación.

Cuadro 1a. Datos de fertilización aplicada durante el experimento.

Fertilizante	Cantidad utilizada (g)	Tiempo de aplicación	p.p.m		
			N	P	K
Petters 20-10-20 [®] Crecimiento rápido	18.75	De marzo a julio de 2011	375	32.25	124.5
Petters 4-25-35 [®] Finalizador	12.9	De agosto a noviembre de 2011	20	55	150

Cuadro 1b. Formulación de etiqueta de los fertilizantes aplicados. Los datos se muestran en porcentajes.

Fertilizante	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Mg	B	Cu (%)	He	Mn	Mo	Zn
Petters 20-10-20 [®]	20	10	20	0.15	0.02	0.01	0.10	0.05	0.01	0.01
Petters 4-25-35 [®]	4	25	35	0.3	0.02	0.06	0.40	0.06	0.005	0.06

Diseño experimental y análisis estadístico.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar, el cual permite controlar los criterios de variabilidad, con los siguientes tratamientos:

- 1) Control: sin inoculación de cepas de hongos y con fertilización química, dos veces por semana.
- 2) Inoculación con *P. tinctorius* y fertilización dos veces por semana.

- 3) Inoculación con *P. tinctorius* y fertilización una vez por semana.
- 4) Inoculación con *L. volemus*. y fertilización dos veces por semana.
- 5) Inoculación con *L. volemus*. y fertilización una vez por semana.

Se establecieron cinco bloques que contenían a cada uno de los cinco tratamientos (unidades experimentales), cada bloque consistió de 30 plántulas por tratamiento, dando 150 por bloque y un total de 750 plantas.

Se realizó un análisis de varianza para los datos tomados en cada una de las variables consideradas, realizando las comparaciones de medias con el método de diferencia mínima significativa (DMS) con un $\alpha=0.1$, esto para aquellos tratamientos que resultaron con significancia estadística. Para obtener dichos datos se utilizó el programa estadístico SAS System for Windows 9.0.

Cosecha y variables evaluadas.

Las plantas de todos los tratamientos fueron retiradas del vivero el día 14 de noviembre de 2011, once meses después de haber sido establecido el experimento, se llevaron al laboratorio de semillas de la División de Ciencias Forestales en la UACh, para su análisis, se realizaron las mediciones para indicadores morfológicos de calidad, crecimiento potencial de raíz (CPR) y potencial hídrico.

Se utilizaron cinco plantas para la medición de variables, una por bloque, seleccionadas al azar. Las variables evaluadas y el procedimiento utilizado para indicadores de calidad se realizaron el 14 de noviembre de 2011, los cuales se describen a continuación:

Altura (cm): Se obtuvo por medición directa desde la base del tallo a la yema apical, utilizando un Vernier electrónico digital TRUPER ® con precisión de un milímetro.

Diámetro (mm): Esta medición se obtuvo utilizando un Vernier electrónico digital TRUPER[®] en la base del tallo.

Peso seco radical y aéreo (g). Estos pesos se obtuvieron de plantas deshidratadas en estufa a una temperatura de 70°C, durante tres días, hasta registrar un peso constante. La planta se seccionó a la altura del cuello de la raíz a fin de obtener valores separados de la parte aérea y radical, se pesaron en una balanza electrónica ScoutPro de 200 g.

Índice de calidad de planta de Dickson (QI). Es la combinación entre la relación parte aérea-raíz (expresada en peso seco) y el índice de esbeltez que relaciona la altura (en cm) y el diámetro en (mm) de las plantas; de modo que el índice de Dickson se expresa y se obtiene de la siguiente manera (Landis, 2010):

$$QI = \frac{PST}{\frac{A}{D} + \frac{PSA}{PSR}}$$

Donde:

PST: peso seco total de la planta (g)

PSA: peso seco de la parte aérea de la planta (g)

PSR: Peso seco del aparte radical de la planta (g)

A: Altura (cm)

D: Diámetro (mm)

Es importante señalar que mientras más cercano sea su valor a la unidad, mayor es la calidad de la plántula.

$$\text{Índice de esbeltez} = \frac{A}{D}$$

A: altura de la planta (cm).

D: diámetro a nivel del cuello de la raíz en (mm).

$$\text{Relación biomasa aérea/biomasa subterránea} = \frac{PSA}{PSR}$$

PSA: peso anhidro de la parte aérea (g).

PSR: peso anhidro de la parte subterránea (g).

$$\text{Peso relativo de la raíz} = \frac{PSR}{PST}$$

PSR: peso anhidro de la parte subterránea (g).

PST: peso anhidro de toda la planta (g).

$$\text{Peso relativo de la parte aérea} = \frac{PSA}{PST}$$

PSA: peso anhidro de la parte aérea (g).

PST: peso anhidro de toda la planta (g).

Crecimiento potencial de la raíz (CPR).

Para la realización de esta prueba, se estableció un pequeño diseño experimental en bloques completos al azar. Fueron seleccionadas 15 plantas al azar de cada tratamiento, cuidando mantener completo el cepellón, se trasplantaron en macetas de 2 Kg. de capacidad, las cuales contenían sustrato a base de turba de musgo KEKKILA[®], vermiculita INSULEX[®] y arena esterilizada en proporción 1:1:1, en cada maceta se colocaron 5 plantas, quedando cada tratamiento con tres repeticiones, las macetas se mantuvieron en el invernadero de la División de Ciencias Forestales a partir del día 23 de noviembre de 2011, con riegos de agua corriente tres veces por semana. Tres semanas después, las plantas fueron extraídas de las macetas, se contaron el número de raíces mayores a un centímetro, comparando los resultados con la escala de índice de crecimiento de raíz, desarrollada por Tanaka *et al.* (1997) (Landis, 2010). Los datos fueron analizados por el programa estadístico SAS System for Windows 9.0 y se realizó

una correlación entre el tamaño de las plantas y el número de raíces nuevas que estas producían.

Potencial hídrico.

El día 4 de diciembre de 2011, después de un año de crecimiento, fueron seleccionadas al azar 12 plantas por cada tratamiento, ese mismo día se regaron por última vez. Se realizaron tres lecturas con la cámara de presión tipo Scholander, la primera un día después de haber sido regadas, la segunda a los tres días y la última, pasando cinco días. En cada lectura se utilizaron cuatro plantas por tratamiento.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo, se presentan tomando en cuenta la reacción de las variables de respuesta. Las variables medidas mostraron diferencias significativas con un $\alpha=0.1$ entre los distintos tratamientos de micorrización (Cuadros 2, 3, 4 y 5), sin embargo la fertilización no mostro efectos.

