



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN PLANTAS DE *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldl. & Cham. EN CONDICIONES DE ANEGAMIENTO

GLEYBIS HERNÁNDEZ MORALES

T E S I S

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

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2016

La presente tesis titulada: Colonización micorrízica en plantas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. en condiciones de anegamiento, realizada por la alumna: Gleybis Hernández Morales bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



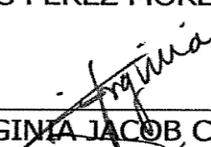
DR. MARCOS JIMÉNEZ CASAS

ASESOR



DR. JESÚS PÉREZ MORENO

ASESOR



M.C. VIRGINIA JACOB CERVANTES

ASESOR



DR. HUGO RAMÍREZ MALDONADO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2016.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT), y al proyecto CONACyT 246674 por el apoyo en el financiamiento de este trabajo de investigación.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas, por su incondicional apoyo siempre, porque sin todo el trabajo y esfuerzo realizado, esta meta no podría haberse cumplido.

Al Dr. Jesús Pérez Moreno, por el apoyo brindado en todo momento, y por transmitir ese amor y deseo de investigar el maravilloso mundo de los hongos.

A la M. C. Virginia Jacob Cervantes, por no perder el interés a pesar de sus múltiples ocupaciones y la distancia, gracias por todo el apoyo.

Al Dr. Hugo Ramírez Maldonado, por sus acertadas observaciones y el apoyo brindado durante el desarrollo de la investigación.

A la Dra. Magdalena por su apoyo, observaciones y ánimos durante el desarrollo de la investigación, por todas esas horas y grandes enseñanzas compartidas en el laboratorio.

Al equipo de Microbiología, aprendí mucho de ustedes, en especial al M. C. Juan Alfonso Villegas, sin su gran apoyo este resultado no habría sido posible.

Al equipo del huerto semillero, Don Luis y Joel por apoyarme y asesorarme siempre, durante el desarrollo de la investigación en invernadero.

A mis amigos, por hacer llevaderas todas esas largas horas de trabajo, por su amistad, muchas gracias, Jeniffer Vargas, Esteban Gerónimo, y Cesar Robles.

DEDICATORIA

A mi hija, Xareny mi motor de vida, y Esaú por ser mi mejor amigo y compañero de vida, mis amores.

A mis padres Alma Delia y Audias, pilar fundamental en mi desarrollo, porque ustedes me enseñaron a no rendirme, jamás.

A mis hermanos Lucio y Magdoly, porque son mi tesoro, para toda la vida.

A todos aquellos que de alguna forma contribuyeron con la realización de este trabajo, ¡muchas gracias!

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA.....	ii
LISTA DE CUADROS	iv
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Planteamiento del problema.....	3
2. Objetivos.	4
3. Hipótesis.....	5
4. Revisión de literatura.....	5
5. Literatura citada.....	15
CAPÍTULO II. COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN PLANTAS DE <i>Pinus leiophylla</i> EN CONDICIONES DE ANEGAMIENTO	23
RESUMEN	23
ABSTRACT	25
INTRODUCCIÓN	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES	52
REFERENCIAS.....	53
CONCLUSIONES GENERALES.....	60
ANEXOS	61

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Características, procedencia del inóculo micorrízico y condición de anegamiento aplicado en el experimento.....	31
Cuadro 2. Peso seco de parte aérea y raíz de plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> . n=5 ± error estándar.....	39
Cuadro 3. Descripción macroscópica de los morfotipos presentes en plantas no anegadas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i>	45
Cuadro 4. Descripción macroscópica de morfotipos en plantas anegadas de siete meses de <i>Pinus leiophylla</i>	47
Cuadro 5. Contenido de Macronutrientes, en parte aérea y raíz, para plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> con (A) y sin (NA) anegamiento (testigo). Promedio ± error estándar (n=5).	50
Cuadro 6. Contenido de Micronutrientes, en parte aérea y raíz, para plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> con (A) y sin (NA) anegamiento (testigo). Datos son promedios (n=5) ± error estándar.....	51

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I. Introducción general

Figura 1. Morfotipos presentes en raíces de <i>Pinus leiophylla</i> (Coraloide y bifurcada).....	13
---	-----------

Capítulo II. Colonización Micorrízica en plantas de *Pinus leiophylla* en condiciones de anegamiento

Figura 1. Tipos de ramificación: a) Simple; b) Monopodial pinnada; c) Monopodial piramidal; d) Dicotómica; e) Irregularmente pinnada; f) Coraloide; g) Tuberculada; h) Trenzada (Agerer & Rambold, 2015).....	34
--	-----------

Figura 2. Supervivencia de plántulas inoculadas de <i>Pinus leiophylla</i> con y sin anegamiento. Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular.....	35
Figura 3. Altura de plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> sin (a) y con (b) anegamiento Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular.Valores promedio (n=5) ± error estándar.	37
Figura 4. Diámetro de plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> sin (a) y con (b) anegamiento Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular Datos son promedios (n=5) ± error estándar.....	38
Figura 5. Conductividad hidráulica de la raíz (<i>K_r</i>) en plantas inoculadas de <i>Pinus leiophylla</i> de siete meses de edad para ambos tratamientos. Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular. Promedios ± error estándar (n=5).....	41
Figura 6. Porcentaje de colonización ectomicorrízica, con cuatro inóculos, en plantas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> al inicio (barras en color negro) y al final del tratamiento de anegamiento (barras en color blanco). A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces Huerto Semillero, D= Plantas sin inocular. Las barras representan promedio (n=3) ± el error estándar.	42
Figura 7. Morfotipos localizados en plantas testigo (no anegadas) de siete meses de edad, de <i>Pinus leiophylla</i> inoculadas con cuatro inóculos. Fotografías tomadas con cámara Olympus SZ61 modelo S22-LGB y microscopio Olympus BX51 Inoculo A: A1=2.4x, A2=1.5x, A3=1.8x; B: B1=3.5x, B2=0.67x; C:C1=3.5x, C2=2.0x, C3=4.2x; y D:D1=3.9x. Cada figura representa el muestreo de tres plantas por inóculo.	44
Figura 8. Morfotipos localizados en plantas anegadas de siete meses de edad de <i>Pinus leiophylla</i> inoculadas con cuatro inóculos. Fotografías tomadas con cámara Olympus SZ61 modelo S22-LGB y microscopio Olympus BX51. Inóculo: A: A1=1.74x; B: B1=2.1x, B2=0.67x, B3=3.4x; C:C3=1.8x, C4=2.4x; D:D2=1.4x, D3=1.5x. Cada figura representa el muestreo de tres plantas por inóculo.....	46

COLONIZACIÓN MICORRÍZICA DE *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. EN CONDICIONES DE ANEGAMIENTO

Gleybis Hernández Morales, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

En el suelo de los ecosistemas forestales existe una gran diversidad de microorganismos encargados de su equilibrio, entre los cuales destacan los hongos ectomicorrízicos, que establecen asociaciones simbióticas con las especies que conforman el ecosistema, los cuales desempeñan un papel imprescindible en el establecimiento de árboles en sitios degradados. En dichos sitios el cambio climático constituye un reto adicional, debido a la modificación tanto de la temporalidad como de la intensidad de fenómenos meteorológicos como la magnitud de la precipitación, el cual es un factor determinante en el establecimiento de árboles en terrenos forestales. En este estudio se comparó la respuesta de plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* micorrizadas con 4 inóculos y plantas no micorrizadas, sometidas a un periodo de anegamiento por 60 días. Tanto en variables de supervivencia, crecimiento, nutrimentales como fisiológicas, no se obtuvieron diferencias significativas entre los

inóculos utilizados; Sin embargo, si existió una diferencia notable en todas estas variables entre las plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos y las plantas no inoculadas. Este trabajo demuestra por lo tanto que la inoculación con hongos ectomicorrízicos constituye un factor crucial en la supervivencia, crecimiento, desarrollo y funcionalidad de *Pinus leiophylla* en condiciones de anegamiento.

Palabras Clave: hongos ectomicorrízicos, cambio climático, inundación, conductividad hidráulica, contenido nutrimental.

**MYCORRHIZAL COLONIZATION OF *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham.
IN FLOODING CONDITIONS**

Gleybis Hernández Morales, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRACT

In the soil of forest ecosystems there is a great diversity of microorganisms responsible for its balance, among which highlight the ectomycorrhizal fungi that form symbiotic associations with the plant species of the ecosystem, playing a vital role in establishing trees on degraded places. In such places climate change represents an additional challenge due to the modification of both the timing and the intensity of weather phenomena such as the magnitude of precipitation, which is a determining factor in establishing trees on forest land. In this study the response of six months-old plants of *Pinus leiophylla* either mycorrhized with four different inoculants or non-mycorrhized, both flooded during 60 days was compared. Survival, growth, nutritional and physiological variables showed no significant differences among plants inoculated with any of the four evaluated inocula were obtained. In contrast, there was a significant difference in all of these variables, between plants inoculated with any of the

ectomycorrhizal fungi or non-inoculated plants. Therefore, this work demonstrates that inoculation with ectomycorrhizal fungi is a crucial factor in the survival, growth, development and functionality of *Pinus leiophylla* in flooded conditions.

Key words: ectomycorrhizal fungi, flooding, hydraulic conductivity, nutrient contents.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los principales retos para la humanidad actualmente es el cambio climático ya que afecta el óptimo desarrollo de los ecosistemas forestales interviniendo en la frecuencia y estacionalidad de fenómenos meteorológicos (The World Bank, 2013; FAO, 2006) imprescindibles para la vida en el planeta siendo una de sus principales causas es la deforestación (Quintana, 2014). En México según el Programa Nacional Forestal (DOF, 2014), hasta el año 2010, se perdían 155 000 ha de superficie forestal anualmente. Al destruirse la cobertura vegetal se genera adicionalmente erosión, compactación, pérdida de nutrientes y microorganismos en el suelo; este conjunto de condiciones puede generar como problema adicional, el anegamiento por periodos cortos en terrenos forestales degradados, dificultando así su recuperación de manera natural. Es por esto que para hacer frente a condiciones que generan estrés, las plantas establecen asociaciones simbióticas con especies de hongos micorrízicos (Perea *et al.*, 2009). Son múltiples los factores ambientales que inducen estados de estrés en las plantas, cuando las condiciones son extremas o poco favorables y su efecto se refleja en la supervivencia, capacidad de desarrollo, y reproducción de los organismos. Esta situación que abre un amplio campo de estudio sobre los beneficios que confieren los hongos ectomicorrízicos a los ecosistemas forestales ya que la mayoría de las plantas con que se asocian estos hongos, son especies leñosas perennes (Smith & Read, 2008).

