

# MANEJO Y EVALUACIÓN DE ECTOMICORRIZAS EN ESPECIES FORESTALES

A. Carrera-Nieva; G. F. López-Ríos

División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

## RESUMEN

Con el propósito de establecer la capacidad simbiótica de hongos ectomicorrízicos con *Pinus patula* y *Pinus greggii* en este trabajo se evaluaron ocho hongos ectomicorrízicos, los cuales se seleccionaron debido a su amplia distribución y comestibilidad. Los porcentajes de colonización micorrízica variaron entre especies de 9 a 66 %. Las plantas inoculadas con *Laccaria laccata* y *Suillus pseudobrevipes* presentaron un mayor porcentaje de colonización y desarrollaron un micelio externo abundante. Los valores medios más altos en altura, peso seco y diámetro del tallo se observaron en plantas inoculadas con *Laccaria laccata*, *Suillus pseudobrevipes* y *Boletus clavipes* en comparación con el testigo. La caracterización micromorfológica mostró una asociación típica de gimnospermas con una red de Hartig penetrando varias capas de células corticales.

**PALABRAS CLAVE:** hongos ectomicorrízicos, *Pinus patula*, *Pinus greggii* e inoculación.

## ECTOMICORRHIZAL MANAGEMENT AND EVALUATION IN FOREST SPECIES

### SUMMARY

The objective of this research was to establish the symbiotic capacity of ectomycorrhizal fungi with *Pinus patula* and *Pinus greggii*. These eight ectomycorrhizal fungi were chosen due to their wide distribution and edibility. The percentages of mycorrhizal short roots varied among species from 9 to 66 %. *P. patula* and *P. greggii* seedlings inoculated with *Laccaria laccata* and *Suillus pseudobrevipes* respectively exhibited a higher degree of infection, bore more mycorrhiza and developed more abundant external mycelium. The highest mean values of height, dry weight and caliper stem were obtained with seedlings inoculated with *Laccaria laccata*, *Suillus pseudobrevipes* and *Boletus clavipes* which showed better growth compared with the control. Histological examination of these pine mycorrhizas showed an ectomycorrhizal association typical of gymnosperms with an intercellular Hartig net penetrating between several layers of cortical cells.

**KEY WORDS:** ectomycorrhizal fungi, *Pinus patula*, *Pinus greggii* and, inoculation.

## INTRODUCCIÓN

*Pinus patula* Schl et Cham. y *Pinus greggii* Engelm. son especies forestales mexicanas de gran importancia ecológica y económica, forman masas puras o mezcladas, asociándose en ocasiones. Debido a sus características de rápido crecimiento y adaptación a condiciones edáficas nutrimentalmente pobres, son ampliamente utilizadas en plantaciones de tipo comercial en México y en países como la India, Indonesia, Brasil, Sudáfrica y Colombia (Smith *et al.*, 2002). Estas especies, particularmente, *P. greggii*, representan un verdadero potencial para plantaciones. Una de las formas de incrementar su supervivencia en estas condiciones es a través de la inoculación de hongos ectomicorrízicos (Selosse *et al.*, 1999).

La importancia ecológica de la asociación ectomicorrízica se fundamenta en que mejora la capacidad de la planta para la adquisición de nutrientes minerales y agua del suelo, reducción de la toxicidad de metales pesados y otros contaminantes, incrementa la resistencia de las plantas a patógenos (Egerton-Warburton y Griffen, 1995) e incremento del crecimiento de la planta (Burgess *et al.*, 1993). Cabe también señalar la gran importancia comercial de este grupo de hongos por su interés culinario (Espigol *et al.*, 1999), lo que supone un valor añadido en la repoblación de áreas forestales con estas plantas.

