



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE SUELOS

Centro de Agroforestería para el Desarrollo Sostenible



**Maestría en Ciencias en Agroforestería
Para el Desarrollo Sostenible**

**“ENCALADO Y MICORRIZAS EN LA CORRECCIÓN DE
DEFICIENCIAS DE FÓSFORO EN UN ANDISOL CULTIVADO
CON *Pinus Halepensis Mill*”**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
AGROFORESTERÍA PARA EL
DESARROLLO SOSTENIBLE**

PRESENTA:

Ing. Miguel Rivera González

Chapingo, México Enero de 2007.

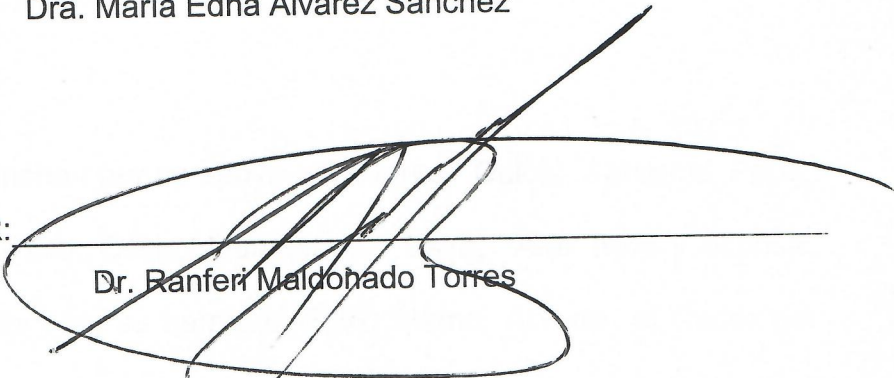


ENCALADO Y MICORRIZAS EN LA CORRECCIÓN DE DEFICIENCIAS DE
FÓSFORO EN UN ANDISOL CULTIVADO CON *Pinus Halepensis Mill*

Tesis realizada por Miguel Rivera González bajo la dirección del Comité Asesor
capacitado, y aprobada por este mismo y aceptada como requisito para obtener
el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROFORESTERIA PARA EL
DESSARROLLO SOSTENIBLE

DIRECTOR: 
Dra. María Edna Álvarez Sánchez

ASESOR: 
Dr. Ranferi Maldonado Torres

ASESOR: 
Dr. Elizabeth Hernández Acosta

**ENCALADO Y MICORRIZAS EN LA CORRECCIÓN DE
DEFICIENCIAS DE FÓSFORO EN UN ANDISOL
CULTIVADO CON *Pinus halepensis* Mill.**

Tesis realizada por Miguel Rivera González bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROFORESTERÍA PARA EL DESARROLLO
SOSTENIBLE**

DIRECTOR: _____

DRA. EDNA ÁLVAREZ SÁNCHEZ

ASESOR: _____

DR. RANFERI MALDONADO TORRES

ASESOR: _____

DRA. ELIZABETH HERNÁNDEZ ACOSTA

AGRADECIMIENTOS

TLAXOCAMATI NOYOLOT

GRACIAS DE CORAZÓN

A la familia Garay por el apoyo brindado tanto económico como en lo moral a Ricardo Garay Suarez, y esposa Delfina Juárez e hijos, Socorro, Ismael, Marlen, Norma y Noe.

A la Comisión nacional forestal , A la Secretaria Del Medio Ambiente, al Lic. Alberto Cárdenas Jiménez, Hoy Director Secretario del Medio Ing. Juan José R

Al grupo Cultural Coatlinchan por su apoyo y relevante, Dulce, Saharahi, Pepe, Marcelo, Israel, Juan, Paco, César, Guadalupe, Sairá Alex hijos y esposa. Huacho, Memin, pomponaso, su hermano Félix, memo, Alfredo Al ceder del procampo Alicia y su hija, los productores de III Distrito de Texcoco y los 33 vocales B de procampó.

A mis profesores en especial Dra. Edna Álvarez Sánchez, Dr. Ranferi Maldonado Torres, Dra. Elizabeth Hernández Acosta, gracias de corazón por su paciencia, comprensión, y tiempo, dedicación para darme las bases para seguir adelante y termina satisfactoria mente esta investigación. Gracias el gran apoyo que obtuve del Dr. Leoz Rodrigues, al director general de postgrados el Dr Romo al maestro coordinador de la maestría en Agroforestería Miguel Uribe Gómez, Dr. Muzalen, Dr. Lara bueno Dr, krisnamurty Mc, Silvia terrazas, Mc, Miguel Cabrera, Dr Eric Estrada Lugo,

A mis compañeros de la Universidad y Maestría: (Marcela, Yoltic, Paulo), (Elizabeth, Elianet, y Salomon) agradeciendo en especial a Lolita Dolores Coronel, Roció, Yola, Blanquita, Isabel Oble, Víctor Aguilar, Carlos, Cristian Madrid Laboratorio de química de suelos técnica en análisis de suelos Angélica Marín, Laboratorio de Microbiología de suelos Dra. Langel al técnico tacho, Arturo. Regina, M^a. Haydee, José, Tonó, laboratorio de histología y citología del departamento de preparatoria agrícola, a la maestra M^a del sol, al técnico en histología Mario Venegas, Al laboratorio de fotografía microelctrica , Al profesor Santos al en cargo del invernadero don chon,

Así. Al grupo Cultural Coatlinchan por su apoyo y relevante, Dulce, Saharahi, Pepe, Marcelo, Israel, Juan, Paco, César, Guadalupe, Sairá Alex hijos y esposa. Huacho, memín, pomponaso, su hermano Félix, memo, Alfredo Al caders del procampo, Alicia y su hija, a todos los productores de III Distrito de texcoco y los 33 vocales B de procampo. Al autoridades de coatlinchan.

A los maestros de la Chalchihuitlique, Tlaloc o piedra de los tecomates a si como estudiantes y tesitas interesados en rescate de conocimientos empírico tradicionales Agrícolas, Pecuarios, Forestales, Arqueológicos y Antropológicos dirigidos ala comunidad de San Miguel Coatlinchan. Se anexa foto del proyecto arqueológico, la replica 1*1 del Monolito ubicado en el Museo Nacional de Antropología e Historia de la ciudad de México.

A la tesita del Doctorado en Antropología de la Universidad de New York Sandra Rossendhal y la artista y pintora Mariana al Maestro y Director de la Obra el Escultor Oscar Ramírez Quintero su esposa e hijos al Expresidente de texcoco Higinio Martines esposa e hijos , Ulises Juan F. Hernández Cortés , Joel Ortiz Rivera Martín Aguilar Juárez , Apolinar Garreón López Leoncio

López Trujado, Fidel Martines Andrés David Rodríguez Olivares, Edmundo Ayala Espejel , Don Marcos A los estudiantes, pasantes.

Esteban Garay Su esposa, güero, Manolo esposa Alin Osbaldo y sus hijos por su apoyo incondicional economico ocial, A mi amigo Lino su esposa Dulce y sus hijos de a los estudiantes de la UACH. Al MC. Enrique Buendía esposa e hijos. Por su apoyo profesional, Andrés Buendía, Alberto Buendía, Alejandro Buendía a sus hijos y familia. En especial a Manuela Fermoza, y Jorge.

DEDICATORIA

En especial a mi madre Eusebia González Cervantes y a mi padre Benjamín Rivera Carrillo que dios lo tenga en su santa gloria,

Leonor, Rosa, Pedro, Árlae, Irvin, Alberto, Zuemin, Herí, Ricardo, Concha, Su hija M benjamín, Otilia Juventino, Irene Abigail y Guadalupe huescas, Mi tía Loreto, Gr. Miguel Montes González, Daniel Tere sus Hijos Alberto, Felipa y sus hijos y nietos a todos ellos, Niko esposo, Mi tía Irene a sus hijos y nietos a todos ellos de San Pablo ixayoc, Coatlinchan , Huexotla, por igual A la familia Mancilla Rivera a Mis Tías Manuela Mancilla Rivera a sus hijos y nietos, Ester, Joséfina el señor Miguel Mancilla.

DATOS BIOGRÁFICOS

NOMBRE: Rivera González Miguel naci San Miguel Coatlinchan, Tex. Edo.
Méx. 29/08/62 vivo en Calle Independencia # 19 TEL: 01, 595 1-09-43

Correo Electrónico coatlinchan1@ Hotmail.com
miguelrivera@correo.chapingo.mx

En la En la Escuela Primaria en Ignacio Allende de mi lugar de origen
Secundaria Estatal # 130 Nezahualcoyotl Texcoco Edo de mexico, Preparatoria
Federal por COP. Clave: EMS-2/142 Chiconcuac, México Bachillerato de
Ciencias Físico Matemáticas y Ciencias Naturales. ingrese a la Armada de
México, Heroica Escuela Naval Militar.Antón Lizardo Veracruz, Brigada Centro
Estribor. Primer Trozo, Primer Rancho: N° De Serie 2259.Universidad
Autónoma Chapingo Ingeniero En Agroecología Generación 94-99 Mat.:
9411600-9.

CONTENIDO

Resumen	xiii
Abstract.....	xiii
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 OBJETIVOS.....	2
General	2
Específicos.....	2
3 HIPÓTESIS.....	3
3.1 Metas	3
4 MARCO TEÓRICO	4
4.1 Micorrizas.....	4
4.1.1 Tipos de Micorrizas	6
4.1.2 Otros tipos de Micorrizas	7
4.2 Ectomicorrizas	8
4.3 Micorrización.....	9
4.4 Micorrizas y fertilización	10
4.5 Inóculo ectomicorrízico.....	10
4.6 Hongos micorrízicos comestibles.....	11
5 MATERIALES Y METODOS.....	14
5.1 Experimento de invernadero	14
5.2 Medición de variables de crecimiento	17
5.3 Evaluación de la colonización endomicorrízica.....	17
5.3.1 Proceso de tinción	19
5.3.2 Proceso de fijación permanente	20
5.4 Experimento de campo	21
5.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico	23
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25

6.1	Variables de crecimiento	25
6.2	Disponibilidad de fósforo en el suelo y P acumulado por las plantas de pino	29
6.3	Estimación del crecimiento en cinco meses por efecto de los tratamientos en brinzales de pino.....	31
6.4	Efecto de la inoculación micorrícica en el desarrollo de <i>Pinus halepensis</i>	33
6.5	Efecto en el crecimiento en campo por la aplicación de micorriza y encalado 10 g (M*E3) en comparación al testigo (T0).	39
7	CONCLUSIONES	40
8	Literatura citada	42
9	ANEXOS.....	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características del inóculo micorrízico (multicepa)	15
Cuadro 2. Tratamientos de encalado y micorrizas utilizados.	16
Cuadro 3. Resultado de los análisis químicos realizados en los suelos del predio el llano	22
Cuadro 4. Pruebas de significancia de los factores: Micorriza (ausencia y presencia) y Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones en seis variables de brinzales de pino.....	25
Cuadro 5. Pruebas de significancia de los factores micorriza, encalado y sus interacciones en el P disponible en el suelo y la concentración en la planta.....	30
Cuadro 6. Pruebas de significancia de los factores: Micorriza (ausencia y presencia) y Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones en los segmentos colonizados por hifas vesículas de micorriza en las raíces de brinzales de pino.....	35
Cuadro 7. Efecto en el crecimiento en campo por la aplicación de micorriza y encalado 10 g (M*E3) en comparación al testigo (T0).....	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Localización de las ectomicorrizas en la raíz.	6
Figura 2.	Aspectos de la endomicorrizas	7
Figura 3.	Racíces modificadas en la ectomicorriza formada por un hongo desconocido sobre <i>Fagus sylvatica</i> (Larcher, 2001).	8
Figura 4.	Algunas especies de hongos micorrizicos que se producen con fines comerciales.	11
Figura 5.	Curva de titulación del suelo proveniente de Xoquiapa, Edo. de México.	14
Figura 6.	Encalado del suelo y distribución de las unidades experimentales.	16
Figura 7.	Procedimiento para tinción de raíces. a) Corte de la raíz clareo; b) Blanqueo; c) Acidificación; d)Tinción; e) Decoloración (Kormanik <i>et al.</i> , 1980).	18
Figura 8.	Vista del predio denominado “el llano”	21
Figura 9.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y nivel de encalado), en la altura de los brinzales de pino.	26
Figura 10.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el diámetro de los brinzales de pino.	27
Figura 11.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el volumen de los brinzales de pino.	27
Figura 12.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el volumen de raíz de los brinzales de pino.	28
Figura 13.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el peso seco de la parte aérea de los brinzales de pino.	29
Figura 14.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el peso húmedo de la parte aérea de los brinzales de pino.	29
Figura 15.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el fósforo en el suelo de los brinzales de pino.	30

