

Efectos de la inoculación con esporas de hongos ectomicorrízicos comestibles sobre el desarrollo morfológico de plántulas de *Pinus hartwegii*

Effects of spore inoculation of edible mycorrhizal fungi on the morphological development of *Pinus hartwegii* seedlings

Criselda Chávez-Aguilar

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Agricultura Familiar, Ojuelos de Jalisco, Jalisco, México.

Gabriela Rodríguez-Gómez Tagle

Colegio de Postgraduados, Postgrado Forestal, Texcoco, Estado de México, México.

Odilón Gayosso-Barragán

Carlos Alberto Aguirre-Gutierrez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Agricultura Familiar, Ojuelos de Jalisco, Jalisco, México.

Tania Álvarez-Sovera

Cristina Burrola-Aguilar*

Universidad Autónoma del Estado de México, Centro de Investigación en Recursos Bióticos, Toluca, Estado de México, México.

*Autor para correspondencia: cba@uamex.mx

Resumen

Los bosques de *Pinus hartwegii* albergan diversas especies fúngicas con alto valor económico y ecológico; sin embargo, se desconocen las interacciones hongo-planta que favorecen el desarrollo morfológico de la planta. El objetivo del presente estudio fue evaluar las características morfológicas de plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos (HECM) en condiciones de invernadero, con la finalidad de conocer el efecto de la inoculación con HECM en el desarrollo de esta especie forestal. Las plántulas fueron inoculadas con una solución de esporas de *Russula brevipes*, *Russula emetica* y *Lactarius deliciosus* individualmente a los 4 y 8 meses de edad, y fueron evaluadas a los 18 meses de la inoculación inicial. Las variables dasométricas medidas fueron: diámetro del tallo, altura total y diámetro de copa. La biomasa vegetal en tres componentes estructurales de las plántulas (tallo, follaje y raíz) fue obtenida a través del peso seco. Adicionalmente, fue medida la concentración de clorofilas (α y β) y carotenos γ ; la tasa de mortalidad (en base a la fórmula de Trigueros-Bañuelos *et al.*, 2009). La arquitectura de las raíces (número y longitud de raíces) se midió con el programa EZ-Rhizo. Los resultados mostraron diferencias ($p=0.05$) entre los tratamientos fúngicos para las variables dasométricas. La biomasa vegetal no presentó diferencias entre tratamientos fúngicos. La correlación entre las variables medidas (diámetro, altura, copa, tallo, follaje, raíz) mostró relación fuerte entre diámetro del tallo ($r^2 = 0.97$) y follaje ($r^2=0.96$). Las clorofilas y carotenos no presentaron relación significativa entre los tratamientos fúngicos. Por su parte, la tasa anual de mortalidad fue significativamente alta (80%) en plántulas inoculadas en los tres tratamientos fúngicos. Las raíces mostraron una longitud máxima de 364.93 cm en tratamientos con *L. deliciosus*, mientras que en *R. emetica* fue 25% menor con un valor de 274.03 cm de longitud. Los HECM son eficientes para el desarrollo de *P. hartwegii* y la mayor eficiencia en desarrollo de las plántulas se obtuvo en los tratamientos de *R. emetica* y *L. deliciosus*.

Palabras clave: Desarrollo morfológico de plántulas, inóculo fúngico, bosques templados fríos.

Abstract

Pinus hartwegii forests have several fungal species with high economic and ecological value; however, the fungus-plant interactions involve in plant's morphological development, are unknown. The purpose of this study was to evaluate the morphological attributes of *P. hartwegii* seedlings, inoculated with ectomycorrhizal fungi (EMCF) spore's solution on greenhouse, and know its effect on this forest specie development. Seedlings were inoculated at four and eight months using three ECMF spore solution in separated treatments: *Russula brevipes*, *Russula emetica* and *Lactarius deliciosus*. After 18 months, seedlings were evaluated through dasometric variables such as height, stem, and crown diameter. Also, biomass was obtained in three structural components (stem, foliage, and root) through dry weight. Additionally, chlorophyll concentration (α and β), carotenenes and mortality rate were measured (based on the formula of Trigueros-Bañuelos *et al.*, 2009). Root architecture (number and length of roots) was measured with the EZ-Rhizo program. Dasometric variables showed differences ($p=0.05$) between fungal treatments, but plant biomass did not show differences between treatments. Correlation between direct variables (stem diameter, height, and crown diameter) and indirect variables (stem, foliage, and root) showed a strong relationship between stem diameter ($r^2 = 0.97$) and foliage ($r^2=0.96$). Chlorophylls and carotenenes showed no significant relationship between fungal treatments. The annual mortality rate was significantly high (80%) in the three treatments. Roots in *L. deliciosus* treatment showed a maximum length of 364.93 cm. ECMF are important in *P. hartwegii*'s development, the greatest efficiency was observed in *R. emetica* and *L. deliciosus* treatment.