Recientemente, en algunos viveros se ha empezado a utilizar hongos ectomicorrízicos con el objetivo de incrementar la supervivencia y tasas de crecimiento de los

árboles en el vivero y en el campo. En México existe poca investigación al respecto, no obstante la importancia que presupone la utilización de especies de rápido crecimiento como es el caso de *P. greggii* y *P. patula* en áreas con problemas de regeneración, en simbiosis con hongos ectomicorrízicos comestibles.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la inoculación con hongos ECM en el desarrollo de *P. patula* y *P. greggii* en condiciones de invernadero, en términos de infectividad (porcentaje de colonización y caracterización micromorfológica) y efectividad (altura, diámetro, biomasa y concentración de nutrimentos).

## METODOLOGÍA

**Material biológico.** Las semillas de *P. patula* Schl et Cham. y *P. greggii* Engelm. utilizadas fueron colectadas en un bosque natural en la localidad de La Venta, municipio de Chignahuapan, Puebla y El Piñón, municipio de Jacala, Hidalgo, la cual corresponde a la región sur del área de distribución natural de la especie (Dvorak, 2002), respectivamente. Los hongos ectomicorrízicos (ECM) utilizados se colectaron en San Nicolás de los Ranchos, estado de Puebla; en el Parque Nacional Zoquiapan, Estado de México; en Chignahuapan, estado de Puebla; en el mercado de Jamaica, México Distrito Federal; en el mercado de Texcoco, Estado de México, y en la plantación tropical de *P. caribaeae* var. *hondurensis*, "La Sabana" en el municipio de San Juan Cotzocon Mixe, Oaxaca. Para la obtención del inoculante, posterior a su identificación, los cuerpos fructíferos fueron deshidratados y molidos (el tamaño de las partículas se homogeneizó con un tamiz de 1 mm). Se evaluó la concentración de esporas de inoculantes con la cámara de Neubauer ( $10^5$  a  $10^8$  esporas por  $\text{cm}^3$  de inoculante).

**Establecimiento del experimento.** Las semillas de *P. patula* y *P. greggii* fueron mantenidas en refrigeración a  $5^\circ\text{C}$ . Previo a su siembra, fueron tratadas con  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30 % durante 30 minutos y con agua destilada estéril por 40 minutos. La siembra se efectuó a una profundidad de 2 cm. Se utilizaron contenedores tipo tubete de plástico negro de 62 mm de diámetro, 180 mm de largo y  $250\text{ cm}^3$  de volumen (desinfectados por inmersión en alcohol al 90 % durante cinco minutos). El sustrato consistió de suelo agrícola: arena de río en proporción 1:2, previamente esterilizados. El suelo empleado presentó las siguientes características químicas: pH 6.2, contenido de materia orgánica 4.97 %, N total 0.25 %, Ca intercambiable  $17.13\text{ Cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ , Mg intercambiable  $12.47\text{ Cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ , K intercambiable  $0.77\text{ Cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ , Na intercambiable  $0.08\text{ Cmol}_c\text{ kg}^{-1}$  y P intercambiable  $2\text{ Cmol}_c\text{ kg}^{-1}$ . El inoculante fue colocado a una profundidad de 3 cm. Cada planta fue inoculada con alrededor de  $10^6$  esporas. Posteriormente, el inoculante se cubrió con una capa de sustrato hasta llenar el contenedor y se adicionó una capa de tezontle esterilizado.

El experimento se mantuvo en invernadero durante 11 meses con riegos de agua destilada estéril. Se sembraron cinco semillas por tubete y al mes después de la germinación se seleccionó una plántula de 4 cm por tubete para homogeneizar el experimento.