En los suelos naturales todas las especies forestales forman asociaciones simbióticas entre las raíces y hongos especializados. Esta formación raíz-hongo es llamada micorriza y proporciona múltiples beneficios tanto a plántulas como a árboles adultos en la obtención del agua y los nutrientes. Además, proporciona una barrera directa contra la penetración de patógenos (Rodríguez, 2008). Las coníferas en general y el género *Pinus* en particular, son plantas vasculares ectomicorrízicas obligadas, que requieren para su desarrollo la presencia de una o varias especies fúngicas asociadas a sus sistemas radicales (Torres, 1993).

La asociación micorrízica es un tipo de simbiosis mutualista, imprescindible para el funcionamiento de los ecosistemas forestales. En México, existe una gran variedad de hongos ectomicorrízicos según Guzmán (1995), la cual es consecuencia de la enorme diversidad de especies de coníferas con la que cuenta el país, entre las cuales se encuentra *Pinus leiophylla* especie endémica objeto de este estudio que posee una gran plasticidad genética que le permite adaptarse a sitios degradados (Dvorak, Hodge y Kietzka, 2007).

1. Planteamiento del problema.

Pinus leiophylla es una especie que se distribuye de manera natural en México, con un límite superior altitudinal de 2700 msnm, limitando con la frontera agrícola, razón por la cual rodales de esta especie han sido afectados debido al desmonte por cambio de uso de suelo (Musalem y Martínez, 2003; Morales, Ramírez, Delgado y López, 2010). Al cumplir con los ciclos de producción agrícola muchas de estas tierras son abandonadas, enfrentando condiciones que impiden la recuperación natural del terreno, como el alto grado de compactación, modificación de la estructura y disminución de la riqueza de microorganismos del suelo. Adicionalmente, el cambio climático representa un reto para la recuperación de estos sitios degradados. Sin embargo, *P. leiophylla*, tiene potencial para recuperar y rehabilitar dichos sitios (Rzedowski, 2005). Una de las consecuencias del cambio climático son las alteraciones en los regímenes de precipitación, que generan anegamiento en ecosistemas (IPCC, 2014), según el Centro Internacional para la investigación del Fenómeno de El Niño, para los meses de febrero, marzo y abril de 2016 existe mayor probabilidad de precipitación en relación a los parámetros normales de dicho fenómeno para México, lo cual significa un riesgo de anegamiento en los ecosistemas degradados, mencionados con anterioridad. Esto debido a que al existir un aumento de precipitación se compromete la capacidad de infiltración del terreno, y pone en riesgo la supervivencia de las plantas. Sin embargo, a pesar de su relevancia ecológica, el

efecto de la humedad del sustrato en plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos ha recibido escasa atención, motivo por el cual se ha realizado el presente estudio.

2. Objetivos.

Evaluar el efecto de la colonización micorrízica, en el crecimiento, morfofisiología y contenido nutrimental de *Pinus leiophylla* en condiciones de anegamiento.

Objetivos específicos

1. Registrar la supervivencia de las plantas, tanto inoculadas como testigo, sometidas a un periodo de anegamiento.
2. Cuantificar el crecimiento, biomasa (aérea y raíz) y la respuesta morfofisiológica de planta, sometida a un periodo de anegamiento.

3. Cuantificar la colonización ectomicorrízica, el número de morfotipos presentes, y el contenido nutrimental, en plantas inoculadas con tres fuentes de inóculos ectomicorrízicos.

3. Hipótesis

Pinus leiophylla es una especie de conífera, capaz de sobrevivir y crecer en condiciones de estrés por anegamiento cuando se ha inoculado con hongos ectomicorrízicos.

4. Revisión de literatura.

Área de estudio

El estudio se realizó en el huerto semillero de *Pinus leiophylla* del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado entre las coordenadas geográficas 19°

27' 34.8" LN y 98° 54' 15.88" LW a una altitud de 2249 m el clima es templado con lluvias en verano con una precipitación media anual de 659 mm y una temperatura media de 15.3°C según datos de la estación meteorológica Montecillo.

Género *Pinus*

En México, el género *Pinus* tiene gran importancia económica, ecológica y social, es el componente principal de la vegetación de clima templado, e influye tanto en los procesos funcionales del ecosistema, como los ciclos biogeoquímicos, hidrológicos, regímenes de fuego, además que los bosques fungen como refugio y hábitat de la fauna silvestre (Sánchez, 2008).

El Trópico de Cáncer atraviesa México aproximadamente por la parte central del país, generando de esta manera una gran variedad de climas, entre lo que se encuentra el clima templado, hábitat del mayor número de especies de coníferas, en particular las pináceas de México y América Central, se extienden entre los 12° y 32° LN (Perry, 1991). Existe discrepancia entre autores, acerca del número total de especies de coníferas en el mundo, Gernandtl y Pérez (2014) mencionaron 670 especies de coníferas a nivel mundial, de las cuales 94 tienen distribución natural en México. Asimismo en el país el género *Pinus* está representado con 49 especies, de las 120

existentes en el mundo según los mismos autores, quienes consideran a México como un centro secundario de diversificación del género. Sin embargo Villaseñor (2004) mencionó que en México existen 71 especies del género *Pinus*, entre las cuales se encuentra *Pinus leiophylla*, objeto de este estudio.

Pinus leiophylla

Es una especie endémica de México, se distribuye en las coordenadas geográficas 17°30´ a 31°20´ de LN y 96°30´ a 111°30´ LW (Santillán,1991), en los estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas, Jalisco, Sinaloa, Nayarit, Colima, Michoacán, México, Tlaxcala, Puebla, Morelos, Veracruz y Oaxaca es una de las especies de mayor distribución en el país en la zona de transición entre los bosques y las zonas agropecuarias (Musalem y Martínez, 2003), con un intervalo de precipitación anual, de 1000 a 1300 mm (Rubio, Romero y Rojas, 2011). Es un árbol de una altura de 15 a 35 metros y se encuentra con mayor frecuencia a una altitud de los 2 200 a los 2 700 m (Dvorak *et al.*, 2007), no obstante Musalem y Martínez (2003) mencionaron haberlo encontrado a 1600 y 3000 m de altitud.

Anegamiento

Se considera anegamiento a la presencia de agua en exceso en el suelo, o en cualquier medio en el que se desarrollen las raíces de las plantas, ocasionando saturación y alta capacidad de campo, superior a la que el suelo puede drenar; este fenómeno se genera como consecuencia de la sustitución prolongada de la fase gaseosa del suelo por una fase líquida (Russell, 1977).

El anegamiento altera la consistencia y la plasticidad del suelo, así como su capacidad para el intercambio gaseoso, debido a que la difusión del oxígeno (O_2) en un medio acuoso, es aproximadamente 104 veces menor que en un medio gaseoso (López, 2009), la saturación del suelo por agua reduce en pocas horas la disponibilidad de O_2 para el metabolismo de los microorganismos y las raíces, originando síntomas de estrés por la falta de oxígeno, poco soluble y difusible en el agua (hipoxia e incluso anoxia), exceso de CO_2 y sobreproducción de etileno (Herrera, Rengifo y Tezara, 2010).

La escasez de oxígeno en los suelos inundados reduce la formación de nitrato (NO_3) (López, Netto y Magnavaca, 1987), la forma de nitrógeno más comúnmente absorbida por las plantas. A su vez eso reduce la síntesis de proteínas y clorofila, impactando en el crecimiento de las plantas. Lo anterior sugiere que las plantas que sobreviven en ambientes inundados podrían tener requerimientos de nitrógeno mínimos (Cui y

Caldwell, 1997), o poseer la habilidad de obtener dicho recurso a través de establecer asociaciones mutualistas con organismos como bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos micorrízicos (Aguirre *et al.*, 2011) dichas asociaciones podrían ser reducidas por las condiciones de hipoxia y anoxia impuestas por la inundación (López, 2008).

El anegamiento conduce a alteraciones en la absorción y utilización de iones minerales por las plantas, las condiciones de hipoxia dificultan la absorción activa de nutrientes minerales por las raíces, desbalance hormonal, cierre de estomas, limitaciones fotosintéticas, clorosis foliar, senescencia y muerte (Martínez *et al.*, 2012). La alta concentración de CO₂ en suelos anegados provoca el descenso del pH y, consecuentemente, el aumento de Fe²⁺ y Mn²⁺ disponibles para una absorción pasiva por las plantas; pero, a la vez, la falta de oxígeno en un suelo anegado hace disminuir la absorción activa de estos elementos (López, 2008).

El anegamiento mencionado en líneas anteriores, además de limitar la cantidad de oxígeno disponible para las plantas, origina numerosos cambios físicos, químicos y biológicos en el suelo (Pardos, 2004), provocando la solubilidad de sustancias minerales y formación de compuestos fitotóxicos, (ácidos orgánicos, hidrocarburos y sulfuros), etanol, acetaldehído y compuestos cianógenos (Herrera *et al.*, 2010), así como etileno y la pérdida de compuestos solubles de nitrógeno y desequilibrios en otros nutrientes, debido a la actividad anaeróbica microbiana (Walker, 1975) que repercuten en el funcionamiento de las especies. El problema con la formación de grandes cantidades de etileno producto del anegamiento en el suelo estriba en que

éste, en condiciones de aerobiosis no escapa a la atmósfera, se acumula tanto en las plantas como en el suelo; y al presentarse el anegamiento alcanza valores muy superiores a los producidos en condiciones normales y da lugar a síntomas morfológicos y fisiológicos característicos de situaciones de estrés en las plantas, por lo que los daños causados, se deben al aumento de la concentración de etileno en sus tejidos (Bradford y Read, 1978).