Figura 16.	Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el fósforo en la planta en los brinzales de pino.	31
Figura 17.	Regresión logística de altura obtenida por la aplicación de micorriza, encalado, sus interacciones y el testigo (T0).	32
Figura 18.	Regresión logística en diámetro obtenida por la aplicación de micorriza, encalado, sus interacciones y el testigo (T0).	33
Figura 19.	Estructuras micorrízicas observadas al microscopio: a) hifas, b y c) esporas y estructuras ectomicorrízicas.	34
Figura 20.	Porcentaje de Segmentos colonizados en los tratamientos estudiados con y sin micorriza, en combinación con tres niveles de encalado.	35
Figura 21.	Promedio de los porcentajes de segmentos colonizados en los tratamientos con micorriza y sin micorriza.	36
Figura 22.	Segmentos colonizados en los tratamientos con micorriza en combinación con los diferentes niveles de encalado.	37

ENCALADO Y MICORRIZAS EN LA CORRECCIÓN DE DEFICIENCIAS DE FÓSFORO EN UN ANDISOL CULTIVADO CON *Pinus halepensis* Mill

Lime and mycorrhizae in the phosphorus deficiencies correction in an andiso cultivated with *Pinus halepensis* Mill

Miguel Rivera González¹; E: Álvarez Sanchez²

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto de la inoculación micorrízica combinada con CaCO_3 en el desarrollo y absorción de fósforo de *Pinus halepensis* Mill., cultivado en un Andisol del Estado de México, se condujo un experimento de invernadero en el que se evaluaron dosis de cal para elevar el pH del suelo de 5.3 a 5.5, 6.0 y 6.5 con y sin la adición de micorriza. Los Resultados mostraron que la inoculación micorrízica en combinación con el encalado del suelo para alcanzar un pH de 6.5, generó el mayor desarrollo de los brinzales en términos de diámetro del tallo, altura, productividad de madera, volumen radical y mayor cantidad de segmentos colonizados y acumulación de fósforo por las planta en comparación con el testigo (sin cal y sin micorriza) y el resto de los tratamientos. La validación en campo de este tratamiento, promovió el 98 % de supervivencia de los árboles comparado con el tratamiento testigo (sin encalado y sin micorrizas).

Palabras clave: Carbonato de calcio, micorrizas, *Pinus halepensis*, andisol, fósforo.

ABSTRACT

With the purpose to evaluate the effect of the inoculation mycorrhizae combined with lime (CaCO_3) in the development and absorption of *Pinus halepensis* Mill., cultivated in an Andisoil of the State of Mexico, a greenhouse experiment was conducted in which they were evaluated dose of lime to increase the pH of the soil from 5.3 to 5.5, 6.0 and 6.5 with and without the addition of mycorrhizae. The Results showed that the inoculation with mycorrhizae in combination with the lime to reach a pH of 6.5 in the soil, generated the major development of the brinzales in terms of diameter of the stem, height, productivity of wood, radical volume and higher quantity of segments colonized and accumulation of phosphorus by the plant in comparison with the control treatment (without lime and without mycorrhizae) and the remainder of the treatments. The validation in field with the best treatment promoted the 98% of survival of the trees compared with the control treatment (without lime and without mycorrhizae).

Key words: Carbonate of calcium, mycorrhizae, *Pinus halepensis*, andisol, phosphorus.

¹ Maestría en Agroforestería para el Desarrollo Sustentable. Universidad Autónoma Chapingo.

² Profesor investigador. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo

1 INTRODUCCIÓN

En el oriente del Estado de México existen bosques templados donde su vegetación predominante corresponde a las especies Cupresus, Encinos y pinos. Los suelos donde crecen estas especies son principalmente Andisoles.

Los Andisoles se forman a partir de cenizas volcánicas intemperizadas y son suelos cuyas características distintivas son pH ácido y alto contenido alofano, material amorfo que retiene al fósforo disponible y lo hace muy poco accesible para las plantas. Al existir una baja disponibilidad de P en los suelos, se limita el desarrollo y la producción de las plantaciones forestales. El *Pinus halepensis* Mill es una especie con alta demanda industrial, lo que ha ocasionado su sobreexplotación en los bosques de zona templada propiciando la erosión del suelo y la degradación de los recursos agua, flora y fauna.

Entre las alternativas para disminuir la deficiencia de fósforo y favorecer la disponibilidad de otros nutrimentos, se encuentra la práctica de encalado. Las micorrizas son hongos que se asocian simbióticamente con más del 95% de las especies vegetales con los mismos efectos, ya que promueve la formación de raíces con una cubierta protectora de hongos, favorece el aprovechamiento de agua y tolerancia a la sequía, también incrementa la disponibilidad de nutrientes minerales, particularmente en suelos ácidos.

A fin de generar una alternativa para la producción comercial de la especie de pino *Pinus halepensis* Mill que contribuya a disminuir la problemática actual de sobre explotación de los sistemas agroforestales de pino en el Estado de México, en la presente investigación se evaluó el efecto de la inoculación micorrícica combinada con cal agrícola en el desarrollo y absorción de fósforo de *Pinus halepensis* Mill y validar en campo el mejor tratamiento de micorrizas y encalado en la supervivencia de una plantación de *Pinus halepensis*.

2 OBJETIVOS

General

Generar una propuesta de manejo para la obtención de plantas vigorosas y de rápido crecimiento de *Pinus halepensis* que se cultivan en Andisoles del Estado de México.

Específicos

- Evaluar el efecto de la inoculación micorrícica combinada con CaCO_3 en el desarrollo y absorción de fósforo de *Pinus halepensis* Mill.
- Validar en campo el mejor tratamiento con CaCO_3 y micorizas de plantas en la supervivencia y crecimiento de *Pinus halepensis*.

3 HIPÓTESIS

- El uso del carbonato de calcio como cal agrícola mejora la disponibilidad de P en el suelo y la absorción de P por las plántulas de *Pinus halepensis*.
- La inoculación con micorrizas favorece la disponibilidad de fósforo y el desarrollo de las plántulas de pino.
- La inoculación con micorrizas a las plántulas combinada con el encalado del Andisol favorece la sobrevivencia y el desarrollo de las plántulas de pino en campo.

3.1 Metas

Realizar una propuesta de manejo de las plantaciones forestales en los diferentes ambientes de la zona de estudio.

Comunicar a los vocales de Procampo pertenecientes al XXXIII distrito de Texcoco de la contraloría social del Procampó y Procampo ecológico del Dto. de des. Rural. N°.111 Texcoco centro de apoyo al Desarrollo Rural N° 11 Texcoco, y del PROBOSQUE, en este distrito, la propuesta de manejo y forestal de *Pinus halepensis* con los resultados obtenidos en la investigación.

4 MARCO TEÓRICO

4.1 Micorrizas

Nombre que hace referencia a la simbiosis hongo-raíz ("myces-rhiza"). Esta simbiosis es un fenómeno general en los vegetales. Las micorrizas fueron descubiertas por el botánico alemán Frank en 1885, en las raíces de algunos árboles forestales. En 1900 el francés Bernard puso de manifiesto su importancia estudiando las orquídeas.

Las micorrizas eran consideradas excepciones, pero ahora se sabe que casi la totalidad de las plantas verdes, viven en simbiosis con hongos. Y esto es así para musgos, helechos y Fanerogamas.

Las primeras que despertaron interés fueron las micorrizas de los árboles forestales, y aunque las de las plantas cultivadas comenzaron a estudiarse en 1910, es después de los trabajos de Mosse en Inglaterra en 1955, cuando se empieza a reconocer la importancia y la generalidad de esta simbiosis (Boucher *et al.*, 1999).

Son hongos que se asocian simbióticamente con más de 95% de las especies vegetales. El hongo coloniza al sistema radical de la planta y le proporciona la guía y nutrientes minerales, mientras que debido a la incapacidad del hongo para producir carbohidratos la planta le suministra sacarosa, glucosa y fructosa, derivados del proceso fotosintético.

Se ha estimado que entre el 10 y 30% de los fotosintatos producidos por la planta son destinados a la formación, mantenimiento y funcionamiento de las micorrizas, estableciéndose una gran dependencia entre micorrizas y los factores que regulan al proceso fotosintético (Larcher, 2001).

Además de mejorar la nutrición mineral (P y Zn) de los cultivos, los hongos micorrícicos disminuyen el estrés de la planta causando por factores bióticos. Es decir, favorecer la observación de agua mantenimiento la planta más turgente, incrementan la sanidad y longevidad de las raíces, soportan mejor las altas temperaturas del suelo, disminuyen la toxicidad por elementos pesados y le confieren a la planta mayor resistencia al estrés causando durante el trasplante.

Los hongos formadores de micorrizas producen esporas a partir del micelio externo, y en ocasiones a partir del micelio interno, los arbusculos desarrollados se mantienen viables durante unas tres semanas, para después terminar convertidos en esporas. Como esporas pueden permanecer por mucho tiempo, mientras que las hifas sino encuentran una raíz hospedadora en un tiempo de 2 a 4 semanas se colapsan (Bowen, 1994).

Beneficios de los hongos micorrícicos

Para las plantas verdes:

- 1) Incrementan el área fisiológicamente activa en las raíces.
- 2) Incrementan la captación de las plantas de agua y nutrientes como fósforo, nitrógeno, potasio y calcio del suelo.
- 3) Incrementan la tolerancia de las plantas a las temperaturas del suelo y acidez extrema causadas por la presencia de aluminio, magnesio y azufre.
- 4) Proveen protección contra ciertos hongos patógenos y nematodos.
- 5) Inducen relaciones hormonales que producen que las raíces alimentadoras permanezcan fisiológicamente activas por periodos mayores que las raíces no micorrizadas. Para el hongo: reciben principalmente carbohidratos y vitaminas desde las plantas.

4.1.1 Tipos de Micorrizas

Aproximadamente unas 5.000 especies de hongos con carpóforos (Principalmente Basidiomicetos) están asociadas a árboles forestales en regiones boreales y templadas, estableciendo un tipo de micorrizas (Harvey et al., 1991).

Las raíces de los árboles de las selvas tropicales, de los árboles frutales, y de casi la totalidad de las demás plantas verdes están asociadas a hongos inferiores, la mayoría microscópicos y que no producen carpóforos típicos. Estos hongos, aunque presentes en casi todo el planeta, asociados con casi todas las plantas verdes, establecen otro tipo de micorrizas y no pertenecen más que a 6 géneros y alrededor de un centenar de especies. Los dos tipos más comunes, mas extendidas y mas conocidas son las ectomicorrizas y las endomicorrizas. Cada tipo se distingue sobre la base de la relación de las hifas del hongo con las células radicales del hospedador.

En las ectomicorrizas el micelio invade la raíz sin entrar en el interior de las células, de aquí el nombre de ectomicorrizas.

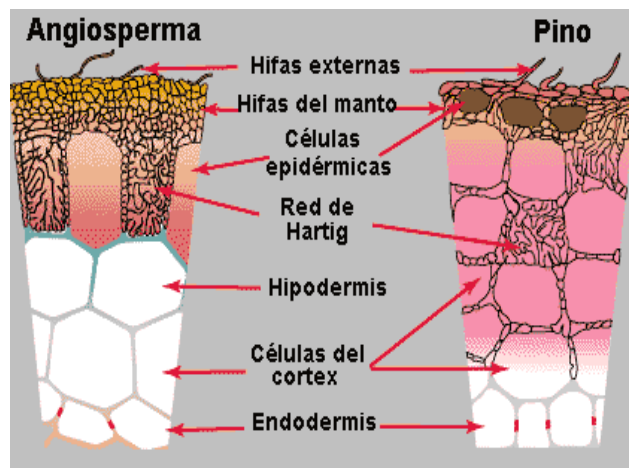


Figura 1. Localización de las ectomicorrizas en la raíz.