Keywords: Seedling's morphological development, spore inoculum, temperate evergreen forests.

Introducción

En México los bosques templados fríos ocupan una cobertura de 33 millones de ha, y se componen principalmente de especies de coníferas, como pinos, piceas, tsugas, cedros, abetos y cipreses (González, 2017). Alrededor de 5 millones de ha constituyen los bosques de pino en todo el país, localizados principalmente a altitudes de entre los 1,500 y 4,100 m (González, 2017). Los bosques de pino son esenciales para mantener los procesos funcionales en el ecosistema (por ejemplo, ciclos biogeoquímicos, hidrológicos, hábitat de fauna); ofreciendo servicios ambientales como regulación del ciclo del agua, purificación del aire, captura de carbono, regulación del clima regional y microclima, entre otros (Granados-Sánchez *et al.*, 2007). Sin embargo, el incremento de la población conlleva a una alta demanda de espacio territorial, lo cual modifica la cobertura forestal (Orozco-Hernández *et al.*, 2018).

En el Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca ubicada en el Estado de México, las actividades humanas han modificado y degradado el nicho ecológico de especies forestales como *Pinus hartwegii*. Dicha especie también es afectada por el desplazamiento de otras como *Abies religiosa* o incluso de pastos como *Muhlenbergia macroura* y *Festuca tolucensis* (Rzedowski, 1978). Por lo que se requiere generar estrategias que permitan la recuperación de sitios erosionados, por ejemplo, a través de la reforestación; para ello, se requiere producir planta de buena calidad, en términos de altura, diámetro del tallo, producción de biomasa, entre otras características determinantes para su sobrevivencia en condiciones naturales (Göttlein *et al.*, 2012). Diversas instituciones como Protectora de Bosques del Estado de México (PROBOSQUE) realiza proyectos de inversión forestal, para implementar la tecnología en plantaciones forestales comerciales o de restauración. Sin embargo, la limitación de recursos económicos implica que la planta forestal debe producirse en el menor tiempo posible, con la condición de que sea de buena calidad, para lograr el éxito en el establecimiento y desarrollo de las especies forestales utilizadas en los proyectos de reforestación (Sáenz *et al.*, 2010; PROBOSQUE, 2017). Ante esto, el uso de métodos de inoculación con organismos asociados natural-

mente con las especies forestales, como los hongos ectomicorrízicos (HECM), ha tomado importancia (Pera y Parladé, 2005).

Los HECM se asocian de forma mutualista con raíces de los árboles, para proveerles de un mejor transporte de macronutrientes como N, P, K y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, Zn y B; así mismo, permite un transporte más eficiente de agua del suelo hacia la planta (Barroetaveña *et al.*, 2012; Göttlein *et al.*, 2012). Adicionalmente, favorecen el crecimiento de las plántulas al introducir rutas adicionales que reducen la tasa de transpiración. Así mismo, dan resistencia a condiciones de estrés como la sequía y generan estabilidad en el suelo a través de la formación de agregados y la acumulación de materia orgánica que proporciona estructura al suelo; en conjunto, permite un adecuado crecimiento y desarrollo de la planta, específicamente el crecimiento de raíces finas (Flores-Rentería *et al.*, 2018).

Las características morfológicas de una planta son de vital importancia en condiciones de invernadero, ya que algunas de ellas, como la altura, predice el comportamiento a futuro; el diámetro transversal es importante para el transporte de agua de las raíces a las hojas; las clorofilas (α y β) y carotenos, representan un indicador del rendimiento de la planta. Además, algunos índices como el de mortalidad, que permite conocer la dinámica poblacional y, el sistema radical es determinante para el funcionamiento y mantenimiento de las plantas, a mayor tamaño mayor probabilidad de asociarse con diversas especies de HECM que asegurará la sobrevivencia de la planta en campo (Pavón *et al.*, 2012).

En México, pocos estudios mencionan la utilización de HECM comestibles para la inoculación de plántulas, ni tampoco comparan su eficiencia con especies fúngicas utilizadas de manera comercial. Rodríguez (2018), comparó la eficiencia de un inóculo comercial a base de *P. tinctorius* y uno silvestre (*R. brevipes*) en plántulas de *Abies religiosa*, donde se observó un mayor incremento en la biomasa de las plántulas inoculadas en comparación con aquellas que no.