La limitada disponibilidad de oxígeno hace que las raíces se vuelvan menos permeables provocando una reducción del potencial hídrico, la variación en la respuesta a esta condición depende de la especie, el estado fenológico, la temperatura ambiental y la duración del anegamiento (Taiz & Zieger, 2002).

Las inundaciones frecuentes conducen a desarrollar un metabolismo anaeróbico, en el que la fuente energética (ATP) se genera en procesos glicolíticos principalmente de fermentación etanólica y láctica, con niveles altos de alcohol deshidrogenasa y alta producción de etanol, muy tóxico para las plantas, que en las especies más tolerantes queda muy reducida (Kolb y Joly, 2009). La deficiencia de oxígeno origina una disminución del potencial de óxido-reducción en las células, disminuye la tasa de respiración aeróbica y afecta al potencial de membrana. El daño más evidente se ejerce sobre la respiración, resultando en la acumulación de piruvato, lactato y etanol, mientras que bajan los niveles de catalasa y peroxidasa (Levitt, 1980).

Existen plantas que crecen en condiciones de anegamiento, y poseen diversas adaptaciones, como la formación de lenticelas, raíces adventicias y formación de aerénquima, que buscan minimizar los efectos del anegamiento en los procesos fisiológicos, aumentando la difusión de oxígeno al interior de los tejidos (Parolin, Lucas, Piedade, and Wittmann, 2010). Las raíces de especies asociadas a condiciones de anegamiento son por lo general de diámetros mayores, ya que contienen una mayor proporción de aerénquima, para así poder almacenar oxígeno y evitar la inhibición de la respiración (Lambers, Chapin y Pons, 2008).

Simbiosis entre hongos y plantas

El término simbiosis, probablemente fue utilizado en primer lugar por Albert Bernard Frank en 1877, fue usado como un término neutral, que no incluía parasitismo, basado simplemente en la coexistencia de dos organismos diferentes (Smith y Read, 2008). Un ejemplo de mutualismo simbiótico y obligatorio, son las micorrizas donde los hongos del suelo, se asocian con las raíces de las plantas, actuando como raíces extendidas de estas, en esta asociación simbiótica, las plantas y los hongos dependen fuertemente uno del otro, y cualquier alteración que impacte a un miembro de esta asociación, afecta al otro socio involucrado, en esta interrelación mutualista (Badii *et al.*, 2013).

De acuerdo con Selosse & Le Tacon (1998), la coevolución entre hongos micorrízicos y raíces de plantas, se remonta al Paleozoico, hace más de 400 millones de años, con el origen de las primeras plantas terrestres. Sin embargo, las ectomicorrizas aparecerían en un periodo más tardío, Pirozynski (1980) y Cairney (2000), estiman que el origen de las ectomicorrizas fue hace unos 200 millones de años, a mediados del Mesozoico coincidiendo con la aparición de sus hospedantes. Las pináceas debieron surgir a finales del Triásico y con toda seguridad en el Jurásico, pero fue el Cretácico el periodo de su diversificación.

En la naturaleza se distinguen diferentes tipos de tipos de micorrizas, entre los más abundantes se encuentran: la ectomicorriza y la endomicorriza, donde la principal característica es que en la primera, las hifas del hongo, penetran entre los espacios intersticiales de las células corticales de la raíz; mientras que en las endomicorrizas las hifas del hongo invaden las células corticales de las raíces y se presentan característicamente en la mayoría de las plantas de importancia agrícola (Ferrera y Alarcón, 2010).

La ectomicorriza se caracteriza por formar un manto fúngico bien definido alrededor de las raíces cortas de la planta y su función principal está relacionada con el almacenamiento de reservas y protección física contra otros organismos. Además, las hifas penetran los espacios que existen entre las células corticales y forman una red de hifas, llamada red de Hartig, cuya función es el intercambio de nutrimentos, minerales y agua entre ambos simbioses, el hongo absorbe agua y minerales que luego moviliza

hacia la planta incrementando la tasa fotosintética, por lo que la planta es capaz de resistir a plagas y condiciones de estrés ambiental. Macroscópicamente las raicillas alimentadoras cambian a estructuras con diferentes formas como horquetas, coraloides y nodulosas (Blanco y Salas, 1997; Pérez y Read, 2004; Amora, Carreón y Mertínez, 2006; Rodríguez, 2008; Ferrera y Alarcón, 2010), como se muestra en la figura 1.

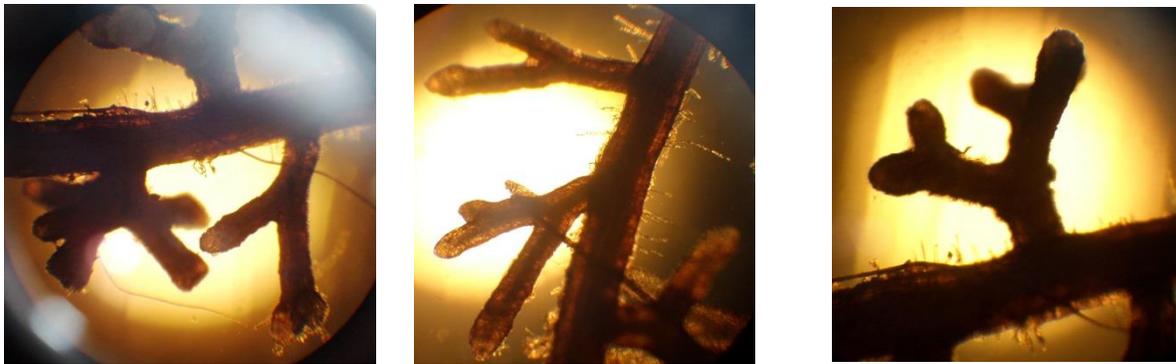


Figura 1. Morfotipos presentes en raíces de *Pinus leiophylla* (Coraloide y bifurcada).

Además de *Pinus*, los géneros, *Quercus* y *Taxodium* y las familias Betulaceae, Caesalpiniaceae, Casuarinaceae, Corylaceae, Cistaceae, Dipterocarpaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Fagaceae, Gnetaceae, Meliaceae, Mimosaceae, Myrtaceae, Rosaceae y Salicaceae (Brundett, Bougher, Dell, Grove, and Malajczuk, 1996), también son capaces de formar ectomicorrizas. Algunos de los hongos formadores de ectomicorrizas pertenecen a los géneros *Amanita*, *Boletus*, *Cenococcum*, *Elaphomyces*, *Endogone*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Scleroderma*, *Suillus*, *Telephora*, *Tuber* (Santiago y Estrada, 1999).

Las fuentes de inóculo ectomicorrízico usadas en vivero han sido tradicionalmente esporas y cultivos miceliales. En la propagación micelial, el crecimiento de las cepas de hongos ectomicorrízicos es afectado por las condiciones de cultivo, principalmente pH, temperatura y composición de los medios.

La asociación micorrízica representan un beneficio recíproco de ambos simbioses, donde la planta suministra la fuente de carbono y un nicho ecológico, las raíces generan un efecto homeostático para el hongo, comparado con las condiciones que se presentan en el suelo, el hongo por su parte, aporta nutrimentos minerales a la planta como fósforo, zinc, cobre y amonio, los cuales son absorbidos de la solución del suelo por medio de las hifas que exploran poros del suelo donde no pueden penetrar las raíces (menores de 200 μ de diámetro); además las hifas de absorción se asocian con la materia orgánica del suelo donde ocurre la mineralización (Blanco y Salas, 1997).

A pesar de los múltiples beneficios que los hongos proveen a las plantas, el estudio de la micología en México según Guzmán (1995), comenzó de manera incipiente entre la década de 1940 a 1950 con investigaciones sobre levaduras, hongos fitopatógenos y de interés médico, y posteriormente sobre macromicetos, situación que contrasta enormemente con la riqueza del conocimiento tradicional, que se remonta a más de 500 años.

5. Literatura citada.

Aguirre, M. J. F., Moroyoqui, O. D. M., Mendoza, L. A., Cadena, I. J., Avendaño, A. C.

H. Aguirre, C. J. F. (2011). Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. *Agronomía mesoamericana*. 22(1). 71-80.

URL:http://www.mag.go.cr/rev_meso/v22n01_071.pdf

Amora, L. E., Carreón, A. Y., Martínez, T. M. (2006). Las ectomicorrizas y su uso como

inoculantes. *Ciencia Nicolaita*. 44. 75-91. URL:

http://www.cic.umich.mx/documento/ciencia_nicolaita/2006/44/Cn44-075.pdf

Badii, M.H., Rodríguez, H., Cerna, E., Valenzuela, J., Landeros, J., Ochoa, Y. (2013).

Coevolución y Mutualismo: Nociones conceptuales. *International Journal of Good Conscience*. 8(1). 23-31. URL: [http://www.spentamexico.org/v8-](http://www.spentamexico.org/v8-n1/A3.8(1)23-31.pdf)

[n1/A3.8\(1\)23-](http://www.spentamexico.org/v8-n1/A3.8(1)23-31.pdf) 31.pdf

Bradford, K. J. y Read, D. D. (1978). Effects of root anaerobiosis on ethylene

production, epinasty, and growth of tomato plants. *Plant Physiology*. 61. 506-

509. URL: <http://www.plantphysiol.org/content/61/4/506.full.pdf>

Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. (1996). *Working with*

mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra, Australia: Peter Lynch.