Supervivencia

Se obtuvo un 70% en supervivencia, el resto principalmente se perdió debido a estrés por calor que sufrió la planta al cuarto mes de establecido el experimento. Sin embargo esto permitió observar el efecto de los distintos tratamientos evaluados ante el estrés térmico en vivero, para los tratamientos 2 y 3 hubo mayor supervivencia (33%), seguidos por el 4 y el 5 (28%), siendo el testigo el más afectado con una supervivencia del 9%. Sin embargo estadísticamente con un $\alpha=0.1$ no se muestra diferencia significativa entre los tratamientos inoculados con ninguno de los hongos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias para la supervivencia resultante en cada tratamiento. Diferencia mínima significativa con un $\alpha=0.1$. Valores con la misma letra no tienen significancia.

Tratamiento	Supervivencia
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización normal	82.6 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización reducida	81.3 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización reducida	72 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización normal	69 ab
Control	45.3 b

La supervivencia final del número de plantas pudo verse afectada, por diversos factores, el estrés térmico como pudimos observar fue uno de los eventos que causaron

pérdidas; por otra parte, en la etapa final de lignificación de la planta, se comenzó a observar mortalidad, descartando estrés térmico y otros factores de tipo abiótico, se realizó un aislamiento en laboratorio, a partir de pequeños trozos de raíces tomados de las plantas afectadas, del cual se obtuvo *Fusarium sp.*, de este modo se procedió a la aplicación de Promyl 50 P.H., fungicida sistémico, ligeramente tóxico, compuesto de Benomilo, el cual terminó de manera eficaz con el problema, evitando mayor presencia de la enfermedad; sin embargo.

Fungicidas tales como el Benomilo, algunos insecticidas como Diazinon y herbicidas como Alaclor; pueden disminuir la infección micorrízica en plantas cuando se emplean como plaguicidas (Douds, 2010), aunque ninguno de éstos la elimina totalmente, de este modo se cree que las estructuras micorrízicas si son afectadas por este tipo de compuestos, principalmente el benomilo, ya que no se pudieron observar estructuras micorrízicas en las plántulas, pero esto no impidió que la micorrización mostrara efectos sobre las variables medidas en la planta.

En *L. volemus* el estudio sobre este tipo de problemas es nulo, no se han realizado investigaciones que prueben la afectación de la micorrización por parte de compuestos químicos. Sin embargo, para *P. tinctorius* que es una especie ampliamente utilizada en este tipo de prácticas de inoculación micorrízica, ya se han realizado trabajos que prueban el efecto que pueden tener los fungicidas tales como Zineb-80 y el Captán-50, los cuales parecen ser no tóxicos para este hongo (Iglesias, 1986). La ficha técnica del inoculo comercial utilizado en este trabajo indica que el uso de ciertos fungicidas pueden tener un efecto negativo en sus programas de inoculación, por lo que recomiendan algunos para su aplicación en plantas inoculadas con este producto, el benomilo no es de los productos que se recomienden, pero tampoco de los no

recomendados, sin embargo es importante utilizar los fungicidas que se señalan como recomendados, para que así no existan probabilidades de pérdidas por el uso inadecuado de fungicidas (PHC, 2012).

Díaz *et al.* (2003) determinaron el efecto de distintos fungicidas y herbicidas, aplicados en los viveros forestales, sobre el crecimiento micelial de distintas cepas de dos hongos ectomicorrízicos: *Lactarius deliciosus* y *Pisolithus tinctorius*. Fungicidas como hymexazol o iprodiona presentaban un gran efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las distintas cepas fúngicas. Benomyl, captán y thiram, frecuentemente utilizados en todo tipo de cultivos, reducían el crecimiento micelial de estos hongos para concentraciones por encima de 100 µg/g. En contraste, los herbicidas: glifosato, simazina y hexacinona, producían poco o ningún efecto sobre el desarrollo de los hongos, e incluso podían estimular el crecimiento de *Lactarius deliciosus*.

En este apartado es importante también tratar acerca de las dosis y el tipo de inóculo utilizado, ya que tal vez pudieron ser otros de los factores que impidieron el desarrollo de estructuras micorrízicas. La dosis a la que se aplique el inóculo fúngico también resultará determinante para la obtención de planta micorrizada con un nivel aceptable de colonización radical. Además, debe conseguirse una dosis de aplicación no demasiado alta, para que su utilización sea económicamente factible (Pera *et al.*, 1994). Esta dosificación debe determinarse experimentalmente para las distintas combinaciones planta-hongo, sin olvidar que las condiciones del vivero tales como: sustrato, riego y/o fertilización, tienen también un importante papel en la micorrización de las plantas.

La formulación del inóculo aplicado influye en la efectividad de la inoculación controlada de las plantas de vivero. Así, utilizando tres tipos de inóculo del hongo ectomicorrízico *P. tinctorius*: micelio crecido en un sustrato de turba y vermiculita

suplementado con medio nutritivo, micelio del hongo encapsulado en un polímero de alginato, y basidiosporas obtenidas de carpóforos recolectados en campo, para la micorrización de *Pinus pinaster* y *Pseudotsuga menziesii* en contenedor (Pera *et al.*, 1994), se demostró que con la aplicación de micelio crecido en sustrato se conseguía micorrizar el 80% de las plantas de *Pinus pinaster* inoculadas, mientras que era totalmente inefectivo para *Pseudotsuga menziesii*; con la encapsulación del micelio del mismo hongo en gel de alginato no se obtuvo ninguna planta micorrizada con ninguna de las dos especies arbóreas; finalmente, la introducción de basidiosporas de *P. tinctorius* en el sustrato de cultivo fue el método de inoculación que permitió la micorrización de ambas especies vegetales.

En este trabajo se utilizó un inoculo esporal de *P. tinctorius*, que aunque fue un producto comercial, relacionando con resultados previos ya mencionados, el inóculo que muestra mejor efectividad en distintas especies forestales, es el inoculo esporal, el cual pudo micorrizar a *Q. hintonii*, aunque no de una manera tan efectiva como *L. volemus*, pero si mejorando la calidad de las plantas en comparación de las no inoculadas (Pérez-Moreno *et al.* 2004).