El presente trabajo tiene por objetivo obtener información básica acerca de los efectos que induce la inoculación con esporas de los hongos comestibles *Russula brevipes*, *Russula emetica* y

Lactarius deliciosus en sus características morfológicas de crecimiento en plántulas de *P. hartwegii*.

Materiales y Métodos

El área de estudio

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigación de Recursos Bióticos de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicado en Toluca, Estado de México. Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de invernadero; los cuales fueron establecidos previamente al análisis morfológico de las plántulas de *P. hartwegii* presentado en este estudio, esto fue en el año 2017.

Diseño experimental e inoculación de plántulas

Se estableció un diseño experimental completamente aleatorio utilizando plántulas de *P. hartwegii* inoculadas individualmente con *R. brevipes*, *R. emetica* y *L. deliciosus*. La inoculación se llevó a cabo con soluciones de esporas; inicialmente los esporomas fueron colectados en fresco en campo, para el caso de *R. emetica*; o bien, en el mercado de la localidad de Santa María del Monte, Zinacantepec, Estado de México, para el caso de *R. brevipes* y *L. deliciosus*. Los esporomas de los cuerpos fructíferos de cada especie fúngica se colocaron sobre papel aluminio (Figura 1a), expuestos al sol y con ventilación adecuada para que el hongo liberará sus esporas. Posteriormente, se cortaron cuadrados de 1 x 1 cm del papel con la impresión de las esporas y se colocaron en un recipiente de agua destilada estéril hasta alcanzar una concentración de 1×10^6 esporas para cada especie fúngica. La estimación de la cantidad de esporas se realizó con ayuda de una cámara de Neubauer y un estereoscopio simple (Figura 1c). Con cada una de las tres especies fúngicas, se realizaron dos inoculaciones, la primera a los 4 meses de edad de las plántulas y la segunda a los 8. Las soluciones de esporas fueron aplicadas con ayuda de una jeringa en un pequeño surco realizado adyacentemente a la raíz de cada plántula. Adicionalmente, se estableció un tratamiento testigo sin inocular, pero bajo las mismas condiciones ambientales y de riego. Cada tratamiento estuvo compuesto por 10 repeticiones y

sólo para la cuantificación de las clorofilas y carotenos se tomaron aleatoriamente 3 plántulas por tratamiento fúngico. El análisis de las plántulas se realizó a 18 meses de la inoculación inicial.

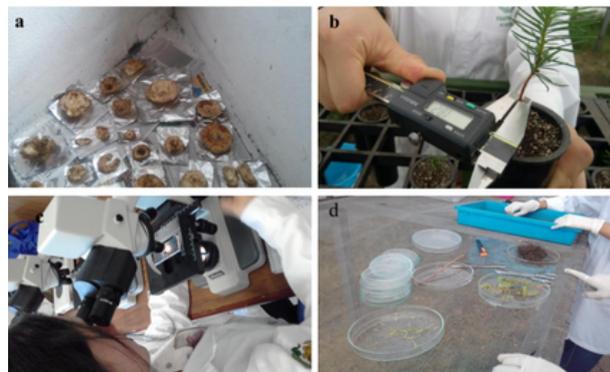


Figura 1. Procesos en la evaluación morfológica de plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con hongos ectomicorrízicos: a) obtención de esporas (*Russula brevipes*), b) medición de variables dasométricas, c) estimación de la cantidad de esporas, c) separación de componentes estructurales de las plántulas.

Medición de variables de crecimiento y calidad en plántulas

En los tratamientos de plántulas inoculadas y no inoculadas se midieron las siguientes variables de crecimiento: diámetro del tallo, altura total, diámetro de copa, biomasa total y en componentes estructurales. El diámetro del tallo fue medido a nivel del cuello de la raíz; la altura total a partir de la base del sustrato a la punta de la copa; y el diámetro de copa, con ayuda de un calibrador digital Truper (Digital caliper 150 mm modelo CALDI-6MP; Figura 1b). Una vez cuantificadas estas variables, cada plántula fue separada en tres componentes estructurales principales: tallo, follaje y raíces (Figura 1d); posteriormente se colocaron en una estufa a 65 °C hasta alcanzar peso constante, obteniéndose así, el peso seco. La cuantificación de las clorofilas alfa (C_{α}) y beta (C_{β}) y, carotenos se llevó a cabo en tres individuos por tratamiento fúngico; lo anterior a través de la técnica espectrofotométrica, a dos longitudes de onda: 663 (para C_{α}) y 645 nm. (para C_{β}) (García-Gallegos *et al.*, 2012). El cálculo de mortalidad de las plántulas por tratamiento fúngico se basó en características visuales como follaje senescente y/o falta de pigmentación verde, cambio en la rigidez y color del tallo, sistema radical limitado y parte área sin crecimiento. Posteriormente, la tasa anual de mortalidad (%) fue calculada a través de la ecuaci-