Cairney, J. W. (2000). Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften*. 87: 467-475. URL: http://www.planta.cn/forum/files_planta/evolution_of_mycorrhiza_systems_783.pdf

Cui, M., and Caldwell, M. M. (1997). A large ephemeral release of nitrogen upon wetting of dry soil and corresponding root responses in the field. *Plant and Soil*. 191(2). 291- 299. URL: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1004290705961>

Diario Oficial de la Federación. (2014). Programa Nacional Forestal. 2014-2018. URL: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5342498&fecha=28/04/2014&print=true

Dvorak, W.S., Hodge, G.R., Kietzka, J.E. (2007). Genetic variation in survival, growth, and stem form of *Pinus leiophylla* in Brazil and South Africa and provenance resistance to pitch canker. *Southern Hemisphere Forestry Journal*. 59 (3). 125-135. doi: 10.2989/SHFJ.2007.69.3.1.351

Ferrera, C. y Alarcón, R. A. (2010). *Microbiología agrícola*. Distrito Federal, México: Editorial Trillas.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. (2006). *Forest and climate change: Better forest management has key role to play in dealing with climate change*. Recuperado de: <http://www.fao.org>

- Gernandt, D., Pérez, J. (2014). Biodiversidad de Pinophyta en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85. 126-133. doi: 10.7550/rmb.32195
- Guzmán, G. (1995). La diversidad de hongos en México. *Ciencias*. 39. URL. <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no39/CNS03907.pdf>.
- Herrera, A., Rengifo, E., Tezara, W. (2010) Respuestas ecofisiológicas a la inundación en árboles tropicales tolerantes de un igapó. *Ecosistemas*. 19 (1). 37-51. URL: <http://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/viewFile/54/50>
- IPCC (2014). Cambio climático 2014: Impactos, adaptación y vulnerabilidad. Contribución del Grupo de trabajo II al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Field, C.B., V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P.R. Mastrandrea y L.L. White (eds.)]. Organización Meteorológica Mundial, Ginebra, Suiza.
- Kolb, R. M. y Joly, C. A. (2009). Flooding tolerance of *Tabebuia cassinoides*: Metabolic, morphological and growth responses. *Flora: Morphology, distribution, functional ecology of plants* 204: 528-535. doi: 10.1016 / j.flora.2008.07.004

Lambers, H., Chapin III, F. S., Pons, T. L. (2008). *Plant Physiological Ecology*. 2a edition. New York: doi: 10.1007/978-0-387-78341-3

Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses* 2ª Edición. United States of América: Academic Press.

Lopes, M. A., Netto, P. S., Magnavaca, R. (1987). Adaptaciones morfológicas y fisiológicas en plantas de maíz sometidas a deficiencias de oxígeno en el suelo. *Investigación Agropecuaria* 1: 106-124. URL: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br>

López, R. O. (2009). Fisiología y ecología de comunidades arbóreas en hábitats inundables. *Acta Biológica Panamensis*. 1: 68-86. URL: https://www.researchgate.net/profile/Omar_Lopez4/publication/228778458_FISIOLOGA_Y_ECOLOGA_DE_COMUNIDADES_ARBREAS_EN_HBITATS_INUNDABLES/links/00463514767533529c000000.pdf

Martínez, A. B., Jover, S., Quiñones, A., Forner, G. M. A., Rodríguez, G. J., Legaz, F., Primo, M. E. and Iglesias, J. D. (2012). Flooding affects uptake distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings. *Journal of Plant Physiology* 169. 1150-1157. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161712001873>

- Morales, V. M. G., Ramírez, M. C.A., Delgado, V. P., López, U. J. (2010). Indicadores Reproductivos de *Pinus leiophylla* Schlttdl. et Cham. En la Cuenca del Río Angulo, Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 1: 31-38. URL: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v1n2/v1n2a3.pdf>
- Musalem, M. A. y Martínez, G. S. (2003). *Monografía de Pinus leiophylla* Schl. et Cham. Texcoco. Estado de México. México: Jiménez editores.
- Pardos, J. A. (2004). Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *Investigaciones Agrarias. Sist Rec For*: 101-107. URL: [http://www.inia.es/gcontrec/pub/101-107-\(05\)-Respuestas_1162210193281.pdf](http://www.inia.es/gcontrec/pub/101-107-(05)-Respuestas_1162210193281.pdf)
- Parolin, P., Lucas, C., Piedade, M. T. and Wittmann, F. (2010). Drought responses of flood-tolerant trees in Amazonian floodplains. *Annals of Botany* 105. 129-139. doi:10.1093/aob/mcp258
- Perea, E. V.M., Pérez, M. J., Villareal, R. L., Trinidad, S. A., I. de Bauer, M. Cetina, A. V. M., Tijerina, C. L. (2009). Humedad edáfica, nitrógeno y hongos ectomicorrízicos comestibles en el crecimiento de pino. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 32 (2): 102. URL:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018773802009000200004&script=sci_arttext

Perry, J.P. (1991). *The pines of Mexico and Central America*. Portland. Oregon: Timber press.

Pirozynski, K. A. (1981) Interactions between fungi and plants through the ages. *Canadian Journal of Botany* 59: 1824-1827. doi: 10.1139 / b81-243

Quintana, S. F. (2014). *Los bosques en la estrategia global de lucha contra el cambio climático*. Friedrich Ebert Stiftung México. 3. México. URL: http://www.fesmex.org/common/Documentos/Libros/Paper_AP_Los_Bosques_F_austo-Quintana_May2014.pdf

Rodríguez P. B.R., (2008). *Guía técnica de reconocimiento de micorrizas*. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo. Hidalgo.

Rubio, L. L. E., Romero, R. S., Rojas, Z. E. C. (2011). Estructura y composición florística de dos comunidades con presencia de *Quercus* (Fagaceae) en el estado de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 17(1): 77-90. doi: 10.5154/r.rchscfa.2010.03.014

Russell, R.S. (1977). *Plant Root Systems: Their function and interaction with the soil*. London: Mc Graw-Hill Book Co.

Rzedowski, J. (2005). *Vegetación de México*. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México: Editorial Limusa. URL: http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf

Sánchez, G. A. (2008). Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos de México. *Madera y bosques*. 14(1).107-120. URL:<http://www.scielo.org.mx/pdf/mb/v14n1/v14n1a8.pdf>

Santiago, M. M. y Estrada, A. (1999). *Hongos ectomicorrizógenos y producción de inoculantes para plantas de interés forestal*. Folleto técnico. Fundación produce Tlaxcala. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Santillán, P. J. (1991). *Silvicultura de las coníferas de la región central*. Tesis de Maestría no publicada. División de ciencias forestales. Universidad Autónoma Chapingo. México.

Selosse, M. A., y Le Tacon, F. (1998). The land flora: a phototroph-fungus partnership?. *Trends in Ecology and Evolution*. 13. 15-20. doi.org/10.1016/S0169-5347(97)01230-5

Smith, S. E. y Read, D. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3ra. Edición. Academic press. Londres. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123705266>.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology* 3ª edición. United States of America:
doi:10.1093/aob/mcg079

The World Bank. (2013). Damages from Extreme Weather Mount As Climate Warms.
Recuperado de:<http://www.worldbank.org>

Torres, P. (1993). *Ectomicorrizas de Pinus halepensis Miller*. Congreso Forestal
Español. Ponencias y comunicaciones. Tomo III. Facultad de
biología. Universidad de Murcia. Murcia. España.

Villaseñor, J.L. (2004). Los géneros de las plantas vasculares de la flora en México.
Boletín de la Sociedad Botánica de México. 75. 105-135. URL:
<http://www.redalyc.org/pdf/577/57707506.pdf>

Walker N., (1975). *Soil Microbiology*. London: Butterworths.

CAPÍTULO II. COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN PLANTAS DE *Pinus leiophylla* EN CONDICIONES DE ANEGAMIENTO

RESUMEN

Las pináceas de importancia forestal, dependen de la asociación con hongos ectomicorrízicos, para alcanzar un óptimo desarrollo. *P. leiophylla* se ha usado para recuperar sitios deforestados, ya que algunos de éstos presentan problemas de anegamiento temporal, limitando su recuperación. Se determinó el efecto del anegamiento en la supervivencia, crecimiento, colonización micorrízica, conductividad hidráulica y contenido nutrimental, en plantas de *P. leiophylla*, esperando una alteración de la estrecha relación ecofisiológica entre hongo y planta. Se produjo planta en invernadero, con sustrato estéril, y 3 inóculos: A) suelo forestal, B) raíces ectomicorrizadas procedentes de Chignahuapan, Puebla; y C) raíces ectomicorrizadas de un huerto semillero. En plantas de siete meses de edad se generaron 2 niveles de anegamiento, por 60 días; Con un diseño de bloques completos al azar. Las plantas sin anegamiento tuvieron un mayor peso seco y volumen de raíz. El mayor porcentaje de colonización se registró con el inóculo B, seguido por el A; mientras que para las plantas anegadas el porcentaje de colonización fue mayor en el inóculo A, seguido del

C. La asociación entre la planta y el inóculo A tuvo mayor tolerancia al anegamiento, permitiendo enfrentar dicho estrés. Actualmente se determina, según el morfotipo, la especie correspondiente al inóculo A. Se demostró que las plantas de *P. leiophylla* inoculadas tuvieron mayor supervivencia, conductividad hidráulica y contenidos de nutrimentos en comparación con las plantas no inoculadas, indicando el efecto benéfico de la inoculación micorrízica en condiciones de anegamiento.

Palabras Clave: Inóculo, micorriza, colonización.

MYCORRHIZAL COLONIZATION OF *Pinus leiophylla* IN FLOODING CONDITIONS

ABSTRACT

Pinaceae species with economic importance in the forestry industry depend on the association with ectomycorrhizal fungi for optimum growth. *P. leiophylla* has been used to restore deforested sites, since some of them have problems of temporary flooding, limiting their recovery. Effects of waterlogging in the survival, growth, mycorrhizal colonization, hydraulic conductivity and nutrient content in plants of *P. leiophylla* was evaluated, hypothesizing an improvement in the close ecophysiological relationship between plant and mutualistic fungi. Plants were produce in greenhouse by using sterile substrate and 3 mycorrhizal inoculum sources: A) forest soil; B) ectomycorrhizal roots from Chignahuapan, Puebla; and C) ectomycorrhizal roots from a seed orchard estate. Within seven month-old plants two levels of flooding were maintained during 60 days; in a randomized complete block design. Plants without flooding had higher dry root weight and volume. The highest percentage of colonization resulted in the inoculum B, followed by A; whereas in flooded plants the percentage of colonization was higher for inoculum A, followed by inoculum C. The association between the plant and the inoculum A had greater tolerance to waterlogging, allowing tolerance to such stress. Currently the fungal species involved in the inoculum A, according to their morphotypes

are being determined. This work demonstrates that the inoculated *P. leiophylla* plants presented higher survival, hydraulic conductivity and nutrient contents compared with non-inoculated plants, showing the beneficial effects of mycorrhizal inoculation under flooding conditions.