González-Ochoa *et al.* (2003) inocularon especies de *Pinus*, en vivero, aplicando inóculos, ya fuera en suspensiones esporales o en forma de micelio, de *P. tinctorius*, *Lactarius deliciosus* y *L. sanguifluus*, en dos tipos distintos de sustrato para el crecimiento de las plantas: corteza de pino compostada, o turba-vermiculita fertilizada. Los resultados apuntaban diferencias significativas entre ambos tipos de sustrato, siendo, en general, la turba-vermiculita fertilizada, fue el sustrato en el que se obtenían los mejores resultados. Adicionalmente, se demostraba que el nivel de micorrización obtenido dependía claramente de la especie fúngica inoculada y, para cada especie, del

tipo de inóculo utilizado, misma situación presentada en este trabajo, reflejado en las variables respuesta medidas, ya que las plantas inoculadas con micelio de *L. volemus* mostraron mejores parámetros de calidad (Cuadro 4), mientras que las inoculadas con esporas de *P. tinctorius*, muestran valores más bajos, mostrando diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos.

Cuadro 3. Comparación de medias para variables medidas en *Q. hintonii*. En cada fila los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.1$).

Tratamientos	<i>Q. hintonii</i> no inoculado	<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i>		<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i>	
	Fertilización normal Tratamiento 1	Fertilización normal Tratamiento 2	Fertilización reducida Tratamiento 3	Fertilización normal Tratamiento 4	Fertilización reducida Tratamiento 5
VARIABLES					
Peso total (g)	1.35 b	2.95 a	3.02 a	2.19 b	2.40 b
Parte aérea					
Altura (cm)	8.68 b	11.55 a	10.81 a	10.29 ba	10.41 ba
Diámetro (mm)	5.12 a	5.40 a	5.40 a	4.98 a	5.39 a
Peso seco (g)	0.66 b	1.32 a	1.35 a	0.94 ba	0.95 ba
Peso relativo (g)	0.36 b	0.44 a	0.44 a	0.43 ba	0.39 b
Parte subterránea (raíz)					
Peso seco (g)	0.68 b	1.63 c	1.67 c	1.25 a	1.45 a
Peso relativo (g)	0.50 b	0.55 b	0.55 b	0.56 ba	0.61 a
Índices					
QI	0.50 c	1.00 b	1.05 b	0.81 a	0.93 b
Índice de esbeltez	1.69 b	2.13 a	2.00 a	2.00 a	1.93 a
Relación biomasa aérea/biomasa subterránea	1.00 a	0.81 ba	0.81 ba	0.75 ba	0.65 b

Indicadores de calidad de planta forestal

En general las plantas micorrizadas con *L. volemus*, presentaron diferencias significativas con un $\alpha=0.1$, para las variables medidas, entre tratamientos, a excepción del diámetro al cuello de la raíz y el índice de esbeltez, con respecto a las inoculadas con *P. tinctorius*. Resulta importante resaltar, que los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos con fertilización normal y fertilización

reducida, Rey-Benayas *et al.* (2003), menciona que las especies de *Quercus* tienen una respuesta menos aparente a los tratamientos de fertilización que las coníferas, caso que podemos observar en este trabajo.

Los caracteres morfológicos de naturaleza cuantitativa que habitualmente son empleados en el control de calidad de los lotes de plantas o en estudios científicos, son el tamaño de la planta o alguna de sus partes y la proporción entre ellas.

Como se observa en los resultados (Cuadro 4), el mayor crecimiento en altura se presenta por *L. volemus*, habiendo diferencias significativas entre las plantas inoculadas con *P. tinctorius* y las no inoculadas, las más pequeñas fueron las no inoculadas, lo cual puede explicarse en términos de la micorrización, ya que la asociación simbiótica, es importante en el incremento de la absorción de fósforo y otros nutrimentos. Este aumento en la absorción es debido generalmente a un crecimiento del área de absorción de la raíz, como respuesta a la micorrización (Roussaeu *et al.*, 1994).

Se ha determinado que existe correlación entre la altura al momento de la plantación, la supervivencia y el crecimiento uno o más años después en varias especies. Además la planta muy grande en algunos viveros, independientemente de la especie que se trabaje, es eliminada, ya que representa mayor dificultad para ser plantada, es más susceptible a sufrir daños mecánicos y su relación entre biomasa aérea y subterránea está fuera de balance (Ritchie y Landis, 1984).

La altura de la parte aérea y el diámetro en el cuello de la raíz, junto con los caracteres cualitativos, son atributos considerados en la delimitación de la calidad de algunas especies forestales. En el caso de algunas especies de encino, con hasta un año de edad, se menciona que la altura adecuada para considerar a la planta de calidad, deberá ser entre 6 y 30 cm y además un diámetro de al menos 2 mm (Peñuelas y Ocaña,

2000), en este caso se obtuvo para las plantas inoculadas con *L. volemus* los valores más altos son entre 10 y casi los 12 cm, y en las inoculadas con *P. tinctorius* las alturas no rebasaron los 10.4 cm; sin embargo los diámetros obtenidos en todos los tratamientos, no fueron menores a 0.5 mm, comparando estos resultados con lo reportado en la literatura, están dentro de los parámetros de calidad.

Existe una tendencia general entre los profesionales de la restauración forestal a recurrir a plantas más bien pequeñas, rechazando en lo posible las muy grandes. El razonamiento en el que se basa dicho criterio es que una vez trasplantada, el brinjal pequeño tenderá a gastar menos agua que el que tiene una parte aérea mayor. Además, la proporción entre la biomasa de la parte aérea y la radical de las plantas más pequeñas suele ser menor que el de las plantas con partes aéreas más grandes (Thompson, 1985).

Esta característica, que habitualmente se considera que puede contribuir a mejorar la economía hídrica de la planta y, por lo tanto, su capacidad de supervivencia y crecimiento en ambientes secos, también contribuye a que este tipo de planta sea preferida en los trabajos de restauración (Rey-Benayas *et al.*, 2003). Si tomamos en cuenta esta información, según los resultados obtenidos en este trabajo, las plantas con mayor calidad, resultarían ser las inoculadas con *P. tinctorius*, puesto que es la planta con el valor de biomasa aérea/biomasa subterránea más bajo, en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 4); sin embargo es de gran importancia señalar que este valor por sí solo no es del todo útil, se debe tomar en cuenta también el sistema radical de la planta (Rodríguez, 2008), los resultados de este trabajo indican que el mejor sistema radical es el de las plantas inoculadas con *L. volemus*.

En general, las relaciones entre el desarrollo de las plantaciones y el tamaño de las plantas son más intensas si se utilizan el diámetro y el peso seco de la parte aérea

como variables independientes que cuando se emplea la altura. Ello es debido a que tanto el peso seco como el diámetro definen mejor el tamaño de la parte aérea que la altura. Cuando se afirma que una planta tiene una parte aérea grande, se está haciendo referencia a que posee una gran masa, es decir, tallos gruesos y abundante follaje. Aunque habitualmente existe una buena correlación entre la altura y la masa de la parte aérea, pueden existir situaciones en que una planta sea alta pero su parte aérea no sea “grande”. Es lo que ocurre con las plantas que son cultivadas a la sombra o a densidades elevadas (Birchler *et al.*, 1998).