ón (1), la cual calculó el decremento poblacional por tratamiento (Trigueros-Bañuelos *et al.*, 2014).

$$m = \left\{ 1 - \left[\frac{(N_0 - Nm)}{N_0} \right]^{\frac{1}{t}} \right\} \times 100 \quad (1)$$

Donde,

m= tasa anual de mortalidad (%)

N₀= número inicial de plántulas

N_m= número de plántulas muertas

t= tiempo transcurrido entre las mediciones

La arquitectura del sistema radical en las plántulas inoculadas y no inoculadas se obtuvo a través del escaneo de las raíces con el programa EZ-Rhizo; contando el número y la longitud de las raíces. Una vez terminado este procedimiento se procedió a tomar fotografías del sistema radical, a un ángulo de 90° y una distancia de 28 cm, para ser cargadas en el programa EZ-Rhizo y, obtener la arquitectura del sistema radical (Armengaud *et al.*, 2009).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico de ANOVA simple para analizar las medias entre las variables de crecimiento medidas (diámetro del tallo, altura total y diámetro de copa y biomasa total) de los tratamientos fúngicos y el control. Posteriormente, se realizó un ANOVA de una vía, teniendo como factor el tratamiento fúngico, seguido de una prueba Tukey. Adicionalmente, se realizó un análisis estadístico de correlación Spearman para conocer la relación entre las variables de crecimiento (diámetro del tallo, altura total y diámetro de copa, biomasa de tallo, follaje y raíces, y clorofilas y carotenos).

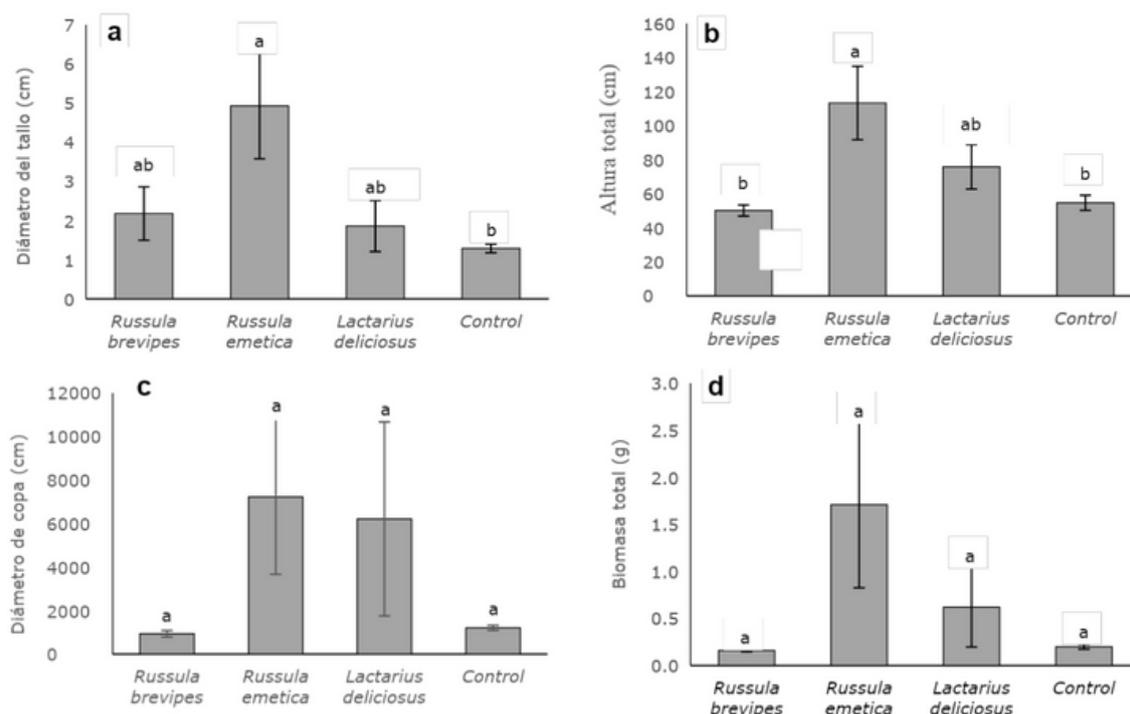
Resultados y discusión

Variables de crecimiento y calidad de plántulas

Los resultados obtenidos muestran que el diámetro del tallo en plántulas de *P. hartwegii* reportó diferencias estadísticas entre los tratamientos fúngicos y el control (p= 0.0179; Figura 1a). Las plántulas inoculadas con *R. emetica* fueron las que presentaron mayor diámetro de tallo. Por su parte, la altura total fue diferente estadísticamente entre plántulas inoculadas con *R. emetica* y *L. deliciosus*, pero no entre *R. brevipes* y el tratamiento control (p= 0.0054; Figura 1b). Por su parte el diámetro de