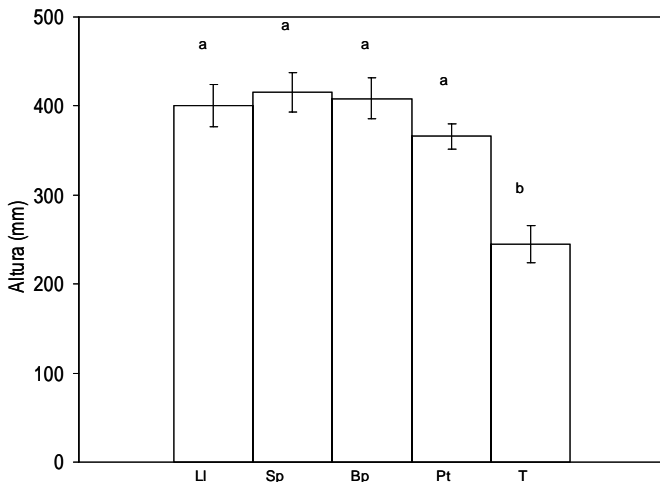
**Diseño experimental y análisis estadístico.** Se utilizó un diseño completamente al azar que incluyó los siguientes tratamientos: para el caso de *P. patula*: i) inoculación con *Laccaria laccata*; ii) inoculación con *Suillus pseudobrevipes*; iii) inoculación con *Amanita fulva*; iv) inoculación con *Amanita caesarea*; v) inoculación con *Suillus granulatus*; vi) inoculación con *Boletus clavipes* y vii) sin inoculación, el cual fue considerado como testigo. En el caso de *P. greggii*: i) inoculación con *L. laccata*; ii) inoculación con *Suillus pseudobrevipes*; iii) inoculación con *B. clavipes*; iv) inoculación con *Pisolithus tinctorius* y v) sin inoculación, el cual fue considerado como testigo. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones originando 35 unidades experimentales para *P. patula* y 25 unidades experimentales para *P. greggii*. A las diferentes variables evaluadas se les realizó un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha < 0.05$ ). Cuando los datos eran porcentajes, previo al análisis estadístico los valores originales fueron transformados a valores arco seno.

**Cosecha y variables evaluadas.** Las plantas de todos los tratamientos fueron cosechadas: en el caso de *P. patula*, nueve meses después de la siembra y para *P. greggii*, 345 días después de la siembra. Se extrajeron las plantas de los tubetes y se evaluó la presencia y abundancia de micelio externo en la superficie de los cepellones. Se midió la altura y el diámetro del tallo con Vernier. El sistema radical fue examinado con estereomicroscopía para contar el número de raíces cortas ECM y no ECM siguiendo los métodos propuestos por Grand y Harvey (1984). El porcentaje de colonización fue calculado como el número total de raíces cortas formadas por los hongos inoculados/ número total de raíces cortas ectomicorrízicas X 100. La parte aérea y el sistema radical fueron deshidratados para determinar su peso seco. Para el análisis micromorfológico de los morfotipos involucrados en el caso de *P. patula* se utilizaron ectomicorrizas *S. pseudobrevipes*, *L. laccata* y *B. pinophilus*; los cortes se realizaron con el microtomo de congelación a 45 micras y se elaboraron preparaciones semipermanentes para la caracterización anatómica. En el caso de *P. greggii* se tomaron muestras de las raíces ECM, a partir de las cuales se hicieron preparaciones fijas de acuerdo a la técnica de inclusión en parafina de López et al. (1998): se fijaron en FAA, se deshidrataron con alcoholes graduales y xilol, se incluyeron en parafina; se obtuvieron cortes de 9  $\mu\text{m}$  de grosor con microtomo rotatorio, se montaron en portaobjetos, desparafinaron, se hidrataron con alcoholes graduales y tiñeron con safranina y verde rápido. Se hicieron observaciones con microscopía campo claro y de contraste de fases.