En ambos casos, las partes aéreas se elongan mucho pero se ramifican poco, los tallos son delgados y, en términos relativos, suelen poseer menos follaje. Por ello, a la hora de elegir un lote de plantas, conviene que se referencie su altura con el diámetro de su tallo, esto es el índice de esbeltez.

En algunas investigaciones se observa que las plantas que presentan índices de esbeltez intermedios presentan los mayores crecimientos en campo, mientras que tanto las plantas “achaparradas” como las muy “ahiladas” (índices de esbeltez bajos y altos, respectivamente) presentan un menor desarrollo (Gil y Pardos, 1997). Las relaciones positivas entre el tamaño de la parte aérea y el desarrollo de las plantas en campo también ocurren con el tamaño del sistema radical (Dey y Parker, 1997; Mattsson, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000). Este es un indicador de la densidad de cultivo. Es un parámetro importante en las plantas en contenedor, donde se pueden desarrollar plantas ahiladas (Thompson, 1985).

En *Pinus halepensis* este cociente se encuentra entre 1.5 y 2.2, y en *Quercus ilex* entre 0.7 y 1.0 (Domínguez *et al.*, 1997). En nuestro caso *Quercus hintonii* se encuentra dentro del parámetro encontrado en *P. halepensis*, y tomamos en cuenta el registrado

para especies de encino, los datos obtenidos en este trabajo están fuera del parámetro y tendríamos que hablar de plantas ahiladas, sin embargo este no fue el caso, las plantas mejor dicho, se observaron achaparradas, lo cual podría ser explicado por Landis (1990), quien indica que el tamaño del contenedor significa volumen y el concepto de tamaño incluye también dimensiones tales como: altura diámetro y forma. El volumen de la cavidad es una de las más obvias e importantes características de un contenedor porque, en general, tanto más grande sea el contenedor, más grande será la planta que pueda ser producida en él.

La relación biomasa aérea/ biomasa subterránea, mostro valores no mayores a uno y no menores a 0.6 entre los tratamientos, este proporciona un indicador del “balance” de la planta. Cuando la relación es “1”, el tamaño de la masa radical es igual al tamaño de la masa del tallo. Sin embargo, comúnmente la relación es mayor a 1, dado que el tamaño del tallo con frecuencia supera al sistema radical. Un índice de relación menor a 2.5 es el valor comúnmente considerado como el más deseable, pero se debe tomar en cuenta la especie de la que se esté hablando, por ejemplo, algunas especies de *Quercus sp.* tienden a mostrar valores inferiores a 0.8 (Murias, 1998) y otras especies de *Pinus* suelen ser mayores a 1, mientras que el de otras leñosas muestran valores de hasta 2 (Domínguez *et al.*, 2001), en esta investigación se obtuvo un valor de 0.81 en las plantas inoculadas con *L. volemus*, de tal modo que estas plantas, con este tipo de inoculación tendrían una mejor respuesta al trasplante en campo.

El índice de calidad de Dickson es una medida integral del vigor de la planta, empleado para predecir el comportamiento en campo de las especies forestales, principalmente de coníferas (Birchler *et al.*, 1998), los resultados muestran que existen una diferencia entre los tratamientos con micorriza, favoreciendo a las plantas

inoculadas con *L. volemus*, que presentaron un valor de 1, sin embargo, los valores obtenidos con *P. tinctorius* no son desfavorables ya que son cercanos a la unidad con 0.8 y hasta 0.9; mostrándose así el beneficio de la micorrización ya que las plantas no inoculadas muestran valores bajos de 0.5, es importante señalar que mientras más cercano sea el valor a la unidad, mayor es la calidad de planta (Mohedano-Caballero, 1999), de este modo se espera que las plantas con valores de 1, puedan ser la más vigorosas en campo.

Se observo una disminución significativa en los pesos secos para las plantas inoculadas con *P. tinctorius* y las no inoculadas, expresado en una menor producción de biomasa para las plantas mencionadas, Baéz-Pérez *et al.* (2010) encontraron que en *Fraxinus uhdei*, los pesos secos se ven favorecidos para las plantas inoculadas con *P. tinctorius* y no fertilizadas, en este caso no se obtuvo diferencia entre los tratamientos con baja y normal fertilización, pero si entre inoculantes.

Los pesos secos también fueron tomados por separado, la parte aérea de la parte radicular, los valores de peso seco de la parte radicular, fueron mayores que los de la parte aérea, lo que sugiere una mayor demanda de reservas para el crecimiento hacia el sistema radical, que hacia el follaje, como efecto de la micorrización, habiendo diferencias significativas entre los tratamientos, siendo las plantas inoculadas con *L. volemus* las que presentaron los pesos mayores. Mientras que las inoculadas con *P. tinctorius* tenían un sistema radicular pobre, poco modificado y deficiente en raíces absorbentes, estando menos presente en las plantas no inoculadas, es importante mencionar que el éxito de las reforestaciones depende de la capacidad de las plantas para almacenar reservas inmediatamente, que le servirán en la siguiente estación; el crecimiento inmediato de la raíz le asegura un espacio de vida (Perry *et al.*, 1987).

En todos los casos, los pesos relativos resultaron ser mayores en la parte subterránea, sin embargo los valores más altos son para las plantas inoculadas con *L. volemus*, donde nuevamente se observa y se confirma el efecto de la micorrización en el sistema radicular.

Crecimiento potencial de raíz

El mayor número de raíces nuevas mayores a 1 cm de longitud, se observó en las plantas inoculadas con *L. volemus*. Respecto, al índice de Tanaka, fue superior en el mismo tratamiento, aunque sin diferencias con las plantas con inoculo comercial y fertilización reducida (Cuadro 5).

Cuadro 4. Comparación de medias para variables medidas en CPR. Los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.1$).

Tratamientos	<i>Q. hintonii</i> no inoculado	<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i>		<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tintorius</i>	
	Fertilización normal Tratamiento 1	Fertilización normal Tratamiento 2	Fertilización reducida Tratamiento 3	Fertilización normal Tratamiento 4	Fertilización reducida Tratamiento 5
VARIABLES					
Raíces nuevas mayores a 1 cm	6.93 c	17.93 a	19.46 a	10 b	14.86 b
Índice de Tanaka	3 b	4 a	4 a	3 b	4 a

Los datos obtenidos por la regresión lineal, no muestran ninguna correlación entre el tamaño de la planta (altura y diámetro) y el número de raíces nuevas, ya que en todos los tratamientos el valor de R^2 es menor a 0.2 (Cuadro 6).