En las endomicorizas el micelio invade la raíz, inicialmente es intercelular, pero luego penetra en el interior de las células radicales, desde la rizodermis hasta las células corticales.

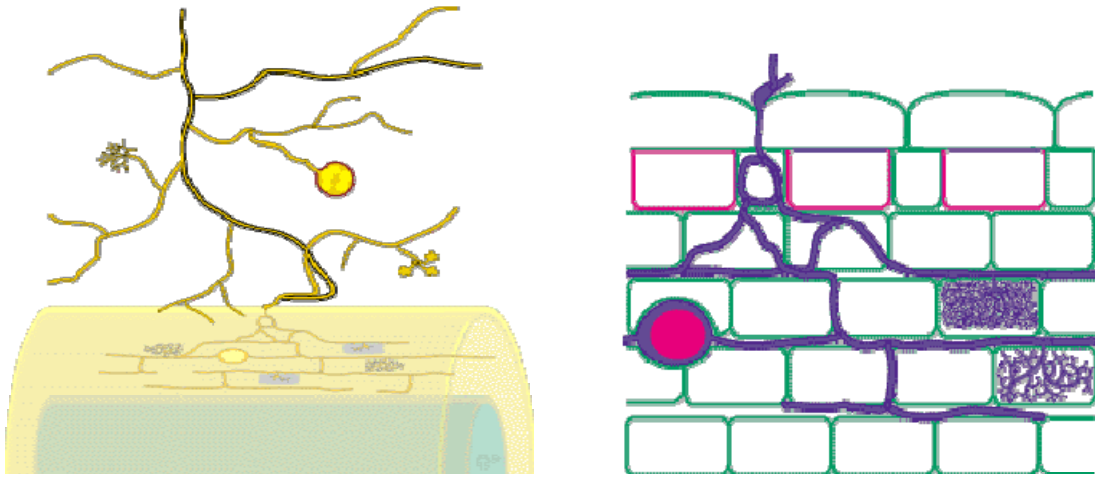


Figura 2. Aspectos de la endomicorizas

4.1.2 Otros tipos de Micorizas

Las orquídeas poseen las endomicorizas orquidioides, llamadas de ovillo, y tal vez representan el tercer tipo más importante de micorizas, ya que estas plantas son dependientes en estado juvenil, de protocomo, de sus hongos simbios. Una vez que la planta crece y fotosintetiza, generalmente se independiza del hongo (Larcher, 2001).

Ectendomicorizas, donde se puede apreciar la formación de un manto, junto con la penetración de hifas a las células.

Ericoides, son las más sencillas, con raíces muy simples e hifas penetrando en las células para formar ovillos.

Arbutoides, donde también tenemos un manto externo junto con hifas que penetran a las células para formar rulos.

Monotropoides, diferenciada apenas por la forma de penetración de las hifas a las células radicales.

El inoculo micorrícico presenta numerosas ventajas por la participación de la simbiosis micorrícica en la creación de un sistema radicular bien desarrollado (Dasilva *et al.*, 1977). De igual forma, los altos contenidos de azúcares en plantas colonizadas con micorizas arbusculares mejoran la capacidad para soportar estrés por sequía (Komeliand, 1993 ,citado por Boucher 1999).

4.2 Ectomicorrizas

El primer tipo se caracteriza por una modificación morfológica de la raíz que pierde sus pelos absorbentes y generalmente los extremos se ramifican profusamente y se acortan ensanchándose.



Figura 3. Racíes modificadas en la ectomicorriza formada por un hongo desconocido sobre *Fagus sylvatica* (Larcher, 2001).

Foto tomada del extremo de una raíz ectomicorrizada típicamente esta cubierta por un manto de hifas, como una vaina, que puede ser desde una capa floja hasta pseudo parenquimática. Desde este manto se extiende una red de hifas entre las primeras capas de células de la corteza radical y rara vez llegan hasta la endodermis, pero sin entrar en el interior de las células, de aquí el nombre de ectomicorrizas (Larcher, 2001).

Esta red se llama "red de Hartig", donde las hifas también pueden tener muy variadas formas. Desde el manto hacia afuera se extiende la red micelial, incluso llegando a formar cordones especializados en la conducción de sustancias.

Las ectomicorrizas están ampliamente dispersas en la naturaleza y se estima que el 10% de la flora mundial presenta este tipo de asociación. Principalmente las familias Pinaceas, Betulaceas, Fagaceas, y también Ericaceas y algunas Myrtaceas, Junglandaceas y Salicaceas (Boucher *et al.*, 1999).

Los hongos que forman estas micorrizas son en general los conocidos hongos de sombrero, como "amanitas" y "boletos". Solo en Norte América son más de 2.000 especies, en su mayoría Basidiomycetes y algunos Ascomycetes ("trufas"). Muchos de estos hongos pueden ser cultivados en cultivo puro, aislados de su planta huésped, pero no pueden formar carpóforos en su ausencia.

4.3 Micorrización

La micorrización ha cobrado importancia en las dos últimas décadas en los que se han establecido ensayos de inoculación de micorrizas en vivero, con los objetivos de evaluar la eficacia de las micorrizas tanto en vivero como en campo, conocer las variables de cultivo más favorables para que la micorrización sea máxima y mejorar la supervivencia de la planta en terrenos difíciles para su establecimiento (terrenos agrícolas, y agroforestales que presentan un proceso de gradación etc.), (Wallander, 1992; Bowen, 1994).

Algunos de los resultados alcanzados se pueden visualizar en el siguiente texto de ponencia elaborado para el "Tercer Curso Avanzado de Producción de Planta Forestal Autóctona para la reforestación de Ecosistemas Mediterráneos" Técnicas de micorrización en vivero con hongos ectomicorrícicos. Experiencias realizadas en el Centro Nacional de Mejora Forestal "El Serranillo" En: Tercer Curso Avanzado de Viveros y Producción de Planta Forestal (Bowen, 1994;).

4.4 Micorrizas y fertilización

Las concentraciones de fósforo y nitrógeno en el suelo influyen directamente en el Desarrollo de las micorrizas. Varios experimentos, en los que se compararon diferentes niveles de fertilización en plántulas producidas en contenedor, muestran que la formación de micorrizas está relacionada con los niveles de N y P añadidos al cultivo (Trofymow y van den Driessche, 1991; Bowen, 1994).

Estos nutrientes, también pueden afectar a los hongos indirectamente, puesto que la asimilación de nutrientes consume energía y carbohidratos, lo cual puede reducir el carbono disponible para el desarrollo de la cepa fúngica. Altos niveles de nitrógeno y fósforo, reducen la cantidad de carbohidratos en las raíces a niveles demasiado bajos para mantener al hongo simbionte (Wallander, 1992).

En el caso del pino carrasco, se han llevado a cabo varios experimentos en “El Serranillo” y en la Universidad de Murcia, para determinar los niveles de fertilización que optimizan tanto el crecimiento de la planta como el desarrollo de micorrizas (Brundrett *et al.*, 1996).

4.5 Inóculo ectomicorrícico

El inóculo miceliar es uno de los tipos de inóculo más utilizado para micorrizar plantas en vivero. Con este inóculo nos aseguramos el trabajar con la cepa o aislado fúngico elegido previamente y evitamos introducir organismos indeseados como patógenos al sistema de cultivo (Brundrett *et al.*, 1996).

Este micelio puede ser aplicado en una mezcla de turba y vermiculita, en forma de suspensiones miceliar, o incluido en geles de polímeros inertes. El inóculo producido en turba y vermiculita ha sido uno de los tipos más usados para programas de inoculación controlada en vivero (Marx y Kenney, 1982; Harvey *et al.*, 1991). El micelio incluido en geles de alginato es un buen método de producción de Inóculo de hongo ectomicorrícico (Le Tacón *et al.*, 1983; Kuek *et al.*, 1992).

Este método es eficaz para especies de hongos que soporten bien la fragmentación y en el caso de algunas especies, las concentraciones de CaCl_2 necesarias para su producción. Otro tipo de inóculo utilizado en programas de inoculación son las Suspensiones miceliares (Parladé *et al.*, 1996; Honrubia *et al.*, 1997). Este inóculo tiene la ventaja de que su preparación es sencilla y que se puede mecanizar con relativa facilidad en viveros comerciales.

4.6 Hongos micorrizícos comestibles

Son una alternativa para mejorar la rentabilidad de plantaciones forestales. A continuación se muestran algunas de las especies que se producen con fines comerciales.

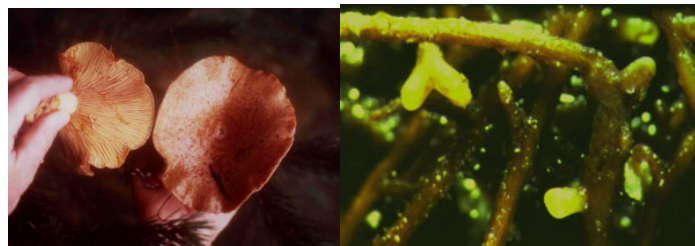
Suillus luteus



Cuerpo Frutal

Micelio

Lactarius deliciosus



Cuerpo Frutal

Micelio



thicholoma shitake

Figura 4. Algunas especies de hongos micorrizícos que se producen con fines comerciales.

Actualmente la reforestación con especies madereras en el secano interior y costero ha arrojado serios problemas de establecimiento, atribuidos a factores climáticos y edáficos, estos últimos acentuados por los marcados niveles de degradación de los suelos. Por otra parte, el manejo de renovales de roble apunta a obtener maderas en turnos prolongados sin generar recursos intermedios de valor para los propietarios o empresas. La introducción de especies reemplazantes de las originarias ha evidenciado otras restricciones que las limitan como sustitutas para su posterior uso en la industria forestal.

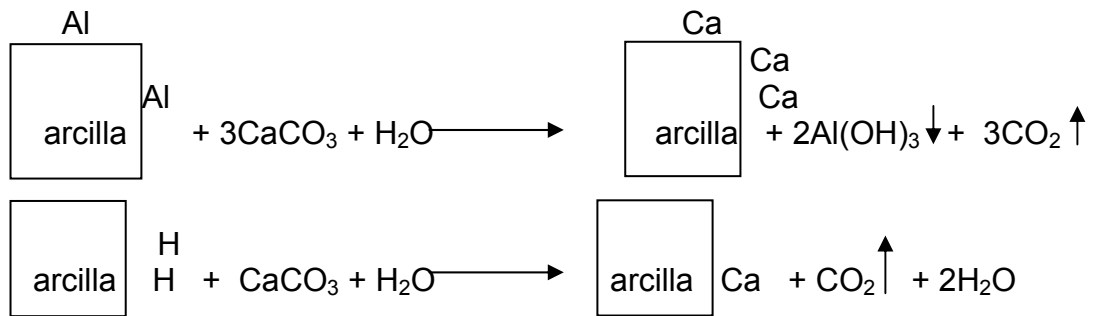
Entre las opciones para sobrellevar este problema, destaca las asociaciones simbióticas entre hongos micorrícicos y especies forestales madereras. Se destaca en este sentido los hongos micorrícicos productores de hongos comestibles, los que a través de su aplicación en plantas de vivero, permiten aumentar la sobrevivencia y crecimiento de las plantas en terrenos degradados y/o renovales, y por otra parte, a mediano plazo, generar un recurso anual consistente en una producción de hongos comestibles de fácil comercialización y constante demanda, opción que se perfila como de gran interés.

4.7 Encalado de los suelos

El enclado de los suelos se realiza con los siguientes objetivos (Castellanos *et al.*, 2000).