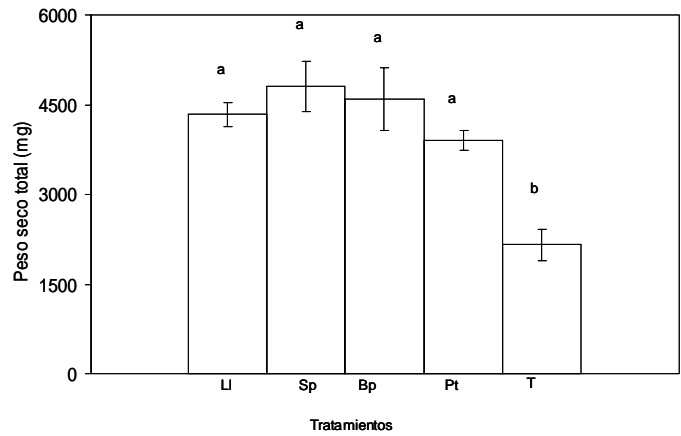
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Respuesta de crecimiento de las plantas.** Las plantas inoculadas, independientemente de la especie de hongo ECM utilizado, tuvieron mayor altura, diámetro del tallo y peso seco total que las plantas no inoculadas. En el caso de la altura (Figura 1) y el peso seco total (Figura 2) no existieron diferencias estadísticas entre las plantas inoculadas con cualquiera de las especies de hongos ECM; sin embargo, las plantas de *P. greggii* inoculadas con *S. pseudobrevipes* numéricamente produjeron para ambas variables los mayores incrementos. Estos fueron 1.7 y 2.2 veces mayores en altura y peso seco total respectivamente con relación al testigo. En el caso del diámetro del tallo (Figura 3) existieron respuestas diferenciales de acuerdo a las especies de hongos inoculados. El mayor valor para esta variable fue observado cuando se inoculó con *B. clavipes*, siendo este valor no estadísticamente mayor que cuando se inoculó con *L. laccata*, pero superior comparado con aquellas plántulas inoculadas con *S. pseudobrevipes* y *P. tinctorius*. Para esta variable existió un incremento de 2.1 veces cuando se inoculó con *Boletus clavipes* comparado con el testigo.

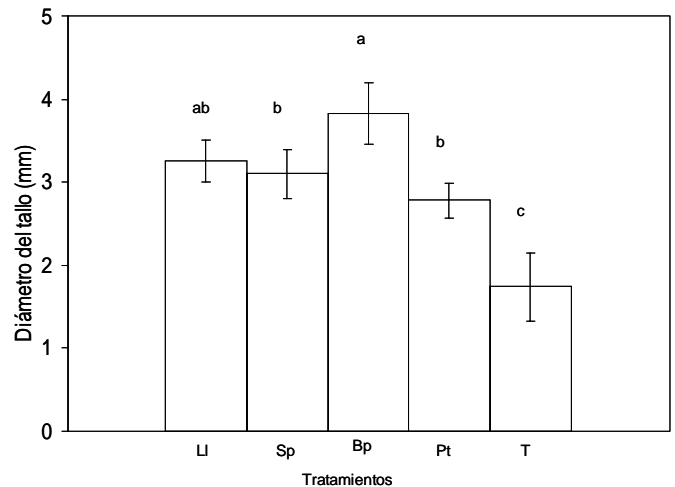
En el caso de las plantas de *P. patula* para ambas variables *L. laccata* produjo los mayores incrementos. Estos fueron 1.7 y 2.2 veces mayores en altura y peso seco total respectivamente con relación al testigo. En el caso del diámetro del tallo el mayor valor fue observado cuando se inoculó con *L. laccata*, siendo este valor no estadísticamente mayor que cuando se inoculó con *A. fulva*, *S. pseudobrevipes* y *B. clavipes*, pero superior comparado con el testigo. Para esta variable existió un incremento de



**FIGURA 1.** Altura de plantas de *Pinus greggii* inoculadas o no con distintas especies de hongos ectomicorrízicos. Los valores son medias  $\pm$  error estándar de la media,  $n=5$ . Barras con la misma letra no presentaron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P<0.005$ ). LI=*Laccaria laccata*; Sp=*Suillus pseudobrevipes*; Bp=*Boletus pinophilus*; Pt=*Pisolithus tinctorius*; T=testigo.



**FIGURA 2.** Peso seco total de plantas de *Pinus greggii* inoculadas o no con diferentes especies de hongos ectomicorrízicos. Los valores son medias  $\pm$  error estándar de la media,  $n=5$ . Barras con la misma letra no presentaron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P<0.05$ ). Abreviaturas de los tratamientos iguales a las de la Figura 1.