Cuadro 5. Valor de R^2 para cada tratamiento. Correlación medida entre el número de raíces nuevas y el tamaño de la planta.

Tratamiento	Número de raíces nuevas- Altura	Número de raíces nuevas-Diámetro
Testigo	0.02	0.00
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización normal	0.15	0.20
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización reducida	0.00	0.22
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización normal	0.20	0.05
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización reducida	0.09	0.05

Considerado como un atributo de respuesta o de desempeño, el CPR a menudo presenta una buena correlación con el desarrollo de las plantas en campo, especialmente en condiciones limitantes (Simpson, 1990; Mattson, 1991; Simpson et al., 1994; Simpson y Ritchie, 1997).

Es uno de los atributos de calidad de planta más extendidos en la caracterización del potencial de respuesta de un lote de planta destinado a reforestación. No obstante, su determinación no está estandarizada por especies, por lo que, según las condiciones de realización del mismo, los resultados pueden ser variables para un mismo lote de planta (Del Campo et al., 2008), en este caso los resultados variaron de acuerdo a la especie ectomicorrízica utilizada, ya que los resultados más favorables fueron para las plantas inoculadas con *L. volemus*, con el índice más alto que es de 4.

Las correlaciones no mostraron ninguna relación entre el tamaño de la planta y el número de raíces nuevas mayores a 1 cm, lo que difiere en estudios realizados con otras especies como *Pistacea lenticulus*, donde se muestra que si existe esta correlación, en el mismo trabajo se señala que para *Q. coccifera*, no existe una correlación entre estas

variables (Trubatt *et al.*, 2004), concordando con los resultados observados en este trabajo.

Potencial hídrico

Los valores obtenidos en estas lecturas no mostraron el patrón esperado, se esperaba que el día 1 se tuviera el valor más bajo, sin embargo no se obtuvo tal resultado en ninguno de los tratamientos (Cuadro 7).

Cuadro 6. Comparación de medias para las lecturas realizadas en *Q. hintonii*. En cada columna los tratamientos con la misma letra no son significativamente diferentes ($\alpha=0.1$). Los datos obtenidos en esta prueba, no mostraron diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos ni en ninguno de los días.

	Día 1	Día 2	Día 3
TRATAMIENTO			
Testigo	10.62 a	8.50 a	10 a
No inoculado			
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización normal	9.12 a	8.87 a	9.50 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>L. volemus</i> , fertilización reducida	10.62 a	8.87 a	13.62 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización normal	12.25 a	8.25 a	10.62 a
<i>Q. hintonii</i> inoculado con <i>P. tinctorius</i> , fertilización reducida	8.6 a	10.37 a	11.37 a

Los valores obtenidos no mostraron significancia entre los tratamientos, además las plantas no tuvieron la respuesta esperada, esto puede explicarse analizando el comportamiento natural de *Q. hintonii*, ya que es una especie que de algún modo se ha adaptado a vivir en condiciones de estrés hídrico, en determinadas estaciones del año, por lo que para esta prueba, retardo la respuesta a la falta de agua.

6. CONCLUSIONES

- La inoculación con ectomicorrizas favorece la supervivencia de *Q. hintonii*, independientemente de la especie fúngica utilizada, sin embargo los resultados en parámetros de calidad y desarrollo de la planta no son los mismos. *Quercus hintonii* puede ser utilizada en vivero, con resultados exitosos y parámetros de calidad de planta forestal aceptables, por tanto puede incluirse a la especie en programas de reforestación y en la recuperación de estos ecosistemas.
- La inoculación con *Lactarius volemus*, favorece un mayor desarrollo en altura para la planta, el crecimiento potencial de raíz es mayormente inducido por este hongo, así como el índice de Dickson, que es una medida importante, como predictor de el comportamiento en campo de las plantas.
- La fertilización no afecta el desarrollo, ni los efectos de la ectomicorrización sobre *Q. hintonii*.
- *Pisolithus tinctorius* no fue el mejor inoculante con respecto a *Lactarius volemus*, sin embargo en comparación con las plantas no inoculadas, resulta ser una buena opción.
- El conocimiento de la correcta combinación hongo-planta, permite mejores resultados en la producción de planta, tomando en cuenta la inoculación ectomicorrízica como una herramienta para el mejoramiento de la producción forestal y su supervivencia en campo.

7. RECOMENDACIONES

- Establecer viveros para propagar a *Q. hintonii* cerca de su hábitat, para garantizar mejor crecimiento, calidad y supervivencia de las plantas.
- Emplear en para reforestar estos ecosistemas planta e inóculos nativos, ya que son los más indicados.
- Continuar con este tipo de estudios, ya que México es poseedor de una gran diversidad de encinos y de hongos micorrízicos, y así poder medir su supervivencia en condiciones de campo.

8. LITERATURA CITADA

- Allen, M. 1993. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press. Cambridge, England. 253 pp.
- Aguilar, E. L. & Romero, R. S. 1995. Estudio taxonómico de cuatro especies descritas por Warbug. *Acta Botánica Mexicana* 31:63-71.
- Arizaga, S., Martínez, C. J., Salcedo, C. M. & Bello, G. M. A. 2009. Manual de la biodiversidad de encinos michoacanos. Primera edición. SEMARNAT. INE-SEMARNAT. México, D.F. p. 12-20.
- Baéz, P. A. L. 2011. Efecto de la simbiosis *Pisolithus tinctorius*-*Fraxinus uhdei* bajo tres fuentes de nitrógeno (NO_3^- , NH_4^+ y urea) sobre el desarrollo de la planta y los agregados del suelo. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Morelia, Michoacán.
- Baéz- Pérez, A. L., Sánchez-Yáñez, J. M. & Villegas, H. J. 2010. Efecto de la simbiosis *Pisolithus tinctorius*-*Fraxinus uhdei*, bajo tres fuentes de N (NO_3^- , NH_4^+ y urea). *Ciencia Nicolaita*. No. Especial 2010.
- Birchler, T., Rowse, R. W., Royo, A. & Pardos, M. 1998. La planta ideal: Revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Inv. Agr. Sist. Recur. For.* 7 (1-2): 109-121.
- Blanco, F. A. & Salas, E. 1997. Micorrizas en la agricultura. Contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 21(1): 55-67.
- Bolton, H., Fredrickson, J. & Elliot, L. 1993. Microbial ecology of the rhizosphere. In: Metting, B., ed. Soil microbial ecology. New York, Marcel Dekker. Pp. 27-64.