Key words: Inoculum, mycorrhiza, colonization.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en los patrones de precipitación, a consecuencia del cambio climático, han incrementado la frecuencia de anegamiento temporal en algunos sitios de interés forestal (Méndez, Navar y González, 2007). Esta es una condición no deseable, ya que afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas (De la cruz, Moreno y Magnitkiy, 2012). La falta de oxígeno en un suelo anegado, limita la asimilación de nutrientes y la absorción de agua a través de las raíces (Sairam, 2008), a tal grado que puede llegar a causar la muerte de la planta (Moreno y Fischer, 2014).

La contribución de los hongos micorrízicos en los procesos de asimilación y absorción de las plantas ha sido bien documentada, particularmente bajo diferentes condiciones de estrés (Ferrari y Wall, 2004; Martínez, Pérez, Villareal, Ferrera, Xoconostle, Vargas y Honrubia, 2012; Pedraza, Texeira, Fernández, García, Baca, Azcón, Baldani y Bonilla., 2010; Tedersoo, May y Smith, 2010). El anegamiento temporal podría afectar negativamente la simbiosis planta-micorriza, lo cual sería en detrimento de la planta. Las coníferas en general y las pináceas en particular son plantas ectomicorrízicas obligadas, que requieren para su desarrollo la presencia de una o varias especies fúngicas asociadas al sistema radical (Pérez & Read, 2004).

Poco se conoce de la asociación y tolerancia de la micorriza en sitios afectados por anegamiento temporal, que requieren ser rehabilitados a través de programas de

reforestación, en los cuales *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham, especie endémica de México debería ser considerada como una alternativa, por su importancia ecológica y principalmente por su capacidad de establecerse, crecer y desarrollarse en ambientes con algún tipo de estrés abiótico (Gómez, Villegas, Sáenz y Lindig, 2013, Gernandt y Pérez, 2014).

Se hipotetizó que las micorrizas capaces de infectar y establecer asociaciones con raíces de plantas de *P. leiophylla* proporcionarían, a estas plantas, mayor probabilidad de sobrevivir en condiciones de anegamiento temporal. Por lo que en este trabajo se plantea conocer el efecto del anegamiento en la colonización micorrízica, crecimiento, fisiología de raíz y contenido nutrimental de plantas de *P. leiophylla* colonizadas con tres fuentes de inóculo, en comparación con plantas no inoculadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Producción de planta

Las semillas de *P. leiophylla*, se colectaron en el huerto semillero sexual localizado en Montecillo, Estado de México en el año 2013 una vez extraídas, se beneficiaron y se esterilizaron de acuerdo al protocolo usado por Weishuang, Morris y Rilling. (2014). Inicialmente la semilla se remojó en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% durante 20 minutos y posteriormente se enjuagó con agua destilada para eliminar residuos de H_2O_2 . En seguida, las semillas se sembraron en charolas de plástico con una tela absorbente como soporte, saturada con agua destilada. Una vez geminadas, cuando la radícula alcanzó el tamaño de la semilla o mayor a ésta, las plántulas se trasplantaron a tubetes de plástico (310 cm^3) llenos a un 90%, de su capacidad, con una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita (2:1:1, respectivamente), previamente esterilizada en una autoclave horizontal, y 10% con inóculo de suelo forestal (A), raíces (B), raíces (C) y sustrato (D) (Cuadro 1), completando el 100% de la capacidad del tubete.

Durante el tiempo que duró el experimento, para evitar contaminación entre inóculos, las plántulas se mantuvieron en condiciones semi-controladas aisladas según el inóculo, en cámaras de crecimiento cerradas en donde se registró una temperatura promedio de 23.6°C , con una mínima de -0.6 en el mes de febrero y una máxima de 27.7°C en el mes abril

Obtención de inóculo

En el experimento fueron utilizados 3 inóculos y un testigo sin inocular (Cuadro1). Los cuatro tratamientos entonces fueron: A) Suelo forestal. En tres muestras de suelo tomadas al azar y mediante el método de cuarteo, se obtuvo una muestra representativa de 1kg de suelo. B) Raíces de plantas jóvenes. De 12 plantas tomadas al azar, colonizadas por ectomicorrizas, se extrajeron y evaluaron fragmentos de raíz con ayuda de un microscopio estereoscópico Zeiss®; C) Raíces de árboles adultos. Se extrajeron muestras de suelo de la línea de goteo de la copa de 12 árboles que contenían raíces micorrizadas, se lavaron y segmentaron y D) Sustrato. Misma mezcla de sustrato usado para el llenado de tubetes, sin especie fúngica (testigo). Todos los inóculos fueron almacenados en bolsas de plástico con cierre hermético a 5 °C, por un periodo no mayor a 72 horas.

Cuadro 1. Características, procedencia del inóculo micorrízico y condición de anegamiento aplicado en el experimento.

Clave	Inóculo	Procedencia	Condición de anegamiento
A	Suelo Forestal	<i>P. patula</i> – plantación, 20 años de edad Chignahuapan, Puebla.	Sin
B	Raíces	<i>P. leiophylla</i> – plantación, 1 año de edad Chignahuapan, Puebla.	Con
C	Raíces	<i>P. leiophylla</i> - huerto semillero (30 años). Montecillo, estado de México.	Sin
D	Sustrato (Control)	Mezcla de sustrato estéril	Sin

Tratamiento de anegamiento

Cuando las plantas tuvieron siete meses de edad, los tratamientos de anegamiento fueron aplicados bajo un diseño experimental de bloques completos al azar y con arreglo factorial de 2 x 4; 2 factores de anegamiento (con y sin) y 4 de inóculo (A, B, C, y D), con 5 repeticiones por tratamiento, generando un total de 40 plantas. Las plantas en tubetes fueron sumergidas en charolas de plástico, con capacidad de 58 L llenadas con agua corriente, hasta que se alcanzaron 3 cm de agua por encima del borde del tubete, de acuerdo con Vignolio, Maceira y Fernández (1994). Durante el experimento el nivel de agua fue mantenido suministrando agua para solventar la pérdida por evaporación, condición que se mantuvo durante 60 días. Mientras que en las plantas

testigo, que no se anegaron, se realizaron riegos periódicos según los requerimientos de cada planta.

Variables evaluadas

Al final del periodo de anegamiento, se seleccionaron entre 3 y 5 plantas por condición de anegamiento según la variable requerida. Semanalmente se registró **La supervivencia** considerando muerta aquella planta que mostrara daños por necrosis y/o marchitamiento a partir de 80% del total de la parte aérea. **Crecimiento** del diámetro al cuello de la raíz y la altura total de la planta se midieron con un vernier digital (precisión 0.1 mm) y con una regla graduada (precisión 1 mm), respectivamente, **Biomasa** se obtuvo con el peso seco del sistema radical y parte aérea, al final del experimento se secaron en una estufa cinco plantas a 70 °C por 48 horas. **La conductividad hidráulica de la raíz (K_r)** se evaluó al final del experimento, según el procedimiento de Siemens y Zwiazek (2003) donde la raíz desnuda de cada planta en la cámara de Scholander (Modelo 3005, Pressure Extractor. Plant Water Status, Soil moisture Equipment CORP) presurizada a 0.3, 0.6 y 0.9 MPa, en cada presión se registró el flujo de agua desplazada, a través del sistema radical y tallo, de la columna de agua que ascendió en la pipeta graduada conectada a la sección del tallo. La conductividad se calculó con la línea de regresión graficada contra la presión hidrostática, expresada como $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$. **El volumen de raíz** evaluado con una probeta graduada (precisión 1 ml). **La colonización micorrízica** se evaluó en dos

periodos, previo y al final del tratamiento de anegamiento. El suelo de las raíces fue eliminado cuidadosamente con regadera para quitar la tierra y una vez limpias se colocaron en agua destilada; posteriormente, se separaron en fragmentos de 2 cm. Con ayuda de un microscopio estereoscópico Zeiss® se cuantificaron las raíces micorrizadas, se efectuó una estimación del porcentaje de colonización por planta y de acuerdo con Agerer y Rambold (2015) se identificaron y caracterizaron los morfotipos presentes al final del experimento, diferenciando de cada uno, *color*, usando combinaciones de colores básicos, negro, azul, marrón, verde, gris, naranja, rosa, morado, rojo, blanco y amarillo, sujetos a claro y oscuro, sin usar términos que generan ambigüedad, como crema y ámbar (Goodman, Durall, y Trofymow, 2008), *tipo de ramificación*, y *forma* (Figura 1). Esto se realizó a 3 plantas por tratamiento de inóculo y anegamiento. Finalmente, **El contenido nutrimental** de cada inóculo se obtuvo una muestra compuesta por 5 plantas, generando 4 muestras de raíz y 4 de parte aérea por tratamiento de anegamiento y para ello se separaron la raíz y parte aérea de cada planta y las muestras se secaron en estufa a 70 °C durante 48 h. Se analizaron macronutrientes (N, P, K, Ca y Mg) y micronutrientes (Fe, Zn, Mn y Na) La evaluación de N se realizó por el método Bremner (1975) y P por colorimetría Olsen (1954), mientras que el K fue determinado por fotometría de flama, según Chapman & Parker (1986). El Ca y Mg, se evaluaron mediante determinación colorimétrica en un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian SpectrAA 220). Los micronutrientes Mn, Fe, Zn y Na fueron evaluados por absorción atómica, previa digestión con una mezcla HNO₃ y HClO₄ en proporción 2:1.

