



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EL EFECTO DE LOS HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS EN
LAS CONDICIONES ECOFISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE
PINUS HARTWEGII LINDL. Y *ABIES RELIGIOSA* (KUNTH
SCHLTDL. ET CHAM.): UN ENFOQUE PARA EL ANÁLISIS
DE LA RESTAURACIÓN DE AMBIENTES DETERIORADOS
EN LA CUENCA DEL RÍO MAGDALENA, D. F.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(**BIOLOGÍA AMBIENTAL**)

P R E S E N T A
DULCE YAAHID FLORES RENTERIA

TUTOR PRINCIPAL
DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
DR. OSCAR LUIS BRIONES VILLARREAL

MÉXICO D. F.

SEPTIEMBRE, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EL EFECTO DE LOS HONGOS ECTOMICORRIZÓGENOS EN
LAS CONDICIONES ECOFISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE
PINUS HARTWEGII LINDL. Y *ABIES RELIGIOSA* (KUNTH
SCHLTDL. ET CHAM.): UN ENFOQUE PARA EL ANÁLISIS
DE LA RESTAURACIÓN DE AMBIENTES DETERIORADOS
EN LA CUENCA DEL RÍO MAGDALENA, D. F.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(**BIOLOGÍA AMBIENTAL**)

P R E S E N T A

DULCE YAAHID FLORES RENTERIA

TUTOR PRINCIPAL

DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

DR. OSCAR LUIS BRIONES VILLARREAL

MÉXICO D. F.

SEPTIEMBRE, 2010

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 31 de mayo de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de la alumna FLORES RENTERÍA DULCE YAAHID con número de cuenta 99100832 con la tesis titulada "El efecto de los hongos ectomicorrizógenos en las condiciones ecofisiológicas de plántulas de *Pinus hartwegii* Lindl. y *Abies religiosa* (Kunth) Schldl. et Cham.): un enfoque para el análisis de la restauración de ambientes deteriorados en la Cuenca del Río Magdalena, D. F.", realizada bajo la dirección del DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ:

- Presidente: DRA. GUADALUPE JUDITH MARQUEZ GUZMÁN
- Vocal: DR. ROBERTO ANTONIO LINDIG CISNEROS
- Secretario: DR. FRANCISCO JAVIER ÁLVAREZ SÁNCHEZ
- Suplente: DRA. MAL. GUADALUPE SANTIAGO MARTÍNEZ
- Suplente: DR. OSCAR LUIS BRIONES VILLARREAL

Sin otro particular, me es grato enviarte un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 31 de agosto de 2010.


Dr. Juan Méndez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (s)

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Al CONACyT por la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría en Ciencias Biológicas.

Al Macroproyecto “Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano” (SEDEI-PTID-02) en la Cuenca del Río Magdalena y al proyecto PAPIIT IN-200906 “Restauración y conservación de la Cuenca del Río Magdalena, Contreras, Cd. de México, con énfasis en la utilización de hongos micorrizógenos como una herramienta ecológica” por el financiamiento para la realización de este proyecto.

A la maestría en Ciencias Biológicas, con orientación en Restauración Ecológica, y a la Fundación Packard por la ayuda al cursar los estudios de maestría.

A los integrantes del jurado, Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, Dr. Luis Oscar Briones Villarreal, Dra. María Guadalupe Santiago Martínez, Dr. Roberto Antonio Lindig Cisneros y al Dr. F. Javier Álvarez Sánchez, por enriquecer este trabajo con sus comentarios.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez, por todo su apoyo paciencia y dedicación desde licenciatura y en el presente proyecto de maestría.

A los integrantes del comité tutorial, la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán y al Dr. Luis Oscar Briones Villareal por todo su apoyo y comentarios tan enriquecedores a lo largo del desarrollo del proyecto.

Al laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM y en especial a la Dra. Margarita Collazo Ortega por su apoyo con el equipo y asesoría en la medición de intercambio gaseoso, necesarios para el desarrollo del proyecto.

Al Dr. Víctor Barradas Miranda, del laboratorio de Ecología Funcional del Instituto de Ecología, UNAM, por su apoyo con el equipo y asesoría para la medición de la resistencia estomática y análisis de los datos ecofisiológicos, fundamentales para el desarrollo del proyecto.

A la candidata Dr. Gema Lilia Galindo Flores del laboratorio de Micología, del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por su ayuda en las técnicas de cuantificación y caracterización de las micorrizas.

A la Unidad de Análisis Ambiental y al Dr. Manuel Hernández por su apoyo con el equipo y asesoría para la medición del estado hídrico del suelo.

A la M. en C. Irene Sánchez por todo su apoyo y valiosos consejos. Al Biól. Marco Antonio Romero por su apoyo en cómputo.

Y a todos los que me apoyaron en la realización de la tesis en laboratorio y en el campo, Juan Carlos Peña, Lizbeth Guzmán, Jazmín Mendoza, Adriana Núñez, Ernesto Delgadillo, Nestor Chavarría, Mónica Martínez, Christian Montes.

A mi familia, mis padres Yolanda Renteria y Cesar Flores por darme la vida y los fundamentos de la misma; mis hermanos Ademir, Aubanel, Lluvia, Martín y Aide por apoyarme a lograr mis metas; mis sobrinos Aldair, Emiliano y Leonardo por iluminar mi vida. Y a mi principal soporte y apoyo en la actualidad y para siempre, mi esposo Manuel Hernández. A todos, gracias por hacerme la persona que soy.

ÍNDICE

Resumen	9
Capítulo 1. Introducción	11
1.1 Restauración Ecológica	13
1.2 Concepto de micorriza	16
1.3 Clasificación de micorrizas	16
1.4 Beneficios de la asociación	17
1.5 La ectomicorriza y su importancia	19
Capítulo 2. Antecedentes: Las micorrizas en la Restauración Ecológica	20
2.1 Restauración Ecológica con ectomicorrizas	20
2.2 Experimentos previos (Sandoval 2010)	25
2.2 Mediciones ecofisiológicas	27
2.3 Justificación	35
2.4 Objetivos	35
2.5 Hipótesis	36
Capítulo 3. Método	37
3.1 Zona de estudio	37
3.2 Descripción de las especies	39
3.3 Descripción de las parcelas	40
3.6 Diseño experimental	
3.6.1 Determinación del estado hídrico del suelo	42
3.6.2 Análisis de las variables de crecimiento	43
3.6.3 Análisis de las variables ecofisiológicas	44
3.6.4 Micorrización	45
3.6.5 Análisis estadístico	45
3.6.6 Modelación de las variables ecofisiológicas	46
Capítulo 4. Resultados	
4.1 <i>Pinus hartwegii</i>	
4.1.1 Estado hídrico del suelo	47
4.1.2 Variables de crecimiento	48
4.1.3 Variables ecofisiológicas	51

4.1.4 Micorrización	58
4.1.5 Modelación de las variables ecofisiológicas	64
4.2 <i>Abies religiosa</i>	
4.2.1 Estado hídrico del suelo	66
4.2.2 Variables de crecimiento	67
4.2.3 Variables ecofisiológicas	72
4.2.4 Micorrización	76
4.2.5 Modelación de las variables ecofisiológicas	78
Capítulo 5. Discusión	
5.1 <i>Pinus hartwegii</i>	
5.1.1 Estado hídrico del suelo	82
5.1.2 Variables de crecimiento	82
5.1.3 Variables ecofisiológicas	84
5.1.4 Micorrización	85
5.1.5 Modelación de las variables ecofisiológicas	86
5.2 <i>Abies religiosa</i>	
5.2.1 Estado hídrico del suelo	88
5.2.2 Variables de crecimiento	88
5.2.3 Variables ecofisiológicas	89
5.2.4 Micorrización	90
5.2.5 Modelación de las variables ecofisiológicas	91
5.3 Restauración de Bosques	93
Capítulo 6. Conclusiones	96
Relevancia del trabajo	97
Literatura citada	98

RESUMEN

Para recuperar la cobertura vegetal en sitios deteriorados en la Cuenca del Río Magdalena, se ha propuesto la introducción de plántulas de especies arbóreas dominantes como *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa*, inoculadas con hongos ectomicorrizógenos. El presente trabajo se centró en la evaluación del efecto de estos hongos en la fisiología de las plántulas.

Se realizó el monitoreo durante un año con plántulas de tres años, de cada una de las especies en cuatro diferentes tratamientos: a) inoculadas con *Inocybe splendens*, b) con *Suillus brevipes*, c) sin inóculo con suelo forestal y d) con turba y vermiculita 1:1 (control). Cada dos meses evaluamos la supervivencia, y el crecimiento en altura y diámetro, el potencial osmótico y el porcentaje de micorrización. Se evaluó la resistencia estomática y las partículas por millón de CO₂ absorbido por m² foliar en época de secas y lluvias.

El mejor tratamiento para *P. hartwegii* fue con el inóculo de *I. splendens*, mostrando un mayor potencial osmótico (-1.68 MPa) ($F_{3,8} = 3.83$; $P = 0.0494$), una menor resistencia estomática (1.52 s cm⁻¹) y la mayor absorción de CO₂ (4.45 ppm cm⁻²), con respecto a los otros tratamientos. Se encontró una relación entre el potencial osmótico y resistencia estomática ($R^2=0.467$; $F_{1,22} = 21.16$; $P=0.0001$), y ésta a su vez con el CO₂ absorbido ($R^2=0.167$; $F_{1,22} = 4.42$; $P=0.0471$). El tratamiento con suelo forestal de *A. religiosa* presentó una mayor supervivencia en comparación con *Inocybe*, según el análisis de Peto y Peto ($X^2 8.72$; $P \leq 0.05$). Así mismo, las plántulas con suelo forestal presentaron el mayor potencial osmótico (-1.39 MPa) ($F_{3,8} = 4.44$; $P=0.0409$), la menor resistencia estomática (1.52 s cm⁻¹) y la mayor absorción de CO₂ (6.07E+04 ppm) ($F_{3,8} = 4.31$; $P = 0.0450$). Se encontró una relación entre el potencial osmótico y resistencia estomática ($R^2=0.472$; $F_{1,22} = 19.67$; $P=0.0002$), y ésta a su vez con el CO₂ absorbido ($R^2=0.437$; $F_{1,22} = 17.12$; $P=0.0004$), el porcentaje de micorrización de las plántulas en campo está relacionado con la resistencia estomática ($R^2=0.132$; $F_{1,22} = 3.35$; $P=0.0807$).

Existe un efecto de los hongos ectomicorrizógenos inoculados como tratamiento inicial para *P. hartwegii*, por ello, para la restauración de ambientes deteriorados de la Cuenca del Río Magdalena, es necesaria la inoculación previa de estas plántulas. En el caso de *A. religiosa* no es necesaria la inoculación previa debido al alto potencial de inóculo en el campo.

ABSTRACT

To recover the damaged vegetation at sites in the Magdalena River Basin, has proposed the introduction of seedlings of dominant tree species such as *Pinus hartwegii* and *Abies religiosa* inoculated with fungi ectomicorrizógenos. This work focused on evaluating the effect of these fungi in the physiology of seedlings.

Monitoring was conducted for one year with three-year seedlings of each species in four different treatments: a) *Inocybe splendens* inoculums', b) *Suillus brevipes* inoculums', c) forest soil d) peat and vermiculite 1:1 (control), both without inoculants. Every two months, we evaluated the survival, growth in height and diameter, osmotic potential and percentage of mycorrhization. Stomatal resistance and parts per million of CO₂ absorbed per m² dry and rainy season were evaluated.

The best treatment for *P. hartwegii* was with *I. splendens* inoculums', showing a higher osmotic potential (-1.68 MPa) ($F_{3,8} = 3.83$, $P = 0.0494$), lower stomatal resistance (1.52 cm s⁻¹) and greater absorption of CO₂ (4.45 ppm cm⁻²), respect to the other treatments. There was a relationship between osmotic potential and stomatal resistance ($R^2 = 0.467$, $F_{1,22} = 21.16$, $P = 0.0001$), and this in turn to the CO₂ absorbed ($R^2 = 0.167$, $F_{1,22} = 4.42$, $P = 0.0471$). The forest soil treatment *A. religiosa* had a higher survival compared with *Inocybe*, as analyzed by Peto and Peto ($X^2 8.72$, $P \leq 0.05$). Also, seedlings with forest soil showed the highest osmotic potential (-1.39 MPa) ($F_{3,8} = 4.44$, $P = 0.0409$), lower stomatal resistance (1.52 cm s⁻¹) and greater absorption of CO₂ (6.07 E⁺⁰⁴ ppm) ($F_{3,8} = 4.31$, $P = 0.0450$). There was a relationship between osmotic potential and stomatal resistance ($R^2 = 0.472$, $F_{1,22} = 19.67$, $P = 0.0002$), and this in turn to the CO₂ absorbed ($R^2 = 0.437$, $F_{1,22} = 12.17$, $P = 0.0004$), the percentage of mycorrhizal colonization of seedlings in the field is related to the stomatal resistance ($R^2 = 0.132$, $F_{1,22} = 3.35$, $P = 0.0807$).

There is an effect of fungi ectomicorrizógenos inoculated as initial treatment for *P. hatwegii*, therefore, to restore damaged environments of the Magdalena River Basin is required prior inoculation of these seedlings. In the case of *A. religion* is not necessary after inoculation due to the high inoculum potential in the field.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Los bosques de coníferas en México ocupan una superficie de alrededor de 21 millones de ha, lo que equivale al 15% de las áreas con vegetación natural en el territorio nacional (SEMARNAT, 1997). Se localizan en zonas con temperaturas medias anuales entre 5 y 18° C, y se encuentran ya sean encinares, pinares, oyametales o bosques mixtos. Su importancia radica en que contribuyen a la regulación del ciclo hidrológico, a mantener un clima propicio para el crecimiento de diversas especies vegetales y animales, y que los distintos tipos de bosque templado en el país albergan especies de alto interés para la economía nacional, especies de importancia para el uso de las comunidades rurales, además de especies endémicas de gran relevancia para la conservación. Debido a los amplios usos de los productos asociados a los bosques templados, además de las extensas zonas que han sido desmontadas para el establecimiento de áreas agropecuarias y para asentamientos humanos, existe un importante deterioro de estas zonas. Los ecosistemas de bosque templado son los preferidos de los seres humanos para el establecimiento de sus asentamientos y para la siembra de muchos de sus cultivos más importantes, por ello se considera que son los ecosistemas que más se han transformado y, por lo tanto, se encuentran entre los ecosistemas menos conservados en el país (Sánchez, 2003).

Dicho deterioro lleva a la disminución en los bienes de consumo que proporcionan, como la madera y celulosa, resina, carbón, plantas medicinales, plantas de ornato, entre otras; además de los servicios ambientales que proveen, tales como la formación y retención de suelo, captación de agua, recarga de mantos acuíferos, las reservas de carbono, y la regulación del clima local, entre otros (Velásquez *et al.*, 2002; Sánchez, 2003). Por su ubicación geográfica, la captación de agua y la retención del suelo son los servicios ambientales más importantes que proporcionan, debido a la cobertura vegetal y el suelo que protegen, permiten la lenta infiltración del agua, que a su vez alimenta los ríos, lagos y lagunas del país, permitiendo con ello su aprovechamiento para uso humano (SEMARNAP, 2000).

Sin la cobertura boscosa el agua no sólo se dejaría de captar debido a su rápido escurrimiento y se incrementaría el riesgo de inundaciones, sino que se llevaría con ella grandes cantidades de suelo llegando a las presas y lagos como sedimento. Así mismo,

existe una lista de servicios ambientales sumamente importantes que dan soporte al resto de los servicios, procesos ecológicos básicos que mantienen al ecosistema funcionando, como el acarreo, retención y almacenamiento de nutrientes, transporte de materiales, regulación de poblaciones, entre otros. En este sentido se puede considerar a los ecosistemas templados como los más importantes prestadores de estos servicios ambientales, y que por lo tanto se deben buscar los usos alternativos que promuevan su conservación y, de ser necesario, tomar acciones de restauración (Ávila-Akerberg, 2002; Almeida-Leñero *et al.*, 2007; Lindig-Cisneros *et al.*, 2007).

Una de las principales áreas de vegetación natural con bosques templados en el Distrito Federal es la Cuenca del río Magdalena (CRM), la cual se ubica en el límite sur-occidental de la ciudad. La CRM provee 20 millones de m³ de agua al año, aproximadamente 50% del abastecimiento del agua superficial de la ciudad de México; brinda regulación del régimen de lluvias, de aguas superficiales, subterráneas, subsuperficiales y basal; proporciona recursos alimenticios, maderables y no maderables; sus bosques almacenan un promedio de 50 toneladas de carbono por hectárea; controlan la erosión de los suelos y las inundaciones, y a la vez promueve el almacenamiento de nutrientes. Además, la zona ha sido importante en términos religiosos desde la época prehispánica, representando una herencia cultural que proporciona belleza estética, ecoturismo y educación (Almeida-Leñero *et al.*, 2007). Esta área se ha visto afectada por diversos factores de deterioro, estimando una pérdida anual de 240 ha de la vegetación lo, cual representa una pérdida del 8% anual (Plan Maestro, 2008; Macroproyecto, 2010).

La fragmentación de los bosques en la Cuenca del Río Magdalena es causada en gran parte por el avance de la mancha urbana en forma de asentamientos irregulares, pues se han reportado 25,577 habitantes en el área de influencia directa de la cuenca (Plan Maestro, 2008). En la actualidad la CRM forma parte de tres Delegaciones políticas del Distrito Federal, sin embargo, la mayor extensión e influencia sociopolítica corresponde a la Delegación Magdalena Contreras. Esta Delegación se caracteriza por el acelerado crecimiento de la población, el doble que el resto de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México principalmente en las décadas de 1970 y 1980. A partir de 1980 este proceso ha visto reducida su intensidad, sin embargo, se ha dado sobre áreas boscosas, con asentamientos irregulares, los cuales se encuentran en zonas de alto riesgo en terrenos con

pendientes pronunciadas, suelos carentes de estabilidad y laderas propensas a deslaves (Avila-Akerberg, 2004).

El segundo factor de deterioro en importancia son los incendios, lo cuales representan un problema menor para las comunidades de *Abies religiosa* y *Pinus hartwegii*, sin embargo en términos de proporción, es en la comunidad de *Quercus* en donde ocurre el mayor número de incendios, probablemente porque es la más expuesta a la influencia humana. Si bien la tala ilegal no es considerada como un factor de deterioro importante pues solo se extrae para autoconsumo, estos bosques fragmentados son más susceptibles a daños y cambios en estructura y composición (Plan Maestro, 2008). La presencia de ganado es evidente en las comunidades de *Abies* y *Pinus*, lo que provoca la compactación del suelo y la pérdida de reclutamiento de plántulas de ambas comunidades, lo cual retrasa la regeneración natural. Debido a esta acelerada destrucción de los bosques del río Magdalena, se ha propuesto la restauración de la zona con especies arbóreas nativas.

1.1 RESTAURACIÓN ECOLÓGICA

El deterioro de las comunidades naturales es cada vez más alarmante a nivel mundial y nacional; si este deterioro es muy intenso, se pierde la resiliencia del ecosistema y con ello los mecanismos de regeneración natural. Cuando esto ocurre es necesario intervenir el ecosistema a través de la restauración ecológica, que es el proceso de asistir la recuperación de un ecosistema con respecto a la composición de especies, estructura de la comunidad, función ecológica y/o sustentabilidad (SER, 2002).

La restauración tiene como objetivo recuperar una o más funciones de un ecosistema alterado por actividades humanas y por factores naturales, dirigiéndolo (en el sentido de la sucesión vegetal) para que el cambio de las comunidades a lo largo del tiempo permita la recuperación de la composición de las especies nativas así como sus interacciones, hasta conseguir que la comunidad alterada funcione en un tiempo relativamente corto de manera parecida a la comunidad original o pre-disturbio. Esta recuperación se logra al restablecer las interacciones bióticas y abióticas más importantes en el funcionamiento de la comunidad original, así como rescatando y reintegrando también las actividades culturales tanto de los ecosistemas productivos, como de los urbanos y naturales (Hobbs y Norton, 1996; Hobbs, 2005).

Para llevar a cabo una restauración es necesario desarrollar conocimientos que contribuyan a al conocimiento de los efectos más importantes de las variables ambientales, las interacciones y el reemplazamiento natural de las especies nativas. Esta recopilación de conocimientos la realiza la Ecología de la Restauración y sus observaciones son cruciales para poder llegar a la meta planteada. Se debe considerar el ecosistema al que se quiere llegar, conocido como ecosistema de referencia. Las acciones a realizar pueden ser a distintas escalas, desde retirar los factores de disturbio, eliminar especies invasoras, revegetar, o hasta la necesidad de colocar nuevamente un sustrato como en el caso de las minas a tajo abierto. A través de la integración con otras disciplinas, la Ecología de la Restauración y la Restauración Ecológica proporcionaran nuevos enfoques y herramientas necesarias para restaurar la composición del ecosistema, la estructura y función en las distintas escalas del paisaje (Bradshaw, 1984; Zedler y Callaway, 1999; Wagner *et al.*, 2000).

La sucesión ecológica es el marco conceptual en el cual se basa la restauración ecológica. El conocimiento de los procesos de sucesión de los diversos ecosistemas o comunidades permite planear diferentes enfoques para realizar una restauración ecológica con éxito. La sucesión ecológica ofrece tanto perspectivas a largo plazo como predicciones en el corto tiempo, ofreciendo una referencia a seguir por la restauración. Los cambios en la composición y estructura de la vegetación a través del tiempo y del espacio, han sido estudiados por medio del enfoque de la sucesión ecológica. Los estudios de restauración, por su parte, pueden proporcionar información acerca de la estructura y sustentabilidad de la comunidad, así como comprender de manera más práctica a la sucesión (Walker *et al.*, 2007).

En el proceso de restauración, una vez que se ha conseguido la propagación de las especies de plantas que se desean introducir y se ha realizado el trasplante a campo, se debe realizar un monitoreo constante de las mismas para la evaluación de los avances de la restauración y la evaluación tanto económica como ecológica del esfuerzo aplicado (Martínez-Ramos y García-Orth, 2007). Se debe determinar cuáles atributos serán monitoreados a diferentes escalas, para evaluar el avance de la restauración y de ser el caso realizar las adaptaciones necesarias al proyecto (Hobbs y Harris, 2001).

Según la SER (2002) existen tres estrategias para hacer una evaluación: comparación directa, análisis de atributos y análisis de la trayectoria. En la comparación directa, se determinan o miden parámetros seleccionados de la localidad de referencia y de los sitios de restauración. El enfoque más satisfactorio podría ser la selección cuidadosa de un juego coherente de características que describa colectivamente a un ecosistema de manera completa y concisa. En el análisis de atributos se evalúan los atributos del ecosistema, como autosostenibilidad y resiliencia al mismo grado que el ecosistema de referencia; en esta estrategia se utilizan datos cuantitativos y semicuantitativos de un monitoreo programado y de otros inventarios, para juzgar hasta qué grado se ha logrado cada meta. El análisis de la trayectoria es una estrategia prometedora, todavía en fase de desarrollo, para interpretar grandes juegos de datos comparativos. En esta estrategia, se grafican los datos recopilados periódicamente del sitio de restauración para establecer las tendencias. Las tendencias que conducen a las condiciones de la referencia, confirman que la restauración está siguiendo la trayectoria deseada. Las variables de comparación directa en campo consideradas por Santiago-Martínez (2008a), son medidas directas, como la supervivencia, la altura y el diámetro del tallo y medidas derivadas como la biomasa y el volumen de las plantas. La restauración ecológica requiere de técnicas apropiadas que dirijan el sistema hacia las metas deseadas. La restauración adaptable, es un esquema de manejo adaptable, que consiste en la instrumentación de una serie de medidas alternativas, la evaluación de los resultados y la integración del conocimiento adquirido a etapas subsecuentes de manejo del ecosistema para dirigirlo hacia las metas deseadas (Zedler, 2003 en Lindig-Cisneros *et al.*, 2007). Lindig- Cisneros *et al.* (2007) proponen la aplicación de este modelo para la restauración de bosques de pino en la Meseta Purépecha, tomando en cuenta los umbrales que se deben sobrepasar para llegar a un estado estable, y adaptando las condiciones de la restauración hasta lograr sobrepasar los umbrales necesarios para llegar al estado estable deseado; en este modelo, los estados de transición son provocados por las perturbaciones del ambiente, y la restauración adaptativa nos permite desarrollar las técnicas de restauración adecuadas para cada caso.

1.2 CONCEPTO DE MICORRIZA

El término griego "micorrizas", que describe la asociación, literalmente significa "hongo-raíz". Esta asociación se presenta en hongos tanto micro como macroscópicos que se establecen tanto en las raíces de las plantas vasculares (gimnospermas y angiospermas) como en los esporofitos y gametofitos de helechos. El papel de las micorrizas es especialmente importante para las plantas al incrementar la captación de recursos como agua y nutrientes del suelo, ya que las hifas tienen diámetros muy inferiores a las raíces y aumentan mucho la relación superficie-masa (Smith y Read, 1997; Pérez-Moreno, 2008).

La micorriza es una relación cosmopolita ya que se presenta en la mayoría de los ecosistemas terrestres, y es generalista pues es muy amplio el número de familias vegetales que son susceptibles de ser micorrizadas (Álvarez-Sánchez y Monroy-Ata, 2008). Más del 95% de las plantas de todo el mundo establecen algún tipo de micorriza en condiciones naturales (Honrubia *et al.*, 1992).

1.3 CLASIFICACIÓN DE MICORRIZAS

Según Smith y Read (1997) hay dos tipos principales de micorrizas, las endomicorrizas o micorrizas arbusculares (o micorrizas sin manto de acuerdo a Guadarrama *et al.* 2004) que se encuentran principalmente en los ecosistemas tropicales, mientras que las ectomicorrizas (con manto de acuerdo a Guadarrama *et al.* 2004) son las más importantes en los ecosistemas templados (Álvarez-Sánchez y Monroy-Ata, 2008). Por otro lado, Harley y Harley (1987), reconocen hasta 7 tipos de micorrizas: arbuscular, ericoide, orquideoide, ectomicorriza, ectendomicorriza, arbutoide y monotropoide, divididos así por la forma de penetración que presenta el hongo en la raíz, las estructuras características que desarrolla y las especies de hongos y plantas que participan. Son más frecuentes las endomicorrizas, en las que las hifas penetran las células del córtex de la raíz, ya que ocurren aproximadamente en el 80% de las plantas vasculares. Forman unas estructuras dendroides llamadas arbuscúlos o protuberancias llamadas vesículas, que quedan revestidas por la membrana plasmática (Fig. 1a). Las endomicorrizas son particularmente importantes en los trópicos donde los suelos tienden a retener los fosfatos. Las ectomicorrizas se pueden reconocer mediante un examen visual del micelio, que es característico de diferentes hongos, por el color y por los cambios del crecimiento y del patrón de ramificación radical, aunque es

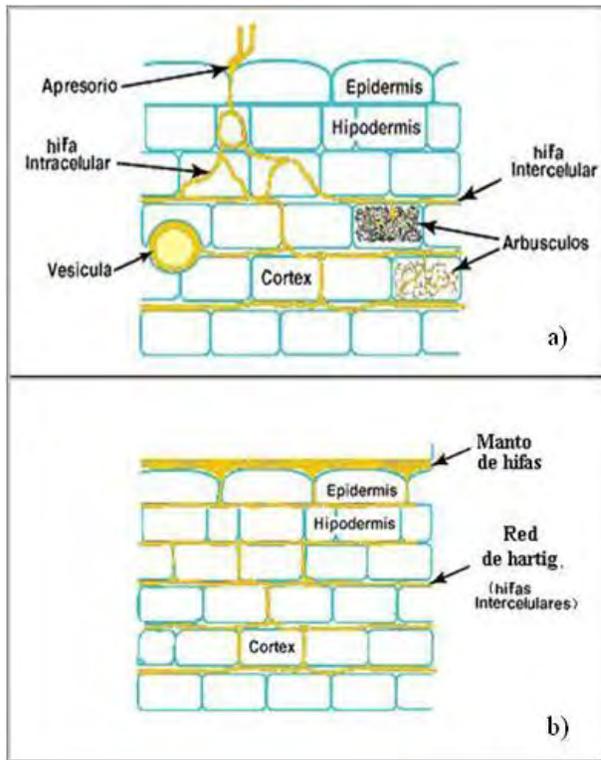


Figura 1.- Tipos principales de micorrizas.
a) Endomicorriza, con vesícula y arbusculos.
b) Ectomicorriza, con manto y red de Hartig.

mejor confirmar el diagnóstico mediante observaciones al microscopio. Los esporomas que se utilizan para la identificación de los hongos y como fuente de inóculo, también forman esclerocios que son estructuras de almacenamiento producidas en el suelo por algunos hongos (Brundett, 1991; Pérez-Moreno, 2008). En las ectomicorrizas, el hongo asociado cubre las raíces cortas, formando un manto desarrollando una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces de la planta, llamada "red de Hartig" (Smith y Read, 1997) (Fig. 1b), y se desarrollan en plantas entre las que se incluyen muchas de gran interés forestal como coníferas,

fagales, betuláceas, eucaliptos, etc. (Allen y Boosalis, 1983; Smits, 1992; Pérez-Moreno, 2008).

1.4 BENEFICIOS DE LA ASOCIACIÓN

La relación planta-hongo se basa en un intercambio bidireccional de nutrientes, ya que la planta le proporciona al hongo compuestos derivados de la fotosíntesis en forma de azúcares así como un hábitat, mientras que el hongo incrementa la superficie de absorción de nutrimentos como fósforo y nitrógeno a la planta; se ha visto que en ambientes con estrés hídrico el hongo le confiere ventaja a la planta ya que logra absorber más agua (Pérez-Moreno, 2008). Las raíces micorrizadas son mucho más eficientes en la incorporación de elementos minerales en comparación con las raíces no micorrizadas, pues exploran más área y son más longevas (Plassard *et al.*, 1991). Además, la planta puede enfrentar a los patógenos y herbívoros y recibir hormonas que secreta el hongo (Smith y

Read, 1997; Pérez-Moreno, 2008). Se ha reportado también que el micelio externo de algunos hongos ectomicorrizógenos (HEM) pueden proveer un hábitat favorable para la colonización con bacterias fijadoras de Nitrógeno (Timonen y Hurek. 2006).

Los HEM tienen generalmente una necesidad total a asociarse con la planta huésped, es decir son obligados. La cantidad de carbono que reciben los hongos ectomicorrizógenos de la planta huésped es considerable y se ha estimado en un 10 a un 50% de la energía total necesaria para la producción de madera por parte de la planta (Harvey, 1991; Smith y Read 1997; Kennedy y Peay, 2007). En algunos entornos, los beneficios de interactuar con simbiontes compensan los costos y el resultado es positivo, mientras que en otros ambientes los beneficios no superan los costos y el resultado neto es negativo. Cuando la disponibilidad de nutrientes del suelo es baja, este costo es compensado por las ventajas proporcionadas por los hongos. En estas condiciones, las plantas HEM son generalmente más grandes y / o tienen mayor contenido de nutrientes que las plantas no micorrizadas. Por el contrario, en suelos de alta disponibilidad de nutrientes, generalmente no se presentan importantes diferencias en el tamaño o el estado nutricional entre plantas micorrizadas y no micorrizadas (Smith y Read 1997; Kennedy y Peay, 2007). Los simbiontes se ven directamente afectados por la disponibilidad de agua, y tienen una disminución en su rendimiento cuando el agua es limitada, como resultado, los hongos pueden ser incapaces de proporcionar recursos a la planta hospedera en condiciones de estrés hídrico, debido a sus propias limitaciones fisiológicas (Lambers *et al.* 1998).

El efecto benéfico de la simbiosis micorrízica sobre la nutrición vegetal es bien sabido, pero su interacción con los factores relacionados con el uso del agua se han estudiado con menos frecuencia, aún cuando la sequía es uno de los principales factores que impiden el éxito de establecimiento de las plantas (Domínguez-Núñez *et al.*, 2009). En las plantas asociadas con HEM, la conductancia estomática y el potencial hídrico foliar suelen ser elevados en condiciones de sequía, ya que la absorción de agua se incrementa y aumenta la conductividad estomática. Por otro lado, se sabe que los hongos ectomicorrizógenos son muy sensibles al estrés hídrico (Coleman *et al.* 1989) y muchos estudios han demostrado que la grave sequía inhibe la colonización ectomicorrícica (Kennedy y Peay 2007).

1.5 LA ECTOMICORRIZA Y SU IMPORTANCIA

La utilización de hongos ectomicorrizógenos ha sido de gran ayuda en manejo de varias especies forestales ya que ha permitido disminuir el uso de fertilizantes químicos los cuales a largo plazo empobrecen los suelos y llegan a convertirse en serios contaminantes de los cuerpos de agua subterráneos (Martínez y Pérez *et al.*, 2009). También los hongos micorrizógenos colaboran activamente en la descomposición de materia orgánica del suelo, mediante la liberación de enzimas. Así mismo, las hifas fúngicas contribuyen a la formación del suelo, con la creación y estabilización de agregados del suelo, pues intervienen al entrelazamiento y el enmarañamiento de las partículas del suelo para formar macroagregados (Johnson *et al.*, 2006).