- Bonner, F.T. 2003. Collection and care of acorns. A practical guide for seed collectors and nursery managements. Publicación en línea, disponible en: <http://www.nls.fs.fed.us/COLECTION%20AND%20CARE%20F%20ACorns.pdf>.
- Bauer, T., Blechschmidt, S. & Eschrich, W. 1991. Regulation of photoassimilate allocation in *Pinus sylvestris* by the nutritional status of the mycorrhizal fungus *Suillus variegates*. *Trees* 5: 36-43.
- Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Journal Plant and Soil*. New Zealand. Vol. 134:189-207.
- Bowen, G. & Theodorou, C. 1973. Growth of ectomycorrhizal fungi around sedes and roots. In: Marks G.; Kozłowski (eds.) *Ectomycorrhizae. Their ecology and physiology*. Academic Press. Nueva York. 354 pp.
- Brundett, M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews*. 79: 473-495.
- Brundett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. & Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Center for International Agricultural Research. Canberra, Australia.
- Colpaert, J. V. & Van Assche, J.A. 1992. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 145: 237-243.
- Carrera, N. A. & López-Ríos, G. F. 2003. Inoculación con hongos ectomicorrízicos en *Pinus pátula* Schl. et Cham. y *Pinus greggi* Engelm en invernadero. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Chapingo.
- Carrera, N. A. & López, R. G. F. 2004. Manejo y evaluación de ectomicorrizas en especies forestales. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 10 (02): 93-98.

- Cardoso, S. A. & Agallo, C. A. 2012. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México: Estado de México. Disponible en : <http://e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM15mexico/municipios/15082a.html>
- Castellano M.A. & R. Molina. 1989. The biological component: nursery pests and mycorrhizae. pp. 101-167. In: Landis T.D., R.W. Tinus, S.E. McDonald and J.P. Barnett (eds.). The container tree nursery manual, Vol 5. USDA, Washington, D.C.
- Cruz, U. B. 1999. Micorrización en la conservación de los bosques. *Ciencia Ergo Sum. Universidad Autónoma del Estado de México*. 6(2):159-164.
- Del Campo, G. A. D., Hermoso, M. J., Jordá, R. M. & Granero, P. R. 2008. Variabilidad del potencial de crecimiento radical en *Quercus ilex*, *Pinus pinaster* y *P. nigra* según las condiciones de realización del test. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*. 28: 225-230.
- De la Paz Pérez, O. C. 2000. Relación estructura propiedades físico-mecánicas de la madera de algunas especies de encinos (*Quercus*) mexicanas. Tesis de Doctorado, UNAM. México, D.F.
- De la Paz-Pérez, O. C., Dávalos, S. R. & Guerrero, C.E. 2000. Aprovechamiento de la madera de encino en México. *Madera y Bosques*, 6(1): 3-13.
- Dey, D. C. & Parker, W. C.. 1997. Morphological indicators of stock quality and field performance of red oak (*Quercus rubra* L.) seedlings underplanted in a central Ontario shelterwood. *New Forests* 14: 145-156.
- Díaz, G., Carrillo, C. & Honrubia, M., 2003. Differential response of ectomycorrhizal fungi to pesticides in pure culture. *Cryptogamie Mycologie* 24 (3): 199-211.
- Díaz, P. D. & Reyes, J. I. 2009. Producción y almacenamiento de bellotas de *Quercus hintonii* Warbug (Fagaceae) de la Depresión del Balsas, México. *Polibotánica*. 27: 131-143.

- Domínguez Lerena, S., P. Villar Salvador, L. Fuertes & J.L. Peñuelas. 2001. ¿Puede la profundidad de plantación afectar la calidad fisiológica y el desarrollo en campo de los brinzales de *Pinus halepensis*? Actas del III Congreso Forestal Español, Mesa 3: 49-54.
- Dominguez, N. J., Rodríguez, B. J. & Saiz de Omeñaca, J. A. 2004. Parcelas experimentales de *Quercus ilex* micorrizado con *Tuber melanosporum* en la comunidad valenciana. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*. 30:113-124.
- Dosskey, M., Linderman, R. & Boersma, L. 1990. Carbon –sink stimulation of photosynthesis in Douglas fir seedlings by some ectomycorrhizas. *New Phytologist*. 115:269-274.
- Douds, D. J. 2010. El papel de los hongos formadores de micorrizas y su manejo. Publicación en línea. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_organica_y_trazabilidad/45-micorrizas.pdf
- Duddridge, J. A., Malibari, A. & Read, D.J. 1980. Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature* 287:834-836.
- García, R. J., Pérez-Moreno, J., Aldrete, A., Cetina, A. V. & Vaquera, H. H. 2006. Caracterización del hongo silvestre ecomicorrizico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch en cultivo y simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia*, Sept.-Oct. 40 (005):665-676. Colegio de Posgraduados. Texcoco, México.
- Garza, O. F. 2000. VII Congreso nacional de Micología. Temas Selectos del curso hongos ectomicorrizógenos y ectomicorrizas de bosques templados de México. Querétaro, México.
- Gastón, G., Mata, G., Salmones, D., Soto-Velazco, C. & Guzmán-Dávalos, L. 1983. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales. Instituto Politécnico Nacional. México. 245 pp.

Gil, L. & Pardos, J. A. 1997. Aspectos funcionales del arraigo. La calidad fisiológica de la planta forestal. *Cuadernos de la SECF*, 4: 27-34.

Global Trees Campaing, 2012. http://www.globaltrees.org/tp_quercushintonii.htm

Gobierno del Estado de México, Secretaria de Desarrollo Agropecuario, Protectora de Bosques el Estado. 2007. Manual de producción de planta forestal, clima templado. Publicación en línea disponible en:

<http://www.edomex.gob.mx/portal/page/portal/probosque/documentos>

González-Ochoa, A. I., De las Heras, J., Torres, P. & Sánchez-Gómez, E., 2003. Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two comercial nurseries. *Annals of Forest Science* 60: 43-48.

Hampp, R., Wiese, J., Mikolajewski, S. & Nehls, U. 1999. Biochemical and molecular aspects of C/N interaction in ectomycorrhizal plants: and update. *Plant and soil* 215:103-113.

Harley, J. L., & Smith, S.E. 1983. Mycorrhizal simbiosis. London, Academic Press. pp. 6-11.

Harley, J. 1989. The fourth Benefactor's. The significance of my corrhiza. *Mycol* 92:129-139.

Harris, D., Pacovski, R. & Paul, E. 1985. Carbon economy of soybean-*Rhizobium-Glomus* associations. *New Phytologist*. 101:427-440.

Heijden, M. G., Van der A., Klironomos J. N., Ursic, M., Moutoglis P., Streitwolf-Engell R., Boller T., Wiemken A. & Sanders I.R.. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.