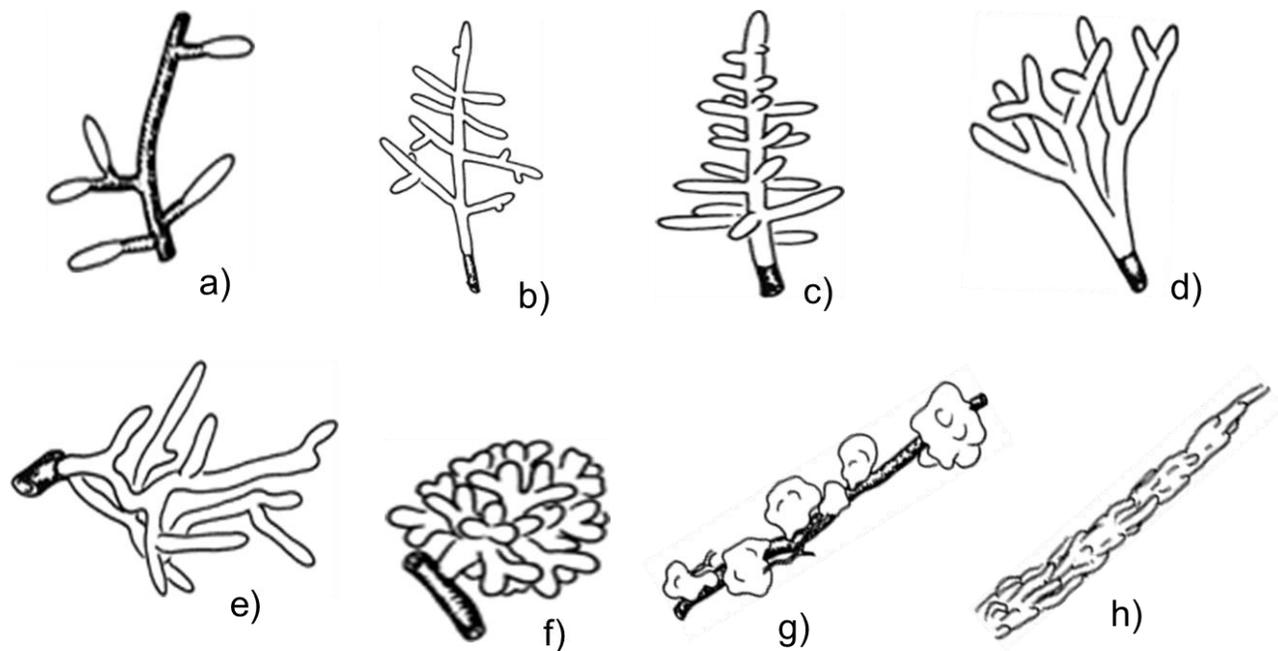


Figura 1. Tipos de ramificación: a) Simple; b) Monopodial pinnada; c) Monopodial piramidal; d) Dicotómica; e) Irregularmente pinnada; f) Coraloide; g) Tuberculada; h) Trenzada (Agerer & Rambold, 2015).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza en el que se cuantificó la variación debida a tratamientos y sus interacciones. También se efectuó una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$). Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS, versión 9.0 (SAS Institute, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento de anegamiento afectó diferencialmente la supervivencia de las plantas según el inóculo usado. Plantas sometidas al anegamiento, con el inóculo A, B y C tuvieron una mortalidad de alrededor de 40%, respecto a las no anegadas (testigo); mientras que en las plantas sin inóculo la mortalidad se incrementó en más de 85% (Figura 2).

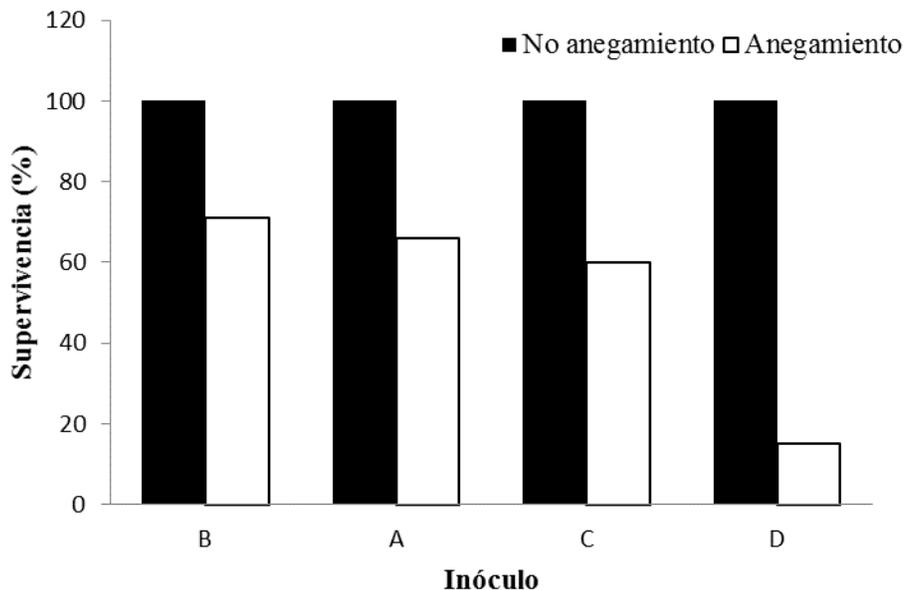


Figura 2. Supervivencia de plántulas inoculadas de *Pinus leiophylla* con y sin anegamiento. Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular.

Estos resultados indican que las micorrizas generaron beneficios importantes a las plantas sometidas a estrés por anegamiento. Algunos estudios han revelado que la producción de sustancias tóxicas generadas por condiciones de anegamiento, de

hipoxia y anoxia, son causas principales de declinación y muerte de las plantas. Aunque en el presente estudio no se analizó la producción de estas sustancias alrededor de las raíces anegadas, es muy probable que la liberación de sustancias como el etanol sean responsables de la mortalidad observada en el experimento, en el cual las plantas micorrizadas fueron menos susceptibles a morir. Resultados similares se observaron con plantas micorrizadas de *Casuarina equisetifolia* L. y *Prunus persica* (L.) Batsch quienes tuvieron mayor capacidad de adaptación y en consecuencia mayor supervivencia que las no micorrizadas cuando fueron sometidas a condiciones de anegamiento, debido a que las micorrizas evitaron la acumulación de productos asociados con la respiración anaeróbica como el etanol (He, Yang y Huang, 2008, Lacona, Cirilli, Zega, Frioni, Silvestri y Muleo, 2013; Nathalie, Diegane, Svistoonoffc, Kanea, Nobaa, Franchec, Boguszc, Duponnoisd, 2013)

Crecimiento y biomasa

Las plantas inoculadas, con los inóculos A y B sin anegamiento, incrementaron su crecimiento en altura y diámetro en aproximadamente 49 y 63.5%, respectivamente con relación a las no inoculadas; mientras que en anegamiento, los incrementos de las inoculadas fueron de 50 y 44.6%, respecto a las no inoculadas (Figuras 3 y 4 a y b)

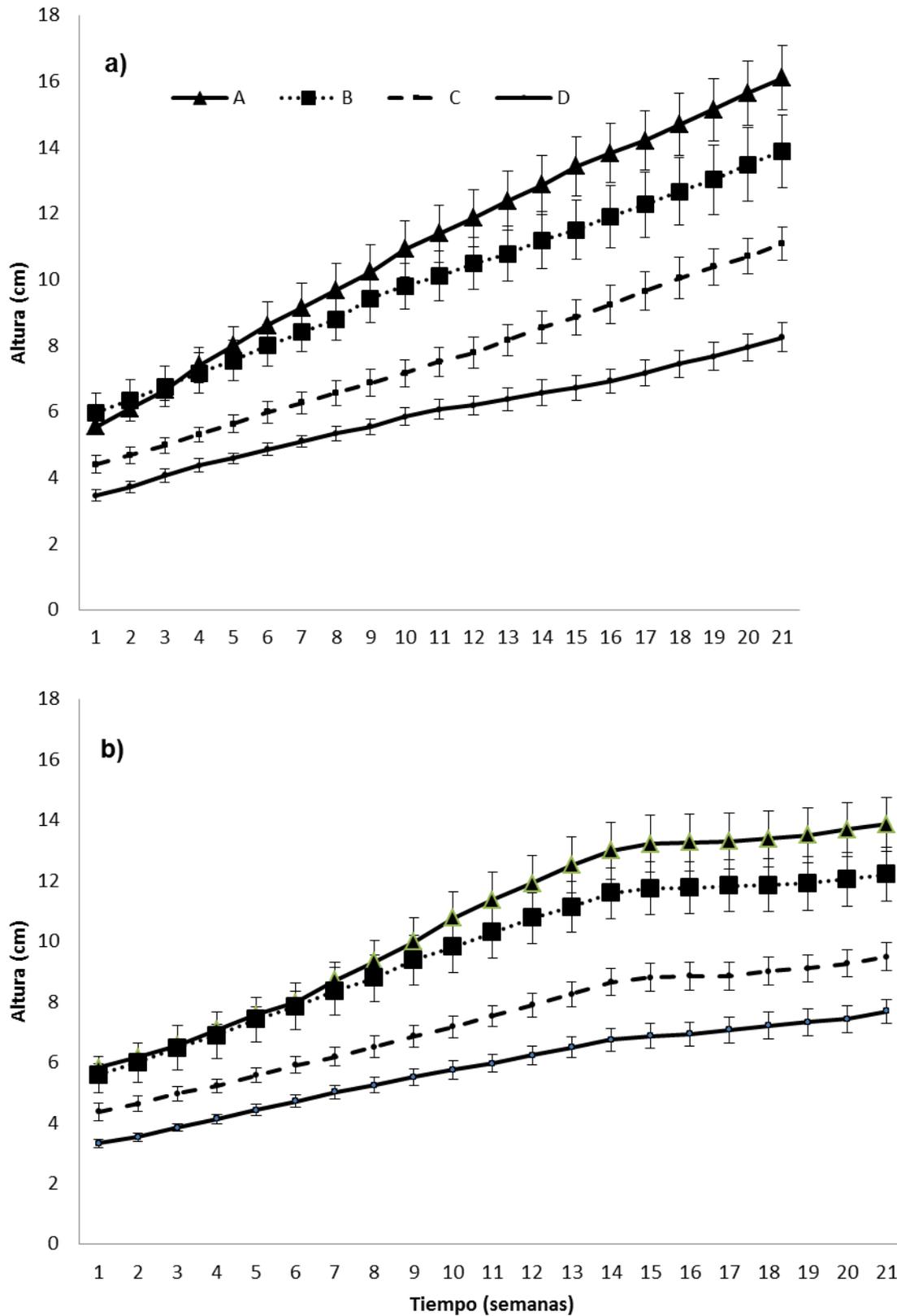


Figura 3. Altura de plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* sin (a) y con (b) anegamiento Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular. Valores promedio (n=5) ± error estándar.