- Inactivar al Al intercambiable y en solución
- Eliminar deficiencias de Ca, Mg y Mo
- Reducir la fijación de P
- Mejorar la actividad microbiológica
- Disminuir la toxicidad de manganeso
- Elevar la CIC

La inactivación del aluminio intercambiable y la neutralización de la acidez con la aplicación de carbonato de calcio, se logra mediante la siguiente reacción:



5 MATERIALES Y METODOS

5.1 Experimento de invernadero

Para la realización de este trabajo se estableció un ensayo en condiciones de invernadero en el Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado a una altitud de 2 250 m. El suelo clasificado como Andisol, provino del parque Xoquiapa, Estado de México, ubicado a una altitud de 2800 msnm. El suelo presentaba bajo contenido de P-Bray (5 ppm) y un pH de 5.3.

El suelo se secó al aire y se tamizó a través de una malla de 5 mm antes del experimento, posteriormente se colocó en bolsas de plástico negro con capacidad de 5 kg. Los factores de estudio fueron dosis de CaCO_3 (cal agrícola con 90% grado de pureza) para conseguir diferentes pH del suelo e inoculación micorrízica. Las dosis de cal aplicadas se estimaron de acuerdo con la técnica de la curva de titulación descrita por Aguilar *et al.* (1987). En la Figura 6 se muestra la curva de titulación del suelo estudiado.

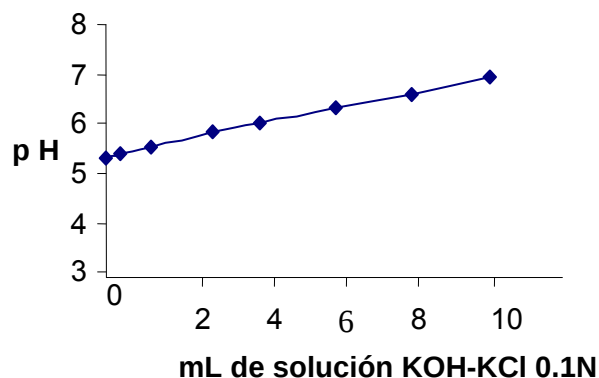


Figura 5. Curva de titulación del suelo proveniente de Xoquiapa, Edo. de México.

De acuerdo a la curva de titulación se estimaron las necesidades de cal para alcanzar pH de 5.5, 6.0 y 6.5. La cantidad de inóculo micorrízico aplicado fue de 1 g por kilogramo de suelo. El inóculo micorrízico se conoce comercialmente como Endospor, las características que presenta se describen en el Cuadro1.

Cuadro 1. Características del inóculo micorrízico (multicepa)

Parámetro	Valor
Propágulos de hongos endomicorrizicos Mínimo 33g	<i>Gigaspora margarita</i> <i>Glomus mosseae</i> , <i>G. clarum</i> <i>G. deseticola</i> , <i>G. etunicatum</i> <i>G. brasilianum</i> <i>G. Intraradices</i>
Bacterias benéficas aproximadamente 225 000 UFC/g	Mas de 60 cepas fijadoras de de N, solubilizadoras de P y promotoras de crecimiento.
<i>Trichoderma Gliocladium</i> (hongos) 388 000 UFC/g	<i>T. harzianum</i> <i>T. ressi</i> <i>T. viride</i> , <i>Gliocladium virens</i>
Vitaminas promotoras de crecimiento	Biotina, ácido fólico, B, B ₂ , B ₃ , B ₆ , B ₇ , B ₁₂ , C, K.
Aminoácidos	Proteína Vegetal y de animales
Extracto de yuca y alga	<i>Yuca schidigera</i> <i>Ascophyllum nodosum</i>
Azúcares naturales	Dextrosa

La combinación del encalado con el inóculo generó 8 tratamientos, mismos que se muestran en el Cuadro 2. Se emplearon cinco repeticiones por tratamiento, con un total de 40 unidades experimentales que se distribuyeron completamente al azar.

Cuadro 2. Tratamientos de encalado y micorrizas utilizados.

Tratamientos	pH del suelo	Micorrizas ¹	Dosis de CaCO ₃ g/maceta
Testigo 1	5.3	sin	0
T2	5.3	con	0
T3	5.5	sin	0.1
T4	5.5	con	0.1
T5	6.0	sin	5.5
T6	6.0	con	5.5
T7	6.5	sin	10
T8	6.5	con	10

¹cantidad de inóculo micorrízico aplicado al suelo

La dosis de cal se aplicó al suelo 15 días antes del transplante (tiempo en que se estabilizó el pH) (Figura 7), posteriormente se humedeció el suelo para favorecer la reacción de neutralización. Quince días después se efectuó el transplante y con este la inoculación de las plantas.



Figura 6. Encalado del suelo y distribución de las unidades experimentales.

El experimento se instaló en el mes agosto de 2005 y tuvo una duración de 5 meses. Al final del experimento se tomaron muestras de suelo de cada unidad experimental y se le determinó pH y P-Bray (Aguilar *et al.*, 1987).

5.2 Medición de variables de crecimiento

En cada unidad experimental se midió:

Altura Total (HT): Esta variable se midió en cada una de las plantas desde la base hasta el ápice con cinta métrica.

Diámetro a la altura del cuello (DAC): Esta variable fue medida en cada planta con vernier.

La medición de estas variables se al inicio del experimento y mensualmente.

Crecimiento radical. Al final del experimento se extrajeron las plantas y se separó el sistema radical en cada una de las unidades experimentales y se procedió a su lavado. La masa radical se pesó en fresco y se tomaron muestras de raíz para evaluar la colonización micorrizica, el resto se sometió a secado en estufa a 70 oC y posteriormente se determinó el peso seco.

5.3 Evaluación de la colonización endomicorrízica

Para determinar la colonización endomicorrízica primero se realizó la Tinción de raíces empleando la técnica propuesta por Kormanik *et al.* (1980) que involucra: los siguientes pasos: a) clareo, b) blanqueo, c) acidificación, d) Tinción, y e) decoloración. El procedimiento se muestra en la Figura 7.



a)



b)



c)



(d)



e)



Figura 7. Procedimiento para tinción de raíces. a) Corte de la raíz clareo; b) Blanqueo; c) Acidificación; d) Tinción; e) Decoloración (Kormanik *et al.*, 1980).

Las raíces libres de suelos se colocaron en una solución FAA para conservarse frescas, posteriormente se sacaron y se colocaron en frascos a los que se agregaron KOH al 10%. Se procedió a calentar por 10 minutos a 10 libras de presión (clareo). El KOH se retiró y los frascos con las raíces se enjuagaron con agua destilada. Después se agregó agua oxigenada (H_2O_2) al 10% durante tres minutos, pasado este tiempo se procedió a enjuagar con agua destilada (blanqueo). Posteriormente, las raíces se cubrieron con HCL al 10% por tres minutos, se eliminó el ácido y sin enjuagar se procedió a la tinción (acidificación). Los frascos que contenían las raíces se cubrieron con la solución azul triptano al 0.05% en lactoglicerol y se calentaron por 10 minutos a 10 libras de presión (tinción). El colorante se eliminó y se decoloraron las raíces con lactó glicerol limpio (Decoloración).

Para mejores observaciones en microscopio se realizaron cortes histológicos y tinción en parafina. Esta técnica se realizó en el laboratorio de histología y citología de la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

La técnica histológica se basó en los siguientes pasos:

Fijación. Cuyo fin fue preservar los diferentes constituyentes celulares lo más fidedignamente posible como cuando tenían vida;

Inclusión. El material a estudiar se colocó en parafina formando cubos; se procedió a cortar los cubos de parafina con un micrótopo de parafina; después se hizo una coloración con el fin de dar contraste a las estructuras de los tejidos con lo cual se hacen visibles en el microscopio.

5.3.1 Proceso de tinción

a) se colocaron las muestras de raíz en un frasco que contenía alcohol 100% absoluto por un tiempo de 3 minutos, al final de los cuales se extrajeron.

b) Se colocaron por otros 3 minutos en un frasco con alcohol al 90%. Y después se extraen.

c) Se colocaron por otros 3 minutos en un frasco con alcohol al 70%. Y posteriormente se extraen.

d) Se colocaron por otros 3 minutos en un frasco con alcohol al 50%. Después se extrajeron.

Al término de los lavados, las muestras se bañaron en parafina por un tiempo de 3 minutos a final del cual se sometieron a un tren de lavado como se describe a continuación:

a) Se enjuagó en agua destilada por 10 segundos.

b) Se realizó una inmersión en alcohol al 50% por un tiempo de 3 minutos.

c) Se realizó una inmersión en alcohol al 70% por un tiempo de 3 minutos.

d) Se realizó una Inmersión en alcohol al 90% por un tiempo de 3 minutos.

Al final del tren de lavado, las muestras se sumergieron en frascos que contenían Verde rápido al 100% o en azul de tritafan 50%. Posteriormente se sometieron nuevamente a un tren de lavado; éste fue: a) se enjuagó en alcohol 100% absoluto por un tiempo 10 segundos, b) se agregó alcohol 100% absoluto por un tiempo de 5 minutos, c) se adicionó alcohol 100% absoluto por un tiempo de 5 minutos, d) posteriormente se adicionó xileno al 100% por tiempo indefinido.

5.3.2 Proceso de fijación permanente

Las muestras se extrajeron de la solución de xileno y se les adicionó una gota de resina.

Después del clareo y tinción, los cortes histológicos y la tinción en parafina; se procedió a la evaluación de la colonización la cual se realizó mediante la observación al microscopio de la presencia de hongos endomicorrízicos colonizando las raíces de las plantas; las estructuras a observar fueron: hifas,

arbúsculos, vesículas y esporas. El porcentaje de colonización endomicorrízica total, se obtuvo mediante la fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{Número de segmentos colonizados}}{\text{Número de segmentos totales 150}} \times 100$$

Lo anterior para correlacionar el efecto de los tratamientos con los niveles de colonización.

5.4 Experimento de campo

Una vez concluido el experimento de invernadero, se procedió a establecer en campo el mejor tratamiento obtenido del experimento en invernadero en el predio el llano ubicado a 3 km al noreste del Municipio de Texcoco Edo. de México, perteneciente a la propiedad forestal y agrícola del señor Daniel Gervasio Rivera Buendía (Figura 8).



Figura 8. Vista del predio denominado “el llano”

El predio “El llano” se localiza en el ejido San Miguel Coatlinchan, Texcoco, México, ubicado en las coordenadas geográficas 19° 24' 20” y 19° 29' 30” latitud Norte y a los 98° 47' 00” y 98°29’30” longitud Oeste.

El experimento de campo se instaló en agosto del año 2005. Las características químicas del suelo se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Resultado de los análisis químicos realizados en los suelos del predio el llano

Variable	Suelo el llano
pH en H ₂ O	5.31
M. Orgánica %	6
P Disponible ppm	5
K Disponible ppm	62
S Disponible ppm	4.1
Ca Interc. me/100 g	1.8
Mg Interc. me/100 g	0.9
Na Interc. me/100 g	0.1
K Interc. me/100 g	0.2
Al Interc. me/100 g	2.1
Suma de bases Intercambiables me/100 g	5.1
% Saturación de Al	42
Al Extractable ppm	591
Zn Disponible ppm	0.2
Cu Disponible ppm	1.8
B Disponible ppm	0.5

El experimento en campo consistió en la siembra de 40 árboles de *Pinus halepensis* provenientes del vivero de Forestal de Probosque (vivero Temamatlan) de Chalco perteneciente a la Subregión siete del Estado de

México., los cuales presentaron gran homogeneidad y calidad. Los árboles se distribuyeron en el campo a un espaciamiento promedio de 2.5 m por 1.8 m. El encalado se realizó 15 días antes del transplante, pasado este tiempo, se inocularon las plantas con el hongo micorrízico, después se adicionó agua de riego. Al inicio y al final del experimento se midió altura y diámetro del tallo y supervivencia. La evaluación final se realizó a los 5 meses de establecidos los árboles en el campo.