Iglesias, G. L. 1986. Efecto de fungicidas en la micorrización de pinos con *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker y Couch. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México.

Johnson, J. D. & Cline, M. L. 1990. Seedling quality of southern pines. En: Rodríguez, T.D. 2008. Indicadores de calidad de planta forestal. Mundi Persa, México, D.F. pág. 111.

- Landis, T. D., Dumroese, R. K. & Haase, D. L. 2010. The container Tree Nursery Manual. Vol. 7. Seedling Processing, storage and Outplanting. Agric. Handbuck. 674. Washington, D.C.: U.S.D.A. Forest Service.
- Landis, T.D.; Tinus, R.W.; McDonald, S.E.; Barnett, J.P. 2004. El Componente Biológico: Plagas, Enfermedades y micorrizas en el vivero. Vol. 5. Manual de Viveros para la Producción de Especies Forestales en Contenedor. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service.
- Landis, T. D. 1990. Cointerners: Types and functions. In Landis, T. D.; Tinus, R. W.; MacDonald, S.E.; Barnett, J. P. The Container Tree Nursery Manual, Volume 2. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 1-40.
- Le Tacon, F. 1986. Las micorrizas, una cooperación entre plantas y hongos. *Mundo científico* 49(5):776-784.
- Lincoff, G. H. 1984. The Audubon society Field Guide to North American Mushrooms. Visual Key by Caron Nehring. Alfred A. Knopf, New York. 926 pp.
- Marx, D. H. 1976. Use of specific mycorrhizal fungi on tree for forestativa of disturbed lands. In forestation of disturbed surface area. Proc. Of a Conf. Birmingham, Ala. pp. 45-65.
- Mattson, A. 1991. Root growth capacity and field performance of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* 6: 105-112.
- McVaugh, R. 1974. Flora novo-galiciana. *Contr. Univ. Michigan Herb.* 12:1-93.
- Malloch, D. W., Pirozynski, K. A. & Raven P. H. 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (A review). *Proceedings of the National Academy of Sciences*.USA 77: 2113-2118.
- Maldonado, J.M. & Ramírez, G. A. 1997. Efecto de la inoculación con hongos micorrizógenos en almácigos de café (coffea arábica) Variedad Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Tesis, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Medellín.

- Martínez, M. 1984. Los encinos del Estado de México. Comisión Botánico Exploradora del Estado de México. Gobierno del Estado de México, Dirección de Agricultura y Ganadería. Toluca, México. 77 pp.
- Marks, G. C. & Kozlowski T. T. 1973. Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Academic Press, New York.
- Marshall, J. D. & Perry, D. A. 1987. Basal and maintenance respiration of mycorrhizal and nonmycorrhizal root systems of conifers. *Canadian Journal of Forest Research*. 17: 872-877.
- Marx, D. H. 1976. Use of specific mycorrhizal fungi on tree for forestativa of disturbed lands. In forestation of disturbed surface area. Proc. Of a Conf. Birmingham, Ala. Pp.47-65.
- Mattsson, A. 1997. Predicting field performance using seedling quality assessment. *New Forests* 13: 227-252.
- Menéndez, V. J. 2007. *Pisolithus arrhizus* (Scop) Rauschert. Asturnatura.com Num. 111. Disponible en.: <http://www.asturnatura.com/especie/pisolithus-arrhizus.html>. ISSN 1887-5068.
- Miller, S. L., McClean, M., Stanton, L.N. & Williams, S. 19989. Mycorrhization physiognomy and first-year survivability of conifer seedlings following natural fire in Grand Teton National Park. *Canadian Journal of Forest Research*. 28: 115-122.
- Mohedano-Caballero, L., Cetina- Alcalá, V. M., Vera –Castillo, G. & Ferrera-Cerrato, R. 1999. Micorrización y poda aérea en la calidad de planta de pino piñonero en invernadero. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 5(2):141-148.
- Molina, R., Massicote H. & Trappe J.M.1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practicalimplications. pp. 357-423. In: Allen,

- M.F. (ed.). Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal process. Chapman and Hall, New York.
- Molina, L. M., Mahecha, L. L. & Medina, S.M. 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* Vol. 18:162-175.
- Morcillo, S. M. 2000. Aplicaciones en restauración del paisaje y en el cultivo de hongos comestibles. *Terralia* 16:12-17.
- Morcillo, S. M. 2002. Ectomicorrizas: aplicaciones en restauración del paisaje y en cultivo de hongos comestibles. *Micología Forestal & Aplicada*. Rbla Arnau 6 Vilanova i la Geltrú 08800 Barcelona. Spain. Disponible en: www.micofora.com
- Murias, G. 1998. Estudio de plantas de diferentes especies mediterráneas forestales en vivero. Arquitectura radical, potencial de regeneración de raíces y análisis de nutrientes. Proyecto de Fin de Carrera, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal de Madrid. Universidad Politécnica de Madrid.
- Nehls, U. & Hampp, R. 2000. Carbon allocation in ectomycorrhizas. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 57:95-100.
- Nixon, K. C. The genus *Quercus* in Mexico. En: T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A Tol y J. Ga (Eds.). *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*. Oxford University Press. Nueva York. Pp: 447-458.
- Nylund, J. & Wallander, H. 1989. Effects of ectomycorrhiza on host growth and carbon balance in semi- hydroponic cultivation system. *New Phytologist* 112:389-398.
- Pennington, T. D. & Sarukhán, K. 1998. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. UNAM-FCE. México. 521 p.

- Peñuelas, R. J. L. & Ocaña, B. L. 2000. Cultivo de plantas forestales en contenedor, principios y fundamentos. 2ª Edición. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Pera J., Parladé, J. & Álvarez, I. F., 1994. Eficacia del tipo de inóculo de *Pisolithus tinctorius* en la formación de micorrizas en *Pinus pinaster* y *Pseudotsuga menziesii*. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*. 3 (1): 19-29.
- Pérez-Moreno, J. 1992. Aspectos ecológicos; aislamiento de cepas, síntesis de micorriza y pruebas *in vitro* contra patógenos de diversos hongos ectomicorrízicos del Parque Nacional, Zoquiapan, Edo. de México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Texcoco, México.
- Pérez-Moreno, J. & Ferrera, C. R. 1993. Los hongos ectomicorrízicos de México, un importante componente de la biodiversidad de los ecosistemas forestales. Memoria I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible. Comisión de Estudios Ambientales y CEICADAR, Puebla. Pp. 247-252.
- Pérez-Moreno, J. & Ferrera, C. R. 1996. Sustainability and economic importance of the edible ectomycorrhizal mushrooms. pp. 172-183. In: Pérez-Moreno, J. y Ferrera, C. R. (eds.). Nuevos horizontes en agricultura: agroecología y desarrollo sostenible. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Estado de México.
- Pérez-Moreno, J. 2004. Biotecnología de los hongos ectomicorrízicos. Memoria del Simposio de biofertilización: “La biofertilización como tecnología sostenible”. 25 de noviembre de 2004. Río Bravo, Tamp. México.
- Pérez-Moreno, J. & Read, D. J. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. 5: 239-247. Publicación en línea, disponible en:

<[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442004000500004&lng=es&nrm=iso)

[18442004000500004&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442004000500004&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0378-1844.