Una alta diversidad de hongos ectomicorrizógenos confiere una resistencia de los ecosistemas forestales ante el cambio de factores ambientales como la contaminación y el cambio climático. Desde finales del siglo pasado, se reportaba una reducción en la cantidad y diversidad de hongos ectomicorrizógenos en los bosques de Europa (Amaranthus, 1998). Los hongos ectomicorrizógenos disminuyen, mientras que los hongos lignícolas y parásitos aumentan y las poblaciones de hongos saprófitos pueden no modificarse; esos cambios se atribuyen a la contaminación atmosférica (Arnolds, 1991).

La agricultura y el pastoreo intensivos tienden a reducir las densidades del inóculo o alterar la composición de las especies de hongos, que finalmente debe resultar en la baja resiliencia de un ecosistema. Los terrenos sin cobertura vegetal, como en la perturbación por minería, reducen la cantidad de propágulos de hongos. Y aún en perturbaciones menores en el ambiente se reduce de manera general la cantidad de propágulos de los HM debido a la remoción de las plantas hospederas y como resultado de la ruptura del micelio de los HM (Allen *et al.*, 1998).

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES: LAS MICORRIZAS EN LA RESTAURACIÓN ECOLÓGICA

2.1 RESTAURACIÓN ECOLÓGICA CON ECTOMICORRIZAS

Una de las interacciones más conocidas, pero menos estudiadas en cuanto al efecto fisiológico que tienen en el hospedero, son las micorrizas. Se ha propuesto el uso de las micorrizas en los proyectos de restauración, por los beneficios que les confieren a las plantas como el aumento de las tasas de crecimiento y supervivencia de las plántulas. En el caso de especies de lento crecimiento es necesario utilizar variables ecofisiológicas para determinar el efecto de las micorrizas en las plantas.

Numerosos investigadores han sugerido una relación entre el tiempo de recuperación de los ecosistemas alterados y la abundancia de propágulos infectivos de hongos micorrizógenos (Reeves *et al.* 1979; Allen y Allen, 1980; Bentivenga y Hetrick 1991; Noyd, *et al.*, 1995; Ganges *et al.*, 1999; citados por Korb *et al.*, 2003), puesto que los HEM ayudan a facilitar la sucesión después de los incendios forestales naturales, donde las diferentes especies de plantas forman relaciones mutualistas con hongos en la sucesión (Korb *et al.*, 2003).

Otros estudios sugieren que el papel de las micorrizas en la facilitación de la sucesión puede depender de la situación de los nutrientes del suelo (Allen y Allen, 1990).

En los programas de restauración de bosques templados se ha tomado en cuenta la utilización de hongos ectomicorrizógenos (HEM), como herramienta adicional para el establecimiento de plántulas de coníferas. El uso de estos hongos en programas de reforestación se inició al introducir pinos exóticos en países tropicales y subtropicales en donde, al no encontrarse los hongos ectomicorrizógenos propios para las especies de pino, tuvieron que ser importados para que la reforestación tuviera éxito (Mikola, 1973).

En general, las plántulas ectomicorrizadas poseen una mejor adaptación al estrés hídrico (Duddridge *et al.* 1980; Boyd *et al.* 1986; Reid *et al.*, 2002) y una mayor supervivencia en las plantaciones (Wright 1957, 1971; Castellano y Molina 1989). Estudios previos señalan que las semillas de coníferas pueden germinar y crecer durante algún tiempo, pero si no encuentran hongos adecuados para formar la asociación mutualista mueren (Amaranthus y Trappe, 1993). La tabla 1 resume algunos de los trabajos de restauración que emplearon HEM. Cabe señalar que el inóculo utilizado en todos los casos es comercial, excepto los trabajos de Rincón *et al.*, (2006) y Menkis *et al.* (2007).

Indudablemente, en la restauración de sitios perturbados donde se ha modificado la estructura del suelo y se ha removido la cobertura vegetal, se deben considerar a los hongos micorrizógenos (Miller y Jastrow, 1992; Cuenca *et al.*, 1998; Allen *et al.*, 2003; Zapata y Guadarrama, 2004; Tian *et al.*, 2009), ya que es muy probable que no se cuente con el inóculo potencial para las plantas introducidas, y los hongos micorrizógenos juegan un papel muy importante en la nutrición de los árboles de bosques tropicales y templados, pues son un mecanismo importante en la absorción de nutrimentos y en la estructura del suelo. El uso de los HEM en la restauración de ecosistemas deteriorados, en donde el potencial del inóculo es bajo o desaparece, es una necesidad debido a que tienen influencia tanto en la supervivencia de las plántulas, como en el desarrollo de las plantas (Núñez-Castillo *et al.*, 2008).

Tabla 1. Trabajos previos de restauración con hongos ectomicorrizógenos

Autor	Lugar	Especies de plantas	Inoculo utilizado	Variabes medidas
Kropacek <i>et al.</i> , 1989	Checoslovaquia, Bosque de pino.	<i>Picea abies</i> y <i>Pinus sylvestris</i>	<i>Laccaria laccata</i>	Porcentaje de micorrización, biomasa, altura y diámetro.
Parladé X., 1999	España. Bosque mixto.	<i>Pinus halepensis</i> <i>P. pinaster</i> <i>P. pinea</i>	<i>Laccaria bicolor</i> <i>Laccaria laccata</i> <i>Rhizopogon roseolus</i>	Altura y Supervivencia.
Tammi <i>et al.</i> , 2001	Canadá, Bosque boreal.	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Suillus bovinus</i> , <i>Cenococcum geophilum</i> , <i>Thelephora terrestris</i>	Supervivencia, altura y biomasa.
Estaún, 2004	Tarragona, España. Bosque mixto.	<i>Pinus halepensis</i>	<i>Rhizopogon roseolus</i>	Supervivencia, crecimiento, parámetros ecofisiológicos y de colonización radical.
Rincón <i>et al.</i> , 2006	Madrid, España. Bosque mixto.	<i>Pinus halepensis</i>	<i>Suillus collinitus</i>	Biomasa, porcentaje de micorrización, altura y diámetro.
Menkis <i>et al.</i> , 2007	Lituania, Bosque de pino.	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Cenococcum geophilum</i> , <i>Piceirhiza bicolorata</i> , y <i>Hebeloma crustuliniforme</i>	Supervivencia, crecimiento y colonización radical.
Donoso <i>et al.</i> , 2008	Valdivia, Chile. Vivero.	<i>Pinus radiata</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	Supervivencia, área radicular, altura total de las plántulas, biomasa aérea, de raíces y total. Presencia de enfermedades.

En México, de los 170 millones de plantas de diferentes especies producidas para reforestar anualmente, sólo sobrevive el 50% y en algunos casos éste porcentaje es de 0% (PRONARE, 2004), por lo que el inocular HEM se ha convertido en una práctica necesaria, debido a todos los beneficios que le confiere el hongo a la planta. Existen amplios estudios en la producción de inóculo de HEM (Pérez-Moreno, 2008). Se han establecido cuatro métodos principales para tal propósito (Santiago-Martínez, 2008a): a) Inóculo de suelo forestal; b) Inóculo de plantas micorrizadas; c) Inóculo esporal; y d) Inóculo de micelio vegetativo. Este último es el método más eficiente en cuanto a disponibilidad, pureza y eficiencia de colonización, además de que es el más seguro, carente de riesgos de introducción de otros organismos no deseables. El procedimiento general consiste en la aplicación de micelio de HEM en el momento de la siembra de la semilla o en las plántulas forestales, y el primer paso es el aislamiento del micelio, su propagación a nivel laboratorio y su inclusión en un cepario, para su posterior utilización (Martínez y Pérez *et al.*, 2009). Actualmente existen compañías distribuidoras de inóculo, sin embargo, la mayoría son extranjeras que ofrecen inóculo no nativo, siendo lo ideal que se realicen exploraciones en los bosques cercanos al sitio a restaurar para la obtención de hongos nativos y a partir de estos obtener las cepas, pues estos hongos están adaptados a las condiciones de los lugares donde fueron extraídos (Santiago-Martínez y Galindo, 2003; Martínez y Pérez *et al.*, 2009). En 1927, Kessel publicó el primer estudio sobre ectomicorrizas y su beneficio; observó que la presencia de esporomas de *Rhizopogon* confería un incremento en el crecimiento y vigor en *Pinus radiata* (Castellano, 1994).

En México, la inoculación con suelo forestal es el que se ha utilizado de manera empírica en los viveros por muchos años; los inoculantes vegetativos se han utilizado a nivel experimental y solamente ha existido un intento formal para producirlos a gran escala para la inoculación de plantas forestales en un programa gubernamental, llevado a cabo en 1982 conjuntamente por la Secretaría de Recursos Hidráulicos, la Secretaría del Trabajo y Previsión Social y la Coordinación General para las Áreas Marginales (Sáenz *et al.*, 1982). Las ectomicorrizas se aplican sobre todo en el ámbito forestal en tres grandes programas (ARBA, 2003): a) reforestación en suelos degradados o agrícolas; b) mejoras socioeconómicas y desarrollo rural mediante el cultivo de hongos comerciales y comestibles en bosques; c) Restauración de micobiota. En el Estado de Tlaxcala, Santiago-

Martínez (2008a) ha aislado diferentes cepas de HEM como *Amanita muscaria*, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon sp.*, y algunas especies de *Laccaria*, *Suillus*, *Hebeloma*, *Scleroderma*, con el propósito de ser utilizados para la restauración forestal. A pesar del alto porcentaje de las plantas vasculares que están asociadas con HEM, en áreas perturbadas donde las condiciones abióticas y bióticas se han modificado, las primeras plantas que se establecen en su mayoría no forman asociaciones micorrízicas debido a sus características de historia de vida y a la disminución de inóculo micorrízico en el suelo. Dado que las especies pioneras no requieren de la asociación micorrízica para su desempeño y son altamente competitivas, impiden el establecimiento de especies vegetales que sí dependen de esta asociación, disminuyendo así la diversidad vegetal (Zapata y Guadarrama, 2004).

Álvarez-Sánchez y Monroy-Ata (2008) consideran muy probable que en ecosistemas en etapas tardías de la sucesión, la malla hifal tenga un papel integrador a nivel de la comunidad vegetal y que al interconectar a la mayoría de las plantas de la comunidad, puedan operar mecanismos selectivos como evitar el establecimiento de plantas invasoras, optimizar el uso de agua y nutrientes del suelo, incrementar la resiliencia de la comunidad, evitar el desarrollo de plagas al suministrar nitrógeno y carbohidratos a las plantas.

Para la Cuenca del Río Magdalena, Delgado (2004) reportó 41 especies de hongos potencialmente ectomicorrízicas; 14 especies de *Inocybe*, 12 de *Amanita*, 5 de *Russula*, 3 de *Lactarius*, 2 de *Suillus* y una de cada uno de los géneros de *Cantharellus*, *Laccaria*, *Hebeloma*, *Boletus* y *Scleroderma*. Asimismo, Villarroel y Cifuentes (2006) reportaron 74 especies de hongos recolectados en los tres tipos de vegetación de la cuenca, de los cuales 15 son ectomicorrizógenas. Se han realizado estudios sobre el aislamiento, caracterización y crecimiento *in vitro* de cepas de hongos ectomicorrizógenos ya sea a partir de la micorriza ya formada (Delgado, 2004) o a partir de los esporomas, la caracterización del micelio (Cruz-Ulloa, 1990; Pérez-Moreno y Ferrera-Cerrato 1997) y optimización del crecimiento de los hongos en diferentes medios nutritivos (Santiago-Martínez *et al.*, 2003; Martínez-Pérez *et al.*, 2009).

Dentro del proyecto Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano en la Cuenca del Río Magdalena, se han realizado estudios de aislamiento, cultivo y caracterización de especies de hongos ectomicorrizógenos, determinando a *Inocybe splendens* como la especie más

adecuada para la asociación con *Abies religiosa*. *Inocybe* pertenece a la familia Cortinariace, el género presenta láminas adheridas al estípote, en los esporomas maduros el velo interno se transforma en una cortina, los cuales se observan como fibrillas en el borde del píleo (Herrera y Ulloa, 1990). Tiene la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones de hábitat, además de que presenta una estrategia transmigratoria exploratoria para buscar más allá de donde se encuentra el recurso, translocando los nutrientes tomados de diferentes puntos, el micelio se caracteriza por diámetros grandes con tasas de crecimiento altas, micelios laxos y cordones miceliarios, además de tener periodos de vida largos. *Suillus* es un género que forma basidiomas epígeos con himenóforos tubulares, y contribuye con la mayor producción de esporocarpos en los bosques de coníferas. Son de fácil aislamiento y frecuentemente utilizado en estudios de fisiología. Las especies de este género son HEM exclusivos de la familia Pinaceae. En específico *Suillus brevipes* se encuentra en bosques jóvenes y asociados en etapas tempranas con las coníferas (Cruz-Ulloa, 1990; Bowen, 1994; Galindo, 2004). *S. brevipes* mostró una estrategia de explotación del recurso disponible, dado a que su tasa de extensión radial del micelio es baja, el micelio es denso y las colonias presentan un diámetro reducido. Es un HEM acidófilo que se desarrolla mejor a pH 3 y 5 (Alvarado, 2008).

Algunos autores han observado que la aparición de los hongos ectomicorrizógenos en un bosque, se da en secuencias tanto en espacio como en tiempo durante la conformación del sistema radical de un árbol (Thomas *et al.*, 1983; Alvarado, 2008). Según Bowen (1994) los hongos ectomicorrizógenos pueden ser considerados de etapas tempranas cuando la germinación de sus esporas es estimulada por las raíces de las plantas, estos hongos se asocian en las primeras etapas de vida de las plántulas y conforme alcanzan su madurez son remplazadas por especies de etapas tardías. Especies de los géneros *Inocybe*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Suillus* y *Thelephora* son considerados de etapas tempranas, mientras que *Laccaria*, *Russula*, *Leccinum*, *Boletus* y *Cortinarius* lo son de etapas tardías (Dighton y Mason, 1985; Alvarado, 2008). Debido a que se identificó a *Suillus brevipes* e *Inocybe splendens* como especies asociadas a *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa*, respectivamente, en sus etapas tempranas, se decidió aislarlos y propagarlos para utilizarlos en la restauración ecológica de la Cuenca del Río Magdalena (Alvarado 2008).

2.2 EXPERIMENTOS PREVIOS (SANDOVAL 2010)

La UNAM realiza hace más de dos años un proyecto interdisciplinario, a partir del cual se propone capitalizar la acumulación de conocimientos y las experiencias de sus investigadores, mediante la construcción paulatina de un modelo de trabajo común en cuatro regiones del país, entre ellas la CRM, cuyo nivel de conocimiento, situación socioeconómica y problemática son diferentes.

En el caso de la CRM el objetivo general del macroproyecto (2010) es “Generar un diagnóstico ambiental del Suelo de Conservación Ecológica de Magdalena Contreras, que permita obtener información sobre el estado actual de la flora, fauna y vegetación de los ecosistemas forestales como base para proponer acciones en el contexto del manejo de ecosistemas para la conservación y restauración del área. Asimismo, destacar las especies de mayor relevancia biológica para proponer lineamientos para su uso y conservación. Para lograr estos objetivos se ha planteado el diagnóstico de los elementos estructurales y funcionales de la zona y el posterior planteamiento de las estrategias a seguir para la conservación y restauración.

Y como objetivo particular de la restauración ecológica del área se tiene “Restablecer la cobertura vegetal a través de la introducción y seguimiento de especies de diferentes estadios sucesionales y analizar algunos de los factores limitantes del crecimiento y establecimiento de las especies a lo largo del tiempo y el espacio (Macroproyecto, 2010).

Sandoval (2010) en su estudio “Efecto de los Hongos ectomicorrizógenos en el crecimiento y supervivencia de plántulas de *Pinus hartwegii* Lindl. y *Abies religiosa* (Kunth Schltdl. et Cham.): un enfoque para la restauración de ambientes deteriorados en la Cuenca del Río Magdalena D. F.” realizó la introducción de plántulas de *P. hartwegii* y *A. religiosa* en la Cuenca del Río Magdalena. Las plántulas fueron proporcionadas por el vivero de San Luis Tlaxialtemalco, Xochimilco, D. F. de semillas procedentes del Ajusco y fueron germinadas en el mes de octubre de 2006 en tubetes de 5 cm de diámetro y 25 cm de altura. Realizó cuatro tratamientos: a) inoculadas con *Inocybe splendens*, b) con *Suillus brevipes*, c) sin inóculo con suelo forestal y d) con turba y vermiculita 1:1 (control). El suelo forestal que se utilizó provenía de las comunidades de oyamel y pino, de la CRM bañado ligeramente con Captan, con el fin de eliminar hongos patógenos. Para completar el volumen de los tubetes añadió vermiculita y turba 2:1, previamente esterilizada en autoclave a 120 °C, durante 30

min. Este sustrato también se utilizó para el tratamiento control. Las plántulas fueron inoculadas en el vivero, en el mes de Agosto de 2007 con micelio líquido producido en medio BAF.

El trasplante a las parcelas de estudio lo realizó a principio de septiembre de 2007, a partir de este trasplante las plántulas se encontraron en condiciones de campo. En cada parcela se trasplantaron 160 plántulas, la siembra de las plántulas (a una distancia de 1.5 m entre una y otra, y a tres metros de distancia de cada una de las líneas) fue al azar. Para cada especie, fueron trasplantadas 320 plántulas, teniendo un total de 640 plántulas. Se hizo una cepa de 30x30x30 para introducir las plántulas sin los tubetes, no se realizó barbecho ni fertilización del sitio. Desde el momento del trasplante, cada bimestre se registró la altura total, altura al meristemo y diámetro a la base del tallo de las plántulas a lo largo de un año. Entre los resultados más relevantes, se encontró que el contenido de fósforo en las plántulas de *P. hartwegii* tanto en parte aérea como subterránea fue mayor significativamente en las plántulas inoculadas con *S. brevipes*, en comparación con los otros tratamientos. En las colectas tanto iniciales (Noviembre 2007) como finales (Noviembre 2008) encontró evidencia de micorrización correspondiente con el inóculo aplicado. Las características de las micorrizas que encontró en *P. hartwegii* y *A. religiosa* se presentan en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Características de los morfotipos para especies del género *Inocybe*.

	<i>Inocybe terrigena</i> con <i>Pinus</i> (Deemy, 2009)	<i>Inocybe splendens</i> con <i>Pinus hartwegii</i> (Sandoval, 2010)	<i>Inocybe splendens</i> con <i>Abies religiosa</i> (Sandoval, 2010)
Ramificación	Dicotómica coraloide	Dicotómica	Irregular pinada
Color	Amarillo o naranja	Café a amarillo	Blanco o café
Textura	Ligeramente algodonosa	Ligeramente algodonosa	Ligeramente algodonosa
Rizomorfos	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Anatomía del manto	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso
Largo de la micorriza	0-5 mm	1-4 mm	1-3 mm
Diámetro de las puntas no ramificadas	0.5 mm	0.3 a 0.5 mm	0.5 a 0.7 mm

Tabla 3. Características de los morfotipos para especies del género *Suillus*.

	<i>Suillus bovinus</i> con <i>Pinus</i> (Deemy, 2009)	<i>Suillus collinitus</i> con <i>Pinus</i> (Deemy, 2009)	<i>Suillus brevipes</i> con <i>Pinus</i> <i>hatwegii</i> (Sandoval, 2010)	<i>Suillus brevipes</i> con <i>Abies</i> <i>religiosa</i> (Sandoval, 2010)
Ramificación	Coraloide	Dicotómica o coraloide	Dicotómica o coraloide	Monopodial piramidal
Color	Ocre, café amarillento o amarillento	Café oscuro a café rojizo	Café amarillento a naranja	Café amarillento o blanco
Textura	Ligeramente lanudo	Ligeramente lanudo	Ligeramente lanudo	Ligeramente algodonosa
Rizomorfos	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
Anatomía del manto	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso
Largo de la micorriza	0-1.5 mm	3-5 mm	1-3 mm	1-3 mm
Diámetro de las puntas no ramificadas	Dato no disponible	Dato no disponible	0.2 mm	0.5 a 0.6 mm

Al no encontrarse diferencias significativas en el crecimiento entre los diferentes tratamiento, se ha considerado que para determinar el efecto de la inoculación en estas plántulas es necesario utilizar herramientas permitan conocer el efecto de las ectomicorrizas a través de variables más sensibles como son las ecofisiológicas, como el potencial hídrico, la resistencia estomática y la actividad fotosintética.

2.3 MEDICIONES ECOFISIOLÓGICAS

POTENCIAL HÍDRICO

La cantidad de agua disponible para las plantas puede influir en la mayoría de sus procesos fisiológicos, tales como la fotosíntesis, la respiración, la síntesis de compuestos químicos, la división y elongación celular, el transporte de elementos esenciales y la termorregulación foliar de las plantas, procesos que, dependiendo del nivel de estrés hídrico alcanzado, pueden afectar el crecimiento de las plantas (Lambers *et al.*, 1998; Larcher, 2003; Taiz y Zeiger, 2006).

La medición del potencial hídrico en estudios de relación agua-suelo planta es de especial interés, ya que indica el estado energético del agua y su disponibilidad para cumplir con las demandas evapotranspirativas que impone el ambiente. Se define la diferencia de potencial hídrico, $\Delta\Psi_w$ (expresada en megapascales), como el potencial hídrico exterior menos el

potencial hídrico interior (Taiz y Zeiger, 2006) a la misma temperatura y presión atmosférica (Lambers *et al.*, 1998). El desarrollo del concepto y la metodología para determinar el potencial hídrico han sido de gran ayuda para cuantificar el estatus hídrico de las plantas. El potencial hídrico, es el trabajo necesario para elevar el nivel del agua a un nivel de potencial del agua pura y es para fines prácticos la suma algebraica del potencial osmótico y la presión hidrostática. El potencial osmótico, es el potencial químico del agua en una solución debido a la presencia de materiales disueltos, a medida que la concentración de soluto aumenta, el potencial osmótico es más negativo, al determinar el potencial osmótico foliar estamos midiendo la cantidad de solutos presentes en las células y por lo tanto la cantidad de agua libre en las mismas. La presión hidrostática se refiere a la presión física expresada en el agua del sistema (Lambers *et al.*, 1998).

El potencial hídrico es alto en el suelo húmedo y decrece continuamente a la atmósfera por la actividad de transpiración de la planta. El potencial hídrico de los tejidos determina el grado de estrés hídrico que la planta puede tolerar sin un decremento serio de los tejidos. Las plantas expuestas a ambientes secos tienden a poseer una gran concentración de solutos en los tejidos, lo que permite extraer agua del suelo bajo situaciones de bajo potencial hídrico del suelo. Algunas plantas se aclimatan a los cambios en la disponibilidad de agua por la modificación activa del potencial osmótico de sus tejidos (Barbour, *et al.*, 1987).

El potencial hídrico de la planta varía durante el transcurso del día y durante su ciclo de crecimiento en función de diferentes factores ambientales y fisiológicos. La capacidad de absorción de agua por parte de las plantas depende en gran medida del desarrollo y estructura del sistema radical y de la continua exploración del suelo y renovación de las raíces finas, además del mantenimiento de un gradiente apropiado de potencial hídrico. El potencial hídrico y la ruta de transporte del agua regulan la entrada del agua y nutrientes a las células promoviendo la elongación celular y el crecimiento de los tejidos, por lo que el estrés hídrico de las plantas se traduce en una baja productividad (inhibición del crecimiento, fructificación, floración, etc.) o en su muerte (Kozlowski y Pallardy, 1997). La importancia de una adecuada provisión de agua para el crecimiento de plantas leñosas ha sido documentada desde hace décadas por Zahner (1968), reportando que más del 80% de la variación del crecimiento en diámetro de árboles en zonas húmedas puede ser atribuido a las variaciones de precipitación y el estrés de las plantas por la falta de agua.

El potencial hídrico del aire mínimo necesario para las actividades es especie-específico y determina el rango de distribución de varias especies, este potencial puede variar desde -5 (96% de humedad relativa) hasta valores de -93.3 MPa a un (50% de humedad relativa). Un valor de potencial hídrico foliar típico reportado para las coníferas es de -1.5 a -2.2 MPa, llegándose a reportar valores extremos de -6 Mpa (Larcher, 2003).

El potencial de presión depende de la capacidad de almacenamiento de agua en las células y depende de la elasticidad de la pared celular, se define como módulo de volumen de la elasticidad (Dainty, 1976, citado por Larcher, 2003), el cual indica el cambio en la presión de turgencia cuando está relacionada con el cambio relativo con el volumen celular. Un bajo volumen de elasticidad indica que la pared celular puede ser fácilmente distendida en respuesta al cambio en el volumen celular. Las hojas de los árboles y arbustos son usualmente más rígidas que las herbáceas. En condiciones secas, las plantas pueden trasladar al agua de las células con mayor elasticidad a células adyacentes con paredes menos elásticas y de esta manera generar un gradiente osmótico. Entre mayor es el potencial hídrico menos decrece el volumen de las células y por lo tanto del tejido en conjunto.

El estrés biológico sería cualquier factor ambiental capaz de producir una deformación (*strain*) potencialmente nociva en un organismo (Levitt, 1980). La deformación o *strain* sería la extensión o compresión - respuesta al estrés- resultante de una tensión o *estrés* determinado al que está sometido una planta (Fig. 2). (Valladares, 2004).

En la curva resultante de la respuesta a un estrés (Fig. 2), la primera parte, hasta el punto P, corresponde a una respuesta

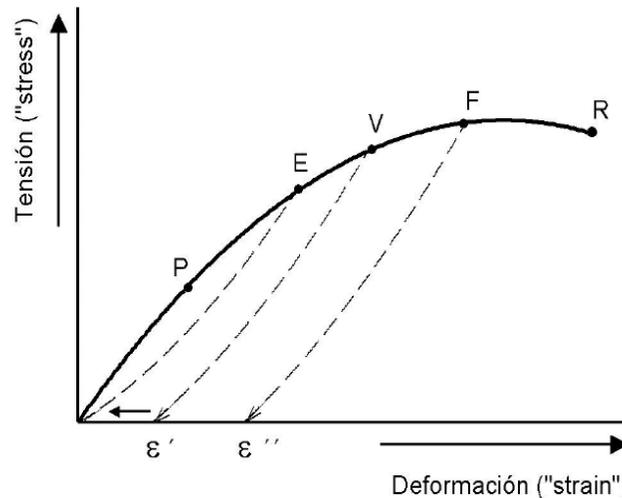


Figura 2. Esquema conceptual que representa la relación física entre la tensión y la deformación ("stress-strain") de materiales y que puede ser empleado para describir los procesos que ocurren en una planta en condiciones de estrés. P, fase de respuesta proporcional entre la tensión y la deformación; E, límite de elasticidad del material; V, límite de la deformación elástica ("elastic strain", ϵ'); F, límite de la deformación plástica ("plastic strain", ϵ''); R, límite de resistencia del material. Tomado de Valladares, 2004.

proporcional que se establece entre el incremento del estrés y la deformación. Más allá del punto P, la respuesta no es proporcional y si la tensión continúa de forma muy acentuada se llegará a producir una deformación muy severa, y una vez pasado el punto de límite de resistencia del material (R) la planta sufrirá un daño permanente y tendría comprometida la supervivencia. La respuesta es reversible si no se sobrepasa el punto o límite de elasticidad (E). Es decir, la respuesta del sistema volverá automáticamente a las condiciones iniciales cuando el estrés deje de actuar (e.g. cierre estomático ante la falta de agua). La deformación que se produce (e.g. los cambios estructurales o funcionales como respuesta al continuado incremento de la tensión) será, pues, de dos tipos: una deformación elástica (hasta el punto V), donde se produce una deformación (ϵ') que, en caso de desaparecer el estrés, recuperará las condiciones iniciales (respuesta reversible); o una deformación plástica (hasta el punto F), donde la deformación persistirá a pesar de desaparecer el estrés (ϵ'') (respuesta irreversible). La deformación plástica produciría la típica respuesta de *endurecimiento* de las plantas frente a unas condiciones ambientales adversas, muy aprovechada en la producción comercial de plantas en viveros, mientras que la deformación elástica representaría *aclimatación*, generalmente mediada por rasgos fisiológicos (Valladares, 2004). La falta de agua o déficit hídrico provocaría un estrés que actúa sobre las plantas, y todo estrés produce dos tipos de respuestas en los organismos: respuestas que tienden a evitar o prevenir la tensión (mecanismos evitadores) y mecanismos o adaptaciones que permiten tolerar el estrés (mecanismos tolerantes). En la estrategia tolerante del estrés hídrico las plantas minimizan la penetración del estrés en sus tejidos, ya que éstos son muy sensibles a la deshidratación. Las especies que siguen esta estrategia o bien maximizan la absorción de agua (con sistemas radicales profundos) o bien minimizan las pérdidas de agua con el cierre de estomas rápido y sensible a ligeros descensos del contenido hídrico de los tejidos o al potencial hídrico, valores en general bajos de conductancia estomática, paredes celulares poco elásticas que inducen cambios rápidos de potencial hídrico en respuesta a pequeñas pérdidas de agua, hojas pequeñas, bajas tasas de transpiración (Valladares, 2004).

RESISTENCIA ESTOMÁTICA

Las plantas pierden agua en forma de vapor por evaporación (transpiración) y ocasionalmente también, en pequeñas cantidades en forma líquida (goteo) (Larcher, 2003);

la contribución cuantitativa del goteo en el balance de agua es mínimo, por lo que se ha limitado el estudio a la transpiración. La transpiración depende sobre todo de dos factores: a) la diferencia de concentración de vapor de agua entre los espacios aéreos de la hoja y la atmósfera exterior, y b) la resistencia a la difusión de esta ruta. Esta resistencia consta de dos componentes, la resistencia estomática de la hoja y la resistencia debida a la capa estacionaria de aire próxima a la superficie de la hoja. Cuando la velocidad del viento es alta, el aire en movimiento reduce la capa estacionaria en la superficie de la hoja, reduciendo la resistencia de esta capa. El tamaño y la forma de las hojas también influyen en el modo en que el viento afecta esta capa (Taiz y Zeiger, 2006).

Para la regulación a corto plazo, el control de la apertura estomática por las células juega el papel principal en la regulación de la transpiración de las hojas. Como la cutícula de las hojas es prácticamente impermeable al agua, la mayor parte de la transpiración tiene lugar por difusión a través del poro estomático (Taiz y Zeiger, 2006). Estos proporcionan una baja resistencia a la difusión de gases, pero a la vez, provocan una reducción en la resistencia difusional para la pérdida de agua desde la hoja. Así, las plantas deben enfrentar la dualidad que representa la incorporación de CO₂ de la atmósfera y la limitación de la pérdida de agua. La resistencia estomática es determinada por las características anatómicas como tamaño y estructura, arreglo y densidad de los estomas de las plantas estudiadas, entre menor sea la resistencia estomática mayor es la conductividad del aire, es decir que una mayor cantidad de estomas se encuentran abiertos (Larcher, 2003).

ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA

Los procesos fisiológicos son los intermediarios entre la interacción del ambiente y los genes para regular el crecimiento de las plantas. El crecimiento de plantas requiere la absorción de agua y nutrientes minerales y la síntesis de biomasa y hormonas, además de la producción de energía para respirar, transporte de alimento, hormonas y nutrientes minerales a sitios meristemáticos, y la conversión de alimento y otras sustancias en tejidos vegetales (Kozlowski y Pallardy, 1997).

Dentro de los factores que afectan la tasa de absorción de CO₂ podemos mencionar a la luz, temperatura del aire, humedad relativa, y disponibilidad de agua, entre otras. La intensidad de la luz a la que se encuentran expuestas las plantas es el factor que más influye en la tasa de absorción de CO₂. Las angiospermas poseen una variedad de genotipos y adaptaciones

lo que les permite tener tasas fotosintéticas óptimas a diferentes intensidades de luz; las gimnospermas, por el contrario, presentan una fotosíntesis más eficiente solo con altas intensidades de luz (Kozlowski y Pallardy, 1997). El punto de compensación lumínico es la cantidad de luz en el cual la ganancia de carbono por fotosíntesis es igual a la pérdida de carbono por respiración. El punto de saturación de luz es el valor de la intensidad lumínica por encima del cual la tasa fotosintética no aumenta (Taiz y Zeiger, 2006).

La manera más directa y exacta de determinar las tasas fotosintéticas de las plantas es midiendo la tasa de intercambio de CO₂, ya que permite conocer a corto plazo la incorporación de carbono en los órganos fotosintetizadores, además de que es un método no destructivo; por lo anterior es una buena herramienta para determinar la incorporación de carbono en plantas de lento crecimiento.