5.5 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El diseño experimental empleado fue completamente al azar con cinco repeticiones. El modelo en que se basó el análisis de varianza fue el siguiente (Martínez, 1988):

$$Y_{ijklm} = \mu + M_i + E1_j + M*E1_{ij} + E2_k + M*E2_{ik} + E3_l + M*E3_{il} + \Sigma_{ijklm}$$

$$i, j, k, l, m = 1, 2$$

$$m = 1, 2, 3, 4, 5$$

Donde:

Y_{ijklm} = es la observación correspondiente a la repetición m de la combinación de los niveles i, j, k y l de los factores $M, E1, E2$ y $E3$, respectivamente

μ = es la media general

M_i = es el efecto del nivel i en micorriza

$E1_j$ = es el efecto del nivel j en encalado 0.1 g

$E2_k$ = es el efecto del nivel k en encalado 5.5 g

$E3_l$ = es el efecto del nivel l en encalado 10 g

$M*E1_{ij}$ = es la interacción entre los factores M_i y $E1_j$

$M*E2_{ik}$ = es la interacción entre los factores M_i y $E2_k$

$M*E3_{il}$ = es la interacción entre los factores M_i y $E3_l$

Además, se realizaron regresiones exponenciales para las variables de altura y diámetro, con el programa de cómputo no lineal para la estimación de parámetros de regresión no lineal útiles en el análisis de crecimiento de cultivos (Rodríguez *et al.*, 2006).

Modelo Exponencial

$$y = Be^{-Cx}$$

Donde:

y = variable de respuesta

x = variable independiente

B = parámetro asociado a la ordenada de origen

C = parámetro relacionado con la velocidad de crecimiento

e = es la base del logaritmo natural ($e=2.718281828$)

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Variables de crecimiento

En el Cuadro 4 se presentan las pruebas de significancia de los factores estudiados en las variables altura, diámetro del tallo, volumen de planta, volumen radical y peso aéreo.

Cuadro 4. Pruebas de significancia de los factores: Micorriza (ausencia y presencia) y Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones en seis variables de brinzales de pino.

Fuentes de variación	gl	Altura (cm)	Diámetro tallo (cm)	Volumen planta (cm ³)	Volumen raíz (mL)	Peso aéreo seco (g)	Peso aéreo húmedo (g)
Micorriza	1	**	**	**	**	**	**
Encalado	3	**	**	**	**	ns	*
M*E	3	**	ns	ns	ns	ns	**
Error	32	14.8	0.58	161418.7	21.25	9.71	6.12
Coeficiente de variación (%)		6.15	8.54	28.67	14.87	10.72	15.05
Media		62.65	8.97	1400.9	31	29.06	16.4

** $\alpha \leq 0.01$, * $\alpha \leq 0.05$

Como se observa en el cuadro, las micorrizas y el encalado afectaron significativamente a las variables evaluadas, con excepción de la altura y el peso aéreo húmedo, en el que la interacción de ambos factores resultó significativa. En la Figura 8 se observa que los niveles de encalado que elevaron el pH del suelo a 6 y 6.5 (niveles de encalado 2 y 3) más la adición de micorrizas favorecieron el crecimiento de las plantas de pino. Es conocido que al incrementarse el pH del suelo, sobre todo cuando éste es ácido aumenta la disponibilidad de nutrientes en el suelo, no sólo de fósforo, sino también de calcio y de molibdeno (Castellanos *et al.*, 2000). Las micorrizas al contribuir en la exploración del suelo, favorecen el aprovechamiento de los nutrientes disponibles en el suelo (Azcón, 2000).

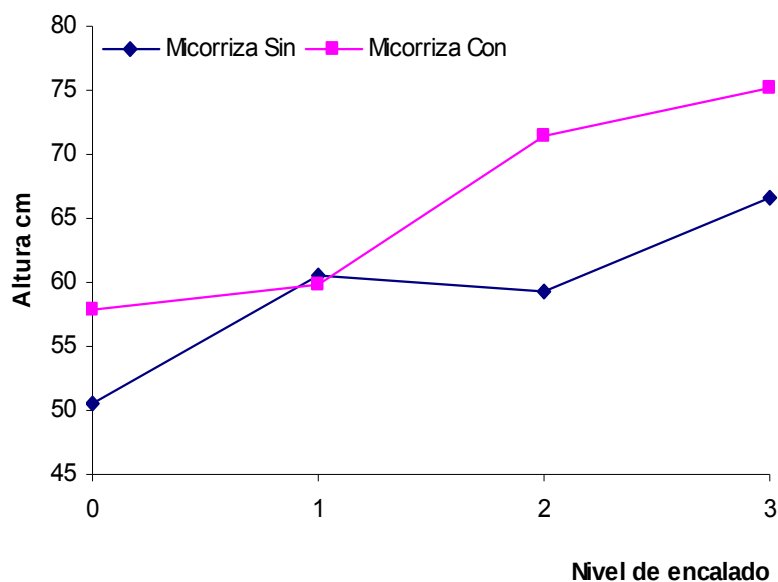


Figura 9. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y nivel de encalado), en la altura de los brinzales de pino.

El efecto de la inoculación con micorrizas y el encalado no sólo se reflejó en la altura de la planta sino también en el diámetro de tallo (Figura 9), en el volumen de la planta (Figura 10), en el peso aéreo en seco y húmedo (Figuras 12 y 13, respectivamente). En todos los casos, la adición de micorrizas combinado con un pH de 6.5 logrado con el encalado, se promovió el crecimiento vigoroso de los brinzales de *Pinus halepensis*. Azcón (2000) señala que el desarrollo vegetal puede ser promovido por los hongos formadores de micorrizas que promueven la disponibilidad de nutrimentos esenciales en la nutrición de las plantas. Resultados similares fueron obtenidos por Parada *et al.*, (2001).

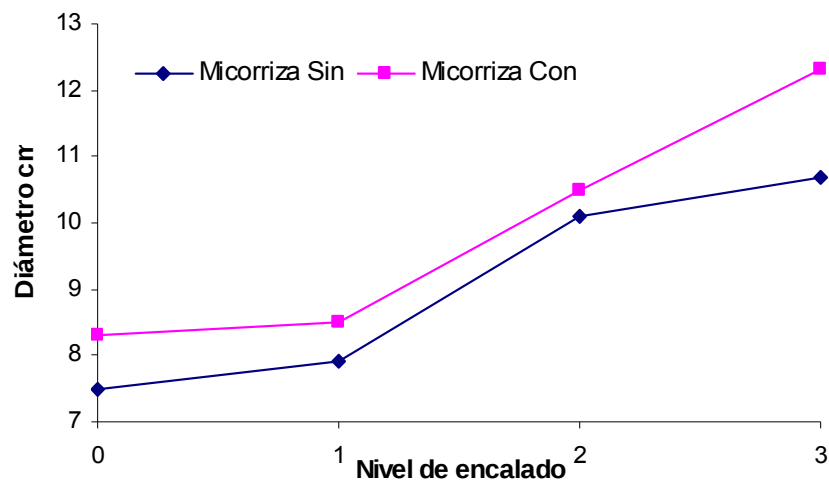


Figura 10. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el diámetro de los brinzales de pino.

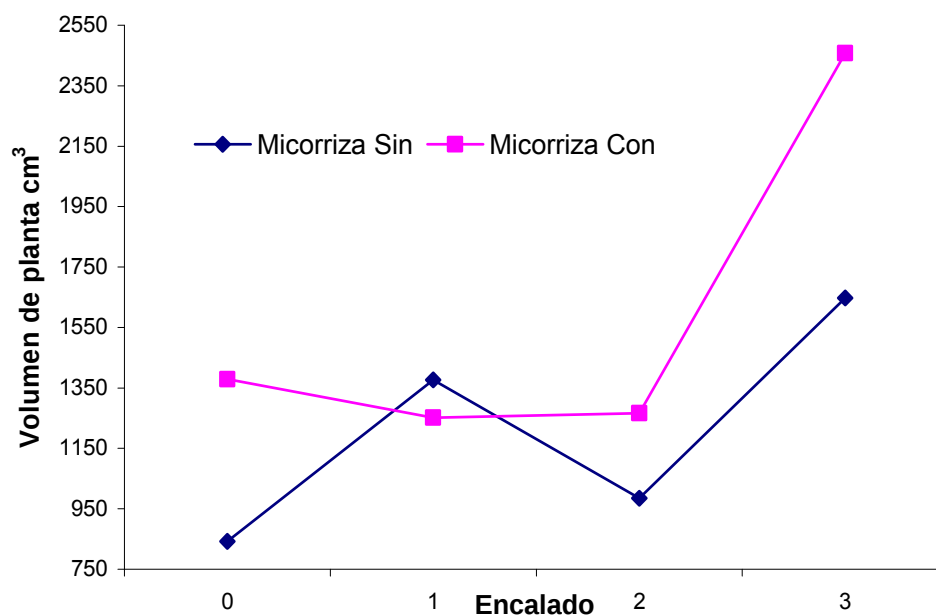


Figura 11. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el volumen de los brinzales de pino.

El mayor volumen radical que presentaron las raíces de pino por efecto de la inoculación micorrízica y el encalado (Figura 11), es indicativo de un mayor

desarrollo radical y con ello de exploración y aprovechamiento de nutrientes que se reflejaron en el desarrollo de los brinzales. Estos resultados muestran que es posible mejorar el manejo de los árboles de pino en condiciones de vivero a fin de obtener plantas vigorosas que garanticen la supervivencia en campo.

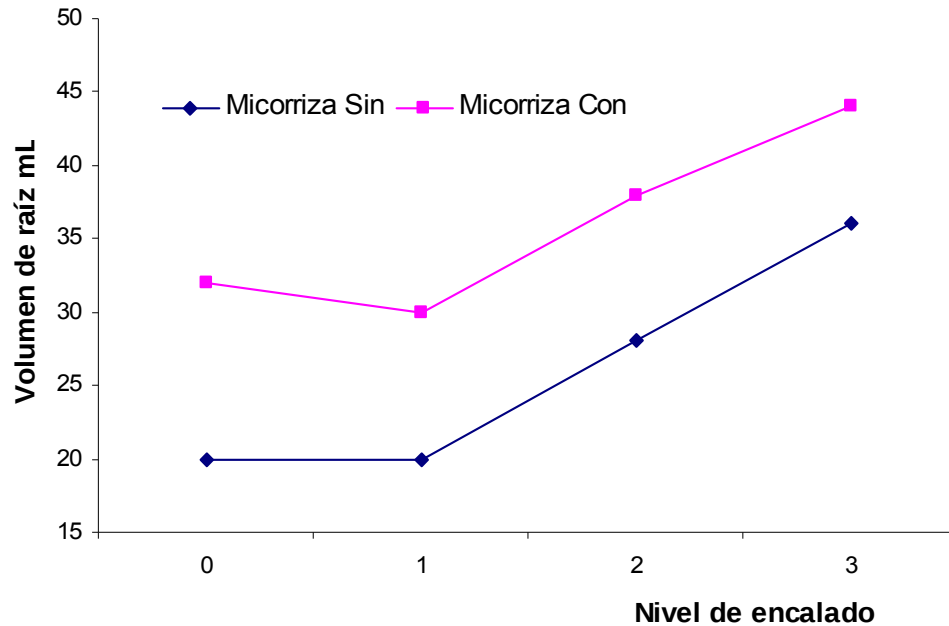


Figura 12. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el volumen de raíz de los brinzales de pino.