copa y la biomasa total, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos (p= 0.2804; Figura 1c). Al respecto, se ha observado que el diámetro define la robustez del tallo y la asocia con el vigor y éxito de sobrevivencia en campo; cuando una plántula presenta diámetros de tallo mayores de 5 mm, son más resistentes al doblamiento y son tolerantes a daños por plagas (Prieto *et al.*, 2009). Cabe resaltar que las plántulas inoculadas presentaron incrementos, en las variables dasométricas, más evidentes que en plántulas no inoculadas (Figura 2). Lo anterior, se debe a que se ha demostrado que la inoculación con especies micorrízicas aumenta el crecimiento de las plantas; por ejemplo, la inoculación con *L. deliciosus* en plántulas de *P. sylvestris* y *P. halepensis* propician mayores diámetros de tallo y altura a diferencia de plántula no inoculadas (Guerin-Laguet *et al.*, 2003). Por otro lado, la biomasa total en plántulas inoculadas con *R. brevipes* fue menor al resto de los tratamientos fúngicos y similar a las del control (Figura 2d), esto se debió probablemente al estrés hídrico que puede generarse en las plantas ya que las limitaciones de agua en edades tempranas repercuten en el desarrollo posterior de diversas especies forestales (Córdoba-Rodríguez *et al.*, 2011).

Los índices de correlación de Spearman entre las variables de crecimiento evaluadas (Cuadro 1) mostraron una alta correlación entre el diámetro de copa y la altura total de las plántulas de *P. hartwegii*. Así mismo, se observó que la biomasa del tallo presentó una alta correlación ($r^2=0.96$; Cuadro 1) con la biomasa del sistema radical. Estas relaciones pueden deberse a que el diámetro del tallo y la raíz desempeñan un papel determinante en la sobrevivencia de las plántulas en condiciones de campo (Ortiz-Rodríguez y Rodríguez-Trejo, 2008). Por su parte, el follaje y el tallo influyen en la conducción de nutrientes de la planta, ya que el follaje incide sobre la fotosíntesis y las tasas de reincorporación de nutrimentos hacia el piso forestal (Chávez-Aguilar *et al.*, 2016). Por tanto, se considera que una plántula de buena calidad debe tener un diámetro de tallo relativamente mayor, un sistema radical fibroso y un valor alto en el cociente correlación de biomasa de raíz/ biomasa aérea (Flores-Rentería *et al.*, 2018).



Tratamiento fúngico

Figura 2. Variables de crecimiento en plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos: diámetro del tallo (a), altura total (b), diámetro de copa (c); e indirecta biomasa total (d), (Tukey, $P < 0.05$).

Cuadro 1. Índice de correlación entre las variables de crecimiento (altura, diámetro del tallo, diámetro de copa, biomasa de tallo, follaje y raíz) en plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos.

	Diámetro del tallo (cm)	Altura total (cm)	Diámetro de copa (cm)	Biomasa de tallo (g)	Biomasa de follaje (g)	Biomasa de raíz (g)
Diámetro del tallo	1					
Altura total	0.72	1				
Diámetro de copa	0.57	0.93	1			
Biomasa de tallo	0.55	0.55	0.23	1		
Biomasa de follaje	0.68	0.72	0.44	0.83	1	
Biomasa de raíz	0.72	0.71	0.43	0.96	0.87	1

Las concentraciones de clorofilas y carotenos en plántulas de *P. hartwegii* inoculadas y no inoculadas mostraron que las inoculadas con *R. emetica* (Cuadro 2) tuvieron mayor concentración de C_{α} ; mientras las inoculadas con *R. brevipes* presentaron mayor concentración de C_{β} en comparación con el resto de los tratamientos. En cuanto a la concentración de carotenos, se observó mayor concentración en plántulas inoculadas con *L. deliciosus* (Cuadro 2). Estas diferencias pueden deberse a que, como lo reportan en otros estudios, se ha observado que en plántulas de algunas coníferas como *P. pseudostrobus* presenta diferencias significativas entre la concentración de C_{α} y C_{β} por cuestiones