Las tasas fotosintéticas generalmente cambian ampliamente durante el día, pues la tasa comúnmente es más baja temprano en la mañana de un día claro, y está asociado con una baja intensidad lumínica y a las bajas temperaturas, a pesar del alto potencial hídrico y las altas concentraciones de CO₂ en los espacios intercelulares de las hojas. Con el incremento de la intensidad lumínica y la humedad del aire, los estomas se abren y la fotosíntesis neta comienza y se incrementa rápidamente. Así, la máxima tasa fotosintética en climas templados se encuentra en el medio día, mientras que en climas menos templados la máxima tasa fotosintética se encuentra en la tarde o por la mañana, cuando la temperatura y la intensidad lumínica declinan. Así mismo, existen variaciones estacionales en la tasa fotosintética. En las zonas templadas, los cambios estacionales en la capacidad fotosintética ocurre más gradualmente en gimnospermas que en angiospermas. Durante el invierno la tasa fotosintética es prácticamente cero, y tarda aproximadamente dos meses al iniciar la primavera para restablecer la máxima capacidad fotosintética que se registra durante el verano, traduciéndose en un óptimo crecimiento en la temporada más favorable, por las condiciones de luz, temperatura y humedad (Kozlowski y Pallardy, 1997).

McGregor y Kramer (1963) midieron la variación estacional de la capacidad fotosintética de plántulas de *Pinus strobus*. Estos autores registraron un aumento progresivo de la capacidad fotosintética desde abril, alcanzando la máxima tasa de julio hasta septiembre, comenzando a declinar en el otoño. Desde el comienzo del aumento existió un incremento en el follaje de las plántulas, y declinó cuando la capacidad fotosintética también

disminuyó. Muchos factores contribuyen con las altas tasas fotosintéticas: una alta temperatura promedio, alta incidencia de flujo de fotones, alto potencial hídrico del suelo y un sistema radical funcional capaz de hacer frente a una alta demanda evaporativa; por otra parte, el déficit de agua reduce la fotosíntesis por el cierre de estomas (Kozłowski y Pallardy, 1997). Así, la mayor capacidad de absorción de agua de las plantas conferida por las micorrizas, se verá reflejada en una mayor tasa fotosintética.

CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA EN EL SUELO

La capacidad de intercambio gaseoso depende, entre otras cosas, del estado hídrico de la planta, pues este estatus le va a conferir a la planta mayor o menor capacidad de transpiración, y por lo tanto de apertura estomática para el intercambio gaseoso; esta serie de fenómenos fisiológicos dependen del agua disponible para las plantas en el suelo. La manera de medir dicha disponibilidad de agua es a través de la medición del potencial hídrico del suelo, pero medidas indirectas como la porosidad del suelo pueden ayudar a estimarla (Forsythe, 1975).

El entendimiento de la relación planta-agua requiere la consideración tanto de la humedad del suelo como de la humedad ambiental. La cuantificación del estatus del agua en las plantas se puede determinar con el contenido relativo de agua, el cual se obtiene a partir del peso seco y fresco de las mismas, pero es útil solo para caracterizar el estatus de agua de la planta, pero no su contenido; así mismo, no está relacionado con el estado fisiológico de las plantas como el daño o turgencia. Adicionalmente, es imposible comparar las medidas del contenido de agua en el suelo y los valores del contenido relativo de agua de las plantas (Kozłowski y Pallardy, 1997). La transpiración, absorción y conducción de agua de las raíces a las superficies transpirantes son procesos inseparables en el balance de agua. El déficit de vapor de agua del aire es la fuerza motriz para la evaporación, y el agua en el suelo es el recurso crucial de suministro de agua. En las plantas terrestres, las partes aéreas continuamente pierden agua por evaporación, y dependiendo de la capacidad de compensar las fluctuaciones de toma de agua y la velocidad de evaporación, se determina su distribución y capacidad de sobrevivir (Larcher, 2003).

La porosidad total de una muestra de suelo está en función de la distribución del tamaño de las partículas (textura), y del arreglo espacial de estas partículas en conformación de agregados (estructura). Es definida como el volumen total de poros contenido en un

volumen conocido de suelo (Forsythe, 1975). La porosidad del suelo tiene importancia especial porque constituye el espacio por el cual el agua penetra al suelo y pasa a través de él para abastecer a las raíces y finalmente drenar el área. Como el agua solo se trasmite a través de los poros, el flujo inicial que circula será proporcional al diámetro de los poros, disminuyendo conforme los diámetros se reducen. Sin embargo, esta disminución de velocidad, es aún en mayor grado para los pequeños poros, debido a que la movilidad de las moléculas de agua unidas a las partículas sólidas es muy baja por los efectos de adsorción. Conforme el contenido de humedad baja, disminuye el potencial mátrico y la conductividad hidráulica tiende a disminuir con mayor rapidez. La alta porosidad del suelo es indicadora de sitios con una mayor cantidad de iones y O₂ disuelto, si se comparan dos suelos similares en otras características, pues al contabilizar el volumen de poros en el suelo obtenemos el agua contenida en el mismo. (Lutz y Chandier, 1959, citado por Donoso, 1997). Algunos autores consideran que de las propiedades físicas en la caracterización del suelo la más importante es la porosidad, ya que relaciona el volumen de suelo que exploran las raíces con el volumen disponible para el agua y el aire que requieren éstas para su desarrollo (Cerisola *et al.*, 2005).

La forma de evaluar el efecto de los hongos ectomicorrizógenos sobre las plantas hospederas se ha enfocado al análisis de crecimiento, sin embargo, se ha documentado muy poco el estudio de las respuestas fisiológicas en las plantas de lento crecimiento. La ecofisiología por su enfoque holístico puede resultar de gran ayuda en el entendimiento de la función en el ecosistema de la simbiosis micorrízica, tema poco explorado hasta el momento. Cabe destacar que la mayoría de estudios forestales con variables ecofisiológicas realizados en México se han llevado a cabo en viveros bajo condiciones controladas.

De lo anterior, se han planteado las siguientes preguntas:

¿Los HEM tienen un efecto en el potencial hídrico, resistencia estomática y absorción de CO₂ de las plantas de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* en campo?

¿Y si tienen un efecto positivo en las plantas esto se verá reflejado en la supervivencia y el crecimiento de plántulas en campo?

El presente trabajo forma parte del proyecto Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano en la Cuenca del Río Magdalena, el cual se desarrolla en el marco del Programa de Apoyo a la Investigación en Facultades y Escuelas de la UNAM, y del proyecto PAPIIT IN-200906 “Restauración y conservación de la Cuenca del Río Magdalena, Contreras, Cd. de México, con énfasis en la utilización de hongos micorrizógenos como una herramienta ecológica”; cabe señalar que son pocos en los estudios que utilizan un enfoque ecofisiológico para analizar la respuesta de las plantas en proyectos de restauración y muy pocos los reportes en la literatura aún en los que se considere conjuntamente el efecto de los hongos ectomicorrizógenos en las plantas.

2.1. JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia de los bosques de la Cuenca del Río Magdalena en cuanto a bienes y servicios que proveen, es necesaria su conservación y restauración frente a la importante pérdida de cobertura forestal a la que se ha visto sujeta. Las mediciones ecofisiológicas como lo son el potencial hídrico, la transpiración y la actividad fotosintética, permitirán obtener datos más precisos acerca del efecto de los hongos ectomicorrizógenos en el desempeño ecofisiológico de las plántulas de *Abies religiosa* y *Pinus hartwegii*.

2.2. OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el efecto de los hongos ectomicorrizógenos sobre el potencial osmótico, la resistencia estomática, la capacidad fotosintética, el crecimiento y la supervivencia de plántulas de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* establecidas en campo.

PARTICULARES

Determinar el efecto de las ectomicorrizas en las plántulas de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa* midiendo:

1. El estado hídrico de las plántulas, midiendo el potencial osmótico.

2. En la resistencia estomática de las plántulas, midiendo la resistencia a la difusión.
3. En la actividad fotosintética, midiendo las ppm de CO₂ absorbidos.
4. En la supervivencia, crecimiento en altura y biomasa.

2.3. HIPÓTESIS

Los HEM le conferirán un mejor estado hídrico a las plántulas micorrizadas, con respecto a las no micorrizadas, lo cual se verá reflejado en un potencial osmótico mayor de las plántulas con HEM.

Así mismo, las plántulas con HEM presentarán una mayor actividad fotosintética que las no micorrizadas, presentando por ello una mayor absorción de CO₂ por área foliar.

Las plántulas con HEM tendrán una menor resistencia estomática, en comparación con las no micorrizadas, reflejando una mayor apertura de los estomas, lo que significa una mayor cantidad de CO₂ absorbido y por lo tanto un mayor crecimiento.

Las plantas con HEM presentarán diferencias positivas significativas con respecto a las no micorrizadas en supervivencia.

El crecimiento en altura de las plántulas con HEM será significativamente mayor con respecto a las plántulas sin HEM.

Las plántulas de *Abies religiosa* inoculadas con *Inocybe splendens* presentarán un mejor estado fisiológico en potencial osmótico, resistencia estomática y absorción de CO₂, que las plántulas sin inocular previamente o inoculadas con *S. brevipes*, lo cual se verá reflejado en una mayor supervivencia y crecimiento.

Así mismo, las plántulas de *Pinus hartwegii* inoculadas con *Suillus brevipes* presentarán un mejor estado fisiológico en potencial osmótico, resistencia estomática y absorción de CO₂, que las plántulas sin inocular previamente o inoculadas con *I. splendens*, lo cual se verá reflejado en una mayor supervivencia y crecimiento.

CAPÍTULO 3. MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

La Cuenca del Río Magdalena (CRM) (19° 13' 53'' y 19° 18' 12'' N y 99° 14' 50'' y 99° 20' 30'' W) se localiza al límite sur-occidental del Distrito Federal dentro de la cuenca de México, y se corresponde aproximadamente con la “Zona Protectora Forestal Cañada de Contreras” decretada en 1932. Es una de las principales áreas de excedente hídrico en el Distrito Federal (Mazari, 2000).

Forma parte de la vertiente occidental de la sierra de las Cruces, dentro del Distrito Federal, abarca parte de las delegaciones políticas Magdalena Contreras, Álvaro Obregón y Cuajimalpa, en un intervalo altitudinal de 2570 msnm en el noreste (límite del área ecológica con la urbana) a los 3850 m snm al suroeste (altitud máxima registrada para el cerro el Muñeco) (Ávila-Akerberg, 2002).

Una gran parte de la zona de la cuenca pertenece a roca ígnea extrusiva. Los suelos son principalmente Andosoles, ricos en vidrios volcánicos, generalmente ácidos, muy permeables. Estos suelos fijan fosfatos y son muy susceptibles a la erosión hídrica y eólica que forman cárcavas y barrancos profundos. Los subtipos encontrados son ócrico y húmico (Álvarez, 2000), siendo este último el presente en los bosques de *Abies*. El área de estudio se encuentra en la zona templada subhúmeda que corresponde al bosque de pino y encino, dentro de la región Mesoamericana de Montaña. Se caracteriza por contener elementos holárticos principalmente arbóreos, así como neotropicales en los estratos arbustivo y herbáceo (Rzedowski, 1978).

Para la CRM, se distinguen principalmente las siguientes comunidades: *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa*, Bosque mixto y de *Quercus* (Nava, 2003), que debido a la destrucción acelerada de los bosques se han visto muy afectadas (Álvarez, 2000; Nava, 2003). Existen tres tipos de clima según la clasificación climática de Köppen modificado por García (Álvarez, 2000; Macroproyecto, 2010):

- C(w2)(w): templado sub-húmedo. Se presenta a partir de la zona urbana hasta el piedemonte, en un intervalo altitudinal de 2450 a 2800 msnm, donde se desarrolla la comunidad de bosque Mixto y de *Quercus*.

- C(e)(w2)(w): semifrío sub-húmedo. Se presenta en las laderas de montaña a una altitud de 2800 a 3600 msnm donde se encuentra la comunidad de *Abies religiosa*.
- C(e)(m)(w): semifrío húmedo. Se presenta en las partes altas de la cuenca, por arriba de los 3600 msnm, en el bosque de *Pinus hartwegii*.

La comunidad de *A. religiosa* se caracteriza por ser un bosque denso que alcanza 100 % de cobertura vegetal, dominado por la presencia del estrato arbóreo y arbustivo. Ocupa la mayor extensión dentro del área de estudio (1433 ha) con 2,032 árboles (Ávila-Akerberg, 2002). Las asociaciones que la representan son: *A. religiosa-Roldana angulifolia*, *A. religiosa-Acaena elongata* y *A. religiosa-Senecio cinerarioides*. Esta comunidad se localiza sobre pendientes muy pronunciadas de 65 % de inclinación. Estructuralmente corresponde a un bosque natural joven, con edad promedio de 31 años, en donde la actividad humana se concreta a cortas ilegales e incontroladas y en donde el desarrollo del bosque se ve influenciado en gran medida por incendios. La mayor mortalidad de *A. religiosa* en la zona perturbada se presenta en la zona donde no se presenta ningún tipo de chapeo, es decir, sin remoción de la vegetación (11.79%), seguido de la zona donde se quita totalmente la cobertura vegetal (8.43%), mientras que la menor mortalidad se presenta con el chapeo intermedio (5.62%). En la zona de *Abies* con vegetación secundaria sigue el mismo patrón de mortalidad, pero disminuye tanto para la zona con vegetación (7%) y la zona sin vegetación 4%, mientras que la zona de chapeo presentó el mismo porcentaje (Santibañes-Andrade, 2009).

La comunidad de *P. hartwegii* es menos vulnerable a la erosión, pero más susceptible a los incendios de origen antrópico, tiene laderas con inclinación de 0 a 15°. El número de árboles registrados en la superficie muestreada es de 3,179 árboles (Ávila-Akerberg, 2002). Está dominada por un estrato arbóreo monoespecífico y abierto, que presenta en promedio 65% de cobertura vegetal y 35% de suelo desnudo. Se encuentran representadas dos asociaciones vegetales: *P. hartwegii-Muhlenbergia quadridentata* y *P. hartwegii-Festuca toluensis* (Santibañes-Andrade, 2009).

3.2 DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES

Abies religiosa Kunth Schltdl. et Cham., cuyo nombre común es oyamel, es nativo de las montañas centrales y del sur de México (Eje Volcánico Transversal, Sierra Madre del Sur). Crece a altitudes altas de 2500 a 4100 msnm en bosques con alta pluviosidad y frescos, de veranos húmedos, y caída de nieve invernal. Es un árbol monoico de 35 a 40 m de altura y diámetro normal hasta de 1.80 m. Se desarrolla en suelos generalmente profundos limo-arcillosos o arenosos, bien drenados, ricos en materia orgánica (SIRE, 2010).

El uso más importante es como “árbol de navidad”. La madera no es de muy buena calidad, pero se recomienda para fabricar papel, ya que la pulpa es de muy buena calidad; como madera aserrada se puede utilizar en la fabricación de cajas, puertas, marcos y techos interiores, postes que transmiten energía eléctrica, cercas, durmientes y palos de escoba. Por su color claro, peso ligero, ausencia de manchas y de resina y su carencia de olor, se recomienda como apropiada en la fabricación de empaques para alimentos, como pescado, azúcar, etc. La trementina, “aceite de palo” u “aceite de abeto“, es recomendada para su empleo medicinal; la corteza de árboles viejos es utilizada para carbón y la madera en la construcción de casas (SIRE, 2010).

Pinus hartwegii Lindl., es una especie de pino que crece justo en las zonas boscosas más frías, y su nombre común es pino de montaña. Comúnmente está asociado a los bosques de oyamel. Casi nunca se encuentran bosques compactos de este pino, ya que se limitan a terrenos muy fríos y en forma esparcida. Se localizan en los estados de Veracruz, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Jalisco, Nayarit, Michoacán, Estado de México, D. F., Morelos, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, en altitudes entre 2,900 y 4,000 m snm. El crecimiento de este pino es medio, ya que en dos años llega a una altura de entre 2 y 3 m (Benítez *et al.*, 2004). El árbol tiene una altura de hasta 15 m de alto, aunque puede encontrarse algún ejemplar ya maduro de 20 a 30 m, con una copa piramidal. Las acículas miden hasta 15 cm de largo y están organizadas en grupos de 3 a 5. Produce semillas con ala hasta de 2 cm de largo. El polen está maduro de los meses de abril a junio y los conos con semillas se dan de octubre a marzo. El pino se utiliza para reforestación y se le da uso a su madera para la construcción. Principalmente se obtiene madera para la elaboración de postes de energía eléctrica y leña; también se le da un uso en carpintería, durmientes, para hacer pulpa para papel, así como ornato en sitios urbanos (Benítez *et al.*, 2004).

3.3 DESCRIPCIÓN DE LAS PARCELAS

Tanto en el Bosque de *Pinus* como en el de *Abies* existen dos parcelas de 50x50 m cercada con alambre de púas, en las que se trasplantaron en el mes de Septiembre de 2007 las plántulas de los diferentes tratamientos, distribuidas al azar (Fig. 3).

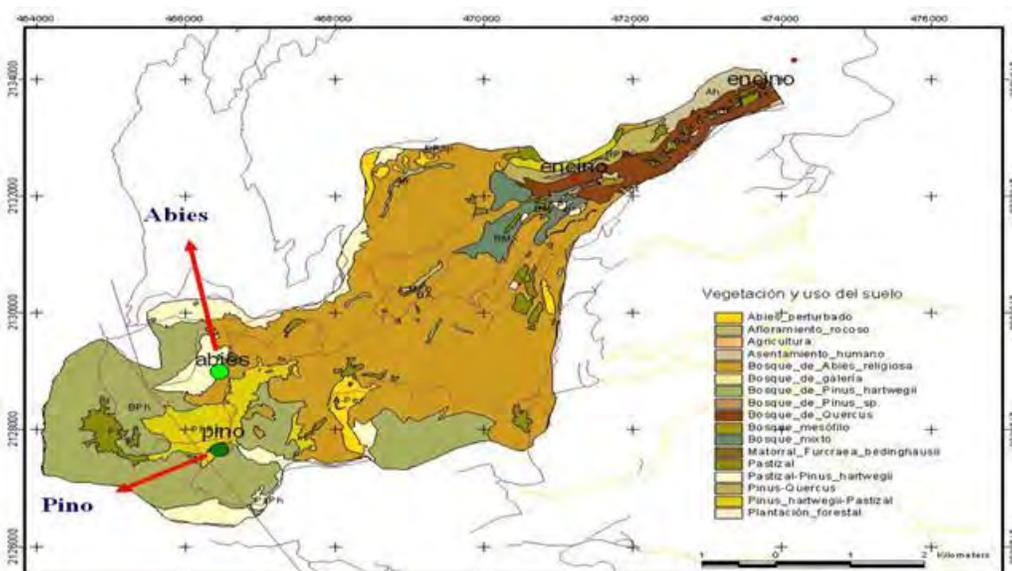


Figura 3. Ubicación de las parcelas en la Cuenca del Río Magdalena, con vegetación y uso de suelo. Las coordenadas son para *Abies religiosa* latitud: 19°15'10.10 y 19°15'13.69"N y longitud: 99°19'9.12 y 99°19'8.60"O. Para *Pinus hartwegii* latitud: 19°14'52.50 y 19°14'52.68"N y longitud: 99°19'0.76 y 99°19'3.99"O. (Tomada de Ávila-Akenberg, 2002)

En las tablas 4 y 5 se pueden observar las principales características de las parcelas (Olivera, 2009; Unger y Hernández, en preparación).

Tabla 4. Condiciones promedio de un año en las parcelas de estudio (Olivera, 2009; Delgadillo, en preparación).

		<i>Pinus hartwegii</i>	<i>Abies religiosa</i>
Temperatura promedio (min/max)		6.97 °C	6.91 °C
		(-0.3/20.61)	(2.9/13)
Humedad relativa (±EE)		59.98 % (1.98)	65.42 % (8.68)
Incidencia de luz a nivel del suelo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Época de secas	235	162
	Época de lluvias	146	133

Tabla 5. Características generales físico-químicas del suelo en las parcelas de estudio (Olivera, 2009; Unger y Hernández, en preparación).

	pH	MO (%)	N mgKg ⁻¹	P mgKg ⁻¹	CIC Cmol(+)Kg ⁻¹	NH ₄ mgKg ⁻¹	NO ₃ mgKg ⁻¹	C mgKg ⁻¹
<i>Abies religiosa</i>	4.9	36.38	0.898	8.8	43.4	41	293.2	18.13
<i>Pinus hartwegii</i>	5.14	11.84	0.332	4	26.5	25	114.4	7.81

MO-Materia orgánica; CIC-Capacidad de intercambio catiónico

Las condiciones ambientales (temperatura y humedad) de ambas parcelas estuvieron en constante monitoreo con hobos de temperatura y humedad, por lo que se cuenta con las condiciones ambientales en los momentos de colecta (tabla 6).

Tabla 6. Temperatura y humedad de las parcelas en el muestreo de plántulas de *P. hartwegii* y *A. religiosa* (Macroproyecto, 2010).

	Parcelas de <i>P. hartwegii</i>		Parcelas de <i>A. religiosa</i>		
	Humedad (gH ₂ O m ³)	Temperatura del aire (°C)	Humedad (gH ₂ O m ³)	Temperatura del aire (°C)	
Marzo 2009	8:00	2.45	2.48	7.82	7.83
	14:00	4.6	19.61	14.9	16.38
Mayo 2009	8:00	9.6	6.62	7.2	5.81
	14:00	4.5	15.8	6.3	14.09
Julio 2009	8:00	14.31	7.03	7.2	5.4
	14:00	13.2	14.04	9.5	10.2
Septiembre 2009	8:00	9.3	4.57	8.8	8.6
	14:00	8.8	2.12	10.3	13.7
Noviembre 2009	8:00	8.7	5.3	6.2	4.3
	14:00	5.3	13.8	7.3	12.4
Enero 2010	8:00	2.51	2.32	7.65	7.64
	14:00	4.34	23.2	13.6	18.14

3. 6 DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio de restauración realizado en esta tesis, se inició con 215 plántulas de *Pinus hartwegii* y 154 plántulas de *Abies religiosa*, todas de 2 años de edad. El tamaño promedio se muestra en la tabla 7. Las plántulas se encontraban en condiciones de campo, sin ningún manejo y los tratamientos son los de la manipulación inicial a la que fueron sometidas.

Tabla 7. Tamaño promedio inicial (\pm EE) de las plántulas de *Pinus hartwegii* y *Abies religiosa*.

	Tratamiento	No. de plántulas	Diámetro (mm)	Altura al meristemo (cm)	Altura total (cm)
<i>P. hartwegii</i>	Control	53	13.82	8.59	18.45
	Vermiculita y turba 2:1 sin inocular		(\pm EE 0.41) n.s.	(\pm EE 0.50) n.s.	(\pm EE 0.57) n.s.
	Con suelo forestal, sin inocular	51	13.95 (\pm EE 0.45) n.s.	8.87 (\pm EE 0.49) n.s.	18.84 (\pm EE 0.60) n.s.
	Con suelo forestal, inóculo de <i>Inocybe splendens</i>	54	12.64 (\pm EE 0.37) n.s.	8.77 (\pm EE 0.53) n.s.	18.09 (\pm EE 0.68) n.s.
	Con suelo forestal, inóculo de <i>Suillus brevipes</i>	57	13.06 (\pm EE 0.48) n.s.	8.58 (\pm EE 0.52) n.s.	17.91 (\pm EE 0.52) n.s.
<i>A. religiosa</i>	Control	38	3.40	25.91	25.91
	Vermiculita y turba 2:1 sin inocular		(\pm EE 0.16) n.s.	(\pm EE 1.39) n.s.	(\pm EE 1.39) n.s.
	Con suelo forestal, sin inocular	43	3.42 (\pm EE 0.19) n.s.	28.63 (\pm EE 1.59) n.s.	28.63 (\pm EE 1.59) n.s.
	Con suelo forestal, inóculo de <i>Inocybe splendens</i>	30	3.31 (\pm EE 0.19) n.s.	28.42 (\pm EE 1.98) n.s.	28.42 (\pm EE 1.98) n.s.
	Con suelo forestal, inóculo de <i>Suillus brevipes</i>	43	3.30 (\pm EE 0.12) n.s.	27.23 (\pm EE 1.09) n.s.	27.23 (\pm EE 1.09) n.s.

n.s.: no significativo

3.6.1 DETERMINACIÓN DEL ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

Cada dos meses se colectó 50g de suelo en las zonas inmediatas a las plántulas y se mantuvo en refrigeración a 4° C. Para determinar el porcentaje de volumen de agua en los poros en el suelo, se utilizó el procedimiento estandarizado de Black (1965) y Warren (1975):

Volumen de poros (%)= $100 - ((\text{densidad aparente} / \text{densidad real}) * 100)$

Densidad aparente (g cm^3)= $\text{suelo seco (g)} / \text{volumen conocido (cm}^3)$

Densidad real (g cm^3)= $\rho_a * \text{suelo seco (g)} / (\text{suelo seco (g)} - \text{suelo saturado en volumen (g cm}^3)$)

ρ_a = densidad del agua (g cm^3)

3.6.2 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DE CRECIMIENTO

Todas las mediciones se realizaron cada dos meses a lo largo de un año. Se determinó la supervivencia y crecimiento en altura total y diámetro de las plántulas, además de la altura al meristemo en el caso de *P. hartwegii*. Se calculó la Tasa Relativa de Crecimiento de acuerdo a Hunt (1982):

Tasa relativa de crecimiento en altura (TRC_a)

$$\text{TRC}_a = (\log AT_2 - \log AT_1) / \text{tiempo}_2 - \text{tiempo}_1$$

Donde: log es el logaritmo natural y AT es la altura total.

Se realizó un muestreo inicial en el mes de Marzo de 2009 y final en Enero de 2010, de tres plantas por tratamiento por especie. Con esta colecta se obtuvo el peso seco de la raíz, tallo y total. Para tal efecto las plántulas se colocaron en un horno a 70°C hasta se obtuvo el peso seco constante. A partir de los datos de peso seco se obtuvieron las variables correspondientes a la proporción de peso total de la raíz y tallo, y el cociente raíz/vástago, de acuerdo a Hunt (1982):

Peso seco total (PST)

$$\text{PST} = \text{PSt} + \text{PSr} ;$$

Donde: PSt es el peso seco del tallo y PSr es el peso seco de la raíz

Cociente raíz/vástago (R/V):

$$\text{R/V} = \text{PSr} / \text{PSv}$$

Donde: PSr es el peso seco de la raíz y PSv es el peso seco vástago

Además de este muestreo inicial, cada dos meses se obtuvo la biomasa aérea en peso seco de tres plántulas por especie por tratamiento, obteniendo la TRC en biomasa:

Tasa relativa de crecimiento en biomasa (TRC_b)

$$\text{TRC}_b = (\log B_2 - \log \bar{x} B_1) / \text{tiempo}_2 - \text{tiempo}_1$$

Donde: log es el logaritmo natural, B es el peso seco del vástago y $\bar{x} B_1$ es el promedio de los valores de biomasa del tiempo 1.

3.6.3 DETERMINACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

El potencial osmótico se midió cada dos meses por la mañana (8:00-9:00 h) y por la tarde (14:00-15:00 h) representando un menor y mayor estrés hídrico durante el día, respectivamente. Para ello, se colectó material vegetal fresco de tres plantas por tratamiento por especie en agujas de insulina y se colocaron en nitrógeno líquido, para posteriormente en el laboratorio obtener la savia expresada de las plantas y el potencial osmótico con cámaras psicométricas C-52 y un microvoltímetro Wescor HRT-33.

En época de secas (Enero 2010) y lluvias (Septiembre 2009) se colectaron las plántulas a las que se les determinó el potencial osmótico, se traspasaron a macetas de 7.5 x 7.5 cm y 10.5 cm de profundidad y se regaron a saturación. Se mantuvieron por dos semanas en una casa de sombra en una temperatura que osciló entre los 4 y 25 °C, en una intensidad lumínica máxima de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se regaron a saturación tres veces por semana en época de lluvias y en época de secas una vez por semana.

Para la medición de la resistencia estomática de las plántulas colectadas se utilizó un Porómetro LI-1600 marca Licor. Se midieron tres plántulas por tratamiento en cada época. En cada plántula se midieron los siguientes parámetros: transpiración ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$), resistencia a la difusión (s cm^{-1}), intensidad lumínica ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$), humedad relativa (%), temperatura de la hoja (°C) y temperatura de la cubeta (°C); con una apertura constante de 1 cm^2 y presión atmosférica ajustada a 77.32 kPa.

Se midió la capacidad de intercambio gaseoso de las plántulas colectadas con un analizador infrarrojo de gases (IRGA) marca Qubit. El sistema consta de un aparato que registra las concentraciones de CO_2 , con una columna con un desecante (perclorato de magnesio anhidro), columna de condensación de agua, cámara para colocar la muestra, bomba de aire y restrictor de flujo. Antes de realizar las mediciones el IRGA se ajustó a la concentración promedio de CO_2 en el aire, se tomaron los registros basales de CO_2 (350 ppm), se conectó la bomba y se dejó pasar el aire de la atmósfera hasta que la lectura de CO_2 se mantuvo estable; después de ello se comenzó el registro de datos dejando correr por diez minutos, obteniendo de esta manera el valor base de CO_2 . Se colocó entonces la muestra (planta) en la cámara y se selló, y se encendió una lámpara de luz fría de 100W que proporcionó una

intensidad lumínica constante ($150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); se encendió la bomba y se dejó pasar el aire para que circulara por el sistema, cuando se mantuvo estable se comenzó el registro de datos, hasta por 30 minutos. La diferencia entre la concentración de CO_2 del aire y del que pasa por la muestra es equivalente a la cantidad del mismo absorbido por la fotosíntesis, menos el desprendido por la respiración de la muestra (Rodés y Collazo, 2006). Con ayuda de papel milimétrico se determinó el área foliar de las acículas que estuvieron dentro de la cámara.

3.6.4 MICORRIZACIÓN

Cada dos meses se estimó el porcentaje de colonización micorrízica, para lo cual se sacaron las raíces de las plantas y se remojaron en agua corriente, se lavaron cuidadosamente para quitar el exceso de suelo. Con observaciones al estereomicroscopio se cuantificó el porcentaje de colonización para cada uno de los tratamientos, tomando el número de ramificaciones de la raíz principal de la plántula como el 100 %. Las raíces se colocaron en una solución de Formol 100 mL, Alcohol etílico 500 mL, Ácido acético glacial 50 mL y Agua destilada 350 mL.

Se describieron las características morfológicas y anatómicas de la micorriza como color, diámetro, tipo de ramificación, presencia-ausencia de rizomorfos, color de puntas del ápice, largo y ancho de las ectomicorrizas en el microscopio estereoscópico (Santiago-Martínez, 2008b). Además se realizaron cortes transversales y longitudinales con navajas, en la zona inmediata al ápice de la raíz, se montaron en el portaobjetos y se observaron en microscopio óptico, con estas observaciones se determinó la anatomía del manto, y el número de células que forman la red de Hartig. Las dimensiones del ancho de manto, diámetro y largo de las micorrizas se determinaron con el Software Image Pro Plus.

3.6.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó un Análisis de Varianza, ANOVA, de una vía, teniendo como factor la inoculación con micorrizas con cuatro tratamientos para los datos de volumen de agua en los poros del suelo. Para obtener una distribución normal los datos se transformaron con una raíz cuadrada.

Para analizar la supervivencia se tomó el tamaño de la muestra inicial para este estudio (215 plántulas de *P. hartwegii* y 154 plántulas de *A. religiosa*) y se realizaron comparaciones entre tratamientos con un análisis de Peto y Peto, mediante la X^2 .

Para las variables de crecimiento (diámetro al tallo, altura total, altura al meristemo, TRC_a, TRC_b, Peso seco total y Cociente raíz vástago) se realizaron Análisis de CoVarianza, ANCOVA, teniendo como covariable el registro inicial en cada caso y como factor categorico la inoculación con cuatro tratamientos. Las variables TRC_a, TRC_b, Peso seco total y Cociente raíz vástago se transformaron a raíz cuadrada.

En el caso de las variables ecofisiológicas, el potencial osmótico mañana y tarde, se realizó una ANOVA de una vía, para conocer las diferencias entre los tratamientos de micorrización, transformando los datos al arcoseno; mientras que los datos de resistencia estomática y absorción de CO₂ se analizaron con ANOVA de una vía teniendo como factor los cuatro tratamientos de micorrización y dos vías para determinar el factor temporada (dos temporadas).

Los datos de porcentaje de micorrización se transformaron al arcoseno para cumplir con una distribución normal, y se analizaron con un ANOVA de una vía para conocer las diferencias entre tratamientos.

Después del ANOVA se realizaron análisis de comparaciones múltiples de medias de Tukey para determinar si los tratamientos de micorrización fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) (Zar, 1984; SAS Institute, 2001).