**FIGURA 3.** Diámetro del tallo de plantas de *Pinus greggii* inoculadas o no con distintas especies de hongos ectomicorrízicos. Los valores son medias  $\pm$  error estándar de la media,  $n=5$ . Barras con la misma letra no presentaron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P<0.005$ ). Abreviaturas de los tratamientos iguales a las de la Figura 1.

2.2 veces cuando se inoculó con *L. laccata* comparado con el testigo. Sudhakara-Reddy y Natarajan (1997) evaluaron el efecto de la inoculación de inóculo micelial de *L. laccata* en el crecimiento de *P. patula* en la India. Diez meses después de la inoculación encontraron diferencias estadísticas en altura y peso seco de la parte aérea y de la raíz en los tratamientos inoculados con relación al testigo. A este estadio sus valores fueron menores que los encontrados en el presente trabajo, 14.2 cm de altura, 576 y 366 mg de peso seco de la parte aérea y la raíz, respectivamente. Los mismos autores estudiaron el efecto de la inoculación con *Telephora terrestris* y a los 10 meses no encontraron diferencias estadísticas en plantas

inoculadas o no inoculadas en términos de su altura, peso seco de la parte aérea y raíz. Dado que existen diferencias significativas también en el caso de plantas sin inocular, valores menores en el caso de Sudhakara-Reddy y Natarajan (1997), con una altura de 9.7 cm, peso seco de la parte aérea y de la raíz 334 y 128 mg respectivamente. Estas diferencias respecto a la presente investigación pueden estar relacionadas con la especie de hospedero, ya que algunas investigaciones han demostrado que *Pinus greggii* pueden presentar mejores crecimientos que *Pinus patula* bajo determinadas condiciones ambientales (Kietzka *et al.*, 1996; Dvorak *et al.*, 1996), lo cual demuestra el potencial que podría tener esta especie en la reforestación.

En plantas de *P. patula* las relaciones de peso seco de la parte aérea-raíz variaron de 1.52 en el caso de plantas inoculadas con *L. laccata* y *S. pseudobrevipes* a 2.29 en el caso de *B. clavipes*. Para el testigo dicho valor fue intermedio entre éstos, siendo de 1.88. A pesar de estas variaciones no existieron diferencias estadísticas significativas (Prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ) entre dicha relación de peso seco de la parte aérea y la raíz entre las plantas inoculadas con los diferentes hongos ECM utilizados y el testigo. Sin embargo, numéricamente para esta variable *B. pinophilus* produjo la mayor proporción peso seco de la parte aérea-raíz a diferencia de *A. caesarea* y *L. laccata* que redujeron dicha proporción. Estos resultados muestran que la inoculación con *L. laccata* originó un mayor peso seco radical y una reducción en la relación peso seco de la parte aérea-raíz en relación a las plantas no inoculadas. En el caso de *P. greggii* las relaciones de peso seco de la parte aérea-raíz variaron de 2.01, en el caso de plantas inoculadas con *L. laccata* y *S. pseudobrevipes* a 3.22 en el caso de aquellas plantas inoculadas con *B. clavipes*. Para el testigo dicho valor fue intermedio entre éstos, siendo de 2.38. A pesar de estas variaciones no existieron diferencias estadísticas significativas (Prueba de Tukey,  $P < 0.05$ ) entre dicha relación de peso seco de la parte aérea y la raíz entre las plantas inoculadas y el testigo.

Esto muestra que si bien es cierto que la inoculación originó un mayor peso seco total independientemente de la especie empleada, no originó cambios en la relación del peso seco de la parte aérea y la raíz en plantas inoculadas con relación al testigo. Sudhakara-Reddy y Natarajan (1997) encontraron en un estadio similar al estudiado en el presente trabajo la existencia de diferencias significativas entre plantas de *P. patula* inoculadas con *L. laccata* respecto al testigo. Observaron una disminución en la relación peso seco aéreo-raíz (1.5) y un incremento en el peso seco radical (366 mg) respecto al testigo (2.6 y 128 respectivamente). Por su parte, Brunner y Brodbeck (2001) al evaluar el efecto de la inoculación de *Laccaria bicolor* en *Picea abies*, encontraron que la inoculación comparada con el control incrementó significativamente la biomasa aérea y total, sin embargo, incrementó la relación peso seco de la parte aérea-raíz. A diferencia de lo reportado por estos autores, en la presente investigación no se observaron diferencias