de competencia; lo que genera estrés y una pérdida de la capacidad fotosintética así como una disminución del contenido de clorofilas en hojas jóvenes por baja competencia entre diferentes especies forestales (Carrasco, 2010). El proceso fotosintético de la planta puede disminuir con una deficiencia de Ca^{2+} , el cual forma parte de las estructuras celulares como estabilizador de la pared celular y membrana plasmática, y es necesario en los procesos de división y elongación celulares en la polimerización de proteínas y como regulador enzimático (Wang *et al.*, 2019). Lo anterior, disminuye la eficacia de la carboxilación y, por tanto, de la capacidad fotosintética global, lo que

provoca reducciones en la producción de biomasa de la planta; esta última situación se observó en plántulas con el tratamiento con *R. brevipes*, en donde se presentaron las menores cantidades de biomasa total (Figura 2d; Cuadro 2), debido a una disminución en la intensidad de luz que a su vez reduce la actividad fotosintética, afectan la relación de C_{α} y C_{β} en la planta; por lo tanto, al reducir el espacio de crecimiento de la plántula, tendría como efecto la disminución en intensidad de luz creando diferencias en su desarrollo (Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Concentración de clorofilas (C_{α} y C_{β}) y carotenos en plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos.

Tratamiento fúngico	C_{α}	C_{β}	Ctot	Carotenos
<i>Russula brevipes</i>	0.18	0.29	0.47	0.47
<i>Russula emetica</i>	0.56	0.23	0.79	0.79
<i>Lactarius deliciosus</i>	0.12	1.08	1.21	1.21
Control	0.16	0.03	0.31	0.20

La tasa anual de mortalidad en plántulas de *P. hartwegii* inoculadas fue 20% mientras que el tratamiento control (Figura 2) presentó una mortalidad total (100%; Figura 2), posiblemente debido a que, como menciona Mexal y Landis (1990), las plántulas más pequeñas en diámetros y alturas tienen menor potencial de sobrevivencia, independientemente de las condiciones ambientales. En condiciones de invernadero, una forma en que podría disminuir la tasa anual de mortalidad es por el tipo de contenedor que se utiliza, el cual puede limitar los mecanismos de micorrización y el desarrollo del sistema radical, por lo que la movilización de nutrientes y agua del suelo hacia la planta no puede darse de forma eficiente (Hernández, 2014). Estos resultados demuestran que la inoculación ectomicorrízica incrementó la sobrevivencia y el crecimiento y desarrollo de plantas de *P. hartwegii*. Es por eso, que se recomienda usar la inoculación micorrízica de plántulas como una alternativa para el mejoramiento de la calidad de la plántula que se obtiene en invernaderos forestales y que se utilizará para reforestar y recuperar ecosistemas degradados (Bauman *et al.*, 2012).

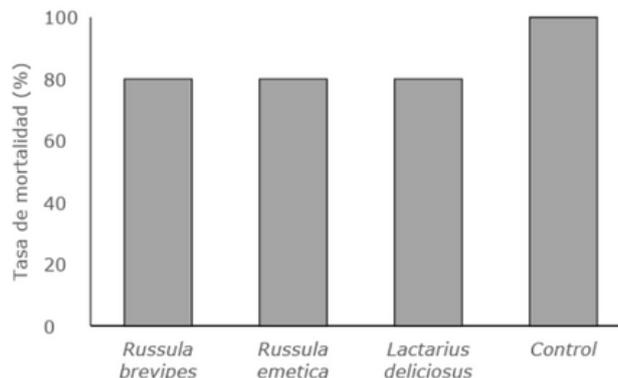


Figura 2. Tasas de mortalidad de plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos.

La arquitectura de las raíces (número y longitud de raíces) en plántulas inoculadas con *R. brevipes* y *L. deliciosus* mostró que las plántulas con el segundo tratamiento presentaron mayor número de raíces laterales y longitud total de raíces (Cuadro 3). Sin embargo, de acuerdo con el software EZ-Rhizo para ambos tratamientos la dirección óptima es definida como positiva. Es importante mencionar que un buen desarrollo del sistema radicular es una de las características principales en una plántula de buena calidad, el cual se ve directamente afectado por las condiciones físicas y químicas del suelo, como cantidad de humedad, aireación, la temperatura y resistencia mecánica (Callejas-Rodríguez *et al.*, 2012). Sin embargo, a pesar de que las raíces constituyen gran parte de la biomasa viva del suelo y ejercen sobre la producción de materia orgánica, dinámica de los nutrientes y el potencial hídrico (Návar-Cháidez y Jurado-Ybarra, 2009), son pocos los estudios que analizan el componente raíz. Por lo que este estudio proporciona información básica de la arquitectura de la raíz en plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas individualmente con tres especies de hongos ectomicorrízicos.