3.6.6 MODELACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

Se modeló la relación con regresiones lineales simples de R^2 (donde R^2 es la correlación entre la variable dependiente y el valor proyectado) de las variables ecofisiológicas: potencial osmótico mañana y tarde (variable independiente), resistencia estomática (variable dependiente del potencial osmótico e independiente de la absorción de CO₂) y absorción de CO₂ (variable dependiente) entre sí y con el porcentaje de volumen de agua en los poros (variable independiente) y el porcentaje de micorrización (variable independiente). Esta modelación fue posible gracias a que estas variables fueron medidas en las mismas plántulas.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

4.1 *PINUS HARTWEGII*

4.1.1 ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

Se determinó el porcentaje de volumen de agua en los poros del suelo (Fig. 4). El porcentaje para todos los tratamientos se mantuvo entre 72 y 85%, con un ligero incremento al inicio de las lluvias (Julio de 2009). Sin embargo, el ANOVA mostró que no existieron diferencias significativas en el volumen de agua en los poros del suelo entre los tratamientos.

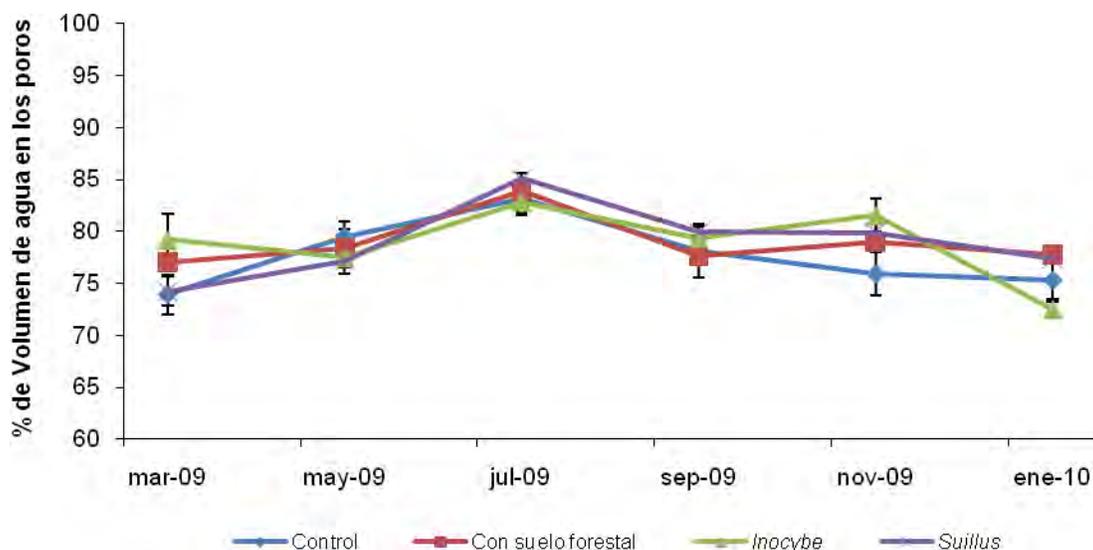


Figura 4. Porcentaje de volumen de agua en los poros en el suelo ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *P. hartwegii*. (n=3).

4.1.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO

Las plántulas de *Pinus hartwegii* presentaron una supervivencia del 79% (Fig. 5). No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre los diferentes tratamientos para *P. hartwegii* (Tabla 8).

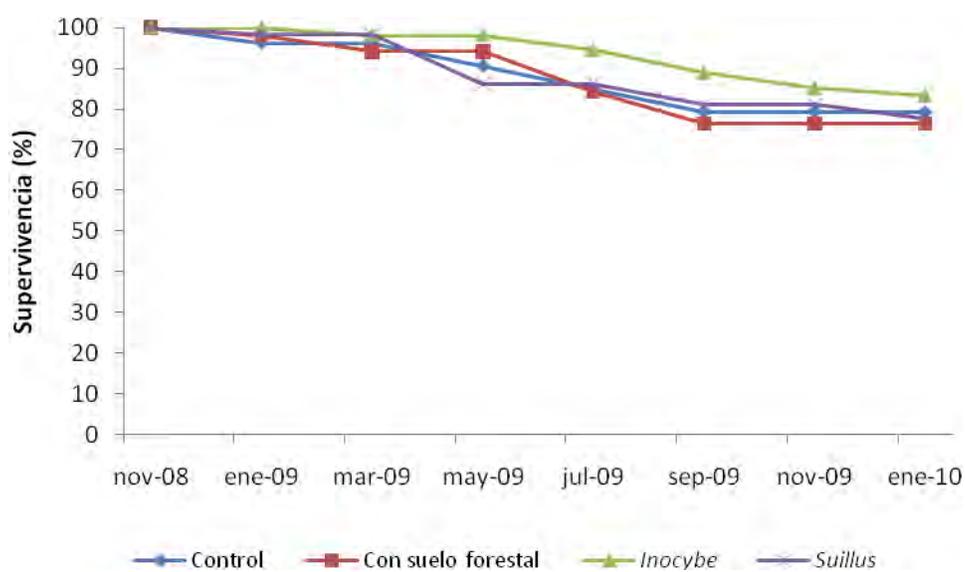


Figura 5. Supervivencia a lo largo del tiempo de los tratamientos de *P. hartwegii*. (Control n= 73; Con suelo forestal n= 71; *Inocybe* n= 73; *Suillus* n= 74).

Tabla 8. Análisis de Peto y Peto (Pyke y Thompson, 1986) con los respectivos valores de χ^2 para *Pinus hartwegii* ($p \leq 0.05$).

Tratamiento	n inicial	n final	χ^2
Control Vs. Con suelo forestal	73-71	42-39	0.084
Control Vs. <i>Inocybe splendens</i>	73-73	42-45	0.502
Control Vs. <i>Suillus brevipes</i>	73-74	42-45	0.430
Con suelo forestal Vs. <i>Inocybe splendens</i>	71-73	39-45	0.961
Con suelo forestal Vs. <i>Suillus brevipes</i>	73-74	39-45	0.881
<i>Inocybe splendens</i> Vs. <i>Suillus brevipes</i>	73-74	45-45	0.481

En el diámetro del tallo de las plántulas de *P. hartwegii* (Fig. 6), se observó que en los tratamientos control, con suelo forestal y *Suillus* hubo decrementos en los meses de enero y septiembre de 2009, y nuevamente en enero 2010 para el tratamiento control e *Inocybe*.

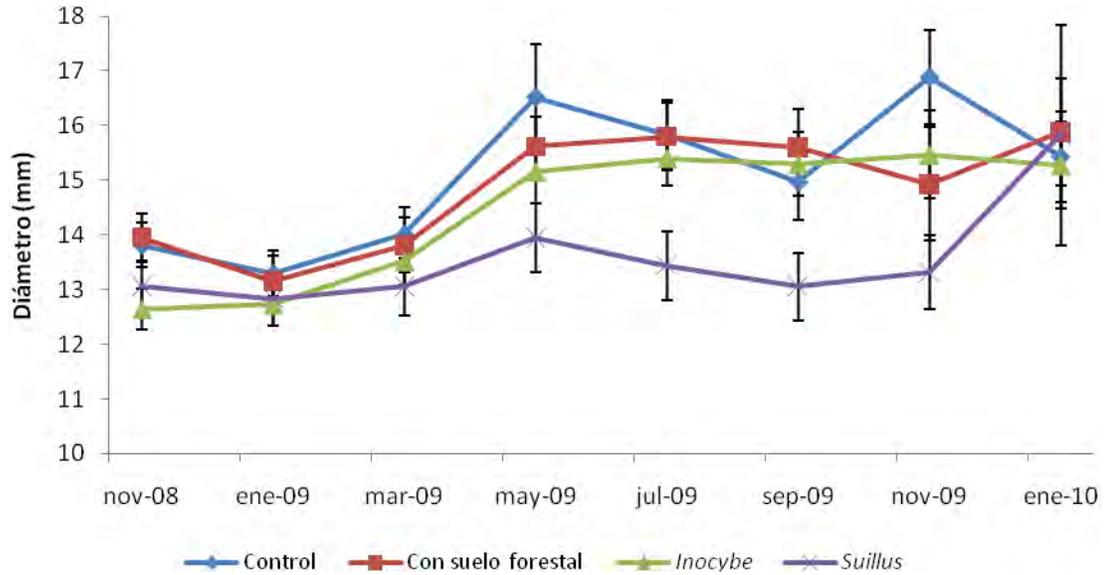


Figura 6. Diámetro promedio ($\pm 1EE$) del tallo en los tratamientos de *P. hartwegii*. (Control n= 73; Con suelo forestal n= 71; *Inocybe* n= 73; *Suillus* n= 74).

Sin embargo, el ANCOVA para *P. hartwegii* comparando las mediciones inicial y final del crecimiento en diámetro al tallo no mostró diferencias significativas entre tratamientos.

Así mismo, se monitorearon la altura al meristemo (Fig. 7) y altura total (Fig. 8) de las plántulas de *P. hartwegii*.

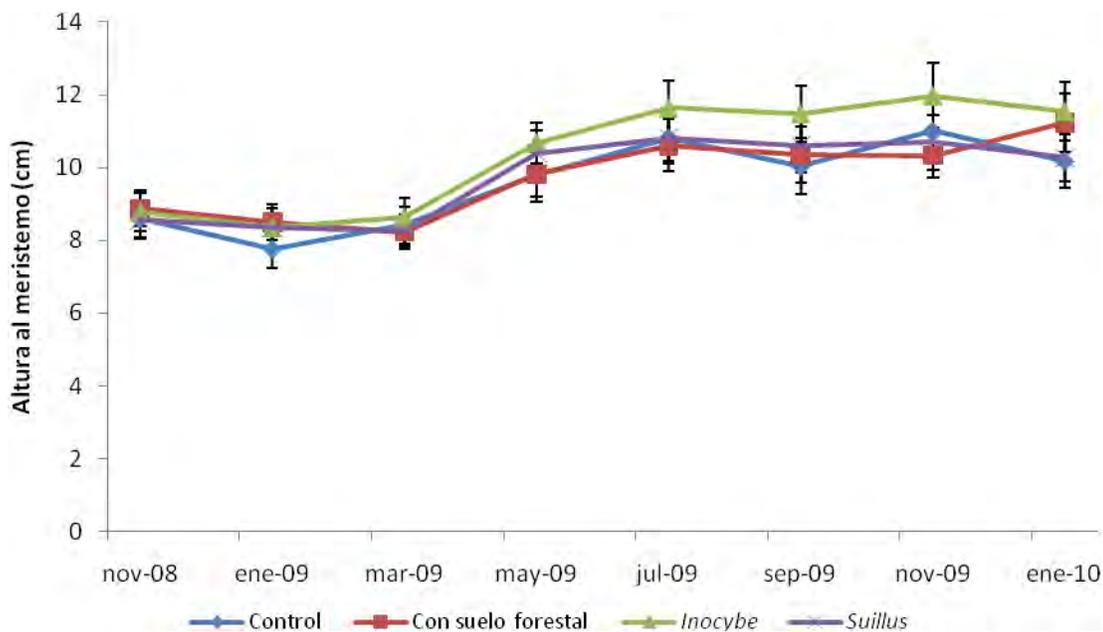


Figura 7. Altura al meristemo promedio ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *P. hatwegii*. (Control n= 73; Con suelo forestal n= 71; *Inocybe* n= 73; *Suillus* n= 74).

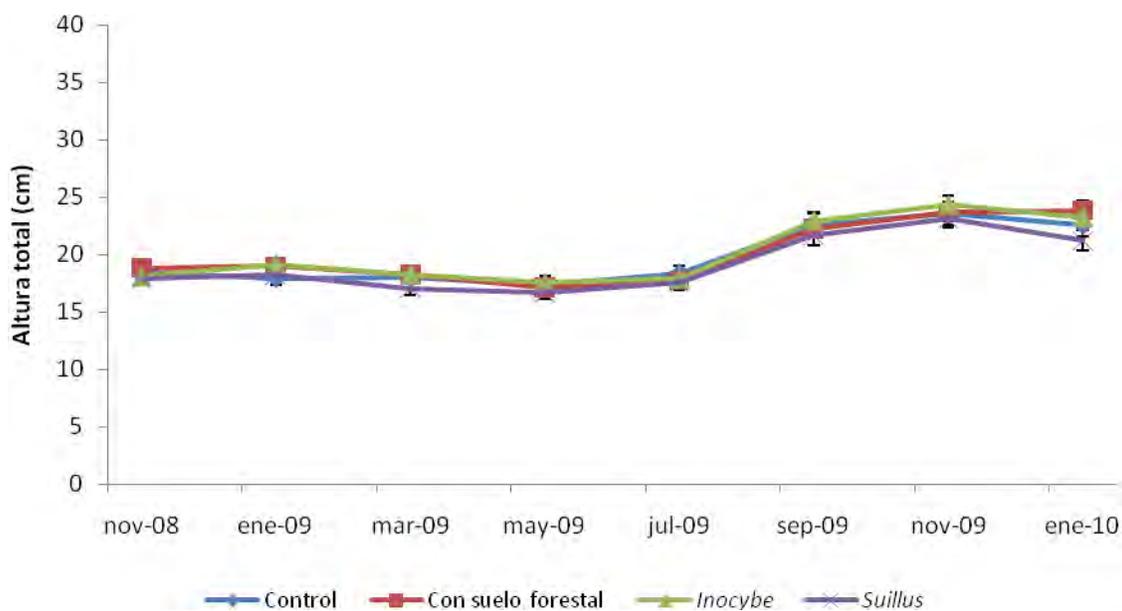


Figura 8. Altura total promedio ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *P. hatwegii*. (Control n= 73; Con suelo forestal n= 71; *Inocybe* n= 73; *Suillus* n= 74).

El ANCOVA para *P. hartwegii* comparando las mediciones inicial y final del crecimiento en altura, tanto al meristemo como la total, no mostró diferencias significativas entre tratamientos, pero sí en el factor tiempo (Tabla 9).

Tabla 9. ANCOVA para *Pinus hartwegii* comparando las mediciones inicial y final del crecimiento en campo (n= 159).

Variable de respuesta	Gl	F	P
Diámetro			
Tiempo	1	0.35	n. s.
Tratamiento	3	0.05	n. s.
Error	153		
Altura al meristemo			
Tiempo	1	31.27	Significativo **
Tratamiento	3	1.14	n. s.
Error	153		
Altura total			
Tiempo	1	12.50	Significativo **
Tratamiento	3	1.00	n. s.
Error	153		

Nivel de significancia n. s.= $p > 0.05$; Significativo **= $p < 0.05$

Con respecto a la tasa relativa de crecimiento en altura (Fig. 9) y biomasa para *P. hartwegii* (Fig. 10), el ANCOVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo para ambos casos, se observaron valores negativos principalmente en los meses de sequía e invierno (Figs. 9 y 10).

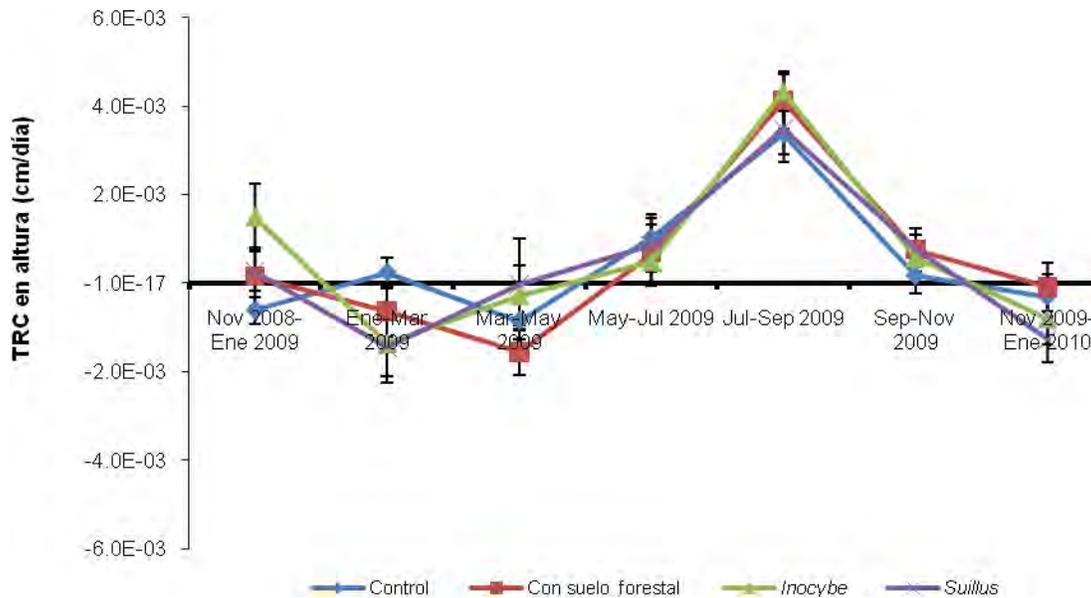


Figura 9. Tasa relativa de crecimiento en altura ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *Pinus hartwegii*. (Control n= 73; Con suelo forestal n= 71; *Inocybe* n= 73; *Suillus* n= 74).

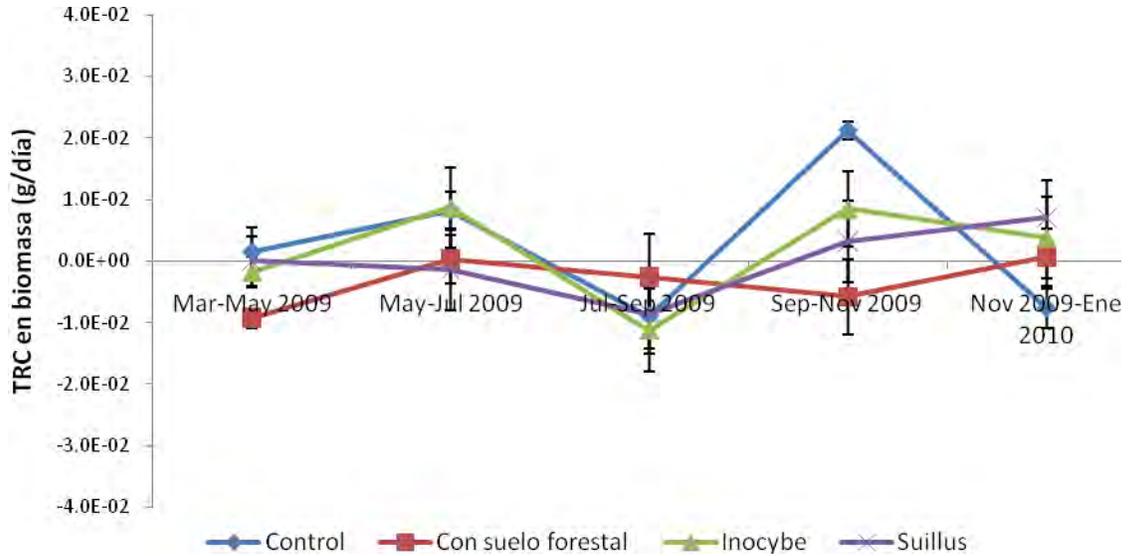


Figura 10. Tasa relativa de crecimiento en biomasa ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *P. hartwegii*. (n=3).

PESO SECO

El peso seco total de las plántulas de *P. hartwegii* se muestra en la figura 11. Los valores en todos los tratamientos fueron mayores en el muestreo final.

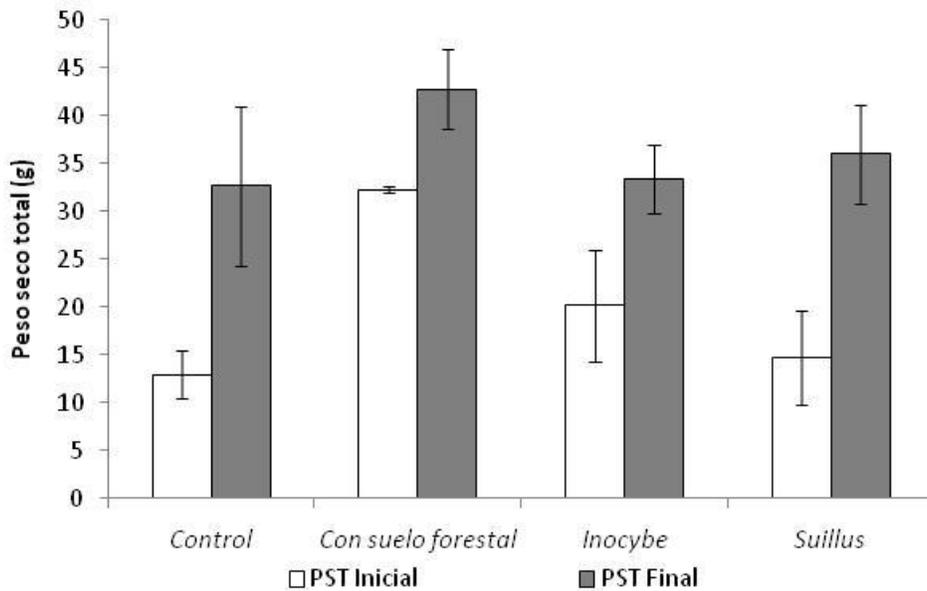


Figura 11. Peso seco total ($\pm 1EE$) para los tratamientos de *P. hartwegii*. (n=3).

El ANCOVA para *P. hartwegii* comparando las mediciones inicial y final del peso seco total no mostró diferencias significativas entre tratamientos.

El cociente raíz/vástago (Fig. 12) nos muestra la relación de biomasa asignada a estas estructuras por la planta. Los valores fueron mayores en todos los casos en el muestreo final, en comparación con el muestreo inicial. No hubo diferencias significativas en el cociente raíz/vástago.

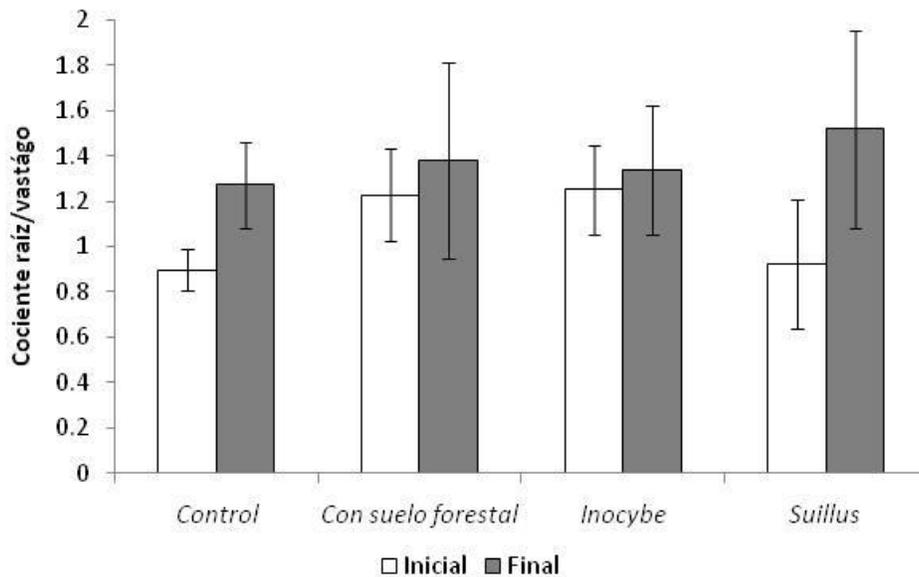


Figura 12. Cociente raíz/vástago ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*. (n=3).

4.1.3 VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

POTENCIAL OSMÓTICO

La figura 13 muestra el potencial osmótico foliar en la mañana y en la tarde a lo largo del tiempo, se observó que el potencial osmótico se incrementó a partir del mes de mayo hasta septiembre de 2009, y disminuyó después de esa fecha en todos los tratamientos.

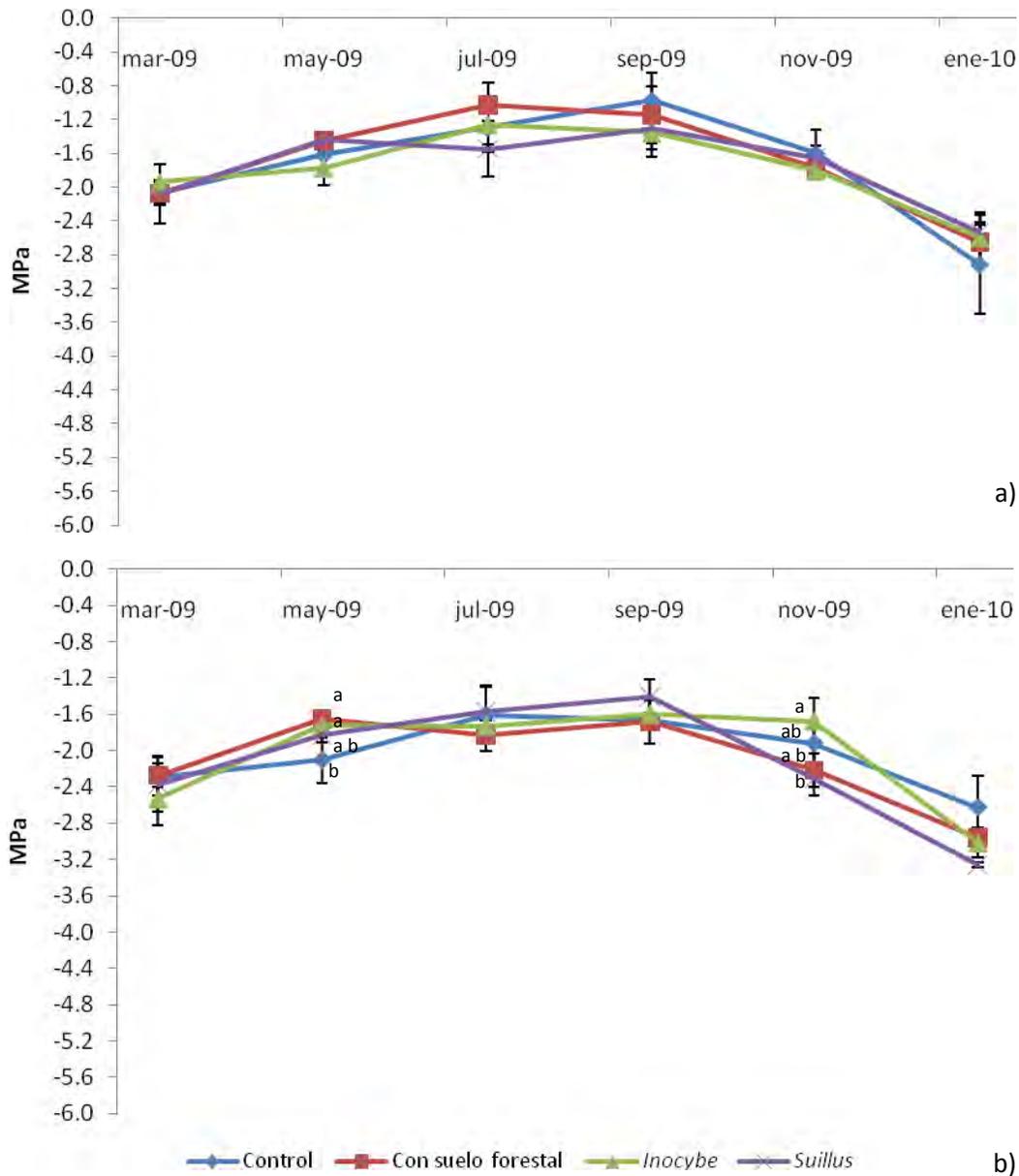


Figura 13. Potencial osmótico foliar (MPa) ($\pm 1EE$) de los tratamientos de *P. hatwegii*. a) Colecta por la mañana (8:00 hrs); b) Colecta por la tarde (14:00 hrs). Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). (n=3).

El ANOVA para *P. hartwegii* en el potencial osmótico foliar medido en la mañana no mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. En el caso del potencial osmótico foliar de la tarde en el mes de Mayo, según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, el menor potencial osmótico el tratamiento control con respecto a los otros tratamientos; en Noviembre 2009, el tratamiento con *Suillus* mostró el menor potencial que las plántulas de los demás tratamientos (Tabla 10).

Tabla 10. ANOVA para *Pinus hartwegii* del Potencial Osmótico foliar (n= 12).

Variable de respuesta	Gl	F	P
Potencial Osmótico tarde en marzo 2009			
Tratamiento	3	0.45	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde en mayo 2009			
Tratamiento	3	4.09	Significativo **
Error	8		
Potencial Osmótico tarde en julio 2009			
Tratamiento	3	0.37	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde en septiembre 2009			
Tratamiento	3	0.70	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde en noviembre 2009			
Tratamiento	3	2.83	Significativo **
Error	8		
Potencial Osmótico tarde en enero 2010			
Tratamiento	3	1.39	n. s.
Error	8		

Nivel de significancia n. s.= $p > 0.05$, Significativo **= $p < 0.05$

RESISTENCIA ESTOMÁTICA

Se evaluó la resistencia estomática en época de secas y lluvias (Figura 14). El ANOVA para *P. hartwegii* comparando la resistencia estomática entre tratamientos en ambas temporadas no mostró diferencias estadísticamente significativas. Existió una diferencia significativa entre secas y lluvias ($F_{1,22} = 67.29$, $p < 0.95$), en época de secas se presentaron los valores de mayor resistencia estomática.

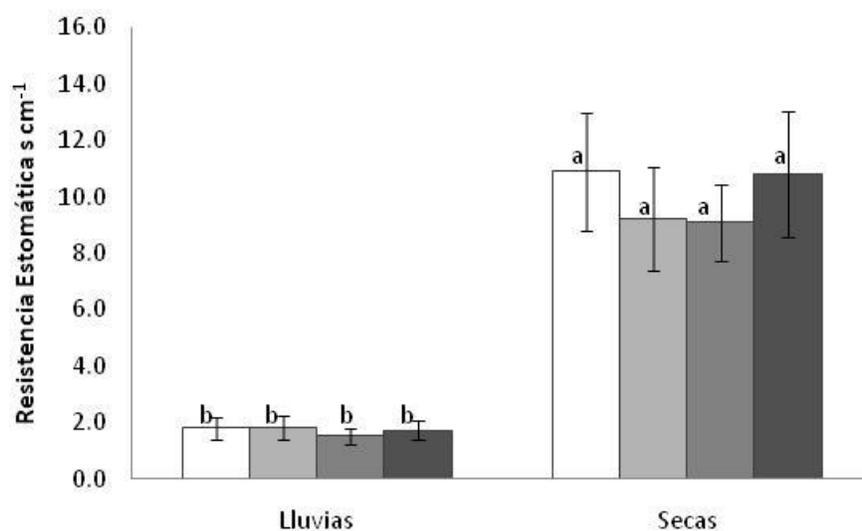


Figura 14. Resistencia estomática ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*, en época de secas (Enero 2010) y lluvias (Septiembre 2009). Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). ($n=3$).

INTERCAMBIO GASEOSO

Se determinaron las partes por millón de CO₂ absorbidas por m² foliar, en época de secas (Enero 2010) y lluvias (Septiembre 2009) (Figura 15).

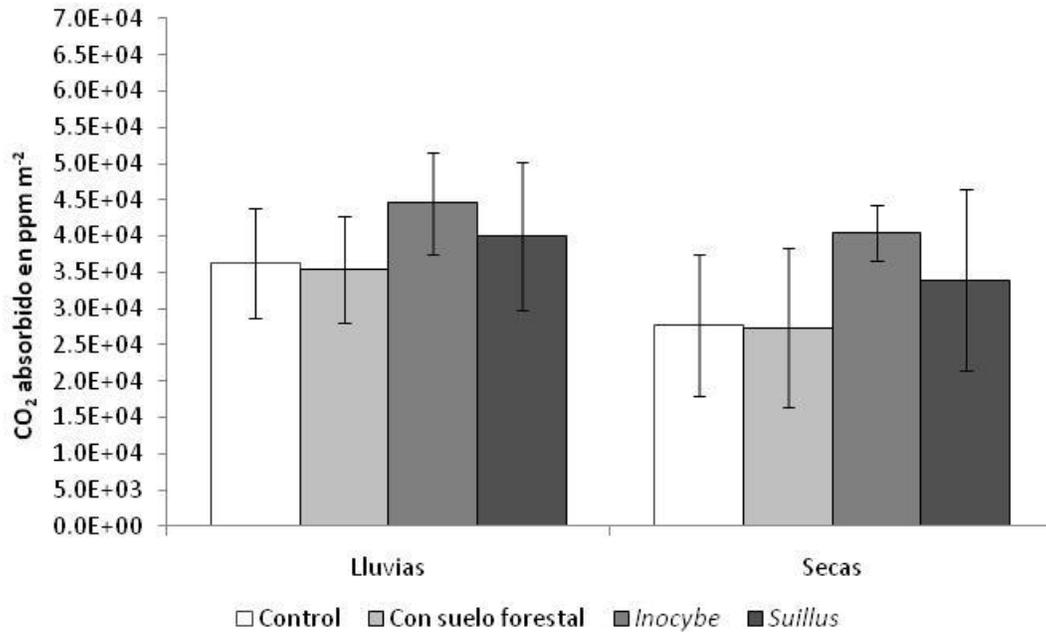


Figura 15. Partes por millón de CO₂ absorbido por m² foliar ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*, en época de secas y lluvias. (n=3).