estadísticas significativas para la relación peso seco de la parte aérea-raíz entre las distintas especies fúngicas ectomicorrízicas inoculadas respecto al testigo. Los resultados obtenidos inducen a pensar que en algunos casos, la inoculación ECM tiende a disminuir la relación peso seco de la parte aérea-raíz, dependiendo tal respuesta de las distintas especies hospedero y fúngicas ECM involucradas.

Los valores son las medias  $\pm$  error estándar de la media.  $n=5$ . Una misma letra significa que los tratamientos no mostraron diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

**Caracterización de morfotipos de ectomicorrizas evaluadas:** Las micorrizas de *B. clavipes* y *L. laccata* en *P. patula* presentaron una morfología dicotómica. Las micorrizas producidas por *B. clavipes* presentaron una profundidad del manto de 50 – 80  $\mu\text{m}$ , las hifas fueron hialinas de paredes gruesas con inclusiones de cristales. El manto presentó tres capas diferentes: la capa externa está constituida por un tejido felt prosenquimatoso, no organizado, con abundantes espacios interhifales con hifas similares a hifas emanantes, las hifas presentan 4-8  $\mu\text{m}$  de amplio. La capa interna consiste de un tejido net prosenquimatoso, poco organizado con espacios interhifales, muy similar a la capa anterior. Las EM formadas por *L. laccata* presentaron hifas que midieron de 4-7  $\mu\text{m}$  de ancho. La profundidad del manto fue de 35-55  $\mu\text{m}$ , constituido por tres capas: la capa externa consiste de un tejido felt prosenquimatoso, la capa media estuvo constituida por un tejido net prosenquimatoso y la capa interna consistió de un tejido net sinenquimatoso. Las células corticales fueron subglobosas a elípticas midiendo 25-40 x 10-30  $\mu\text{m}$ . La red de Hartig penetró 2-3 capas de células corticales. Las EM producidas por *S. pseudobrevipes* presentaron una bien desarrollada Red de Hartig la cual penetró varias capas de células corticales presentando un adelgazamiento de la pared. Las células corticales fueron subglobosas, midiendo aproximadamente 28-35 x 12-15  $\mu\text{m}$ . Las hifas mostraron una ornamentación cristalina pronunciada de partículas similares a cristales o gotas adheridas a la superficie. La profundidad del manto fue de 30-60  $\mu\text{m}$ . Las micorrizas presentaron dos diferentes capas. La capa externa estuvo compuesta de un tejido prosenquimatoso y la capa interna estuvo constituida de un tejido net prosenquimatoso. La morfología dicotómica y la penetración de la red de Hartig de 2 a 3 células corticales ya se habían descrito por Mohan *et al.* (1993); asimismo observaron que el manto tuvo una profundidad de 10-50  $\mu\text{m}$  y consistió de un tejido simple, prosenquimatoso. Las células corticales fueron subglobosas a ampliamente elípticas de 25-60 X 20-50  $\mu\text{m}$ . El manto consistió de tres capas: la capa externa estuvo compuesta de un tejido felt prosenquimatoso. La capa media consistió de un tejido net sinenquimatoso. La capa interna estuvo compuesta de un tejido net sinenquimatoso con hifas de 3-5  $\mu\text{m}$  en diámetro. En el caso de *P. greggii* la micorriza de *S. pseudobrevipes*