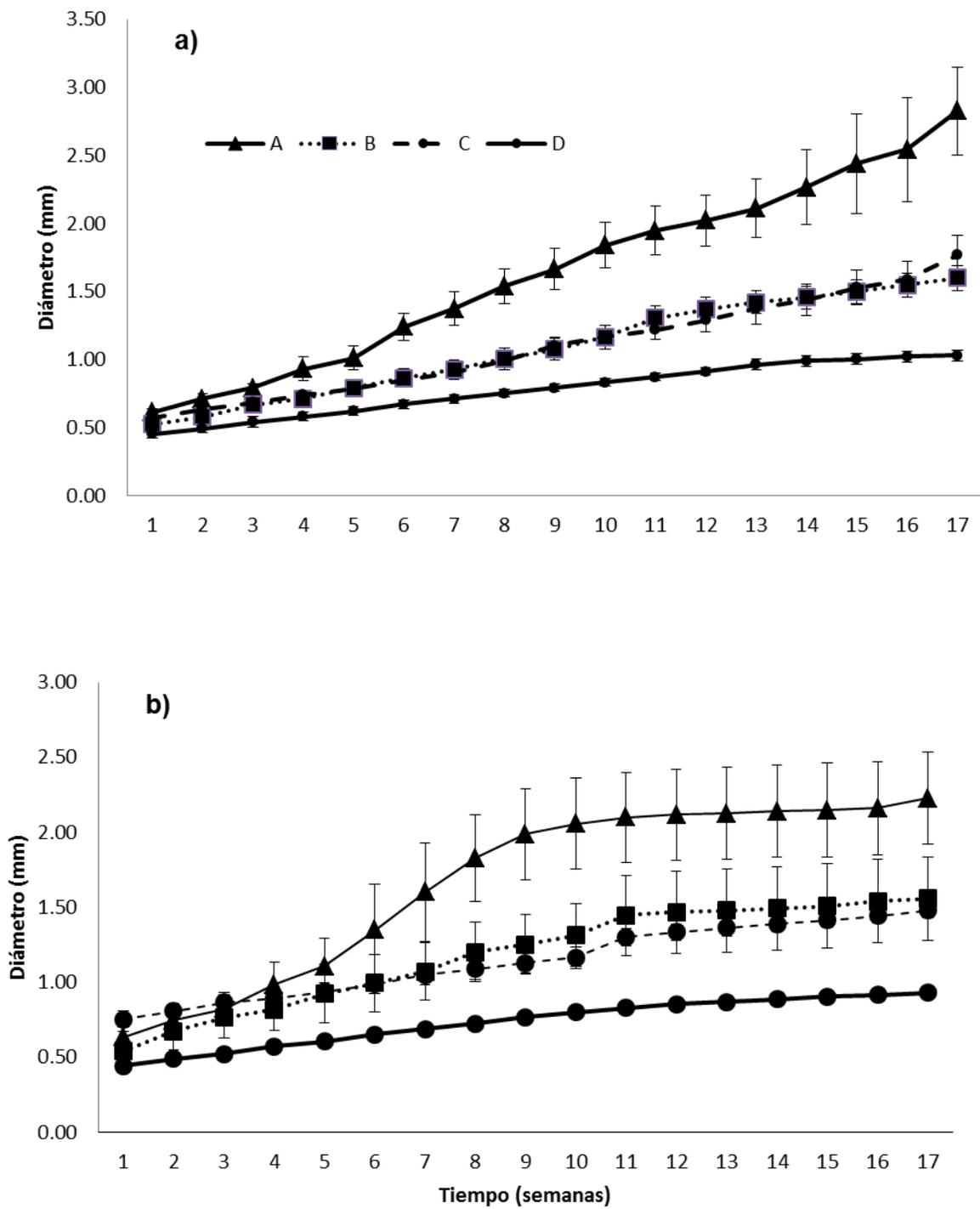


Figura 4. Diámetro de plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* sin (a) y con (b) anegamiento Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular Datos son promedios (n=5) ± error estándar.

Biomasa. El peso seco total de las plantas inoculadas, fue mayor independiente del inóculo y tratamiento, en comparación con las que no se inocularon, para ambos tratamientos, el inóculo A tuvo el mayor peso seco, en plantas no anegadas fue 4.3 y en plantas anegadas 3.5 veces mayor que las no inoculadas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Peso seco de parte aérea y raíz de plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla*. n=5 ± error estándar.

Tratamiento	Inóculo	Peso seco (mg)	
		Parte aérea	Raíz
No anegamiento	A	687.0 ±108.9	162.6 ± 28.4
	B	485.5 ± 29.2	133.9 ± 25.7
	C	128.7 ± 29.9	180.1 ±118.6
	D	70.8 ± 9.5	126.7 ± 28.8
		x̄=343	x̄=150.9
Anegamiento	A	367.4 ± 40.7	112.8 ± 23.1
	B	122.5 ± 19.6	120.5 ± 11.2
	C	88.9 ± 13.8	134.8 ± 30
	D	62.6 ± 5.5	75.9 ± 29.1
		x̄=160.3	x̄=111

Los beneficios de las micorrizas en el crecimiento y la producción de biomasa, han sido estudiados con anterioridad; Calvaruso, Turpault, Uroz, Leclere, Kies, y Pascale (2010), mencionaron que *Pinus sylvestris* L. inoculado con *Laccaria bicolor* obtuvo un mayor crecimiento de brotes. Por otro lado, estudios en campo y en vivero con varias especies forestales han indicado que la presencia de micorrizas en el sistema radicular mejora el vigor, crecimiento y biomasa de toda la planta debido a que las micorrizas incrementan el área radicular y facilitan el transporte de elementos nutritivos y agua (Hernández y Salas, 2009). En nuestro estudio, a pesar de que el anegamiento afectó

el crecimiento y producción de biomasa de manera considerable, las plantas inoculadas fueron menos afectadas en estos parámetros que las no inoculadas.

Conductividad hidráulica (*Kr*)

El anegamiento afectó significativamente a la conductividad hidráulica de plantas inoculadas anegadas y no anegadas, registrando una variación según el inóculo. El anegamiento generó un decremento de más de 50% en todas las plantas. Sin embargo entre las anegadas, las plantas con inóculo A y B presentaron los valores más altos de *Kr* que plantas con los otros inóculos (Figura 5). Lo que implica que hubo micorrizas que mantuvieron su actividad y facilitaron el transporte de agua durante el tratamiento de anegamiento.

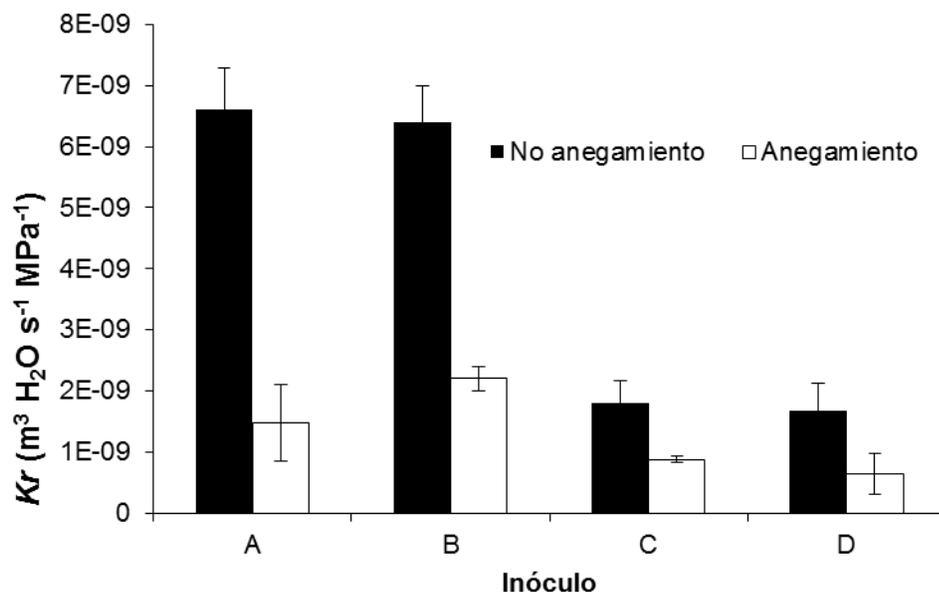


Figura 5. Conductividad hidráulica de la raíz (K_r) en plantas inoculadas de *Pinus leiophylla* de siete meses de edad para ambos tratamientos. Inóculo: A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces huerto semillero, D=Plantas sin inocular. Promedios \pm error estándar (n=5).

Según Calvo, Molina, Zamarreño, García, y Aroca. (2014) las micorrizas mejoran el transporte de agua a través del sistema radical en condiciones de anegamiento temporal; mencionan que las micorrizas modifican la estructura y morfología de las raíces y además también están relacionadas con la síntesis de auxinas y acuaporinas que influyen en el transporte hídrico en condiciones de baja concentración de oxígeno. En el presente estudio los inóculos A y B tuvieron mejor respuesta al anegamiento, probablemente por su mejor adaptación a esas condiciones por lo que es necesario realizar más estudios para conocer la simbiosis ideal entre huésped y simbiote, para enfrentar este tipo de estrés y que logren el establecimiento y crecimiento hasta una etapa sostenible de las plantas en sitios afectados por inundaciones temporales.

Colonización micorrízica

El anegamiento afectó de manera significativa la colonización micorrízica en los inóculos evaluados. Al final del tratamiento, el porcentaje de colonización del inóculo B se redujo en 6%; mientras que para el inóculo C el porcentaje se incrementó 12%; respecto a su testigo. Para los inóculos A y D los porcentajes no fueron afectados, aunque en plantas con inóculo A tendió a incrementar. El pequeño porcentaje de colonización, siempre inferior a 10%, observado en las plantas sin inocular se debió probablemente a contaminación de los propágulos micorrízicos existentes en el ambiente después de 7 meses que duró el bioensayo (Figura 6).