El ANOVA no mostró diferencias estadísticamente significativas para *P. hartwegii* comparando las partes por millón de CO₂ absorbidos entre tratamientos ni entre temporadas, aunque en temporada de sequía los tratamientos con HEM mantuvieron los valores de absorción altos con respecto a los otros tratamientos.

4.1.4 MICORRIZACIÓN

PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN POR HEM

La cuantificación del porcentaje de micorrización de las plántulas de *P. hartwegii* se muestra en la figura 16.

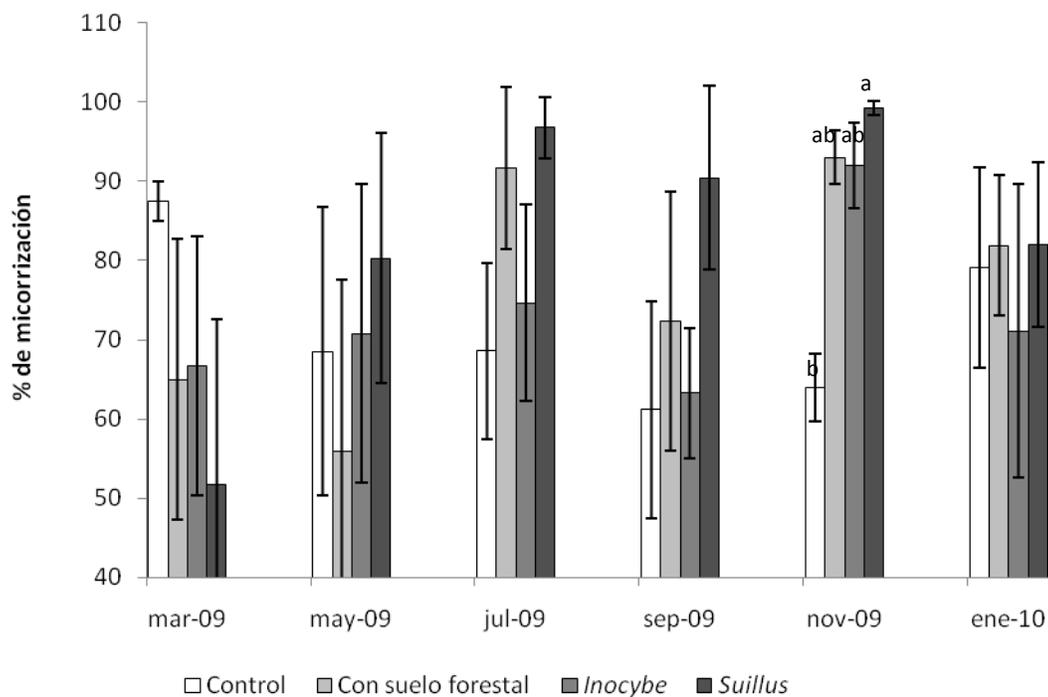


Figura 16. Porcentaje de micorrización ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). (n=3).

El ANOVA de porcentaje de micorrización mostró diferencias significativas entre tratamientos en el mes de noviembre 2009 (Tabla 11). El tratamiento *Suillus* tuvo un mayor porcentaje de micorrización que el control.

Tabla 11. ANOVA para *Pinus hartwegii* de las mediciones de micorrización (n= 12).

Variable de respuesta	Gl	F	P
Micorrización Marzo 2009			
Tratamiento	3	2.34	n. s.
Error	8		
Micorrización Mayo 2009			
Tratamiento	3	2.36	n. s.
Error	8		
Micorrización Julio 2009			
Tratamiento	3	1.10	n. s.
Error	8		
Micorrización Septiembre 2009			
Tratamiento	3	1.88	n. s.
Error	8		
Micorrización Noviembre 2009			
Tratamiento	3	7.27	Significativo **
Error	8		
Micorrización Enero 2010			
Tratamiento	3	0.17	n. s.
Error	8		

Nivel de significancia n. s.= $p > 0.05$, Significativo **= $p < 0.05$

CARACTERIZACIÓN DE MICORRIZAS

La caracterización de las micorrizas de *P. hartwegii* del último muestreo (Enero 2010) se muestra en la tabla 12.

Tabla 12. Caracterización de las micorrizas en las plántulas de *Pinus hartwegii*.

	<i>Inocybe splendens</i> con <i>Pinus hartwegii</i>	<i>Suillus brevipes</i> con <i>Pinus hartwegii</i>
Tipo de ramificación	Simple a dicotómica	Dicotómica, irregular pinada a coraloide
Forma de las terminaciones	Torcidas a tortuosas	Torcidas a tortuosas
Color de las puntas no ramificadas	Café naranja a café rojizo	Café amarillento a café oscuro
Textura de la superficie del manto	Ligeramente fibrosas	Liso con poco brillo
Rizomorfos	Ausentes	Ausentes
Anatomía del manto	Plectenquimatoso	Plectenquimatoso
Células corticales con red de Hartig	2	2
Ancho del manto	15.87 ± 4 µm	24.75 ± 8µm
Largo del eje principal de la micorriza	4 ± 0.87 mm	11.15 ± 3.14 mm
Diámetro del eje principal de la micorriza	0.28 ± 0.06 mm	1.24 ± 0.5 mm
Largo de los ejes secundarios de la micorriza	2.07 ± 1.28	5.4 ± 2.6
Diámetro de los ejes secundarios de la micorriza	0.49 ± 0.2	1.08 ± 0.39

Con estas caracterizaciones podemos afirmar que encontramos una correspondencia de las micorrizas caracterizadas con las inoculadas como tratamiento inicial por Sandoval (2010).

Inocybe splendens con *Pinus hartwegii*

Características morfológicas: Sistemas micorrizógenos con ramificación de simple a dicotómica. Puntas no ramificadas de color café naranja en los ápices y café rojizo en las partes más viejas de la micorriza (Fig. 17a). Superficie de las puntas no ramificadas ligeramente fibrosas, células corticales no visibles. Rizomorfos no observados. Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto: Manto plectenquimático como un grupo de hifas dispuestas en una red producida por la ramificación múltiple de las hifas. Café amarillento (Fig. 17b y c).

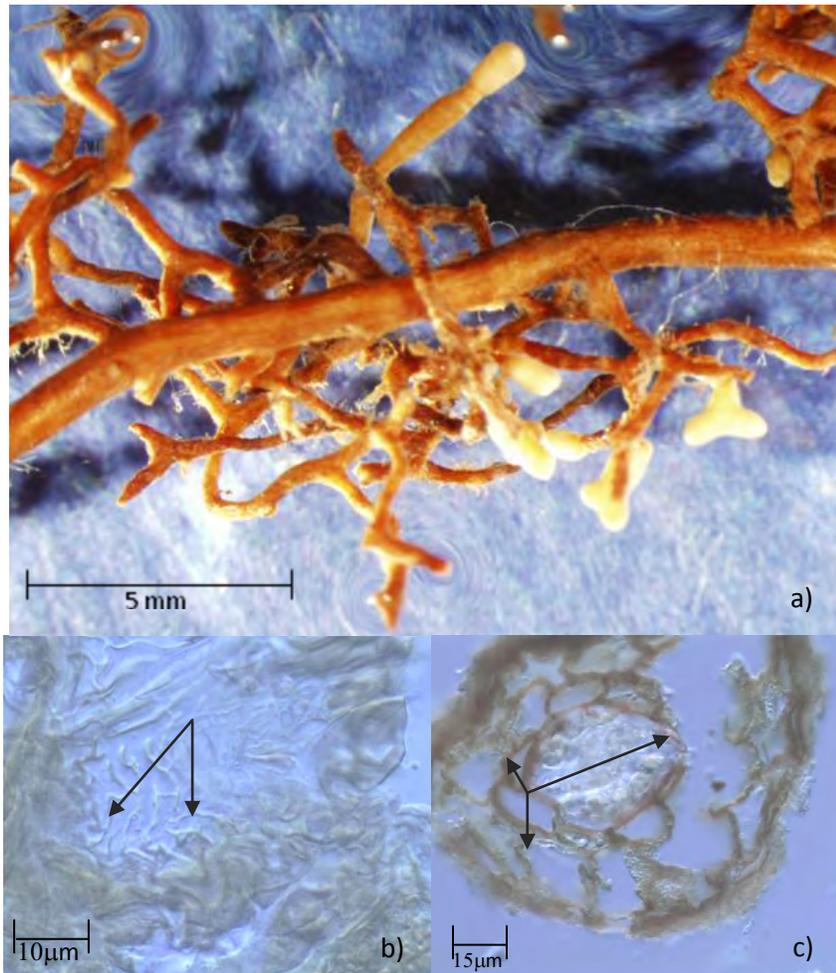


Figura 17. Ectomicorrizas de *Inocybe splendens* con *Pinus hartwegii*. a) Ramificación sencilla (1.6x); b) Corte longitudinal del manto (100x), se observan las hifas con septos (flechas); c) Corte transversal de la ectomicorriza (20x), se observa el ancho del manto, las flechas indican la red de Hartig.

Suillus brevipes con *Pinus hartwegii*

Características morfológicas: Sistemas micorrizógenos con ramificación desde dicotómica a irregular pinada hasta coraloide. Terminaciones no ramificadas de color café amarillento a café oscuro en las partes más viejas de la micorriza, ápices de las puntas café claro. Superficie de las terminaciones no ramificadas lisas, células corticales no visibles (Fig. 18a). Rizomorfos no observados. Esclerocios no observados.

Características anatómicas del manto: Manto de transición entre plectenquimático como un grupo de hifas dispuestas en una red producida por la ramificación múltiple de las hifas y pseudoparenquimatoso con células más o menos angulares. De color hialino (Fig. 18b y c).

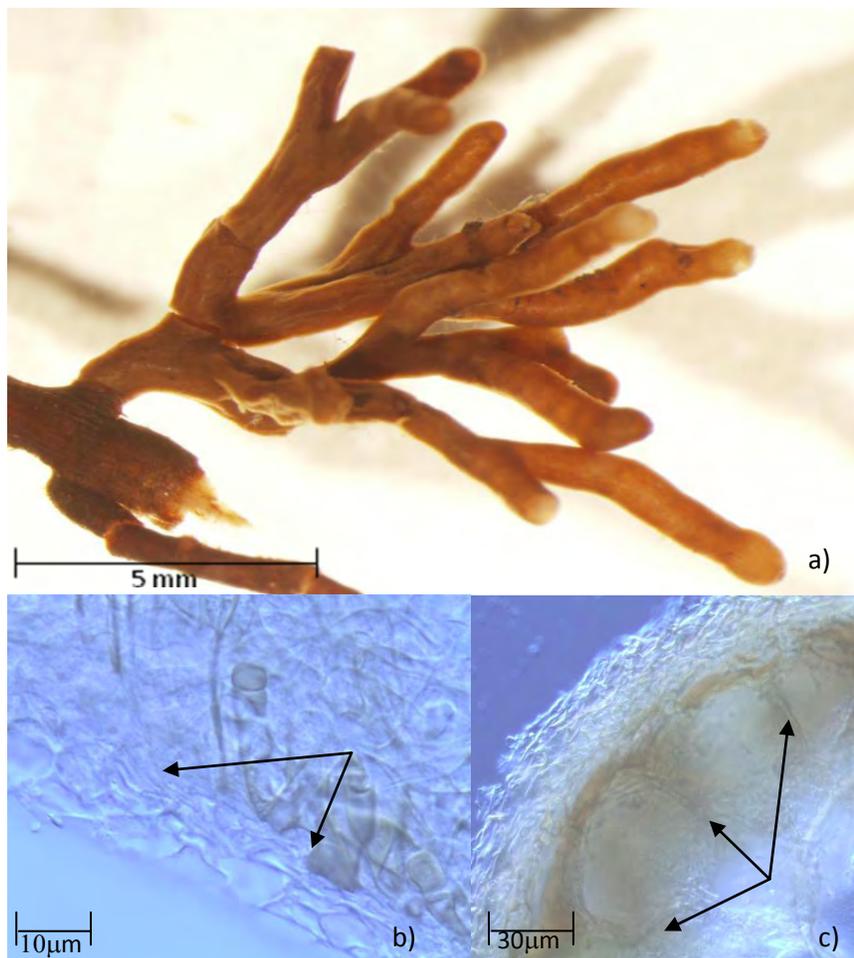


Figura 18. Ectomicorrizas de *Suillus brevipes* con *Pinus hartwegii*. a) Ramificación dicotómica a coraloide (2x); b) Corte longitudinal del manto (100x), se observan las hifas (flechas); c) Corte transversal de la ectomicorriza (40x), se observa el ancho del manto, con hifas emanantes, las flechas indican la red de Hartig.

Aunado a estas micorrizas se encontraron ectomicorrizas denominadas *contaminantes* (Tabla 13), es decir que no fueron inoculadas como parte del experimento y que por lo tanto, colonizaron espontáneamente las raíces.

Tabla 13. Caracterización de las micorrizas contaminantes en las plántulas de *P. hartwegii*.

	Morfotipo I	Morfotipo II
Tipo de ramificación	Dicotómica a coraloide	Simple a dicotómica
Forma de las terminaciones	Torcidas a Tortuosas	Torcidas
Color de las puntas no ramificadas	Blanquecinas	Negro
Textura de la superficie del manto	Lisa con brillo	Lisa a fibrosa con brillo
Rizomorfos	Presentes, poco frecuentes	Ausentes
Posible identificación (Agerer, 1987-1991)	De la familia Russulaceae	<i>Cenococcum geophilum</i>

La caracterización realizada coincide con micorrizas pertenecientes a la familia Russulaceae (Fig. 19a), encontrada en los tratamientos control (con rizomorfos), y con suelo forestal; y con *Cenococcum geophilum* (Fig. 19b) encontrada en los tratamientos control, con suelo forestal sin inocular y con suelo forestal inoculado con *Suillus brevipes*.

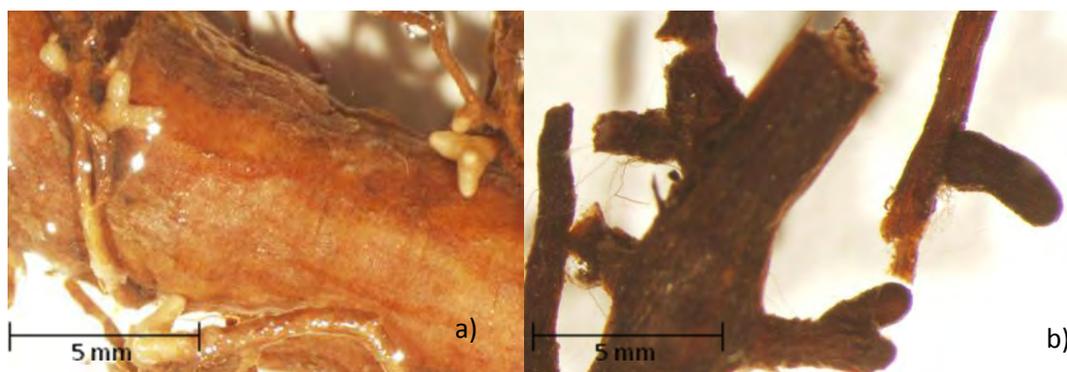


Figura 19. Ectomicorrizas contaminantes en *Pinus hartwegii*, identificadas como de la familia Russulaceae (a) y *Cenococcum* (b). Ambas a 1.6 x.

4.1.5 MODELACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISILÓGICAS

Las parejas de variables en las que se encontró una relación significativa fueron: el volumen de agua en los poros del suelo con el potencial osmótico foliar ($p < 0.01$) (fig. 20); el potencial osmótico foliar de la mañana con la resistencia estomática ($p < 0.05$) (fig. 21); y la resistencia estomática con el CO_2 absorbido ($p < 0.05$) (fig. 22).

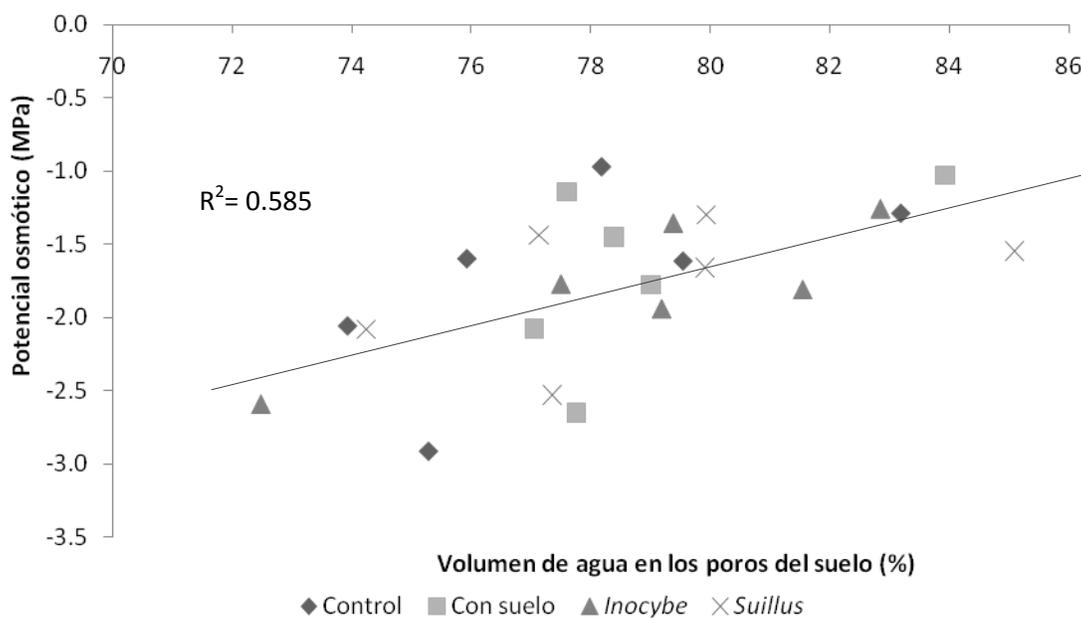


Figura 20. Regresión lineal del volumen de agua en los poros del suelo y el potencial osmótico en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*. R^2 - Coeficiente de correlación r

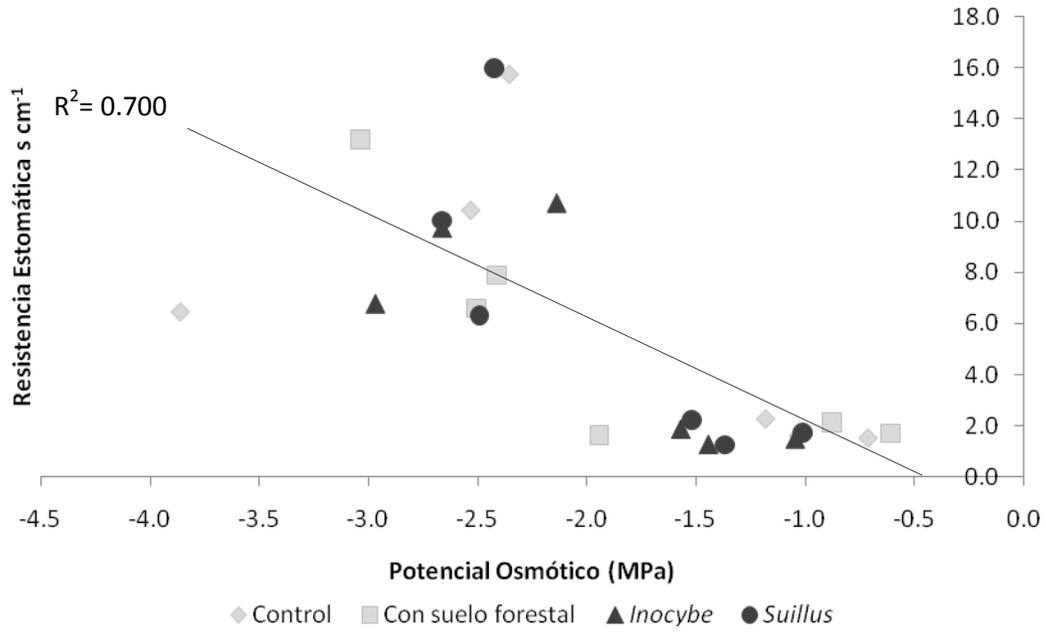


Figura 21. Regresión lineal de la resistencia estomática y el potencial osmótico en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*. R^2 - Coeficiente de correlación r cuadrada.

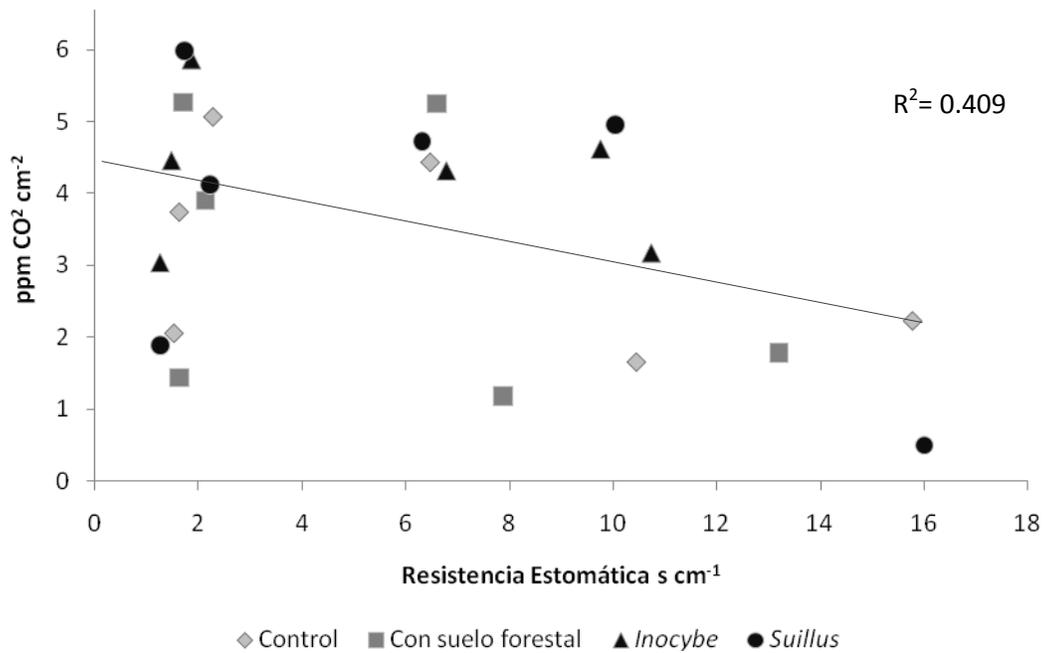


Figura 22. Regresión lineal de la resistencia estomática y el intercambio gaseoso en los diferentes tratamientos de *P. hartwegii*. R^2 - Coeficiente de correlación r cuadrada.

4.2 ABIES RELIGIOSA

4.2.1 ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

En las parcelas de *A. religiosa*, el volumen de agua en los poros se mantuvo entre 67 y 84%, incrementándose en todos los tratamientos en los meses de lluvias (julio y septiembre) con valores entre 78 y 80%, y disminuyendo cuando el estrés hídrico es mayor, en la época de secas, alcanzando el valor más bajo en enero 2010 (69%) (Figura 23). Sin embargo, el ANOVA no mostró diferencias significativas en el volumen de los agua en los poros del suelo entre los tratamientos.

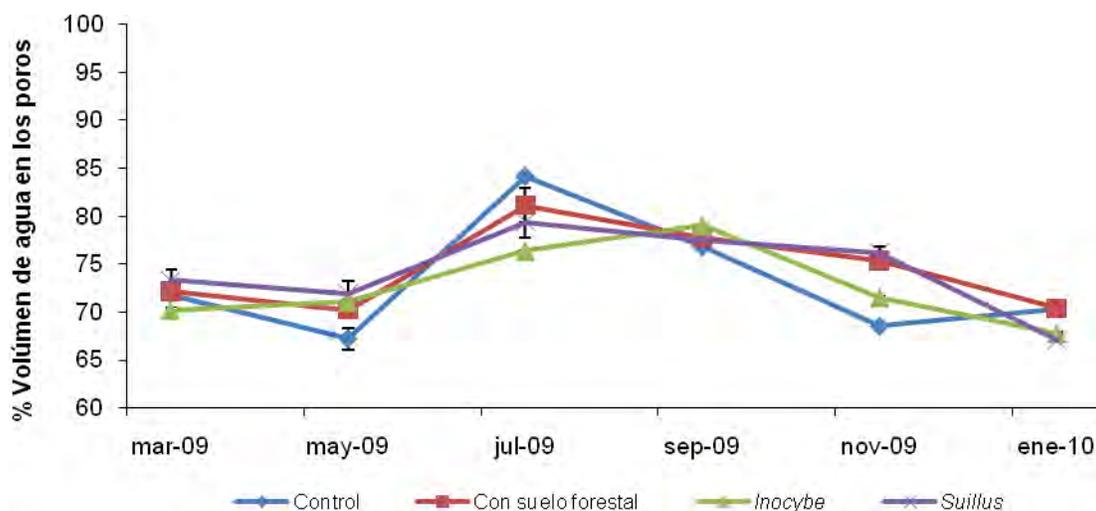


Figura 23. Porcentaje de volumen de agua en los poros en el suelo ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *A. religiosa*. (n=3).

4.2.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO

Abies religiosa presentó un menor porcentaje de supervivencia (53.5%) en comparación con *P. hartwegii* (79%). En la figura 24 se observa el decremento del porcentaje de supervivencia a lo largo del tiempo. Siendo los tratamientos sin inoculación, tanto con suelo forestal, como el control (vermiculita-turba) los que presentaron mayores porcentajes (65.1% y 55.3%, respectivamente), mientras que las plántulas inoculada con *Inocybe* tuvieron el menor porcentaje (40%). El análisis de Peto y Peto (Noviembre 2008 a Enero 2010) mostró una diferencia entre los tratamientos, siendo el tratamiento con suelo forestal, el que presentó una mayor supervivencia, en comparación con el control e *Inocybe* (Tabla 14).

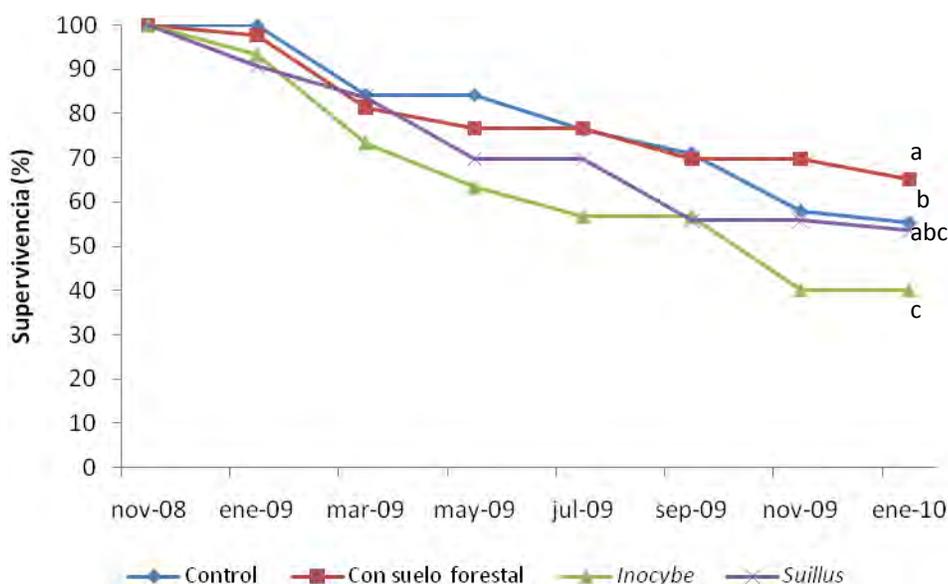


Figura 24. Supervivencia a lo largo del tiempo de los tratamientos en *A. religiosa*. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Peto y Peto (X^2), $p \leq 0.05$). (Control n= 46; Con suelo forestal n= 46; *Inocybe* n= 36; *Suillus* n= 46).

Tabla 14. Análisis de Peto y Peto (Pyke y Thompson, 1986) con los respectivos valores de X^2 para *Abies religiosa* ($p \leq 0.05$).

Tratamiento	n inicial	n final	X^2
Control - Con suelo forestal	46-46	21-28	4.258
Control - <i>Inocybe splendens</i>	46-36	21-12	4.767
Control - <i>Suillus brevipes</i>	46-46	21-23	1.381
Con suelo forestal - <i>Inocybe splendens</i>	46-36	28-12	8.716
Con suelo forestal - <i>Suillus brevipes</i>	46-46	28-23	1.363
<i>Inocybe splendens</i> - <i>Suillus brevipes</i>	36-46	12-23	3.727

El diámetro del tallo de las plántulas *Abies religiosa* (Fig. 25) a lo largo del tiempo mostró la misma tendencia en los diferentes tratamientos, con un ligero descenso en el mes de marzo 2009, y posteriormente un incremento constante.

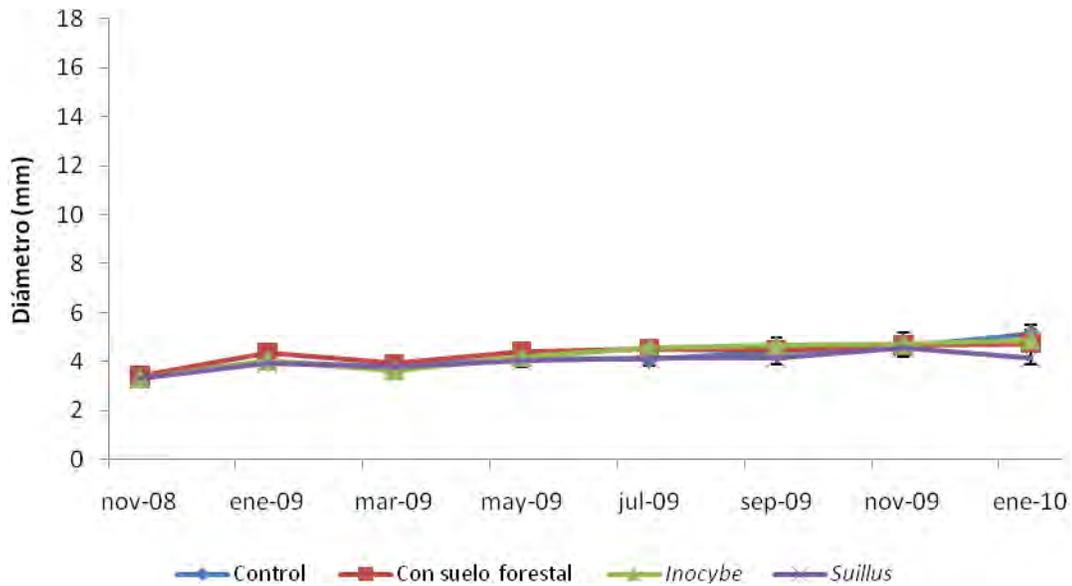


Figura 25. Diámetro promedio ($\pm 1EE$) del tallo en los tratamientos de *A. religiosa*. (Control n= 46; Con suelo forestal n= 46; *Inocybe* n= 36; *Suillus* n= 46).

En diámetro y altura total no hubo diferencias significativas entre tratamientos ni a lo largo del tiempo. La altura total (Fig. 26), mostró la tendencia a un decrecimiento solo en los meses de noviembre 2009 y enero 2010, es decir, al término de las lluvias, siendo menos evidente este decrecimiento en los tratamientos control y con suelo forestal.

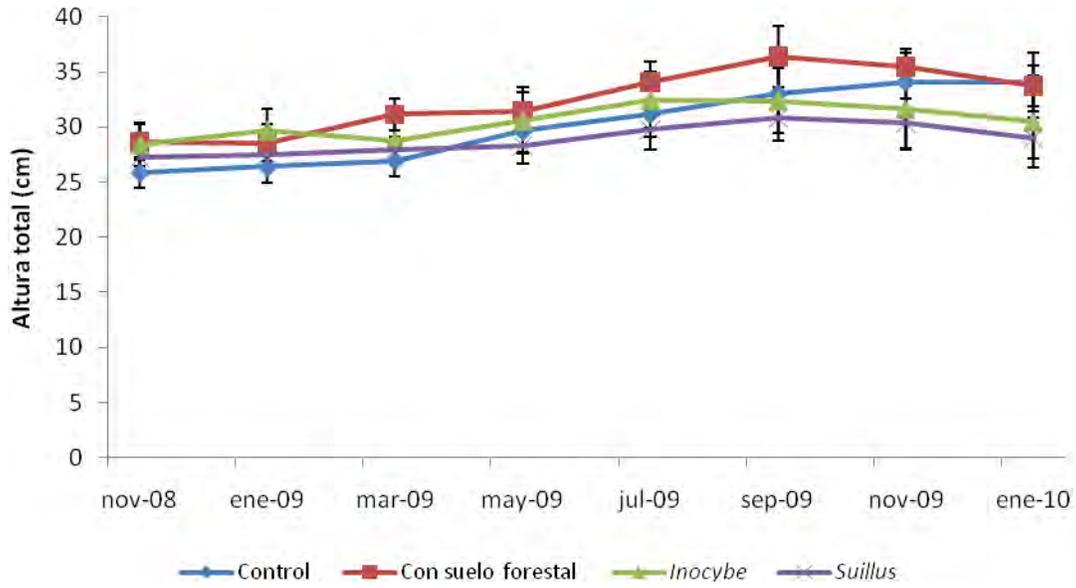


Figura 26. Altura total promedio ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *A. religiosa*. (Control n= 46; Con suelo forestal n= 46; *Inocybe* n= 36; *Suillus* n= 46).