Cuadro 3. Arquitectura de raíces de plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de hongos ectomicorrízicos.

Variables representantes de la arquitectura de la raíz	<i>Russula emetica</i>	<i>Lactarius deliciosus</i>
Raíces laterales totales (No.)	35	83
Longitud total de raíces (cm)	274.03	364.93
Longitud promedio de raíces (cm)	7.82	4.39
Presencia de ectomicorrizas	Presente	Presente

Conclusiones

La evaluación del crecimiento de plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con soluciones de esporas de HECM, proporciona información importante sobre la calidad de plantas que se producen en invernadero con la finalidad de utilizarlas en programas de reforestación y recuperación de sitios degradados. Los HECM *R. brevipes* y *L. deliciosus* resultaron ser muy eficientes para inducir respuestas en el desarrollo de plántulas de *P. hartwegii*. Por lo tanto, en la producción de plántulas de esta especie se recomienda usar inóculo de esporas en solución de las especies aquí estudiadas, y dado que son reportadas como comestibles, esto le agrega un valor social y económico a las plantaciones que se realicen.

Literatura citada

- Armengaud, P., Zambaux, K., Hills, A., Sulpice, R., Pattison, R., Blatt, M., Amtmann, A. 2009. EZ-Rhizo: integrated software for the fast and accurate measurement of root system architecture. *The Plant Journal*, 57:945–956.
- Barroetaveña, C., Bassani, V.N., Rajchenberg, M. 2012. Inoculación micorrícica de *Pinus ponderosa* en la Patagonia Argentina: colonización de las raíces, descripción de morfotipos y crecimiento de las plántulas en vivero. *Bosque (Valdivia)*, 33(2):163–169. Disponible en <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002012000200006>
- Bauman, J., Keiffer, C., Hiremath, S. 2012. The efficiency of introduced *Pisolithus tinctorius* inoculum on backcrossed chestnut germination and survival. National Meeting of the American Society of Mining and Reclamation, Tupelo, MS Sustainable Reclamation. R.I. Barnhisel (Ed.) Published by ASMR, 3134 Montavesta Rd., Lexington, KY 40502. Disponible en <https://www.fs.usda.gov/treesearch/pubs/44965>
- Callejas-Rodríguez, R., Rojo-Torres, E., Benavidez-Zabala, C., Kania-Kuhl, E. 2012. Crecimiento y distribución de raíces y su relación con el potencial productivo de parrales de vides de mesa. *Agrociencia*, 46(1):23–35.
- Cambrón-Sandoval, V.H., España-Boquera, M.L., Sánchez-Vargas, N.M., Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J.J., Herrerías-Diego, Y. 2011. Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17(2):253–260. Disponible en <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.09.077>
- Carrasco, V. 2010. Aspectos ecológicos de la raíz de *Pinus pseudostrobus* y *Pinus patula* y especies ectomicorrízicas comestibles de *Hebeloma* spp. y *Laccaria* spp (Tesis de Maestría en Ciencias). Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Chávez-Aguilar, G., Ángeles-Pérez, G., Pérez-Suárez, M., López-López, M.Á., García-Moya, E., Wayson, C. 2016. Distribución de biomasa aérea en un bosque de *Pinus patula* bajo gestión forestal en Zacualtipán, Hidalgo, México. *Madera y bosques*, 22(3):23–36. Disponible en <https://doi.org/10.21829/myb.2016.2231454>
- Córdoba-Rodríguez, D., Vargas-Hernández, J.J., López-Upton, J., Muñoz-Orozco, A. 2011. Crecimiento de la raíz en plantas jóvenes de *Pinus pinceana* Gordon en respuesta a la humedad del suelo. *Agrociencia*, 45(4):493–506. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952011000400008
- Flores-Rentería, D., Barradas, V.L., Álvarez-Sánchez, J. 2018. Ectomicorrízal pre-inoculation of *Pinus hartwegii* and *Abies religiosa* is replaced by native fungi in a temperate forest of central Mexico. *Symbiosis*, 74(2):131–144. doi: 10.1007/s13199-017-0498-z
- García-Gallegos, E., García-Nieto, E., Juárez-Santillán, L.F., Juárez-Santacruz, L., Montiel-González, J., Gómez-Camarillo, M.A. 2012. La respuesta de haba (*Vicia faba*, L.) cultivada en un suelo contaminado con diferentes concentraciones de cadmio. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2):119–126. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v28n2/v28n2a2.pdf>
- González, J. 2017. Deforestación en México: un análisis preliminar. Centro de Estudios Sociales y de Opinión Pública: México, DF. Disponible en https://www.ccms.org.mx/wp-content/uploads/2014/10/Deforestacion_en_Mexico_un_analisis_preliminar.pdf
- Göttlein, A., Baumgarten, M. y Dieler, J. (2012). Site conditions and Tree-Internal Nutrient Partitioning in Mature European Beech and Norway Spruce at the Kranzberger Forst. In *Growth and Defence in Plants* (pp. 193–211). Springer, Berlin, Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-30645-7_9
- Granados-Sánchez, D., López-Ríos, G. F., y Hernández-García, M. A. 2007. Ecología y silvicultura en bosques templados. *Revista*

- Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 13(1):67–83. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v13n1/2007-4018-rcscfa-13-01-67.pdf>
- Guerin-Laguette, A., Conventi, S., Ruiz, G., Plassard, C., Mousain, D. 2003. The ectomycorrhizal symbiosis between *Lactarius deliciosus* and *Pinus sylvestris* in forest soil samples: Symbiotic efficiency and development on roots of a rDNA internal transcribed spacer-selected isolate of *L. deliciosus*. *Mycorrhiza* 13(1):17–25. doi: 10.1007/s00572-002-0191-8
- Hernández, H.E.J. 2014. Efecto de *Rhizobium* spp. y *Boletus frostii* en el crecimiento de plántulas de *Quercus resinosa*. Tesis de licenciatura. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí.
- Mexal, J.G., Landis, T.D. 1990. Target seedling concepts: height and diameter. In *Proceedings, western Forest nursery association* (pp. 13–17).
- Návar-Cháidez, J.J., Jurado-Ybarra, E. 2009. Productividad foliar y radicular en ecosistemas forestales del Noreste de México. *Ciencia forestal en México*, 34(106):89–106. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/cfm/v34n106/v34n106a5.pdf>
- Orozco-Hernández, M.E., García-Fajardo, B., Mendoza-Mejía, J.B., Vázquez-Sánchez, M., Méndez-Ramírez, J.J., Cortés-Velázquez, G., ...Bolaños-Suárez, Y.R. 2018. Adaptación a los cambios ambientales y territoriales. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Pavón, N.P., Moreno, C.E., Ramírez-Bautista, A. 2012. Biomasa de raíces en un bosque templado con y sin manejo forestal en Hidalgo, México. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(3):304–312. doi: 10.5154/r.rcscfa.2011.07.052
- Pera, J., Parladé, J. 2005. Inoculación controlada con hongos ectomicorrízicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España. *Investigación Agraria: Sistema y Recursos Forestales*, 14:419–433.
- Prieto, J., Gracia, J., Mejía, J., Huchin, S., Aguilar, J. 2009. Producción de planta del género *Pinus* en vivero en clima templado frío. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*, 28, (pp. 2–53).
- PROBOSQUE. 2017. PROBOSQUE cuenta con 8.4 millones de árboles para el programa de Reforestación 2018. Metepec: Estado de México. Recuperado de <http://edomexinforma.com/2017/10/probosque-cuenta-con-8-4-millones-de-arboles-para-reforestacion-2018/>
- Rodríguez, G. T. G. 2018. Inoculación de plántulas de *Abies religiosa* con soluciones espóricas de *Russula brevipes* e inóculo comercial *Pisolithus tinctorius* (Tesis de licenciatura en Biología). Facultad de ciencias UAEM, Estado de México.
- Ortíz-Rodríguez, J.N., Rodríguez-Trejo, D.A. 2008. Incremento en Biomasa y Supervivencia de una plantación de *Pinus hartwegii* Lindl. en Áreas Quemadas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 14(2):89–95. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v14n2/v14n2a3.pdf>
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Limusa. DF, México. Servicio Meteorológico Nacional, CONAGUA. 2007. *Precipitación y Temperatura de Yucatán*.
- Sáenz, J., Villaseñor, F., Muñoz, H., Rueda, A., Prieto, J. 2010. Calidad de planta en viveros forestales de clima templado en Michoacán. Folleto Técnico Núm. 17. SAGARPA-INIFAP-CIRPAC-Campo Experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán, México. 48 p.
- Trigueros-Bañuelos, A.G., Villavicencio-García, R., Santiago-Pérez, A.L. 2014. Mortalidad y reclutamiento de árboles en un bosque templado de pino-encino en Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(24):160–183. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v5n24/v5n24a13.pdf>
- Wang, Q., Yang, S., Wan, S., Li, X. 2019. The significance of calcium in photosynthesis. *International Journal of Molecular Science*, 20(6):1353. doi: 10.3390/ijms20061353