presentó una morfología tipo coraloide. La superficie del manto fue algodonosa, con hifas emergentes delgadas. Presentaron una bien desarrollada Red de Hartig. Las hifas presentaron paredes gruesas, con 25  $\mu\text{m}$  de grosor, con ornamentación cristalina. La profundidad del manto fue de 125-150  $\mu\text{m}$ . El manto fue clasificado como prosenquimatoso. Las micorrizas producidas por *B. clavipes* presentaron una morfología tipo dicotómica. La profundidad del manto fue de 40–70  $\mu\text{m}$ , prosenquimatoso. Se observó una bien desarrollada Red de Hartig, la cual penetró 2-3 capas de células corticales. Las células corticales fueron subglobosas, midiendo aproximadamente 40-60 x 20-30  $\mu\text{m}$ . Las ectomicorrizas producidas por *L. laccata* presentaron raíces cortas tipo dicotómicas. La superficie del manto fue lanosa, las micorrizas estaban rodeadas por hifas emergentes gruesas. La profundidad del manto fue de 30-60  $\mu\text{m}$ , estuvo constituido por dos capas: la capa externa consistió de un tejido prosenquimatoso y la capa interna de un tejido sinenquimatoso. La Red de Hartig penetró 3 a 4 capas de células corticales. La micorriza de *Pisolithus tinctorius* presentó una morfología dicotómica. La superficie del manto fue fibrosa con hifas hialinas perceptibles. La profundidad del manto fue de 20-30  $\mu\text{m}$  prosenquimatoso. La Red de Hartig penetró 2-3 capas de células corticales subglobosas, de aproximadamente 40-50 x 20-30  $\mu\text{m}$ .

### CONCLUSIONES

La obtención de resultados positivos de micorrización para las especies fúngicas ectomicorrízicas evaluadas confirma la compatibilidad de las mismas para la formación de ectomicorrizas con *P. greggii* y *P. patula*, así como la efectividad de la técnica aplicada.

Se encontró que el hongo ECM inoculado que presentó el mayor valor de crecimiento de micelio extramatricial y colonización en plantas de *P. patula* fue *S. pseudobrevipes*. Sin embargo, el hongo ECM inoculado que presentó mayor efecto en la altura, diámetro y peso seco fue *L. laccata*.

En plantas de *P. greggii* se observó que el tratamiento que presentó el mayor valor de micelio extramatricial y colonización correspondió al tratamiento *S. pseudobrevipes* y *L. laccata*. Independientemente de la especie fúngica ECM inoculada en plantas de *P. greggii*, se observó un efecto similar en la altura y peso seco total, sin embargo, numéricamente *S. pseudobrevipes* produjo los mayores incrementos. En el caso del peso seco aéreo y el diámetro existieron respuestas diferenciales de acuerdo a las especies de hongos inoculados. El mayor valor observado fue cuando se inoculó con *B. clavipes*, presentándose un incremento de 2.2 y 2.1 veces respectivamente en comparación con el testigo. Para la variable peso seco radical, el mayor valor observado fue cuando se inoculó con *S.*

*pseudobrevipes*, presentándose un incremento de 2.5 veces en comparación con el testigo.

Las interacciones de los diferentes hongos ECM inoculados en *P. patula* y *P. greggii* presentan todas las características de una asociación ECM compatible. Se observó un manto fúngico que rodea las raíces cortas de plantas inoculadas, y las paredes externas de las células corticales y epidérmicas. Asimismo, se observó el desarrollo de la Red de Hartig con penetración intercelular de hifas en las células epidérmicas y corticales, lo cual es la característica distintiva de la EM.

La importancia comercial de los hongos ECM evaluados por su interés culinario supone un valor añadido en la repoblación de áreas forestales con estas plántulas.

**CUADRO 1. Efecto de diferentes hongos ectomicorrízicos en el crecimiento y peso seco total en plantas de *Pinus patula*. Los valores son las medias  $\pm$  error estándar de la media, n=5. En cada columna, una misma letra significa que los tratamientos no mostraron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P<0.05$ ).**