En la TRC en altura y TRC en crecimiento no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, las TRC promedio mostraron valores negativos en los periodos de sequía e invierno (Figs. 27 y 28).

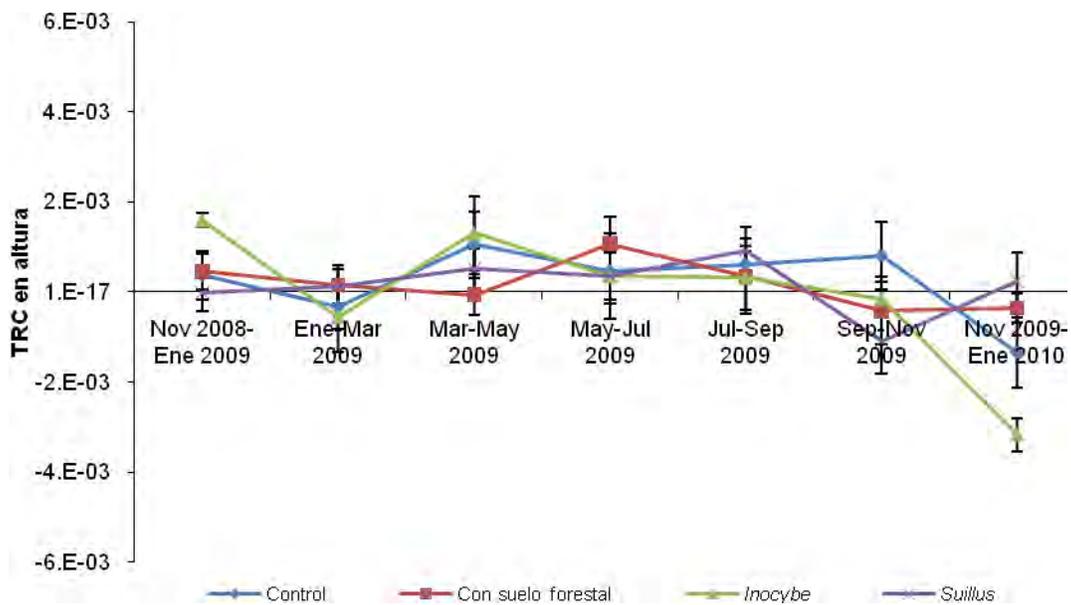


Figura 27. Tasa relativa de crecimiento en altura ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *A. religiosa*. (Control n= 46; Con suelo forestal n= 46; *Inocybe* n= 36; *Suillus* n= 46).

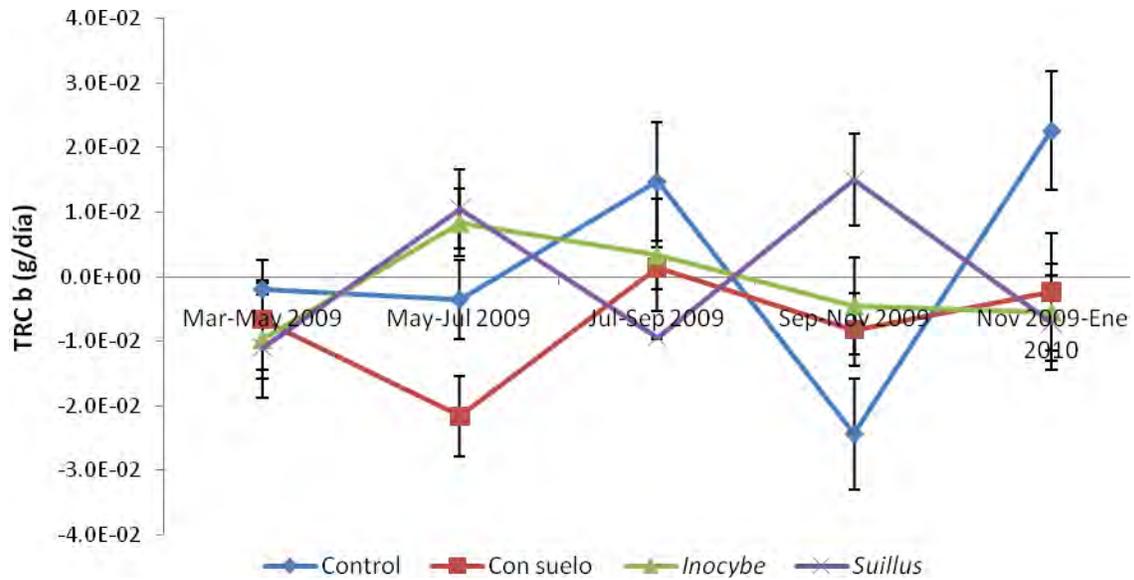


Figura 28. Tasa relativa de crecimiento en biomasa ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *A. religiosa*. (n=3).

PESO SECO

No hubo diferencias significativas en el peso seco total (Fig. 29).

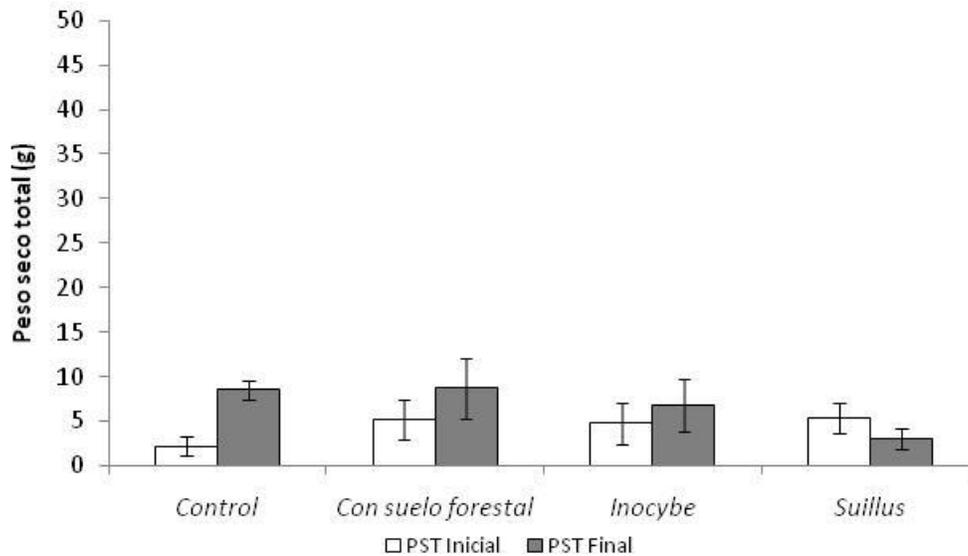


Figura 29. Peso seco total promedio ($\pm 1EE$) para los tratamientos de *A. religiosa*. (n=3).

El cociente raíz/vástago se presenta en la figura 30, en la cual se observa que en todos los tratamientos de ambos muestreos el valor es menor a 1, siendo mayor en los tratamientos inoculados (*Inocybe* y *Suillus*) tanto en el muestreo inicial como en la final. Los valores fueron mayores en todos los casos en el muestreo final. No hubo diferencias en cociente raíz/vástago de las plántulas.

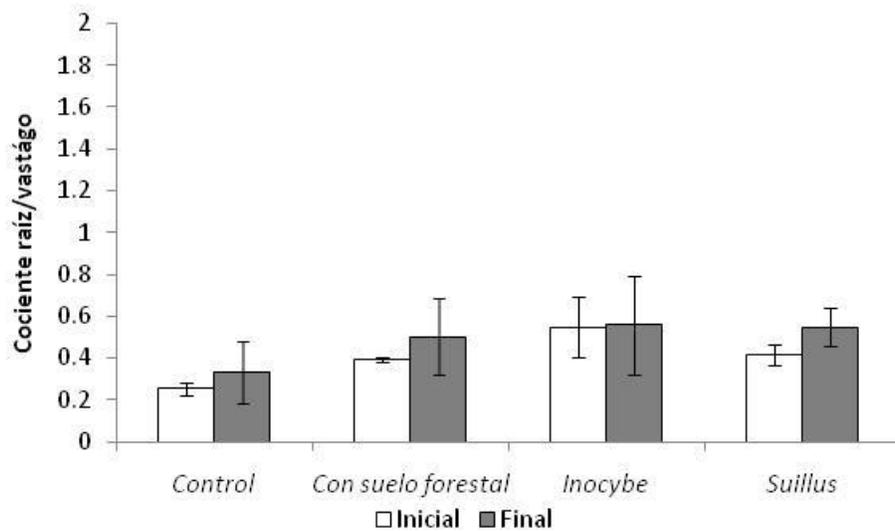


Figura 30. Cociente raíz/vástago ($\pm 1EE$) en los tratamientos de *A. religiosa*. (n=3).

4.2.3 VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

POTENCIAL OSMÓTICO

El potencial osmótico en las plántulas de *A. religiosa* se incrementó a partir del mes de mayo y hasta septiembre de 2009, debido a la temporada de lluvias, y decreció en todos los tratamientos al término de las mismas, alcanzando los mayores valores en Enero 2010 (Fig. 31).

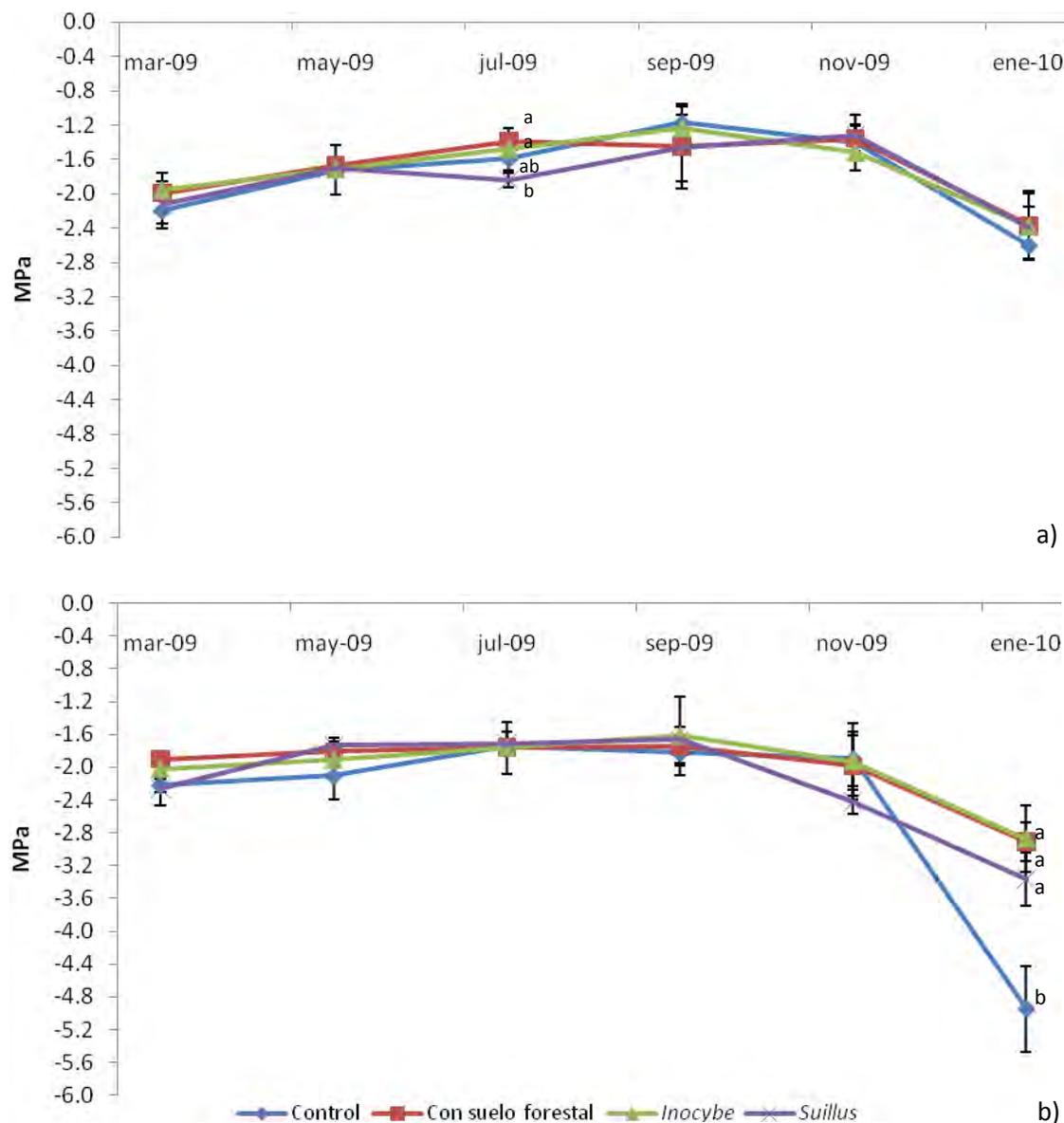


Figura 31. Potencial osmótico foliar (MPa) ($\pm 1EE$) de los tratamientos de *A. religiosa*. a) Colecta preamanecer (8:00 hrs); b) Colecta por la tarde (14:00 hrs). Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). (n=3).

El ANOVA para *A. religiosa* comparando el potencial osmótico foliar medido en la mañana mostró diferencias significativas entre tratamientos en el mes de Julio 2009 (mañana) y Enero 2010 (tarde). En Julio, la prueba de comparaciones múltiples de Tukey señaló a los tratamientos con suelo forestal e *Inocybe* un potencial osmótico mayor que el tratamiento con *Suillus*. En el mes de enero, la prueba de comparaciones múltiples de Tukey indicó un menor potencial osmótico en el tratamiento control en comparación al resto de los tratamientos.

Tabla 15. ANOVA para *Abies religiosa* comparando el Potencial Osmótico Foliar entre tratamientos (n= 12).

Variable de respuesta	Gl	F	P
Potencial Osmótico mañana Marzo 2009			
Tratamiento	3	0.53	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico mañana Mayo 2009			
Tratamiento	3	0.09	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico mañana julio 2009			
Tratamiento	3	4.44	Significativo**
Error	8		
Potencial Osmótico mañana Septiembre 2009			
Tratamiento	3	0.29	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico mañana Noviembre 2009			
Tratamiento	3	2.33	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico mañana Enero 2010			
Tratamiento	3	0.20	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Marzo 2009			
Tratamiento	3	1.69	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Mayo 2009			
Tratamiento	3	1.89	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Julio 2009			
Tratamiento	3	0.02	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Septiembre 2009			
Tratamiento	3	0.17	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Noviembre 2009			
Tratamiento	3	0.98	n. s.
Error	8		
Potencial Osmótico tarde Enero 2010			
Tratamiento	3	7.89	Significativo**
Error	8		

Nivel de significancia n. s.= $p > 0.05$, Significativo **= $p < 0.05$

RESISTENCIA ESTOMÁTICA

En el caso de *Abies religiosa*, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, el ANOVA solo marca una diferencia significativa entre secas y lluvias ($F_1 = 173.87$, $p < 0.95$).

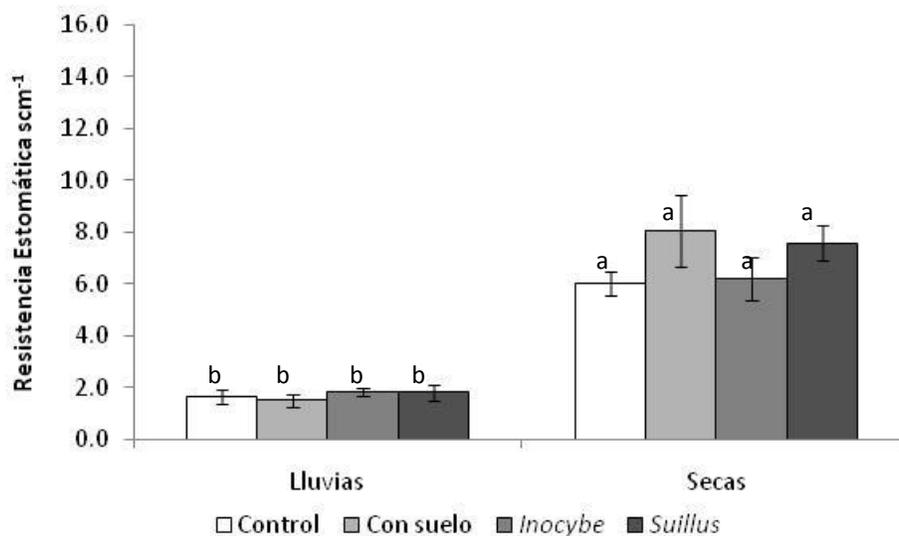


Figura 32. Resistencia estomática ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*, en época de secas (Enero 2010) y lluvias (Septiembre 2009). Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). ($n=3$).

INTERCAMBIO GASEOSO

En el caso de *A. religiosa*, la mayor absorción de CO_2 , tanto en época de secas como en lluvias la presentaron los tratamientos control y con suelo forestal (Fig. 33).

El ANOVA para *A. religiosa* comparando la absorción de CO_2 mostró diferencias estadísticamente significativas en época de lluvias entre los tratamientos y entre temporadas (Tabla 16 y Fig. 34). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey, indicó que el tratamiento con suelo forestal fija más CO_2 que los tratamientos con *Inocybe* y *Suillus*, pero fija igual CO_2 que el control.

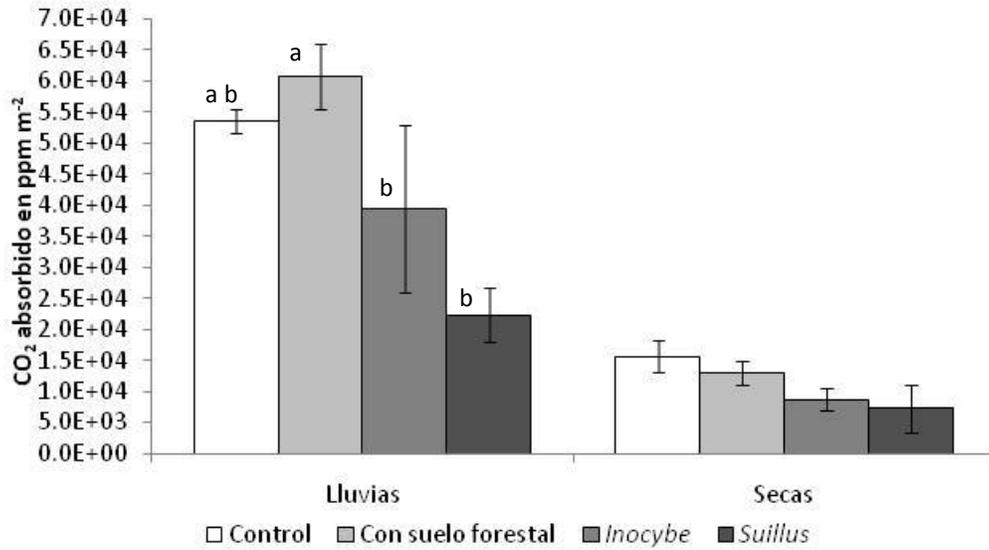


Figura 33. Partes por millón de CO₂ absorbido por m² foliar ($\pm 1EE$) en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*, en época de secas y lluvias. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). (n=3).

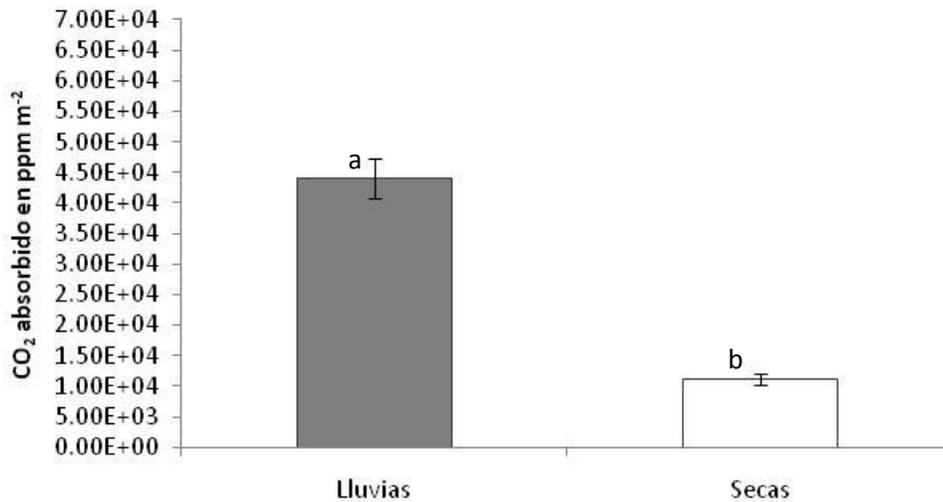


Figura 34. Promedio de partes por millón de CO₂ absorbido por m² foliar ($\pm 1EE$) en lluvias y secas de *A. religiosa*. Las letras diferentes indican diferencias significativas (Prueba de Tukey $p < 0.05$). (n=3).

Tabla 16. ANOVA para *Abies religiosa* comparando las mediciones de Resistencia estomática y de Absorción de CO₂ en secas y lluvias (n= 12 y 24).

Variable de respuesta	GI	F	P
Absorción de CO ₂ en secas			
Tratamiento	3	0.65	n. s.
Error	8		
Absorción de CO ₂ en lluvias			
Tratamiento	3	3.31	Significativo **
Error	8		
Absorción de CO ₂ en lluvias			
Temporada	1	14.79	Significativo **
Error	22		

Nivel de significancia n. s.= p> 0.05, Significativo **= p<0.05

4.2.4 MICORRIZACIÓN

PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN POR HEM

La micorrización no mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Fig. 35).

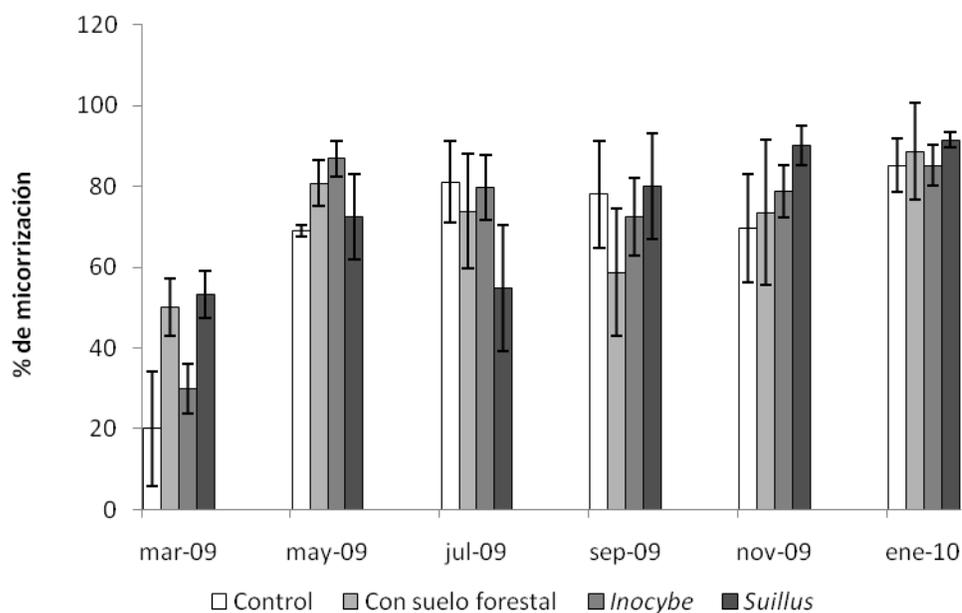


Figura 35. Porcentajes de micorrización (±1EE) en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. (n=3).

CARACTERIZACIÓN DE MICORRIZAS

En las raíces de *A. religiosa* solo se encontraron ectomicorrizas contaminantes, es decir de colonización espontánea y no tenían micorrizas de *I. splendens* y *S. brevipes*.

Tabla 17. Caracterización de las micorrizas contaminantes en las plántulas de *A. religiosa*.

	Morfotipo III	Morfotipo IV
Tipo de ramificación	No ramificado a dicotómica	Monopoidal pinada
Forma de las terminaciones	Torcidas	Rectas
Color de las puntas no ramificadas	Negro	Gris azulado
Textura de la superficie del manto	Lisa a fibrosa con brillo	Lisa con brillo
Rizomorfos	Ausentes	Ausentes
Posible identificación (Agerer 1987-1991)	<i>Cenococcum geophilum</i>	

Todos los tratamientos de *Abies religiosa* presentaron micorrizas parecidas a los que forman con *C. geophilum* (Fig. 36a), y el morfotipo IV (Fig. 36b) lo presentó el tratamiento con suelo forestal.

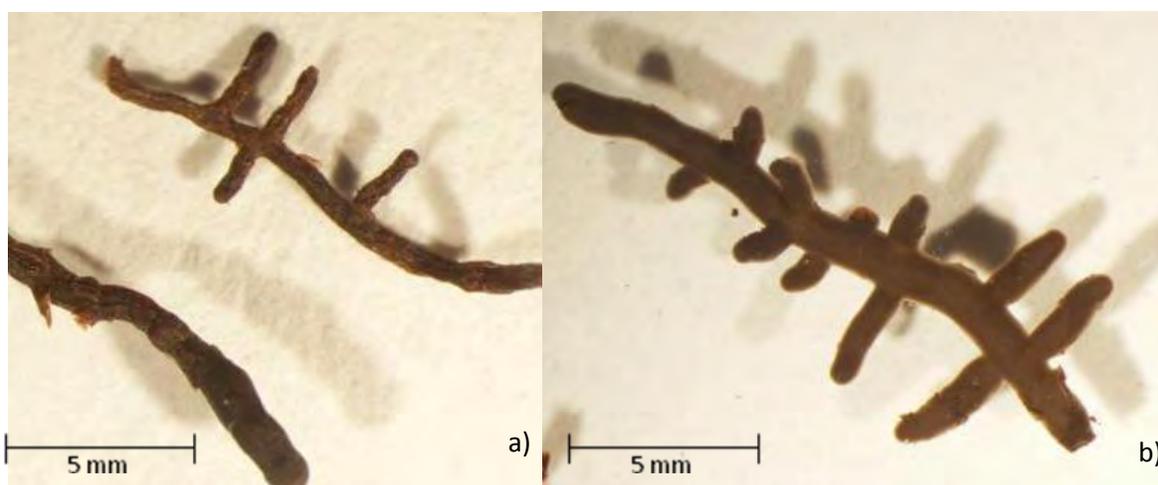


Figura 36. Ectomicorrizas contaminantes en *A. religiosa*, identificada como a) *C. geophilum*. El b) no se identificó y se nombra como morfotipo IV

4.2.5 MODELACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISILÓGICAS

El volumen de agua en los poros en el suelo en las parcelas de *A. religiosa* se relacionó con el potencial osmótico de la mañana (Fig. 37).

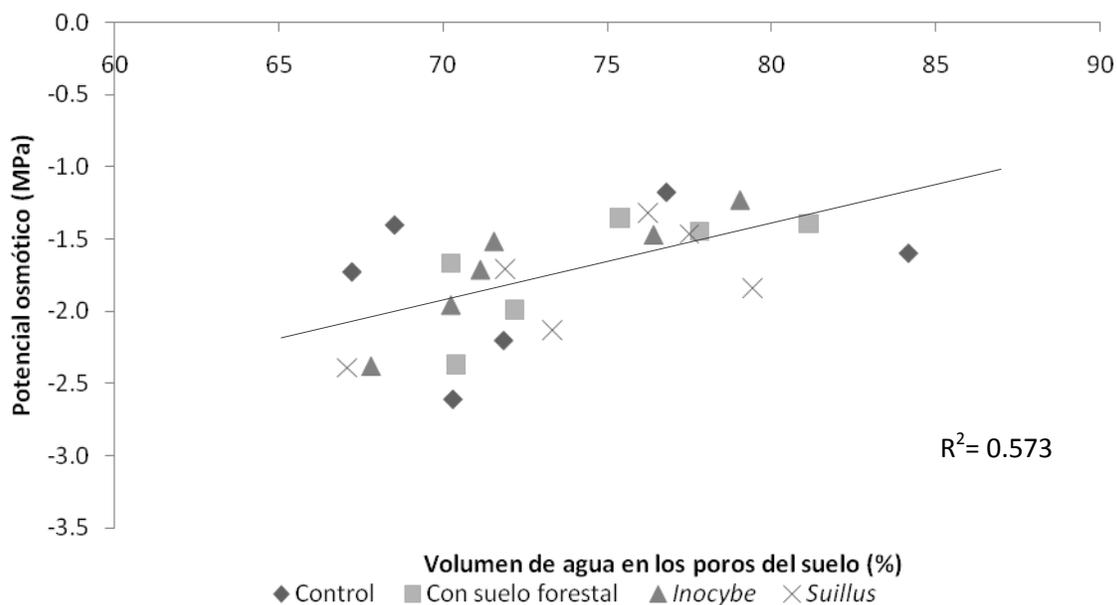


Figura 37. Regresión lineal entre el volumen de agua en los poros en el suelo y el potencial osmótico en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. R^2 - Coeficiente de correlación r cuadrada.

A su vez, el potencial osmótico foliar de las plántulas de *A. religiosa* se relacionó fuertemente tanto con la resistencia estomática (Fig. 38), como con el CO_2 absorbido por las plántulas (Fig. 39).

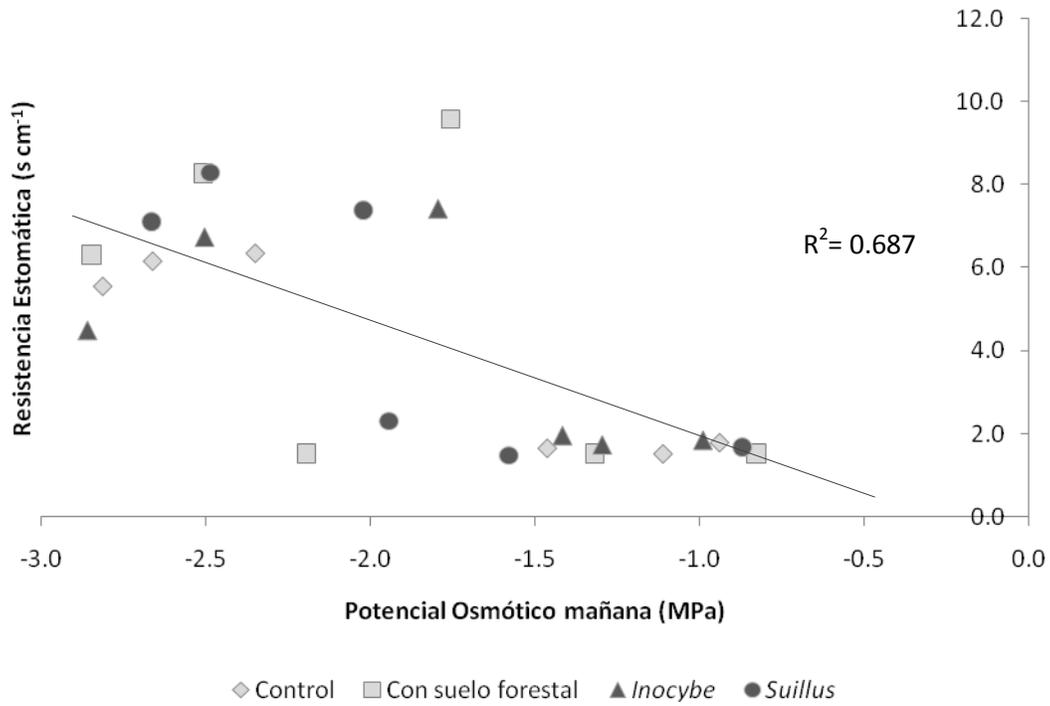


Figura 38. Regresión lineal entre el potencial osmótico y la resistencia estomática en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. R^2 - Coeficiente de correlación r cuadrada.