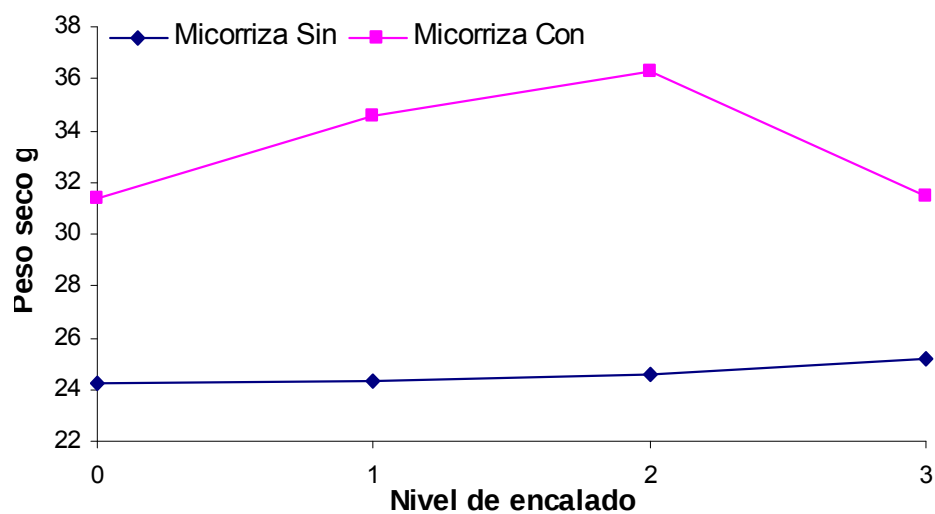


Figura 13. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el peso seco de la parte aérea de los brinzales de pino.

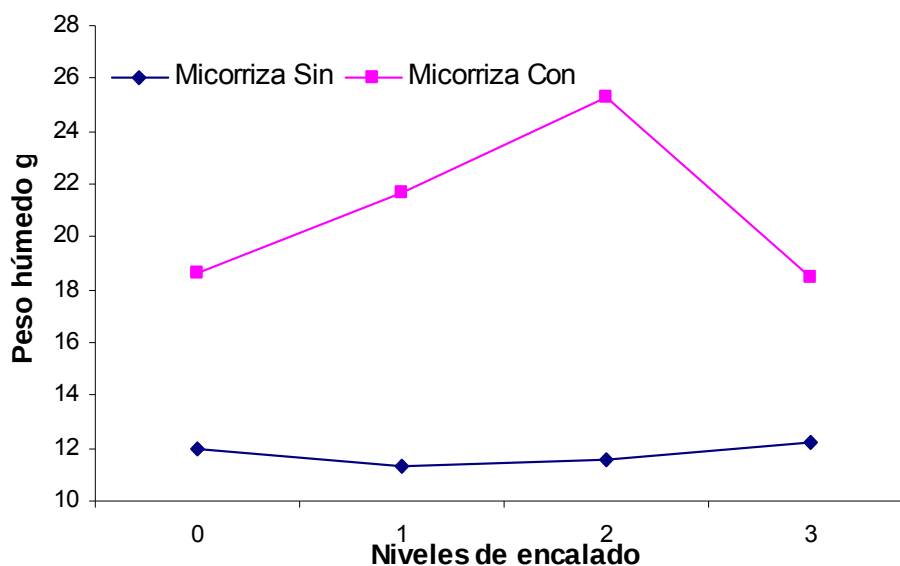


Figura 14. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el peso húmedo de la parte aérea de los brinzales de pino.

6.2 Disponibilidad de fósforo en el suelo y P acumulado por las plantas de pino

En el Cuadro 5 se muestra el efecto de la inoculación con micorrizas y encalado del suelo en el fósforo disponible (P-Bray) en el suelo y la concentración de P en la parte aérea de la planta. En el cuadro se observa que la disponibilidad de P en el suelo no fue afectada significativamente por los factores estudiados, sin embargo, la concentración de P en la planta sí fue afectada por los niveles de encalado.

Cuadro 5. Pruebas de significancia de los factores micorriza, encalado y sus interacciones en el P disponible en el suelo y la concentración en la planta.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	Fósforo en el suelo ppm	Concentración Fósforo en parte aérea (%)
Micorriza	1	ns	ns
Encalado	3	ns	*
M*E	3	ns	ns
Error	32	2.86	0.001
Total	39		
Coefficiente de variación		28.77	20.86
Media		5.88	0.20

** $\alpha \leq 0.01$, * $\alpha \leq 0.05$

A pesar que los tratamientos no ejercieron un efecto significativo en el P-Bray, la adición de micorrizas en complemento con el encalado tendió a favorecer el P disponible en el suelo (Figura 14). Esto como ya se discutió anteriormente, sí se reflejó en mayor crecimiento y vigor de las plantas.

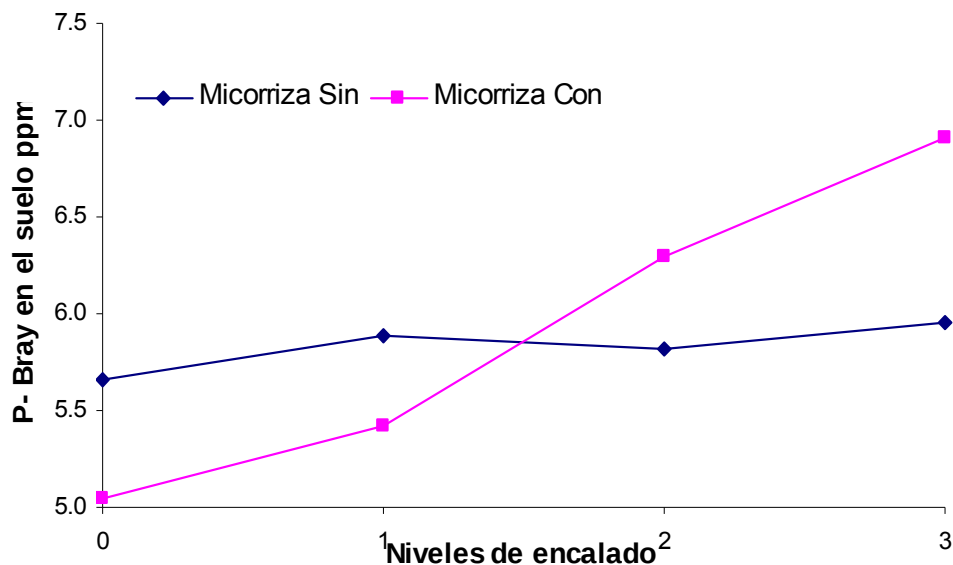


Figura 15. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el fósforo en el suelo de los brinzales de pino.

La concentración de P en la planta (Figura 15) fue mayor con los tratamientos sin inóculo de micorriza y con encalado, pero esto se debió a un menor crecimiento de los árboles.

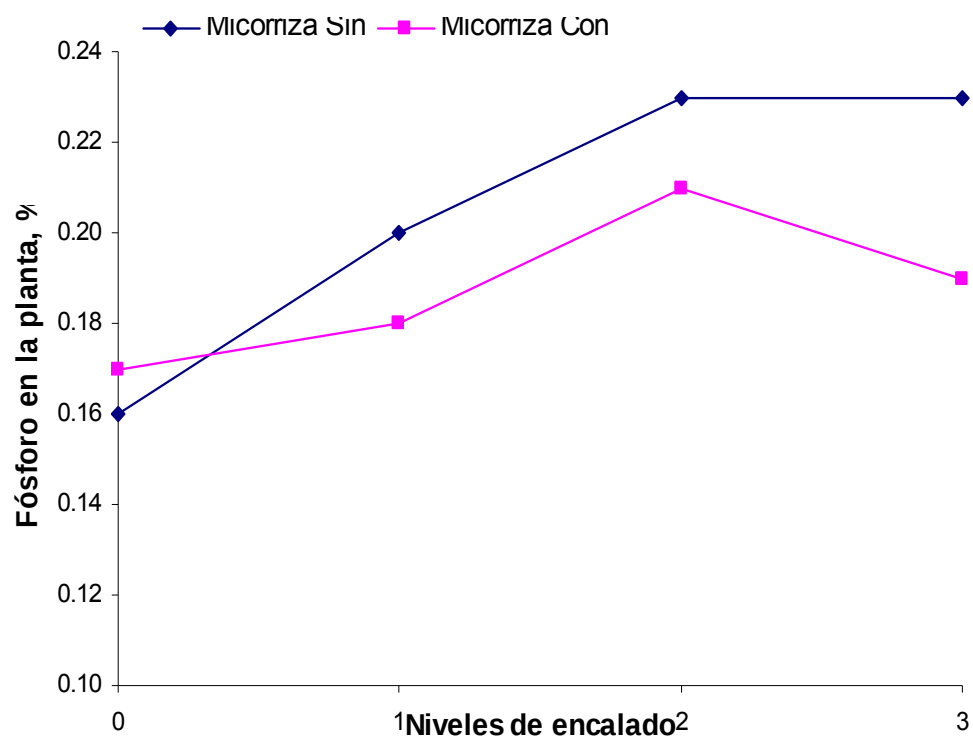


Figura 16. Interacción M*E (ausencia y presencia de micorriza y tres niveles de encalado), en el fósforo en la planta en los brinzales de pino.

6.3 Estimación del crecimiento en cinco meses por efecto de los tratamientos en brinzales de pino.

El comportamiento de la altura a través del tiempo como respuesta a la aplicación de micorriza, encalado y sus interacciones se muestran en la figura 16.

Todas las aplicaciones de micorriza (ausencia y presencia) y los tres niveles de encalado produjeron igual comportamiento en la curva (Figura 16), sin embargo, la combinación de micorriza con encalado 10g, observó un mayor incremento en altura de los brinzales en los cinco meses de investigación.

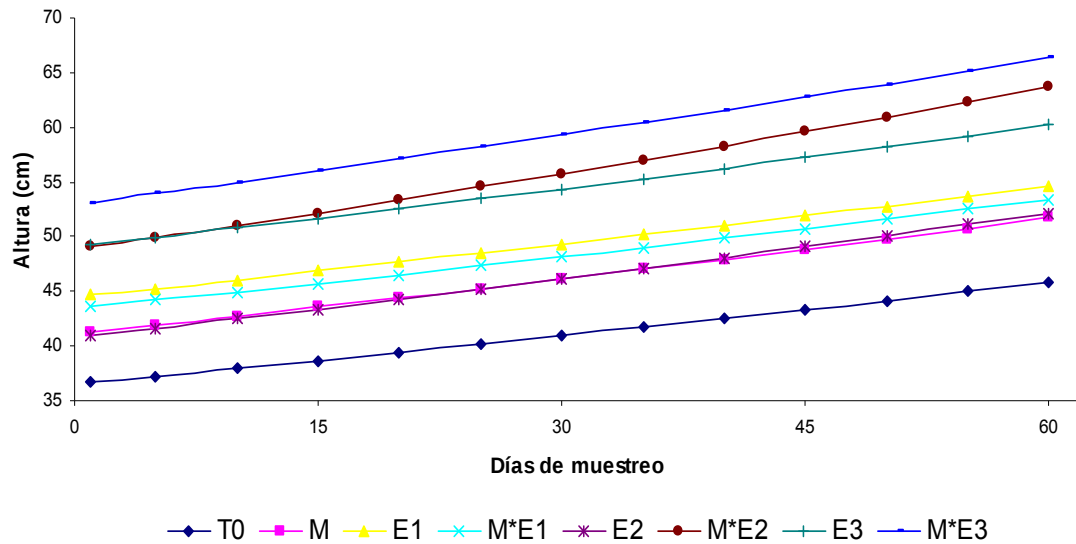


Figura 17. Regresión logística de altura obtenida por la aplicación de micorriza, encalado, sus interacciones y el testigo (T0).

La regresión que se observa en la Figura 17 analiza el comportamiento de los factores comparado con el testigo y las combinaciones de micorriza y encalado.

Al analizar el comportamiento de los factores y sus combinaciones entre si, demuestra que si existió diferencias entre los factores y sus combinaciones, el mejor diámetro obtenido fue por la combinación de los factores micorriza y encalado 10 g con un 50.9 %.