Tratamiento	Altura (mm)	Diámetro (mm)	Peso seco total (mg)
<i>Laccaria laccata</i>	193.3 $\pm$ 17.2 a	2.2 $\pm$ 0.2 a	1,638 $\pm$ 131 a
<i>Suillus pseudobrevipes</i>	189.2 $\pm$ 19.1 a	1.7 $\pm$ 0.01 ab	1,428 $\pm$ 132 ab
<i>Amanita fulva</i>	163 $\pm$ 12.6 ab	1.8 $\pm$ 0.01 ab	1,031 $\pm$ 96 bc
<i>Amanita caesarea</i>	156.7 $\pm$ 10.7 ab	1.4 $\pm$ 0.1 bc	929 $\pm$ 80 bc
<i>Suillus granulatus</i>	136.7 $\pm$ 8.5 ab	1.5 $\pm$ 0.13 bc	1,148 $\pm$ 89 abc
<i>Boletus clavipes</i>	189.3 $\pm$ 15 a	1.7 $\pm$ 0.1 ab	1,264 $\pm$ 180 abc
Testigo	109.2 $\pm$ 8.4 b	0.9 $\pm$ 0.01 c	728 $\pm$ 55 c

### LITERATURA CITADA

- BRUNNER, I.; BRODBECK, S. 2001. Response of mycorrhizal Norway spruce seedlings to various nitrogen loads and sources. *Environmental Pollution* 114:223-233.
- BURGESS, T.; MALAJCZUK, N.; GROVE, T. 1993. The ability of 16 ectomycorrhizal fungi to increase growth and phosphorus uptake by *Eucalyptus globulus* Labill and *Eucalyptus diversicolor* F. Muell. *Plant and Soil*. 153: 155-164.
- DVORAK, W.; KIETZKA, J.; DONAHUE, J. 1996. Three year survival and growth of provenances of *Pinus greggii* in the tropics and subtropics. *Forest Ecology and Management* 83: 123-131.
- DVORAK, W. S. 2002. *Pinus greggii* Engelm ex Part. Tropical tree seed Manual. United States. Department of Agriculture. Forest Service. pp 615-618.
- EGERTON-WARBURTON, L.; GRIFFEN, B. 1995. Differential responses of *Pisolithus tinctorius* isolates to aluminium *in vitro*. *Can. J. Bot.* 73: 1229-1233.
- ESPIGOL, R.; DE ARAGON, J.; FISCHER, C. 1999. Commercial inoculation of *Pinus sylvestris* seedlings with *Hygrophorus*

- latitabundus* Britz for reforestation. Universidad de Lleida, Lleida, Spain.
- GRAND, L. F.; HARVER A. E. 1984. Quantitative measurement of ectomycorrhizae on plant roots pp. 157-164. In: Shenk N. C (ed.) Methods and principles of mycorrhizal research 2nd ed. The American Phytopathological Society St Paul, Minnesota.
- KIETZKA, J.; DENISON, N.; DVORAK, W.; DIETERS, M.; MATHESON, A.; NIKLES, D.; WALKER, S. 1996. Tree improvement for sustainable tropical forestry. QFRI-IUFRO Conference, Caloundra, Queensland, Australia, 27 October-1 November 1996. 1: 42-45.
- LÓPEZ, M.; MÁRQUEZ, J.; MURGUÍA, G. 1998. Técnicas de Estudio del Desarrollo en Angiospermas. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- MOHAN, V.; NATARAJAN, K.; INGLEBY, K. 1993. Anatomical studies on ectomycorrhizas. I. The ectomycorrhizas produced by *Amanita muscaria*, *Laccaria laccata* and *Suillus brevipes* on *Pinus patula*. Mycorrhiza 3: 43-49.
- SELOSSE, M.; BOUCHARD, D.; MARTIN, F.; LE TACON, F. 1999. Effect of *Laccaria bicolor* strains inoculated on Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) several years after nursery inoculation. Can. J. For. Res. 30: 360-371.
- SMITH, H.; COUTINHO, T.; WOLFAARDT, F.; WINGFIELD, M. 2002. Relative susceptibility of northern and southern provenances of *Pinus greggii* to infection by *Sphaeropsis sapinea*. Forest Ecology and Management 166: 331-336.
- SUDHAKARA-REDDY, M.; NATARAJAN, K. 1997. Coinoculation efficacy of ectomycorrhizal fungi on *Pinus patula* seedlings in a nursery. Mycorrhiza 7: 133-138.