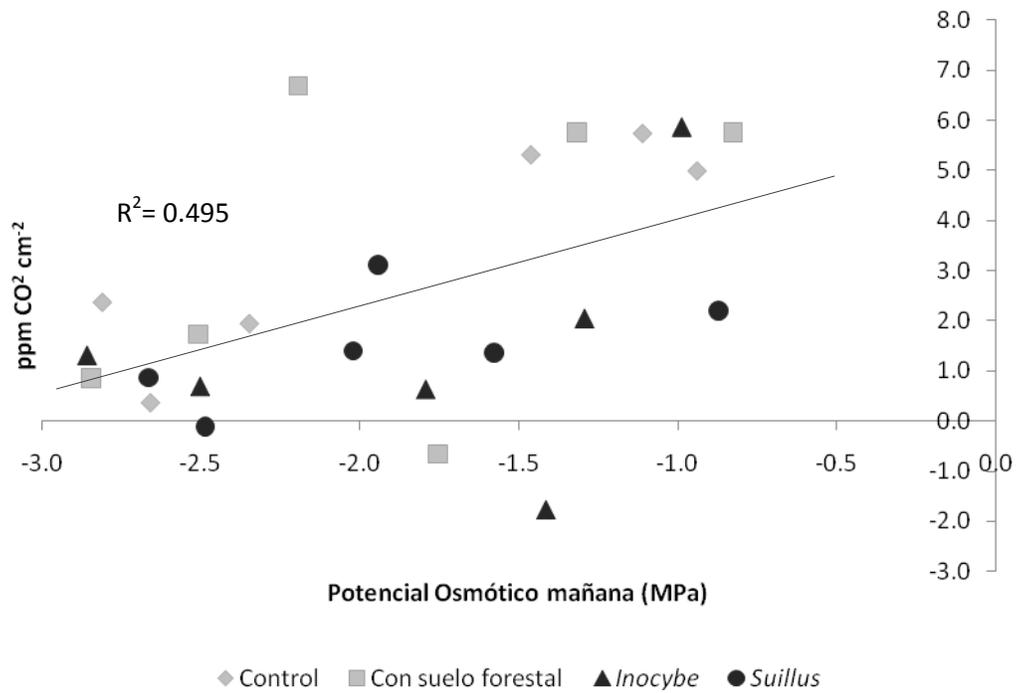


Figura 39. Regresión lineal entre el potencial osmótico y la absorción de CO_2 en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. R^2 - Coeficiente de correlación r cuadrada.

La resistencia estomática de las plántulas de *A. religiosa* mostró una relación con el CO₂ absorbido por las mismas (Fig. 40); asimismo, el porcentaje de micorrización estuvo relacionado con la resistencia estomática de las plántulas (Fig. 41) con un nivel de significancia del 90%.

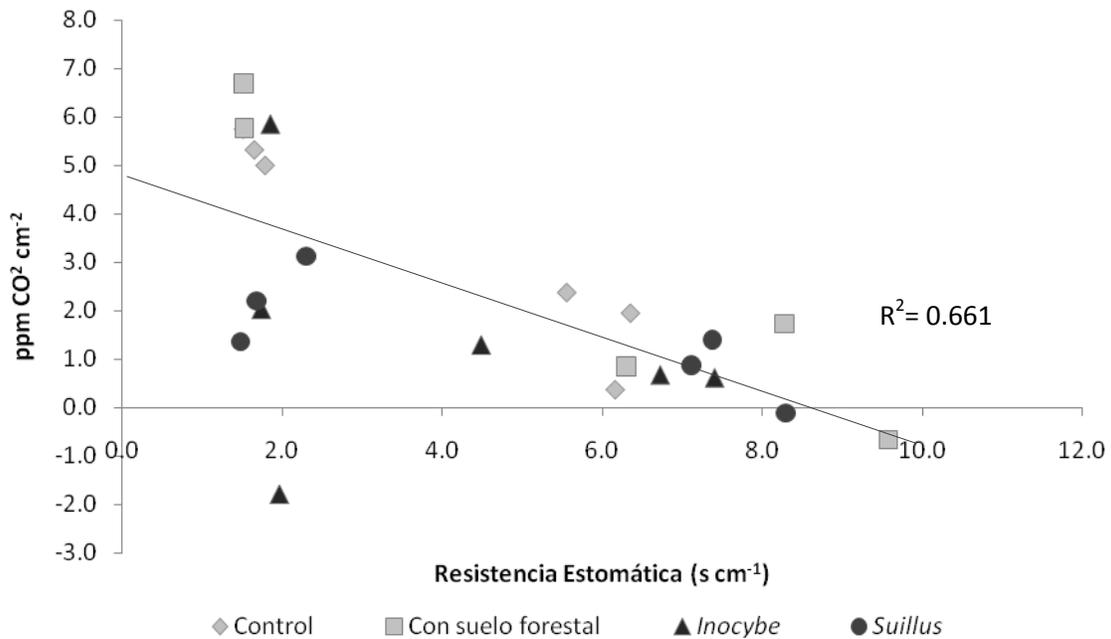


Figura 40. Regresión lineal entre la resistencia estomática y la absorción de CO₂ en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. R²- Coeficiente de correlación r cuadrada.

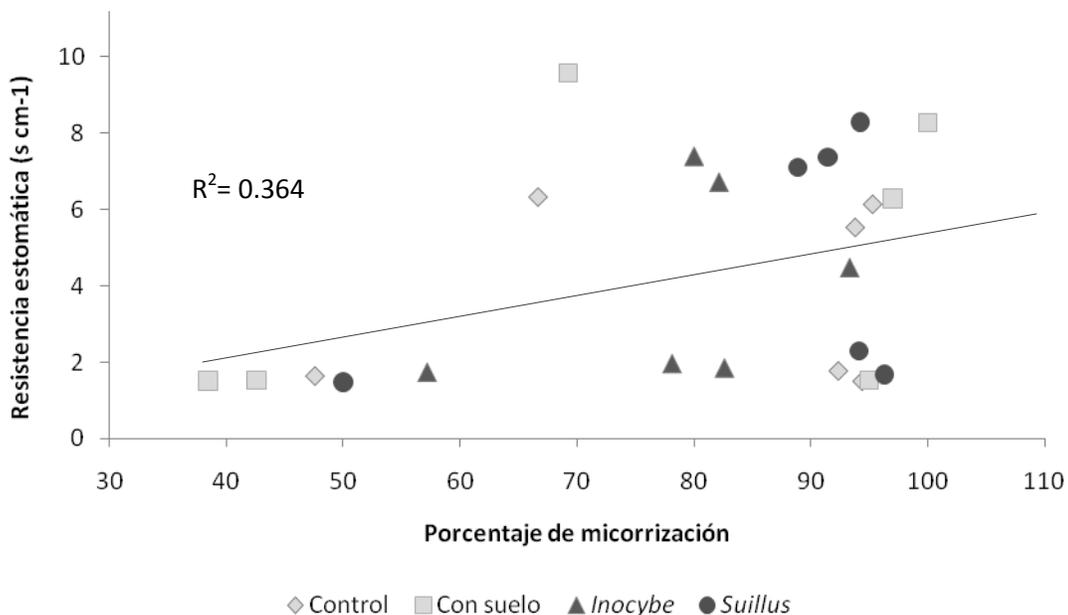


Figura 41. Regresión lineal entre el porcentaje de micorrización y la resistencia estomática en los diferentes tratamientos de *A. religiosa*. R²- Coeficiente de correlación r cuadrada.

En la tabla 18 se observan los análisis de regresión en las plántulas de *A. religiosa*.

Tabla 18. Análisis de regresión para *Abies religiosa*.

VARIABLES DE RESPUESTA	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	R CUADRADA	SIGNIFICANCIA
Volumen de agua en los poros en el suelo- Potencial Osmótico	0.572	0.573	***
Resistencia Estomática- Potencial Osmótico	-0.6870	0.687	***
Absorción de CO ₂ - Potencial Osmótico	0.4947	0.495	**
Resistencia Estomática- Absorción de CO ₂	-0.6615	0.661	***
Porcentaje de micorrización- Resistencia Estomática	0.3636	0.364	*
Porcentaje de micorrización- Potencial Osmótico	-0.1058	0.105	n. s.
Porcentaje de micorrización- Absorción de CO ₂	-0.2954	0.295	n. s.

R cuadrada- Coeficiente de correlación r cuadrada

Nivel de significancia n. s.= p>0.01, Significativo ***= p< 0.01, **= p<0.05, *= p< 0.1

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN

5.1 *Pinus hartwegii*

5.1.1 ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

Al no existir diferencias significativas entre los tratamientos en el volumen de agua en los poros de las muestras colectadas en la parcela, podrían atribuirse las diferencias observadas en el estado hídrico de las plantas en esta investigación al efecto de los HEM, por ser uno de los factores que le permitirían responder a la plántula y no a las posibles diferencias en el agua del suelo.

5.1.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en la supervivencia de *P. hartwegii*, por ello la hipótesis de que las plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con HEM presentaran diferencias positivas significativas con respecto a las inicialmente no micorrizógenadas en supervivencia no se apoya. Sin embargo, se observó que el tratamiento *Inocybe* mostró una mayor supervivencia que los otros tratamientos. Otros estudios, en plántulas de *Pinus* de 3 y 4 años han reportado que las diferencias entre tratamientos en el caso de plántulas inoculadas en cuanto a la supervivencia no se hacen evidentes, pero reportaron beneficio con variables de crecimiento (Parladé, 1999; Tammi *et al.*, 2001; Estaún, 2004; Rincón *et al.*, 2006). Algunos estudios señalan supervivencia de especies de pinos inoculados con micorrizas, de hasta el 97% de los individuos (Rincón *et al.*, 2006), muy alta en comparación con el 80% de supervivencia en promedio reportada en el presente.

No se encontraron diferencias significativas en el diámetro del tallo. Al igual que en un estudio previo de (Sandoval, 2010), se observó que el diámetro a la base del tallo disminuyó en la época de secas y aumentó en época de lluvias. Esta deformación (*strain*) sufrida por las plantas es una compresión resultante del estrés, al que se encontraron sometidas las plántulas (Valladares, 2004).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las plántulas de *P. hartwegii* en cuanto al crecimiento en altura total, altura al meristemo ni en TRC en altura. El promedio de altura de las plántulas (23 cm) coincide con el crecimiento de las plántulas

inoculadas con micorrizas de *Pinus* de la misma edad de otros estudios mencionados en la tabla 1 (Parladé, 1999; Menkis *et al.*, 2007).

La TRC en biomasa en *P. hartwegii* no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, podemos señalar que fue baja lo cual era de esperarse, pues estas plantas tienen inherentemente bajas tasas de crecimiento, incluso en condiciones favorables. Sin embargo, se observó un decrecimiento de las plántulas en los meses de sequía, posiblemente debido al estrés en esta época y un aumento en la tasa de crecimiento en la época de lluvias. Esta disminución en la altura total de las plántulas se puede explicar por la pérdida de acículas de las plántulas por el estrés hídrico al que se encontraron sometidas (Villar *et al.*, 2004). Este mismo fenómeno lo reportó Sandoval (2010), explicando el decrecimiento de las plántulas por la disminución de varios procesos fisiológicos, como resultado del cierre de los estomas, ocasionando que las células de los tejidos de conducción colapsen.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el incremento de biomasa final entre los tratamientos en *P. hartwegii*. En el caso de Sandoval (2010), observó que la mayor asignación de biomasa la presentó el tratamiento con *Suillus*, mientras que en este estudio la mayor asignación final, aunque no significativa, la presentó el tratamiento con suelo forestal.

Determinamos el cociente raíz/vástago las plántulas de *P. hartwegii*, el cual no mostró diferencias significativas entre tratamientos ni en el tiempo. En las mediciones finales el cociente raíz/vástago siempre fue mayor a 1, lo cual se puede explicar debido a que las plántulas necesitan sobrellevar el estrés hídrico designando mayor cantidad de biomasa radical para la exploración del suelo en busca de agua y contar con una mayor superficie de absorción (Villar *et al.*, 2004). Los valores encontrados en este estudio son bajos en comparación con los presentados por *Pinus sylvestris* (Tammi *et al.* 2001), que presentó un cociente de 1.95 para plántulas micorrizadas y 3.1 para plántulas no micorrizadas.

Al no haber encontrado diferencias significativas en las variables de crecimiento examinadas se rechaza la hipótesis de que las plántulas inoculadas con HEM presentan un mayor crecimiento con respecto a las inicialmente no inoculadas.

Lo anterior, puede explicarse por a la inoculación espontánea en campo las raíces de las plántulas sin inocular inicialmente, y esta inoculación llevó a la disminución en el rango de las diferencias entre los tratamientos iniciales, debido a la uniformización de las plántulas, como ya se ha reportando (Estaún, 2004; Menkis *et al.*, 2007).

5.1.3 VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

El análisis de varianza del potencial osmótico mostró diferencias significativas en el mes de mayo en la colecta realizada por la tarde, en los tratamientos con suelo forestal y con *Inocybe* con un potencial mayor que el tratamiento control. De igual forma, en el mes de noviembre de 2009 (por la tarde) el tratamiento con *Inocybe* presentó un potencial significativamente mayor que el tratamiento con *Suillus*. Esto significa que en un mayor estrés hídrico, existió una ventaja de mayor absorción de agua posiblemente por una superficie de absorción mayor en las plántulas inoculadas con *Inocybe*, frente a las plántulas con otros tratamientos, debido a que el potencial osmótico es un indicador del estado hídrico de la plántula, entre menos negativo sea éste, mayor disponibilidad de agua poseerán las plántulas para realizar sus actividades fisiológicas (Kozłowski y Pallardy, 1997; Lambers *et al.*, 1998). La ausencia de diferencias significativas en los demás muestreos se puede explicar debido a que las plántulas activaron los mecanismos para mantener el estatus hídrico de una manera más efectiva.

Con estos resultados podemos aceptar la hipótesis de que las plántulas inoculadas con *Inocybe splendens* como tratamiento inicial tienen un mejor estado hídrico, es decir un potencial osmótico mayor, con respecto a las no micorrizadas inicialmente.

En las colectas tanto por la mañana como por la tarde sin importar el tratamiento, se observó el mismo patrón de aumentar el potencial osmótico en la época de lluvias, por la mayor cantidad de agua disponible para las plántulas, y disminuir en la época de secas, evidenciando un estrés hídrico en las plántulas de *P. hartwegii*, desencadenando estrategias para evitar dicho estrés, como el maximizar la absorción de agua.

En el caso de plántulas *Pinus engelmannii* en vivero sometidas a estrés hídrico su potencial varió de -1.96 a -2.29 MPa, mientras que los del tratamiento sin estrés variaron entre -0.13 y -0.20 MPa (Domínguez *et al.*, 2004). En nuestro estudio, los valores fluctuaron en la

época de lluvias en las mediciones de la mañana entre los -0.97 y los -1.35 MPa y por la tarde entre los -1.4 y los -1.68 MPa, mientras que en la época de secas en las mediciones de la mañana estuvieron entre los -2.53 y los -2.92 MPa y por la tarde entre los -2.6 y los -3.26 MPa, lo anterior indica que no existió estrés severo en la época de lluvias, aún por la tarde, mientras que en época de secas las plántulas se encontraron sometidas a estrés hídrico en ambos horarios.

Las diferencias de resistencia estomática entre secas y lluvias fueron evidentes, pues entre mayor fue el estrés hídrico, mayor fue la resistencia estomática, ya que más estomas estaban cerrados. Por ello se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el factor temporada de la resistencia estomática, en las plántulas de *P. hartwegii*, en época de lluvias el promedio de los tratamientos es de 1.72 scm^{-1} y en época de secas de 10 scm^{-1} . En este sentido, se rechaza la hipótesis de que las plántulas con HEM tendrán una menor resistencia estomática, en comparación con las no micorrizadas.

Las mediciones de absorción de CO_2 no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ni entre temporadas. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que las plántulas inoculadas presentan una mayor absorción de CO_2 con respecto a las no micorrizadas. Además, no existió una mejora de estado fisiológico de las plántulas, estadísticamente significativa, en la asociación *P. hartwegii*-*Suillus brevipes*, por lo que también se rechaza esta hipótesis.

5.1.4 MICORRIZACIÓN

El porcentaje de micorrización en plántulas de *P. hartwegii* varió en el tiempo, mostrando la tendencia de una menor colonización en la época de secas. La sequía posiblemente impactó negativamente el crecimiento del micelio, tal vez debido a dos componentes: efectos directos por la desecación del suelo contiguo a las hifas, e indirectamente a través de cambios en la producción y distribución de carbono de la planta huésped a los hongos micorrizógenos (Querejeta et al., 2007). En la época de lluvias se incrementó la colonización probablemente por la mejoría en las condiciones tanto para el crecimiento del micelio como para el de la plántula, misma que posiblemente se encontró más receptiva a la colonización (Galindo, 2010). En el mes de noviembre, presencia de micorrizas fue significativamente mayor en las plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con *Suillus* y fue

menor en el control. Los porcentajes encontrados fueron parecidos a los reportados por Galindo (en preparación), quien en la asociación *Pinus hartwegii*-*Suillus brevipes* en suelo forestal encontró un porcentaje de colonización de 72.4% a los 12 meses de la inoculación. En el estudio de Sandoval (2010) las colectas tanto iniciales (Noviembre 2007) como finales (Noviembre 2008) encontró evidencia de micorrización correspondiente con el inóculo aplicado en los tratamientos *Inocybe* y *Suillus*, al igual que en este estudio. En el caso de los tratamientos control y con suelo forestal, Sandoval (2010) indica una micorrización significativamente menor en su muestreo final en comparación con los tratamientos inoculados previamente. En nuestro caso, con excepción del mes de noviembre 2009, la micorrización de los tratamientos sin inocular es igual a las inoculadas previamente, lo cual evidencia una mayor compatibilidad de las micorrizas nativas, por la fuerte competencia y mayor adaptación al hábitat. Los hongos contaminantes nativos que se encontraron corresponden a la familia Russulaceae y *C. geophilum*. La colonización en campo de las plántulas de *P. hartwegii* indica un alto potencial de inóculo. La proximidad de las plantaciones de vegetación original podría haber facilitado la dispersión de los propágulos de hongos, como lo han reportado con anterioridad Rincón *et al.* (2006).

5.1.5 MODELACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

Las regresiones lineales que mostraron relación estadísticamente significativa, con un nivel de confianza del 95% o superior, fueron el volumen de agua en los poros del suelo con el potencial osmótico foliar, es decir que a mayor volumen de agua se presentó un potencial osmótico mayor. Así mismo el potencial osmótico estuvo relacionado con la resistencia estomática, a un potencial mayor, menor resistencia estomática, es decir que las plántulas tuvieron un estado hídrico menos estresante en la época de lluvias (Valladares, 2004; Taiz y Zeiger; 2006). La resistencia estomática se relacionó con la absorción de CO₂, pues la apertura estomática se correspondió directamente con la capacidad de intercambio gaseoso, y por lo tanto con la actividad fotosintética de la plántula. Si más estomas están cerrados, menor es el intercambio gaseoso, y menor es la actividad fotosintética, lo que podría reflejarse en un menor crecimiento de las plántulas (Villar *et al.*, 2004). No estuvieron relacionadas la resistencia estomática y la absorción de CO₂ con el volumen de agua en los poros ni el porcentaje de micorrización con las variables ecofisiológicas.

Así, en condiciones promedio de temperatura de 14.8 °C y 4.9 gH₂O m³ de contenido de agua en la atmósfera, de las tardes de mayo y noviembre, correspondientes a la época de secas, las plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con *S. brevipes* y del tratamiento control mostraron un potencial osmótico significativamente menor, en comparación con los otros tratamientos, por lo que no los podríamos considerar como los mejores tratamientos.

El mejor estado hídrico de las plántulas de *P. hartwegii* con *I. splendens* y las tendencias de mejor desempeño fisiológico, mayor crecimiento y supervivencia, nos lleva a considerar este como el mejor tratamiento (Fig. 42).

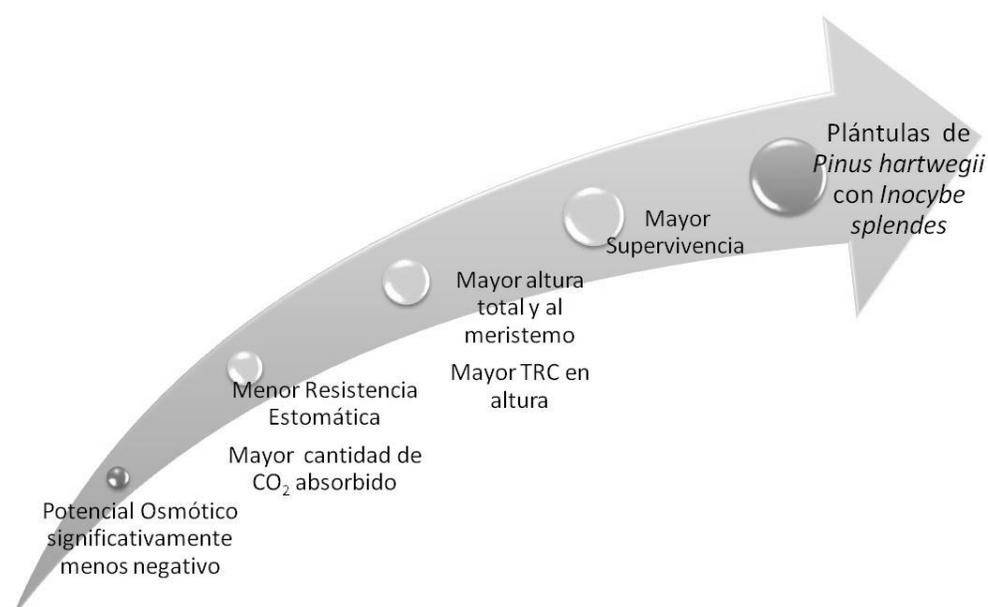


Figura 42. Patrones observados en las plántulas de *P. hartwegii* inoculadas con *I. splendens*.
Círculos más oscuros representan significancia estadística de la variable.

5.2 *Abies religiosa*

5.2.1 ESTADO HÍDRICO DEL SUELO

Al no existir diferencias entre el volumen de agua en los poros de la parcela, en los diferentes tratamientos, las diferencias observadas en el estado hídrico de las plantas como en el caso de *P. hartwegii* se debieron también al efecto de los HEM, por ser uno de los factores que le permitirían responder a la plántula y no a la disponibilidad de agua en el suelo.

5.2.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO

Existieron diferencias significativas en la supervivencia de las plántulas de *A. religiosa*, según el análisis de Peto y Peto (Noviembre 2008 a Enero 2010), presentaron una mayor supervivencia con suelo forestal (65%), en comparación con *Inocybe* (40%), al contrario de Menkis *et al.* (2007), que reportaron un incremento de la supervivencia de las plántulas de *Pinus* inoculadas con ectomicorrizas, de hasta un 13% en comparación con el control. Con lo anterior se rechaza la hipótesis de que las plántulas inoculadas con HEM como tratamiento inicial tendrían una diferencia positiva con respecto a las no inoculadas. Esto se puede explicar debido a que los hongos contaminantes fueron más efectivos en brindarles una ventaja a las plántulas en la supervivencia, en comparación con los inoculados como parte del experimento, los cuales tuvieron un efecto negativo en la supervivencia de las plántulas. Meza (2010) documenta que en el bosque de la CRM hay especies de HEM que corresponden a diferentes estados sucesionales, lo cual podría explicar el cambio de especies de HEM colonizantes de *A. religiosa*.

En cuanto al crecimiento en altura y diámetro a la base del tallo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, mostrando todos los tratamientos el patrón de crecer más en época de lluvias.

La TRC en altura confirma que el mayor crecimiento se presentó en la época de lluvias, mientras que en la época de secas se presentó un decrecimiento en las plántulas. Este decrecimiento se explica de igual forma, como en el caso de *Pinus*, por la deformación que pueden llegar a presentar las plantas cuando se encuentran bajo condiciones limitantes que provocan estrés (Valladares, 2004). Para la TRC en biomasa no se observaron diferencias

significativas pero tampoco se observó una tendencia muy clara de los valores a lo largo del tiempo esto puede explicarse por la pérdida de acículas pues son aún más susceptibles a la caída que las plántulas de *Pinus*.

El peso seco total y cociente raíz/vástago de las plántulas de *A. religiosa* no presentó diferencias estadísticamente significativas. La asignación de recursos es mayor en la parte aérea en todos los tratamientos en ambos muestreos, con la consecuente mayor capacidad para captar luz y absorber dióxido de carbono. Estos valores estuvieron en los rangos reportados por Thompson (1985), quien indica que generalmente la fitomasa de la parte aérea es mayor al de la raíz. La importancia de que exista un equilibrio en este índice radica, en que define el balance entre la parte evapotranspirativa y la parte absorbente de la humedad (Villar *et al.*, 2004). La mayor asignación a la parte subterránea se presentó en el muestreo final, siendo también mayores a los reportados por Sandoval (2010), lo cual significaría que conforme las plántulas crecen el factor agua se va volviendo más limitante y es necesario asignar una mayor cantidad de recursos a la biomasa radical para la exploración del espacio subterráneo en busca de agua (Villar *et al.*, 2004).

Al no encontrarse diferencias significativas en el crecimiento de las plántulas no podemos aceptar la hipótesis de que las plántulas inoculadas con HEM como tratamiento inicial presentan un mayor crecimiento con respecto a las no inoculadas.

5.2.3 VARIABLES ECOFISIOLÓGICAS

El potencial osmótico medido por la mañana mostró diferencias significativas entre tratamientos en el mes de julio, en el cual las plántulas inoculadas con *Suillus* presentaron un potencial osmótico menor que los demás tratamientos. En el caso de las colectas realizadas por la tarde en el mes de enero, el tratamiento control presentó un potencial osmótico menor con respecto a los otros tratamientos. Esto indicaría que las plántulas con los tratamientos con suelo forestal y con *Inocybe* presentaron un estado hídrico más favorable. La ausencia de diferencias significativas en los demás muestreos se puede explicar debido a que las plántulas activaron los mecanismos para mantener el estatus hídrico de una manera más efectiva.

La resistencia estomática también es un indicador del estado hídrico de las plántulas, y es evidente la diferencia de las mediciones realizadas en época de secas y en lluvias, ya que el promedio de los tratamientos en *A. religiosa* en época de lluvias fue de 1.71 s cm^{-1} y en época de secas de 7 s cm^{-1} . Sin embargo, al no existir diferencias significativas entre tratamientos no se puede aceptar la hipótesis de que las plántulas con HEM tendrán una menor resistencia estomática, en comparación con las no micorrizadas.

Se presentó una mayor absorción de CO_2 en época de lluvias que en época de secas, siguiendo el mismo patrón que la resistencia estomática. En época de lluvias se encontraron diferencias estadísticamente significativas, mostrando una mayor absorción en el tratamiento con suelo forestal, y una menor en el tratamiento con *Suillus*. Es decir que los hongos inoculados tuvieron un efecto negativo en la absorción de CO_2 . Con esto se rechaza la hipótesis de que las plántulas con HEM presentarían una mayor actividad fotosintética que las no micorrizadas.

La hipótesis de que las plántulas de *Abies religiosa* inoculadas con *Inocybe splendens* presentarán un mejor estado fisiológico, que las plántulas de los demás tratamientos, se rechaza.

5.2.4 MICORRIZACIÓN

En el porcentaje de micorrización en los tratamientos de *A. religiosa* no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, se observó el mismo patrón que en *Pinus* a incrementar la colonización en los muestreos finales, a pesar de ser la época de sequía, y que ésta tiene un impacto negativo en el micelio del hongo. El aumento en la colonización corresponde con un incremento de la biomasa radical que se observó en la colecta final, al igual que lo reportan Donoso *et al.* (2008), pues al asignar una mayor cantidad de recursos a la parte subterránea, se asignan tanto a la formación de órganos de absorción como a los hongos asociados (Rincón *et al.*, 2006). Otros autores han reportado un incremento de la comunidad de HEM en los sitios recién restaurados de manera sustancial a lo largo del tiempo, lo cual se refleja en un mayor porcentaje de colonización (Menkis *et al.*, 2007).

En el estudio de Sandoval (2010) las colectas tanto iniciales (Noviembre 2007) como finales (Noviembre 2008) encontró micorrización correspondiente con el inóculo aplicado,

por lo que damos por hecho que la inoculación fue exitosa, y que la asociación se mantuvo al menos por un año para luego ser reemplazadas por micorrizas nativas. En el caso de los tratamientos control y con suelo forestal, Sandoval (2010) indica nula colonización al momento de trasplante a campo y una micorrización significativamente menor en la colecta final en comparación con los tratamientos inoculados previamente. En nuestro caso, la micorrización de los tratamientos sin inocular igual a las inoculadas previamente, lo cual evidencia una mayor compatibilidad de las micorrizas nativas, por la fuerte competencia y mayor adaptación al hábitat, además de resaltar la ineffectividad del inóculo inducido.

En el caso de las plántulas de *A. religiosa* de tres años de edad, la ausencia de las micorrizas inoculadas como tratamiento inicial, y de las cuales se encontró micorrización a un año de introducidas (Sandoval 2010) podría deberse a diversos factores: a) una mayor compatibilidad de la asociación de hongos nativos y plántulas, debido a la mejor adaptación de éstos, resultando en un desplazamiento de los hongos inoculados por competencia b) baja complementariedad funcional de los hongos inoculados c) y a un recambio sucesional de los grupos de hongos (Meza, 2010). Por lo que la micorrización artificial de las plántulas podría ser más útil en la forestación de sitios marginales, en los que existan condiciones iniciales más extremas y la asociación sea necesaria para el establecimiento de las plántulas.

En la caracterización realizada encontramos dos morfotipos, uno presente en todos los tratamientos, identificado como *C. geophilum*, y otro sin identificar, presente en el tratamiento con suelo forestal. La colonización espontánea de las plántulas se ha reportado con anterioridad (Tammi *et al.*, 2001; Menkis *et al.*, 2007) y es indicativo de un alto potencial de inóculo por los propágulos de hongos locales y puede producir que los efectos de los tratamientos iniciales no fueran tan diferentes del control, disminuyendo de rango las diferencias de crecimiento entre los tratamientos estudiados (Estaún, 2004; Menkis *et al.*, 2007).

5.2.5 MODELACIÓN DE LAS VARIABLES ECOFISILÓGICAS

El volumen de agua en los poros del suelo mostró una correlación positiva con respecto al potencial osmótico medido por la mañana, es decir que a una mayor humedad se presentó

un potencial osmótico más bajo, lo que significó condiciones menos estresantes para las plántulas.

El potencial osmótico se relacionó negativamente con la resistencia estomática y positivamente con la absorción de CO₂, es decir que, a menor potencial osmótico, menor resistencia estomática, debido a la mayor disponibilidad de agua, lo cual se reflejó en una mayor absorción de CO₂, que se comprobó con que la resistencia estomática, al igual que en *P. hartwegii* se relacionó la absorción de CO₂, pues a una menor resistencia estomática, existieron una mayor cantidad de estomas abiertos, lo cual permitió una mayor absorción de CO₂ (Valladares, 2004).

A su vez, el porcentaje de micorrización se relacionó positivamente con la resistencia estomática, es decir que a mayor porcentaje de colonización mayor la resistencia estomática, lo que podría significar que los hongos se están comportando como parásitos para las plántulas, en lugar de mutualistas, ya que están representando una menor cantidad de agua disponible para las plántulas que se refleja en una menor apertura estomática, provocando mayor estrés hídrico. *C. geophilum* es un hongo muy común y se ha utilizado en programas de remediación de suelo por su alta tolerancia a las condiciones adversas (Gonçalves *et al.*, 2009). Por estas características se ha reportado que su uso extendido en vivero podría, en los bosques, desplazar a las especies nativas de hongos como parte del proceso sucesional (De Miguel y Sáez, 2005; Meza 2010), lo cual se confirma en este estudio, pues desplazó a las especies inoculadas, y se está comportando, en cuanto a apertura estomática, como un hongo parásito de las plántulas en lugar de establecer una asociación mutualista.

El mejor tratamiento para *A. religiosa* según las variables ecofisiológicas fue el de las plántulas sembradas en suelo forestal nativo (con suelo forestal), colonizada por *C. geophilum*, pues presentaron un potencial osmótico significativamente mayor en los meses de julio y enero (en condiciones de Temperatura de 5.4 y 18.14° C y agua en la atmósfera de 7.2 y 13.6 gH₂O m³, respectivamente), además de una mayor absorción de CO₂ en época de lluvias, en comparación a los otros tratamientos. Estas plántulas a su vez presentaron una supervivencia significativamente mayor en comparación con los otros tratamientos. Esto

significa que el potencial de inóculo del suelo forestal nativo es suficiente para un mejor establecimiento de las plántulas en comparación con las plántulas inoculadas.

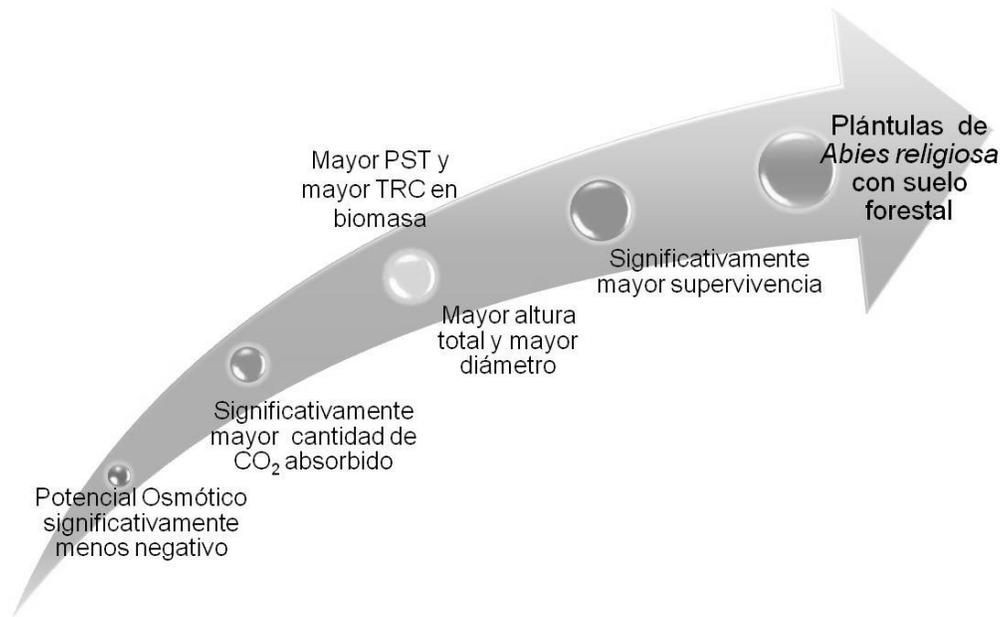


Figura 43. Patrones observados en las plántulas de *A. religiosa* con suelo forestal. Círculos más oscuros representan significancia estadística de la variable.