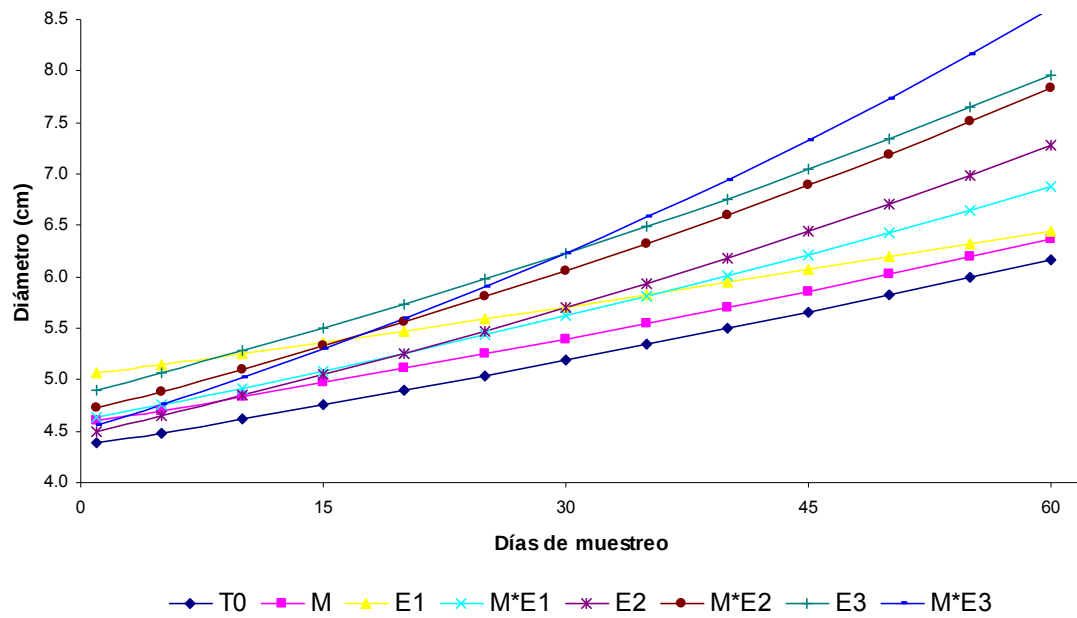


Figura 18. Regresión logística en diámetro obtenida por la aplicación de micorriza, encalado, sus interacciones y el testigo (T0).

6.4 Efecto de la inoculación micorrícica en el desarrollo de *Pinus halepensis*

Las observaciones realizadas al microscopio permitieron la identificación de a) hifas, b y c) esporas y estructuras ectomicorrízicas Figuras 19.

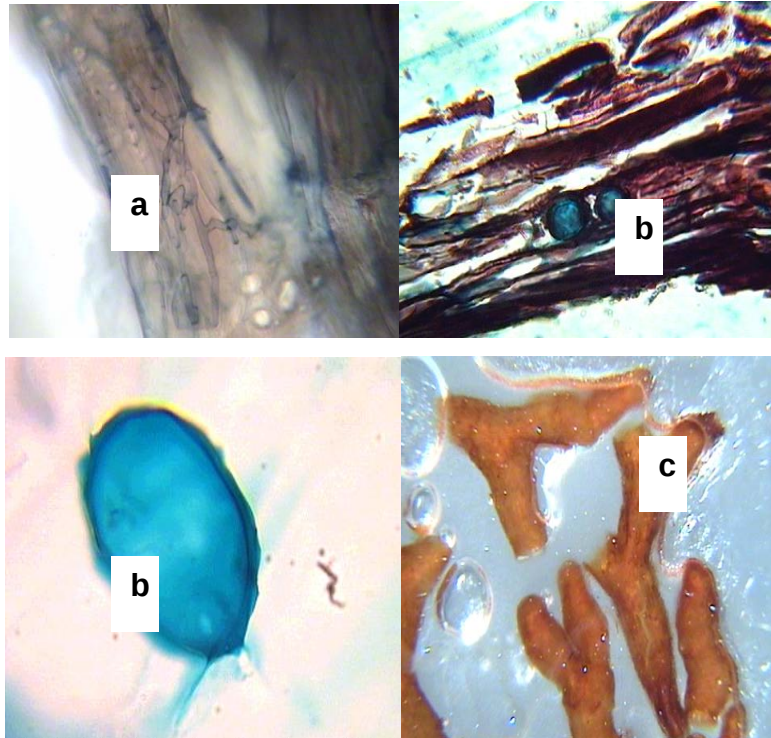


Figura 19. Estructuras micorrízicas observadas al microscopio: a) hifas, b y c) esporas y estructuras ectomicorrízicas.

Las pruebas de significancia de los factores: Micorriza (ausencia y presencia) y Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones en los segmentos colonizados por hifas vesículas de micorriza en las raíces de brinzales de pino; mostraron que el tratamiento más significativos ($**\alpha \leq 0.01$) al evaluar los segmentos colonizados, fue el que presentó micorriza en combinación con el encalado del suelo Cuadro 6.

Cuadro 6. Pruebas de significancia de los factores: Micorriza (ausencia y presencia) y Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones en los segmentos colonizados por hifas vesículas de micorriza en las raíces de brinzales de pino.

FUENTES DE VARIACIÓN	GL	SEGMENTOS COLONIZADOS (%)
Micorriza	1	*
Encalado	3	**
M*E	3	ns
Error	32	41.19
Total	39	
Coeficiente de variación		12.50
Media		51.31

** $\alpha \leq 0.01$, * $\alpha \leq 0.05$

Se conoció que de los tratamientos con micorriza el mejor fue el que presentó micorriza en combinación con el nivel de encalado mayor (10 g), éste tratamiento tuvo mayor número de segmentos colonizados Figura 19.

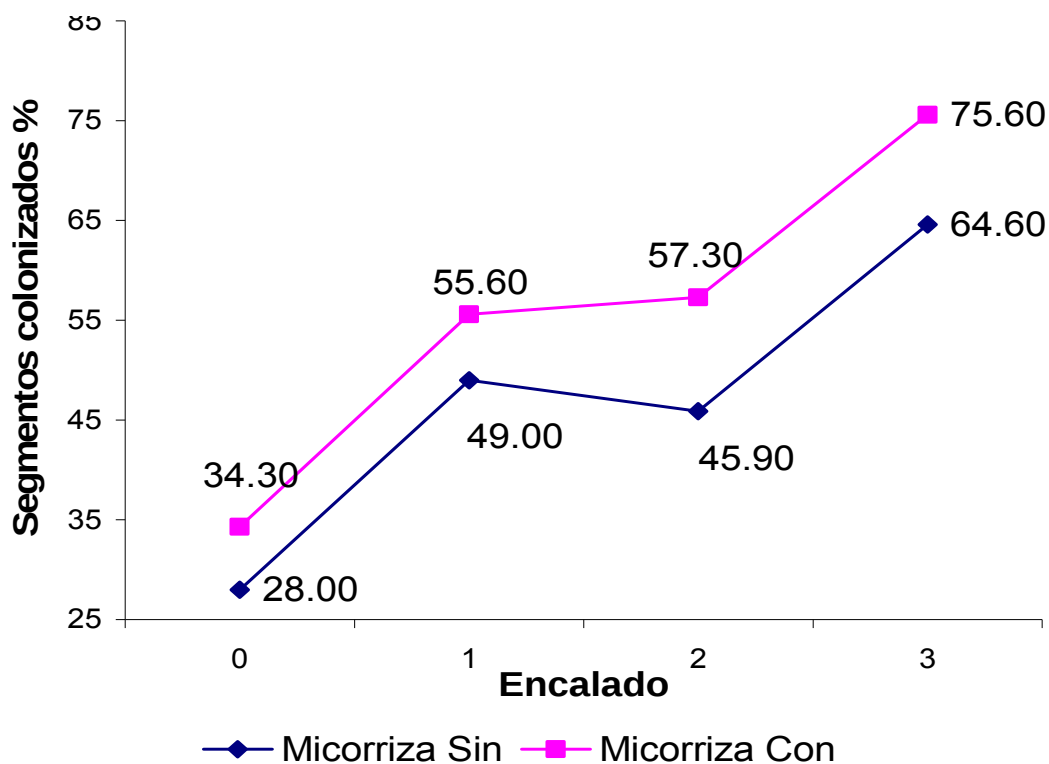


Figura 20. Porcentaje de Segmentos colonizados en los tratamientos estudiados con y sin micorriza, en combinación con tres niveles de encalado.

Lo anterior se corrobora en las Figuras 20 y 21 en ambas se muestra el promedio total de los segmentos colonizados en los tratamientos con micorriza y sin micorriza; y se observa también que de los tres diferentes niveles de encalado, en el que se adicionó la dosis mayor (10 g) se obtuvo el más alto porcentaje de segmentos colonizados.

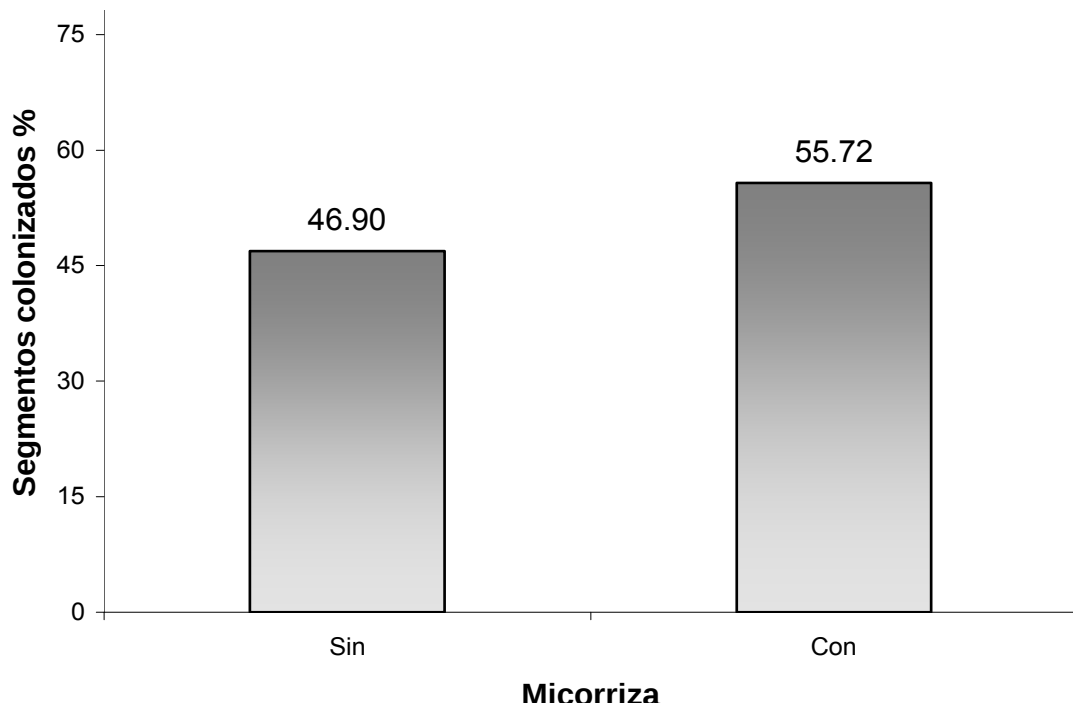


Figura 20. Promedio de los porcentajes de segmentos colonizados en los tratamientos con micorriza y sin micorriza.