Peyronel, B., Fassi B., Fontana A. & Trappe J. M. 1969. Terminology of mycorrhizae. *Mycologia* 61: 410-411.

Pimentel, B. L. 2009. Producción de árboles y arbustos de uso múltiple. Universidad Autónoma Chapingo, Colegio de Posgraduados, Mundi Prensa México, S.A de C.V. México, D.F. 237 pp.

Plant Health Care de México (PHC). PHC® Ecto- Rhyza. Inoculante ectomicorrízico y biofungicida para coníferas, nogal y encino. Ficha técnica. Disponible en: <http://www.phcmexico.com.mx/pdfs/micorrizas/Ecto-Rhyza.pdf>

Ritchie, A.; Landis, T. D.; Kasten, D. R. y Haase, L. D. 2010. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. Volumen 7, Capítulo 2: Evaluación de la Calidad de la Planta. RNGR. Tree Planters' Notes. Publicación en línea, disponible en: <http://www.rngr.net/publications/ctnm/espanol/volumen-siete>

Raddatz, E. 2002. Micorriza: el abono vivo. Campo y Agro. Zamorano, España, 15pp.

Read, D. J. & Pérez-Moreno J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems a journey toward relevance? *New Phytologist* 157: 475-492.

Rey-Benayas, J.M., Espigares, P. T. & Nicolau, J.M. 2003. Restauración de Ecosistemas Mediterráneos. Capítulo 4. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. (Editores), Universidad de Alcalá / Asociación Española de Ecología Terrestre.

Reyes, J. I. 2004. Los “hongos de leche” del encinar de Tejupilco de Hidalgo, México. *Contactos 3a. época - UAM-I*. 54:43-50. México, D. F.

- Reyes, J. I. 2006. *Quercus hintonii* Warb.: especie endémica del encinar del SW del Estado de México. *Contactos 3a. época- UAM-I* 66:36-39. México, D. F.
- Ritchie, G. A. & Landis, T. D. 2003. Seedling quality test: Root growth potential. Forest Nursery Notes. USDA, FS. pp. 4-6.
- Rockland, L.B. 1960. "Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5° and 0°C". *Analytical Chemistry*, 32:1375-1377.
- Rodriguez, B. J. 1989. Importancia de la micorrización artificial de diversas especies forestales españolas. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 15:33-41.
- Rodriguez, J. A. 1994. Protective Reforestation with mycorrhizal *Pinus halepensis* Mill. in Almeria (Spain). In Mycorrizas in integrated systems from genes to plant development. Proceedings of the fourth European Symposium on Mycorrhizas.
- Rodríguez, A. M., Combes, A. J. & Morales, I., H. 2002. Distribución y caracterización del hábitat de *Quercus hintonii* en México. XV Congreso Mexicano de Botánica. 14-19 de octubre, Jurica. Qro.
- Rodríguez, T. D. 2008. Indicadores de calidad de planta forestal. Mundi Prensa, México, D.F., 156 pp.
- Romero, R. S., Rojas, C. C. & Almonte, D. C. 2000. *Quercus hintonii* Warb. (Fagaceae) encino endémico de la depresión del Balsas, México y su propagación. *Polibotánica*, 11: 121-127.
- Rousseau, J. V. D., Sylvia, D. M. & Fox, A. J. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient absorbing surface of pine. *Forest Ecology and Management*. 40:639-644.

- Salas, E. A. 2009. Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Costa Rica. Disponible en: <http://www.una.ac.cr/inis/docs/suelos/Eduardo%20Salas.pdf>
- Schchüßler, A., Schwaarzott, D. & Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413- 1421.
- Simpson, D. G. 1990. Frost hardiness, root growth capacity, and field performance relationships in interior spruce, lodgepole pine, douglas-fir, and western hemlock seedlings. *Canadian Journal of Forest Research*. 20: 566-572.
- Simpson, D. G. 1994. Seasonal and geographical origin effects on cold hardiness of white spruce buds, foliage, and stems. *Canadian Journal of Forest Research* 24: 1066-1070.
- Smith, S. & Read, D. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd Edition. Academic Press. New York, EEUU. 605 pp.
- Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P. & Zuberer, D. 1998. Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall. Upper Saddle River.
- Tisdall, J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil*. 159:115-121.
- Thompson, B. E. 1985. Seedling morphological evaluation. What you can tell by looking. En: Duryea, M.L. editor, Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests, Páginas 59-71. Oregon State University, Corvallis.
- Trappe, J. M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Review of Phytopathology* 15: 203-222.
- Trubat, D. R., Cortina, S. J. & Vilagrosa, C. A. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 17: 245-251.

- Valencia, S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 75:33-53.
- Vogt, K. A., Publicover, D. A. & D. J. Vogt. 1991. A critique of the role of ectomycorrhizas in forest ecology. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 35: 171-190.
- Villar-Salvador, P., S., Domínguez, J.L., Peñuelas, R. I., Carrasco, N., Herrero, S.J.L. Nicolás, P. & Ocaña, B. L. 2000. Plantas grandes y mejor nutridas de *Pinus pinea* L. tienen mejor desarrollo en campo. En 1er Simposio del pino piñonero (*Pinus pinea* L.), Volumen 1, Páginas 219-227. Junta de Castilla y León, Valladolid.
- Villarreal, L. & Pérez-Moreno J. 1989. Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micol. Neotrop. Apl.* 2:77-114.
- Whipps, J. M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian Journal of Botany*. 82: 1198-1227.
- Zavala, C.F.1990. Los encinos de México: un recurso desaprovechado. *Ciencia y Desarrollo XVI* (95):43-51.
- Zavala, C. F. 1995. Encinos y robles, notas fitogeográficas. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. México. 44p.
- Zavala, C. F. 1998. Observaciones sobre la distribución de encinos en México. *Polibotánica*, 8:47-64.
- Zavala C. F. 2007. Guía de los encinos de la Sierra de Tepetzotlán, México. UACH. Chapingo, Edo. de Méx.