5.3 RESTAURACIÓN DE LOS BOSQUES

El objetivo de la restauración de la Cuenca del Río Magdalena es el restablecimiento de la cobertura vegetal de una zona alterada a través de la introducción y seguimiento de las especies, analizando algunos de los factores limitantes del establecimiento a lo largo del tiempo. Para alcanzar este objetivo se ha realizado el diagnóstico de los elementos estructurales y funcionales de la Cuenca para poder proponer un manejo en la misma (Macroproyecto, 2010).

El factor más limitante en el establecimiento de las plántulas *A. religiosa* es el estrés hídrico pues las plántulas que presentaron una mayor supervivencia tuvieron el potencial osmótico mayor, esto se observó también en la poca actividad fisiológica que realizan en la época de secas, así como en el prácticamente nulo crecimiento que presentaron en esta época. Esta limitante podría solucionarse si se restaurara con plántulas *A. religiosa* que posean una mayor biomasa radical, es decir, una mayor superficie de absorción, introduciendo plántulas de mayor edad, por lo que la asociación

con HEM podría presentar resultados más benéficos para las plántulas, como se observó al final de las mediciones. Este mejor desempeño fisiológico de las plántulas se vería reflejado en una mayor supervivencia y mayor crecimiento.

Las temperaturas bajas no se han considerado un factor limitante pues se ha reportado que el factor que más incrementa la mortalidad es que el suelo se congele con temperaturas alrededor de los $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ congelando el agua y los tejidos de la raíz llevándola a la muerte, lo cual disminuiría la supervivencia en invierno (Santibañes-Andrade, 2009), pero en el seguimiento de este estudio no se registraron temperaturas por debajo de los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Considerando el estudio de Sandoval (2010) y el presente trabajo se ha cubierto la parte de diagnóstico de la Restauración, por lo que propondríamos un programa de restauración que puede consultarse en la figura 44, que está basado en el modelo de restauración adaptable de acuerdo a Lindig-Cisneros *et al.* (2007), en nuestro caso, siguiendo un modelo sucesional. Para la recuperación de la cobertura vegetal se deben propagar tanto las plántulas, como las especies de hongos de las asociaciones micorrízicas que presentan, pues en las restauraciones debe considerarse, además de su efecto intrínseco sobre las plantas, los posibles efectos derivados sobre el suelo y el resto de la flora (Estaún, 2004), y la asociación debe promoverse desde el establecimiento de las plántulas en vivero, pues la asociación en esta etapa de la planta es crucial pues adquiere la resistencia para el trasplante a campo (Santiago-Martínez, comunicación personal). Las variables a medir son las variables de crecimiento propuestas por Hunt (1982), y las variables ecofisiológicas estudiadas en el presente trabajo, potencial osmótico foliar, resistencia estomática y absorción de CO_2 , por la incidencia de diferencias significativas entre tratamientos, además del porcentaje de micorrización de las plántulas. El monitoreo de la restauración se debe seguir realizando hasta que se haya recuperado la cobertura vegetal de la zona alterada. Esta propuesta va acorde con las propuestas de manejo que se hicieron para la cuenca de río Magdalena (Macroproyecto, 2010).

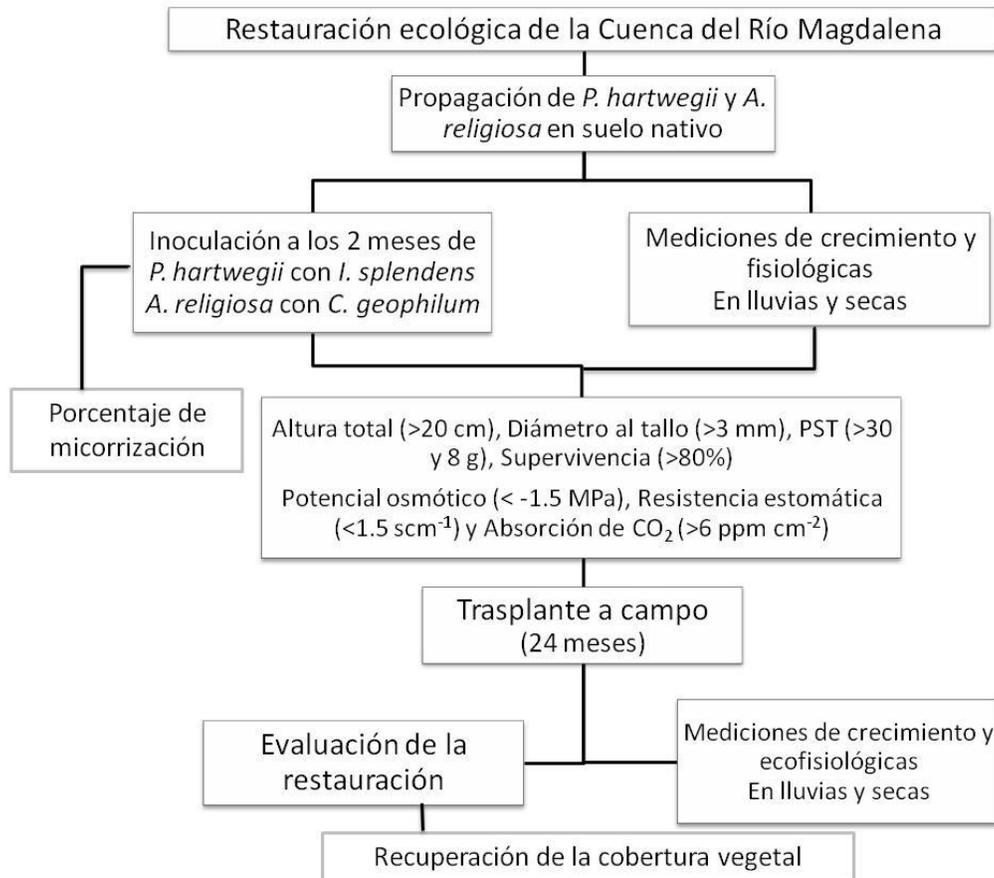


Figura. 44 Propuesta de Restauración ecológica para la Cuenca del Río Magdalena.

En el caso de *A. religiosa* no es necesaria la inoculación previa al trasplante a campo, debido al alto potencial de inóculo del sitio. Sin embargo, se deben inocular en la etapa de vivero, ya en condiciones de campo las plántulas se asociaran con los hongos nativos que van a competir con los inoculados y posiblemente sean desplazados, no sin antes conferir ventajas en la etapa previa.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN

Al analizar el efecto que tiene la ectomicorriza en la supervivencia y crecimiento en altura y biomasa de las plántulas de *Pinus hartwegii* no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. En época de secas, las plántulas de *P. hartwegii* tuvieron una disminución generalizada de la actividad fisiológica por el déficit hídrico al que se encuentran sometidas, y el tratamiento con *Inocybe* fue el que presentó los valores significativamente mayores de potencial osmótico. Las estrategias para evitar la pérdida de agua y la resistencia a las altas temperaturas de *P. hartwegii* tuvieron un alto coste fisiológico al reducir la absorción de dióxido de carbono atmosférico y con ello la fotosíntesis.

En *Abies religiosa*, las diferencias significativas en supervivencia, CO₂ absorbido y potencial osmótico, señalaron como mejor tratamiento a las plántulas que crecieron en suelo forestal en vivero. Al igual que en las plántulas de *P. hartwegii*, en *A. religiosa* existió una disminución de la actividad fisiológica de las plántulas por el déficit hídrico, y las estrategias utilizadas para evitar la pérdida de agua tienen un coste fisiológico que afectó la supervivencia, presentando tanto en el experimento de Sandoval (2010) como en este estudio, mortalidad de casi el 50%.

Por los resultados en el presente trabajo podemos recomendar para los programas de restauración en la CRM, el uso de plantas de *P. hartwegii* inoculadas con *I. splendens* y en el caso de *A. religiosa* basta con asegurar que en el sitio a restaurar exista un potencial de inóculo alto y en ambos casos, usar suelo del sitio en la propagación de las mismas, con monitoreo de las variables de crecimiento y fisiológicas por temporada, únicamente en épocas de secas y lluvias.

RELEVANCIA DEL TRABAJO

P. hartwegii y *A. religiosa* son de gran importancia ecológica por ser probablemente las especies de árboles más tolerantes al frío en México, su distribución altitudinal única y extrema las hace especies altamente vulnerables, debido al calentamiento global, ya que su hábitat exclusivo podría reducirse o incluso desaparecer por la disminución de las lluvias y el cambio en el patrón de distribución estacional de las mismas y el incremento de la evapotranspiración como consecuencia del incremento de temperatura (Valladares, 2004; Viveros-Viveros *et al.* 2009).

El establecimiento de plántulas en ambientes perturbados es uno de los procesos más limitante en la recuperación de las poblaciones (Schemske *et al.*, 1994; Hobbs y Yates, 2003), de ahí la importancia de desarrollar los conocimientos sobre la capacidad de crecimiento de las plantas leñosas durante su estadio más vulnerable, así como de las características intrínsecas que la determinan y de la influencia de las variables ambientales sobre este requisito. Se ha visto que los avances en el conocimiento del desempeño ecofisiológico de las plántulas de especies leñosas aumentan el éxito en su producción de vivero, con fines de reforestación y restauración ecológica (Peñuelas y Ocaña 2000). Además, este conocimiento permitirá predecir la susceptibilidad diferencial de especies y variedades al cambio climático. De ahí la importancia del entendimiento del efecto ecofisiológico de los HEM en las plántulas de *P. hartwegii* y *A. religiosa* en la Cuenca del Río Magdalena.

LITERATURA CITADA

- Agerer R. 1987-1991. Colour atlas of ectomycorrhizae. Munich. Einhorn-Verlag.
- Allen E., and M. Allen. 1990. The mediation of competition by mycorrhizae in successional and patchy environments. En: Grace J. B. y D. Tilman (Eds). 1990. Perspectives on plant competition. Academic Press. 367–389 pp.
- Allen E., L. Corkidi, M. Allen, A. Gómez-Pompa. 1998. Restoration and arbuscular mycorrhizae in seasonal tropical forest, México. Programme and Abstracts of the second International Conference on Mycorrhiza, ICOM. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala Sweden, July 5-10, 1998.
- Allen E., M. Allen, L. Egerton-Warburton, L. Corkidi y A. Gómez-Pompa. 2003. Impacts of early- and late- seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. Ecological Application 13: 1701-1717.
- Allen M. y M. Boosalis. 1983. Effect of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. New Phytology 93: 67-76.
- Almeida-Leñero L., M. Nava, A. Ramos, M. Espinosa, M. Ordoñez y J. Jujnovsky. 2007. Servicios ecosistémicos en la cuenca del río Magdalena, Distrito Federal, México. Gaceta ecológica, Instituto Nacional de Ecología. Número especial 84-85: 53-64.
- Alvarado I. 2008. Crecimiento y caracterización miceliar *in vitro* de tres cepas de hongos potencialmente ectomicorrizógenos de la Cuenca del Río Magdalena. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. 104 pp.
- Álvarez K. 2000. Geografía de la Educación Ambiental: Algunas propuestas de trabajo en el Bosque de los Dinamos, Área de conservación ecológica de la Delegación Magdalena Contreras. Tesis de licenciatura en Geografía. Facultad de Filosofía y Letras, UNAM. 127 pp.
- Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. 2008. Introducción. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. (Eds.) 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus aplicaciones en la restauración. Facultad de Ciencias, UNAM. III-VIII pp.
- Amaranthus M. P. 1998. The importance and conservation of ectomycorrhizal fungal diversity in forest ecosystems: lessons from Europe and the Pacific Northwest. General Technical Report PNW-GTR-431. Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 15 pp.

- Amaranthus M. P. y J. M. Trappe. 1993. Effects of erosion on ectomycorrhizal inoculum potential of soil following forest fire in Southwest Oregon. *Plant and Soil* 150: 41-49.
- ARBA. Asociación para la recuperación de bosques autóctonos. 2003. Boletín No 12.
- Arnolds I. 1991. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. *Agricultura Ecosystem and Enviroment* 35: 209-244.
- Ávila-Akenberg V. 2002. La vegetación en la cuenca del río Magdalena: un enfoque florístico, fitosociológico y estructural. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. 86 pp.
- Ávila-Akerberg V. 2004. Autenticidad de los bosques en la cuenca alta del río Magdalena. Diagnostico hacia la restauración ecológica. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM. 112 pp.
- Barbour M., J. Burk y W. Pitts. 1987. *Terrestrial Plant Ecology*. Second Edition. The Benjamin/Cummings. California, USA. 634 pp.
- Benítez G., T., Pulido-Salas y M. Equihua. 2004. Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación, restauración y plantaciones. Instituto de Ecología, A.C, SIGOLFO, CONAFOR. Xalapa, Veracruz, México. 288 pp.
- Black C. 1965. Methods of soil analysis, I. Physical and mineralogical properties including statistics of measurement and sampling. *American Society of Agronomy* 9: 552-562.
- Bowen G. 1994. The ecology of the ectomycorrhiza formation and functioning. *Plant and Soil* 159: 61-67.
- Boyd R., R. T. Furbank y D. J. Read. 1986. Ectomycorrhizae and water relation of trees. En : Gianinazzi-Pearson V., S. Gianinazzi (Eds.). *Physiological and Genetical Aspect of Mycorrhizae: Proceedings of the 1st. European Symposium on Mycorrhizae, July 1-5, 1985, Dijon, France*. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- Bradhsaw A. D. 1984. Land restoration: now and in the future. *Proc. R. Soc. Lond. B* 223, 1-23.
- Brundett M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*. 21: 171-313.

- Castellano M., R. Molina. 1989. Mycorrhizae. The Container Tree Nursery Manual. En: Landis T., R. Tinus, S. Mc Donald, J. Barnett (Eds.) The Nature and practice of biological control of plant pathogens. II Edition. U.S. Department of Agriculture, Forest Service. USA. 355-362 pp.
- Castellano M. 1994. Currents status of outplanting studies using ectomycorrhizae-inoculated forest trees. En: Pflieger F. L. and R. G. Linderman (Eds.) Mycorrhizae and planta health. The American Phytopathological Society Press 261-281 pp.
- Cerisola C., M. García y R. Filgueira. 2005. Distribución de la porosidad de un suelo franco arcilloso (alfisol) en condiciones semiáridas después de 15 años bajo siembra directa. CI. Suelo. 23 (2): 167-178.
- Coleman M., C. Bledsoe y W. Lopushinsky. 1989. Pure culture responses of ectomycorrhizal fungi to imposed water stress. Canadian Journal of Botany 67: 29-39.
- Cruz-Ulloa B. 1990. Cultivo *in vitro* y caracterización de micelios de Basidiomycetes ectomicorrizógenos. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. 138 pp.
- Cuenca G., Z. De Andrade y G. Escalante. 1998. Diversity of Glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. Soil Biology & Biochemistry 30: 711-719.
- Delgadillo, en preparación. Tesis de Maestría.
- Delgado M. 2004. Los hongos ectomicorrízicos como herramienta para la recuperación de la cubierta forestal de ecosistemas perturbados. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Instituto de Biología, UNAM. 117 p.
- De Miguel A. y Sáez R. 2005. Algunas micorrizas competidoras de plantaciones trufieras. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica, 16: 1-18.
- Deemy. Characterization and DEtermination of EctoMYcorrhizae. En línea: <http://www.deemy.de/> (Consultada el 13 de mayo de 2009).
- Dighton J. y Mason P.A. 1985. Mycorrhizal dynamics during forest tree development. En: Moore D. L.A. Casselton, D.A. Wood y J.C. Frankland (Eds.) Developmental Biology of Higher Fungi. Cambridge University Press. 117-139 pp.
- DOF Diario Oficial de la Federación. Del 27 de agosto de 1932. Ley de Asociaciones Agrícolas. Última reforma publicada DOF 12-05-1936.

- Donoso C. 1997. Ecología forestal: el bosque y su medio ambiente. Quinta edición. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 369 pp.
- Donoso E., G. Lobos y N. Rojas. 2008. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. *Bosque* 29(1): 52-57.
- Domínguez P., J. Marmolejo, E. Oviedo, J. Návar, J. Pérez y J. Prieto. 2004. Estrés hídrico en *Pinus engelmannii* carr. , producido en vivero. *Investigación agraria*. 13(3): 443-451.
- Domínguez-Núñez J., R. Planelles, J. Rodríguez y J. Saiz. 2009. Influence of water-stress acclimation and *Tuber melanosporum* mycorrhization on *Quercus ilex* seedlings. *Agroforestry Systems* 75: 251–259.
- Duddridge J. A., A. Malibari y D. J. Read. 1980. Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature* 287: 834-836.
- Estaún M. 2004. Revegetación y restauración ecológica de zonas degradadas por causas antropogénicas utilizando las simbiosis endo y ectomicorrícicas en flora mediterránea autóctona. IRTA Cabrils, Madrid. 1-27 pp.
- Forsythe W. 1975. Física de suelos: manual de laboratorio. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura IICA. 212 pp.
- Galindo G. 2004. Introducción de brotes adventicios *in vitro* y micorrización en condiciones de vivero de *Pseudotsuga macrolepis* Flous. Tesis de maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 181 pp.
- Galindo G. Comunicación personal del 13 de Abril de 2010.
- Gonçalves S., A. Martins-Loução y H. Freitas. 2009. Evidence of adaptive tolerance to nickel in isolates of *Cenococcum geophilum* from serpentine soils. *Mycorrhiza* 19(4): 221-230.
- Guadarrama P., I. Sánchez-Gallen, J. Álvarez-Sánchez y J. Ramos. 2004. Hongos y plantas: beneficios a diferentes escalas. *Revista Ciencias*. Facultad de Ciencias, UNAM. 73: 39-45.
- Harley, J. L. and E. L. Harley 1987 A check-list of mycorrhizas in the British flora. *New Phytol. (Suppl.)* 105: 1-102

- Harvey L. 1991. Cultivation techniques for the production of ectomycorrhizal fungi. *Biotechnology Advances* 9: 13-29.
- Herrera T. y M. Ulloa 1990. El reino de los hongos. Fondo de cultura económica. México. 547 pp.
- Hobbs R. 2005. Continuous culture; Making a comeback?. *Microbiology* 151: 3153-3159.
- Hobbs R. y D. Norton. 1996. Towards a conceptual framework for restoration ecology. *Restoration Ecology* 4: 93-110.
- Hobbs R. y J. Harris. 2001. Restoration Ecology: Repairing the Earth's Ecosystems in the New Millennium. *Restoration Ecology* 9(2): 239-246.
- Hobbs R. y C. Yates. 2003. Impacts of ecosystem fragmentation on plant populations: Generalizing the idiosyncratic. *Australian Journal of Botany* 51: 471-488.
- Honrubia M., P. Torres, G. Días y A. Cano. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. ICONA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. LUDECME VIII. Monografía 54, Murcia, España.
- Hunt R. 1982. Plant growth curves. The functional approach to plant growth curves. Edward Arnold (Publ.) Limited. London, England. 248 pp.
- Johnson N. C., J. D. Hoeksema, J. D. Bever, V. B. Chaudhary, C. A. Gehring, J. N. Klironomos, R. Koide, R. M. Miller, J. Moore, P. Moutoglis. 2006. From Lilliput to Brobdingnag: Extending models of mycorrhizal function across scales. *BioScience* 56: 889-900.
- Kennedy P. y K. Peay. 2007. Different soil moisture conditions change the outcome of the ectomycorrhizal symbiosis between *Rhizopogon* species and *Pinus muricata*. *Plant Soil* 291:155-165.
- Korb J., N. Johnson y W. Covington. 2003. Arbuscular mycorrhizal propagule densities respond rapidly to ponderosa pine restoration treatments. *Journal of Applied Ecology* (40): 101-110.
- Kozlowski T. y S. Pallardy. 1997. Physiology of woody plants. Second edition. Academic Press. 411pp.
- Kropacek K., P. Cudlín y V. Mejstrik. 1989. The use of granulated ectomycorrhizal inoculum for reforestation of deteriorated regions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Checoslovaquia, 28: 263-269.

- Lambers H., S. Chapin y T. Pons. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer. 540 pp.
- Larcher W. 2003. *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Fourth edition, Springer. 513 pp.
- Levitt J. 1980. *Responses of plant to environmental stresses*. 2a Ed. Academic Press. 497 pp.
- Lindig-Cisneros R., A. Blanco, C. Sáenz, P. Alvarado y N. Alejandre. 2007. Restauración adaptable en la meseta purépecha, Michoacán, México: Hacia un modelo de estados y transiciones. *Suplemento del Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80: 25-31.
- MacGregor W. y P. Kramer. 1963. Seasonal trends in rates of photosynthesis and respiration of loblolly pine. *American Journal of Botany* 50: 760-765.
- Macroproyecto. 2010. *Manejo de Ecosistemas y Desarrollo Humano. Informe de Actividades 2005 -2008*. Universidad Nacional Autónoma de México. 184 pp.
- Martínez y Pérez J., L. Hernández, G. Santiago-Martínez, V. Guerra y F. Legorreta. 2009. *Manual para la propagación y micorrización de plantas arbustivas silvestres para la restauración de suelos degradados*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 23 pp.
- Martínez-Ramos M. y X. García-Orth 2007. Sucesión ecológica y restauración de las selvas húmedas. *Suplemento del Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana* 80: 69-84.
- Mazari M. 2000. *Dualidad población- agua. Inicio del Tercer Milenio*. Colegio Nacional. D. F., México 481 pp.
- Menkis A., R. Vasiliauskas, A. Taylor, J. Stenlid y R. Finlay. 2007. Afforestation of abandoned farmland with conifer seedlings inoculated with three ectomycorrhizal fungi-impact on plant performance and ectomycorrhizal community. *Mycorrhiza* 17: 337-348.
- Meza R. 2010. *Estudio de los Hongos Ectomicorrizógenos (Basidiomycetes) que se asocian a dos tipos de vegetación (Bosque de *Abies religiosa* y Bosque de *Pinus hartwegii*) de la Cuenca del Río Magdalena*. Tesis de Licenciatura en Biología Agropecuaria. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 71 pp.
- Mikola P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forest practice. En: Marx D. H. y T. T. Kozlowski (Eds.) *Ectomycorrhiza*. Academic Press. London. 383-411 pp.

- Miller R. y J. Jastrow. 1992. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation. En: Michael F. Allen. (Ed.). 1992. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. Routledge, Chapman & Hall, Inc. 438-467 pp.
- Nava M. 2003. Los bosques de la cuenca alta del río Magdalena, D. F., México. Un estudio de vegetación y fitodiversidad. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 64 pp.
- Núñez-Castillo O., J. Álvarez-Sánchez, P. Guadarrama-Chávez e I. Sánchez-Gallén. 2008. El uso de los hongos micorrizógenos arbusculares en prácticas de restauración. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. (Eds.) 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus aplicaciones en la restauración. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 201-212 pp.
- Olivera D. 2009. Evaluación de la ineffectividad de los hongos micorrizógenos arbusculares en un bosque de encino en la Cuenca del Río Magdalena y su uso como herramienta en la restauración ecológica. Tesis Maestría, Instituto de Ecología, UNAM. 53 pp.
- Parladé X. 1999. Comportamiento en campo de planta de reforestación inoculada con hongos ectomicorrízicos. En: Vázquez E., S. Rincón, S. Ramos y E. Doncel (Eds.). 1999. Micorrización en áreas Mediterráneas de la península Ibérica. Junta de Extremadura. 61-74 pp.
- Peñuelas J, L Ocaña. 2000. Cultivo de Plantas Forestales en Contenedor. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 190 p.
- Pérez-Moreno J. 2008. Ecofisiología y biotecnología de la ectomicorriza. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus aplicaciones en la restauración. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 161-186 pp.
- Pérez-Moreno J. y R. Ferrera-Cerrato 1997. Mycorrhizal interactions with plants and soil organisms in sustainable agroecosystems. En: Brussaard L. y R. Ferrera-Cerrato (Eds.) Soil ecology in sustainable agricultural systems. CRC Lewis. Boca Raton, Florida. 91-112 pp.
- Plan Maestro de Manejo Integral y Aprovechamiento Sustentable de la Cuenca del Río Magdalena, D. F. 2008. Medio Biofísico.

- Plassard C., D. Scheromm y L. Mousain. 1991. Assimilation of mineral nitrogen and ion balance in the two partners of ectomycorrhizal symbiosis, Data and hypothesis. *Experientia* 47: 340-349.
- PRONARE, 2004. CONAFOR. Apoyo a la reforestación. www.conafor.gob.mx (Consultada el 12 de mayo de 2010).
- Pyke y Thompson. 1986. Statistical analysis of survival and removal rate experiments. *Ecology*. 67: 240-245.
- Querejeta J., L. M. Egerton-Warburton y M. F. Allen. 2007. Hydraulic lift may buffer rhizosphere hyphae against the negative effects of severe soil drying in a California Oak savanna. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 409–417.
- Reid T. C., M. K. Hausbeck y K. Kizilkaya. 2002. Use of fungicides and biological controls in the suppression of *Fusarium* crown and root rot of asparagus under greenhouse and growth chamber conditions. *Plant Disease* 86: 493-498.
- Rincón A., B. Ruíz-Díez, M. Fernández-Pascual, A. Probanza, J. M. Pozuelo, M. R. De Felipe. 2006. Afforestation of degraded soils with *Pinus halepensis* Mill.: Effects of inoculation with selected microorganisms and soil amendment on plant growth, rhizospheric microbial activity and ectomycorrhizal formation. *Applied Soil Ecology* 34: 42–51.
- Rodés R. y M. Collazo. 2006. Manual de prácticas de fotosíntesis. Las prensas de Ciencias. UNAM. 160 pp.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Limusa, México. 432 pp.
- Sáenz G., R. Ferrera, y H. García. 1982. Producción de un inoculante para varias especies de pino en la república Mexicana. Convenio de Investigación Microbiológica entre STPS-SARH-COPLAMAR, México, D. F.
- Sánchez O. 2003. Conservación de ecosistemas templados de montaña en México. Instituto Nacional de Ecología. 315 pp.
- Sandoval I. 2010. Efecto de los hongos ectomicorrizógenos en el crecimiento y supervivencia de plántulas de *Pinus hartwegii* Lindl. y *Abies religiosa* (Kunth Schltl. et Cham.): un enfoque para la restauración de ambientes deteriorados en la cuenca del Río Magdalena D.F. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México.

- Santiago-Martínez G. 2008a. Los hongos ectomicorrizógenos en las prácticas de restauración. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus aplicaciones en la restauración. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 213-232 pp.
- Santiago-Martínez G. 2008b. Ectomicorizas: extracción y cuantificación. En: Álvarez-Sánchez J. y Monroy-Ata A. 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus aplicaciones en la restauración. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 97-108 pp.
- Santiago-Martínez G. y G. Galindo. 2003. El manejo de los hongos ectomicorrizógenos en vivero y campo. En: Estrada-Torres A. y G. Santiago-Martínez (Eds.). Avances en el estudio de la ectomicorriza en el Estado de Tlaxcala, México. Universidad Autónoma de Tlaxcala, SIZA-CONACYT y Fundación Produce Tlaxcala, A. C. 56-67 pp.
- Santiago-Martínez G., A. Estrada-Torres L. Varela y T. Herrera. 2003. Crecimiento en siete medios nutritivos y síntesis *in vitro* de un cepa de *Laccaria bicolor*. *Agrociencia* 37: 575-584.
- Santibañez-Andrade G. 2009. Composición y estructura del bosque de *Abies religiosa* en función de la heterogeneidad ambiental y determinación de su grado de conservación en la cuenca del Río Magdalena, México, D.F. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 134 pp.
- SAS Institute. 2001. SAS User's Guide, ver. 8.0. SAS Institute Inc., Cary, NC. 595 pp.
- Schemske D., B. Husband, M. Ruckelshaus, C. Goodwillie, I. Parker, y J. Bishop. 1994. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology* 73:5 84–606.
- SEMARNAP. 2000. La gestión ambiental en México. Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México. En línea: <http://www.semarnat.gob.mx/> (Consultada el 10 de enero de 2010).
- SER 2002. The SER Primer on Ecological Restoration. Society for Ecological Restoration International Science & Policy Working Group. <http://www.ser.org> (Consultada el 12 de mayo de 2010).

- SIRE: CONABIO-PRONARE. Paquetes Tecnológicos *Abies religiosa*. En línea: <http://www.conafor.gob.mx/> (Consultada el 10 de enero de 2010).
- Smith S. E. y D. J. Read. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. Academic Press. Nueva York, 605 pp.
- Smits W. T. 1992. Mycorrhizal studies in dipterocarp forests in Indonesia. En: (Ed.) by: Read D. J., Lewis D. H., Fitter A. H., Alexander I. J. 1992. Mycorrhizas in Ecosystems. CAB International, Cambridge. 283-292 pp.
- Taiz L. y E. Zeiger. 2006. Plant Physiology. 3th Edition. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. USA. 683 pp.
- Tammi H., S. Timonen y R. Sen. 2001. Spatiotemporal colonization of Scot pine roots by introduced and indigenous ectomycorrhizal fungi in forest humus and nursery *Sphagnum* peat microcosms. Canadian Journal of Forest Research 31(5): 746-756.
- Thompson B. 1985. Seedling morphological evaluation what you can tell by looking. En: Duryea M. L. (Ed.). 1985. Proceedings: evaluation seedling quality: principles, procedures and predictive abilities of major test. Oregon State University. Forest Research Laboratory. Corvallis, OR. 59-71 pp.
- Tian H., P. Gai, J. Zhang, P. Christie y X. Li. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in degraded typical steppe of inner Mongolia. Land Degradation & Development 20(1): 41-54.
- Timonen S. y T. Hurek. 2006. Characterization of culturable bacterial populations associating with *Pinus sylvestris* – *Suillus bovinus* mycorrhizospheres. Canadian Journal of Microbiology 52: 769–778.
- Unger y Hernández, en preparación. Tesis de Maestría.
- Valladares F. 2004. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. 13-25 pp.
- Velásquez A., J. Mas y J. Palacio. 2002. Análisis de cambio de uso del suelo, mapas del análisis del cambio de uso del suelo. INEGI-IGg UNAM. México.
- Villar R., J. Ruiz-Robledo, J. Quero, H. Poorter, F. Valladares y T. Marañón. 2004. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. En: Valladares F. (Ed.) 2004. Ecología del bosque mediterráneo en un

- mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. 191-227 pp.
- Villarruel-Ordaz J. y J. Cifuentes. 2006. Reporte técnico de la sección de Micología del herbario FCME, Facultad de Ciencias, UNAM, México D. F., como parte del proyecto “Manejo de ecosistemas y desarrollo humano en la Cuenca del Río Magdalena, D. F.”.
- Viveros-Viveros H., C. Sáenz-Romero, J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, G. Ramírez-Valverde y A. Santacruz-Varela. 2009. Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management* 257: 836–842.
- Wagner M., W. Block, B. Geils y K. Wenger. 2000. A New Forest Management Paradigm, or Another Merit Badge for Foresters?. *Journal of Forestry*. 22-27.
- Walker L., J. Walker y R. Del Moral. 2007. Forging a new alliance between succession and restoration. En: Walker L., J. Walker y R. Hobbs (Eds.). 2007. *Linking restoration and ecological succession*. Springer Series on environmental management. 190 pp.
- Warren F. 1975. *Manual de laboratorio de física de suelos*. IICA. Costa Rica.
- Wright E. 1957. Importance of mycorrhizae to Ponderosa pine seedlings. *Forest Science* 3(3): 275-280.
- Wright E. 1971. Mycorrhizae on douglas fir and Ponderosa pine seedlings. *Research Bulletin 13, Paper 670, Oregon State University*. 36 pp.
- Zahner R. 1968. Water deficits and growth of trees. En: Kozlowski T. (Ed.). 1968. *Water deficits and plant growth*. Academic Press. 2: 191-254.
- Zapata J. y P. Guadarrama. 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. *Universidad y Ciencia Número Especial I*: 59-65.
- Zar J. H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, New York, 622 pp.
- Zedler J. y J. Callaway. 1999. Tracking Wetland Restoration: Do Mitigation Sites Follow Desired Trajectories?. *Restoration Ecology*. 7(1): 69-73.