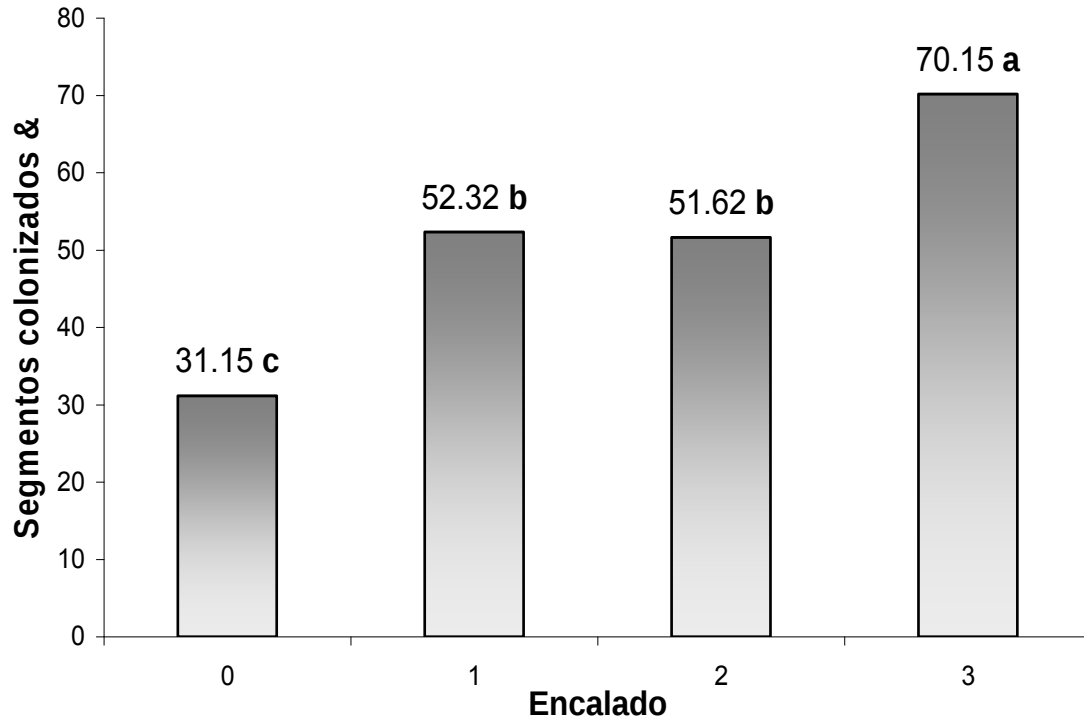


Figura 21. Segmentos colonizados en los tratamientos con micorriza en combinación con los diferentes niveles de encalado.

Al evaluar el desarrollo de las plantas, se conoció que la inoculación micorrízica en combinación con el encalado del suelo para alcanzar un pH de 6.5, generó el mayor desarrollo de los brinzales en el diámetro del tallo, altura, productividad de madera, volumen radical y acumulación de fósforo por las planta en comparación con el testigo (sin cal y sin micorriza) y el resto de los tratamientos. En campo se observó que éste mismo tratamiento, presentó 98 % de supervivencia de los árboles comparado con el tratamiento testigo (sin encalado y sin micorrizas).

Resultados similares en lo referente a la respuesta de la micorriza arbuscular y cal en plantas desarrolladas en suelos andisoles del estado de México fueron obtenidos por Sanchez–Colín (2003) quien concluye que la simbiosis resultó ser eficiente, ya que aumentaba el crecimiento de las plantas y su rendimiento; así mismo señaló que el manejo o establecimiento de la biotecnología que representan los hongos micorrízicos arbusculares, se debe realizar en las

primeras fases del crecimiento y/o establecimiento de las plantas, de modo que reciban el mayor beneficio previamente a su explotación comercial.

Resultados similares también fueron obtenidos por Zulueta et al. (2000), cuando estudiaron la respuesta de dos especies forestales tropicales (cedro y primavera) a la inoculación micorrízica. Los autores señalaron que la eficiencia de la simbiosis se mostró cuando evaluaron la producción de biomasa radical y aérea, altura y diámetros de las plantas en vivero; misma que fue mayor en los tratamientos inoculados.

Con base a lo anterior se fundamenta el uso de inóculos micorrízicos en suelos andisoles, ya que incrementan el desarrollo de las plantas así como su rendimiento.

En el cuadro 7 se representa el porcentaje promedio de los 40 brinzales trasplantados en campo. La validación en campo del tratamiento de encalado para elevar el pH a 6.5 en combinación con la inoculación de micorrizas generó el 98 % de supervivencia de los árboles comparado con el tratamiento testigo (sin encalado y sin micorrizas). Con este mismo tratamiento también se obtuvo el mayor crecimiento de los árboles en términos de altura y diámetro.

Los resultados de invernadero y campo sugieren la conveniencia del encalado e inoculación con micorrizas como una práctica efectiva para la producción comercial de *Pinus halepensis* en la zona de estudio.

Cuadro 7. Validación en campo del tratamiento de encalado para elevar el pH a 6.5 y con inoculación de micorrizas.

1° Medición 26/09/2005	Tratamiento de validación		Tratamiento testigo		Tratamiento de validación		Tratamiento testigo	
	Altura inicial cm	Diámetro inicial cm	Altura Inicial cm	diámetro Inicial cm	Altura final cm	Diámetro final cm	Altura final cm	diámetro final cm
1	37	6	44	6	57	8	*	*
2	38	4	39	4	51	10	53	7
3	38	5	50	5	63	10	*	*
4	36	5	43	5	53		*	*
5	38	6	38	6	48	11	*	*
6	38	5	50	5	62	11	*	*
7	42	6	38	6	70	10	*	*
8	43	5	51	5	73	9	*	*
9	39	5	52	5	60	10	*	*
10	42	6	53	6	71	10	*	*
11	44	5	49	5	62	9	*	*
12	44	5	49	5	65	10	*	*
13	43	5	50	5	60	10	*	*
14	45	6	51	6	65	11	*	*
15	44	7	50	7	63	11	*	*
16	48	5	53	5	64	11	*	*
17	43	5	53	6	72	12	*	*
18	48	5	57	6	73	11	*	*
19	44	6	55	5	67	12	59	8
20	42	7	54	5	69	13	*	*

7 CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que la inoculación micorrízica en combinación con el encalado del suelo a la dosis necesaria para elevar el pH a 6.5, promovió el mayor desarrollo de los brinzales de *Pinus halepensis* Mill. en términos de las variables diámetro del tallo, altura, productividad de madera y volumen radical, comparado con el tratamiento testigo (sin cal y sin micorriza) y el resto de los tratamientos.

El encalado del suelo no favoreció significativamente la disponibilidad de P en el suelo, sin embargo, la planta acumuló las mayores cantidades de P en la parte aérea cuando el suelo se encaló para alcanzar el pH de 6.5 en combinación con la inoculación de micorriza.

La inoculación con micorrizas favoreció la disponibilidad de fósforo para la planta, mismo que se manifestó tanto en crecimiento como en la mayor acumulación de P en la parte aérea de los brinzales. Este efecto se atribuyó a que la raíz de los brinzales presentaron la mayor proporción de segmentos colonizados, misma que se reflejó en un mayor volumen radical. Sin embargo, este efecto se logró cuando adición del inóculo se combinó con la dosis de encalado para alcanzar un pH de 6.5.

La validación en campo del tratamiento antes señalado, promovió el 98 % de supervivencia de los brinzales, comparado con aquél sin la adición de inóculo ni encalado del suelo. con el tratamiento testigo (sin encalado y sin micorrizas).

Los resultados de invernadero y campo sugieren la conveniencia del encalado e inoculación con micorrizas como una práctica efectiva para la producción comercial de *Pinus halepensis* en la zona de estudio.

8 LITERATURA CITADA

- Aguilar S.A., Etchevers B.J.D. y Castellanos R.J. 1987. Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Publicación Especial No. 1.
- Alarcón, A. y R. Ferrera-Cerrato. 1999. Manejo de la Micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. Terra. Vol 17 No. 3. pp. 180-191.
- Azcón, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. En: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la micorriza arbuscular. A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.), pp1-15. IRENAT-Colegio de Postgraduados, Montecillo, Méx.
- Boucher, A.; Dalpe Y. and Charter C. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization of four species of *Glomus* on physiological responses of Maize. En: Journal of plant nutrition . Vol.2.No 4y5P. 783-797.
- Bowen, G.D. 1994. The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning. En: *Management of Mycorrhizas in Agriculture, Horticulture and Forestry*. A. D. Robson; L. K. Abbott; N. Malajczuk (eds.). Kluwer Academic Publishers. pp 61
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. y Malajczuk, N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32, pp.374.
- Dasilva, E.; Henriksson L. and; Milda U. 1977. Growth responses of mycorrhizal *Boletus* and *Rhizopogon* species to pesticides. Trans. Br. Mycol. Soc, 68 (3): 434-437.
- Harvey, A.E.; Jurgensen, M.F. y Larsen, M.J. 1991. Clearcut harvesting and ectomycorrhizae: survival of activity on residual roots and influence on bordering forest stand in western Montana. *Can. J. For. Res.* 10: 300-303.
- Larcher, W. (2001) *Physiological plant ecology* 4th ed. Springer ISBN 3540435166
- Marx, D. y Kenney D. 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. En: *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. N. C., Schenk, (ed.) An. Phytopathol. Soc., St Paul. MN, 244 pp.

- Parada, F. A. Jaén D., Becerril A. y García E. 2001. Desarrollo y calidad de portainjerto de chicozapote inoculado con *Glomus mosseae*, aspersión de AG₃ y fertilización N P K al suelo y foliar. Terra 19: 133-139.
- PelleR, S an Mollier A., 2001. How To include mineral nutrición in crop growth? The Example phosphorus en maize, Plant Nutricción food Security and sustainability of agro-ecosytens. .s.l: Kluwer academic publisistois, P 110- 111.
- Rodríguez J. E., J. Castellanos, R. Gasga y R. Mora A. 2006. Programas de Cómputo para Estimación de Parámetros de Regresión no Lineal Útiles en el Análisis de Crecimiento de Cultivos *in* Resúmenes de la 52da Reunión Anual Sociedad Interamericana para la Horticultura Tropical. Septiembre 24-30. San Juan Puerto Rico.
- Sánchez-Colín, M. J. 2003. Estudios de micorrizas arbusculares en especies cultivadas y silvestres en andisoles del Estado de México. Agricultura – técnica en M_éxico. Vol. 29. No. 1. pp 69-79.
- Shoji, S; DAHLGREN R. and Nanzyo M.. 1993. Genesis of volcanic ash soils. *In*: Volcanic ash soils: Genesis, properties and utilization. Developments in soil science 21. El sevier. Amsterdam. pp: 37
- Wallander, H. 1992. Regulation of *ectomycorrhizal* simbiosis in *Pinus sylvestris* *L.seedlings*. Influence of mineral nutrition. Departament of Forest Mycology and Pathology. Uppsala.
- Zulueta, R., M. Alejandro., M. Escalona., D. Trejo y L. Lara. 2000. Respuesta de dos especies forestales tropicales a la inoculación micorrízica. *In*: Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. pp. 184-193.

9 ANEXOS

Cuadro 1. Análisis de varianza y parámetros de regresión del modelo exponencial de tratamientos Micorriza (ausencia y presencia), Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones para altura de briznales de pino.

		T0	M	E1	M*E1	E2	M*E2	E3	M*E3
FV	GL	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM
Regresión	2	6572.1	8351.7	9410.1	8977.9	8432.2	12469.1	11423	13764.2
Error	5	0.2780	0.6580	0.6205	1.9350	1.7624	0.3339	1.0723	2.9075
Total	7	13145.7	16706.7	18823.4	17965.4	16873.3	24939.9	22851.3	27542.9

Cuadro 2. Continuación

FV	T0	M	E1	M*E1	E2	M*E2	E3	M*E3
r^2	0.99	0.98	0.98	0.94	0.96	0.99	0.97	0.95
B	36.54	41.12	44.51	43.43	40.79	48.83	49.11	52.92
C	0.00379	0.00383	0.00342	0.00345	0.00410	0.00442	0.00339	0.00378

Cuadro 3. Análisis de varianza y parámetros de regresión del modelo exponencial de tratamientos Micorriza (ausencia y presencia), Encalado con tres niveles (0.1, 5.5 y 10 g) y sus interacciones para diámetro de brinzales de pino.

		T0	M	E1	M*E1	E2	M*E2	E3	M*E3
FV	GL	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM	CM
Regresión	2	114	121.8	129	139.6	153.6	177.4	183.9	212.9
Error	5	0.1345	0.2425	0.124	0.4723	0.5099	0.6107	0.5758	1.0487
Total	7	228.8	244.8	258.5	281.6	309.8	357.8	370.6	431.1

Cuadro 4. Continuación

FV	T0	M	E1	M*E1	E2	M*E2	E3	M*E3
r^2	0.90	0.82	0.84	0.81	0.85	0.86	0.86	0.87
B	4.35	4.57	5.04	4.59	4.46	4.68	4.86	4.50
C	0.00580	0.00549	0.00409	0.00671	0.00814	0.00858	0.00822	0.0108