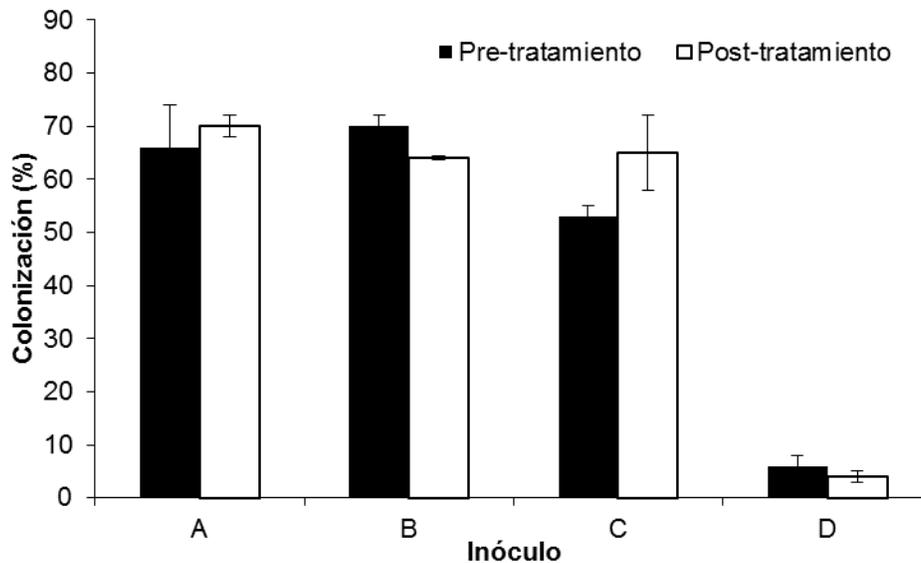


Figura 6. Porcentaje de colonización ectomicorrízica, con cuatro inóculos, en plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* al inicio (barras en color negro) y al final del tratamiento de anegamiento (barras en color blanco). A= Suelo forestal, B=Raíces Chignahuapan, C=Raíces Huerto Semillero, D= Plantas sin inocular. Las barras representan promedio (n=3) \pm el error estándar.

Estos resultados demuestran que los inóculos probados en el presente trabajo son capaces de superar periodos de anegamiento y mantenerse viables, lo cual coincide con el trabajo de Stenström, (1991) quien inoculó *Pinus sylvestris* con 5 especies de hongos micorrízicos diferentes y sometió las plantas a inundaciones periódicas, resultando que 3 especies no fueron sensibles a la inundación, pero 2 resultaron altamente sensibles. Existen pocos estudios acerca de la relación entre ectomicorrizas y el anegamiento, particularmente con especies del género *Pinus*, pero se cuenta con información de referencia para micorrizas arbusculares. Valino, Fiorilli, y Bonfante (2014), relacionaron la supervivencia del arroz a largos periodos de anegamiento gracias a su asociación con hongos micorrízicos, donde se llega a afectar directamente la colonización, pero no la funcionalidad de la micorriza; contrario a lo que mencionó Lodge (1989) quien no encontró asociación micorrízica entre especies fúngicas y los géneros *Populus* y *Salix* en condiciones de anegamiento.

Descripción macroscópica de morfotipos

En las plantas testigo (no anegadas) muestreadas al final del tratamiento se encontraron 9 morfotipos diferentes entre los inóculos probados. En contraste en los inóculos A, B, C y D se registraron solamente 3, 2, 3 y 1 morfotipo (figura 7) todos

presentan variación en el tipo de ramificación, color de estípites y ápices, resultando muy característicos (cuadro 3).



Figura 7. Morfotipos localizados en plantas testigo (no anegadas) de siete meses de edad, de *Pinus leiophylla* inoculadas con cuatro inóculos. Fotografías tomadas con cámara Olympus SZ61 modelo S22-LGB y microscopio Olympus BX51Inoculo A: A1=2.4x, A2=1.5x, A3=1.8x; B: B1=3.5x, B2=0.67x; C:C1=3.5x, C2=2.0x, C3=4.2x; y D:D1=3.9x. Cada figura representa el muestreo de tres plantas por inóculo.

Cuadro 3. Descripción macroscópica de los morfotipos presentes en plantas no anegadas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* (Figura 7).

Morfotipo	Ramificación dominante	Color		Presencia de hifas emanantes
		Estípite	Ápices	
A1	Coraloide		Amarillo	
A2	Simple	Amarillo	Amarillo claro	
A3	Dicotómica		Marrón claro	No
B1	Simple	Marrón	Blanco	
B2	Irregular pinnada	Marrón	Amarillo	
C1	Dicotómica	Negro	Marrón	Si
C2	Dicotómica		Marrón	No
C3	Dicotómica	Marrón	Blanca	Si
D1	Dicotómica	Amarillo	Amarillo claro	No

En las plantas sometidas a anegamiento y muestreadas al término del tratamiento, se encontraron 8 morfotipos diferentes, para los 4 inóculos (figura 8), algunos también presentes en las plantas testigo con diferencias marcadas en el tipo de ramificación, color de estípite y ápices, además de la presencia de hifas (cuadro 4). Para el inóculo A, se mantuvo el morfotipo A1 previo y posterior al anegamiento, mientras que los morfotipos A2 y A3, no soportaron las condiciones de estrés. Para el inóculo B, los morfotipos B1 y B2 se mantuvieron aun después del anegamiento y adicionalmente se registró un nuevo morfotipo B3, para el inóculo C, los morfotipos C1 y C2 no se encontraron posterior al anegamiento, C3 si se registró y se obtuvo un nuevo morfotipo C4, derivado del anegamiento, mientras que para el inóculo D, el único morfotipo

registrado previo al anegamiento no se presentó, posterior a esta condición se obtuvieron 2 morfotipos nuevos D2 y D3.

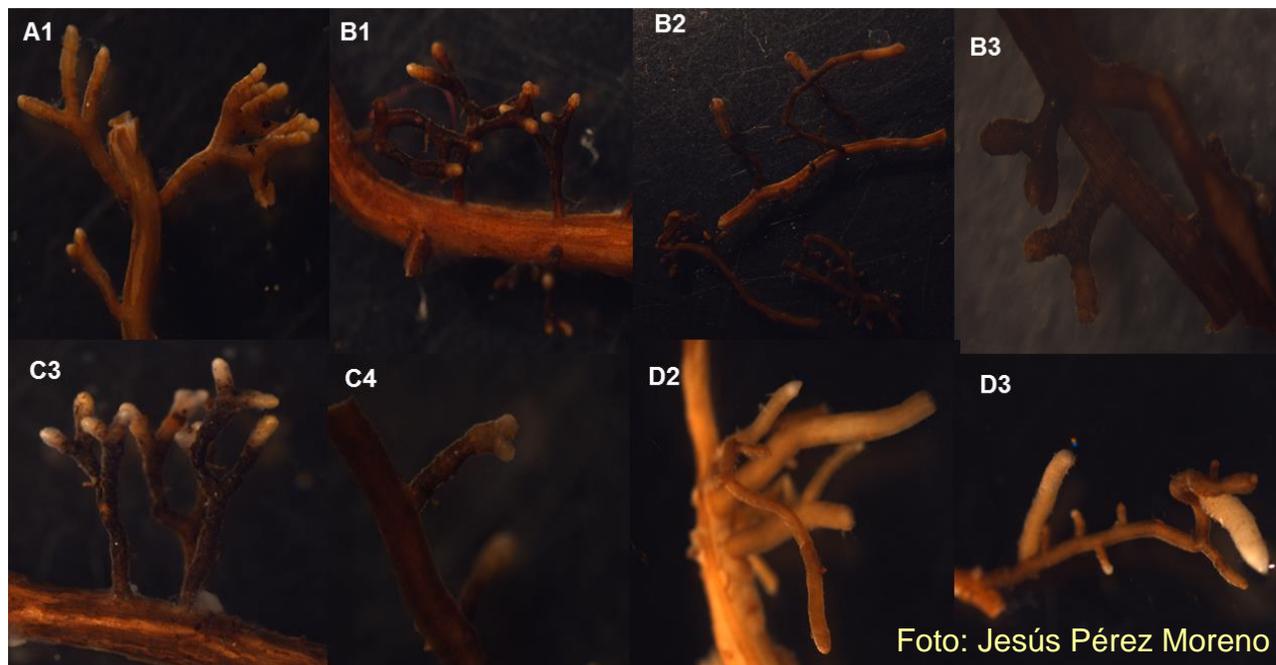


Figura 8. Morfotipos localizados en plantas anegadas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* inoculadas con cuatro inóculos. Fotografías tomadas con cámara Olympus SZ61 modelo S22-LGB y microscopio Olympus BX51. Inóculo: A: A1=1.74x; B: B1=2.1x, B2=0.67x, B3=3.4x; C:C3=1.8x, C4=2.4x; D:D2=1.4x, D3=1.5x. Cada figura representa el muestreo de tres plantas por inóculo. (Foto: Jesús Pérez Moreno)

Los resultados mostraron una variación en el número de morfotipos previa y posteriormente al anegamiento de las plantas, originada por el cambio en el ambiente de crecimiento. No existe amplia información sobre la relación entre el anegamiento del género *Pinus* y la diversidad de especies fúngicas, pero se tiene referencia de otros tipos de estrés y hongos micorrízicos arbusculares, dichos estudios mencionan que la riqueza de especies fúngicas se ve alterada al modificarse las condiciones de crecimiento de las plantas. Fajardo, Cuenca, Arrindell, Capote, Hasmy (2011), quienes observaron una mayor riqueza de especies micorrízicas arbusculares en ambientes

degradados, en comparación con aquellos restaurados y sin presencia de estrés. Chimal, Araiza y Román (2015) observaron que en especies de matorral xerófilo afectados por fuego, disminuyó el número de especies micorrízicas arbusculares cuando se presentó dicha condición, en comparación con aquellas áreas sin estrés. Recientemente, Henke, Martina y Kothe. (2015) encontraron que la simbiosis micorrízica establecida entre *Tricholoma vaccinum* (Schaeff.) Kumm. con *Picea abies* (L.) Karst. es capaz de formar tanto manto como red de Hartig en cultivo hidropónico,, lo cual demuestra la funcionalidad de la simbiosis micorrízica en condiciones de anegamiento.

Cuadro 4. Descripción macroscópica de morfotipos en plantas anegadas de siete meses de *Pinus leiophylla* (Figura 8).

Morfotipo	Ramificación dominante	Estípite	Color		Presencia de hifas emanantes
				Ápices	
A1	Coraloide		Amarillo		
B1	Simple	Marrón		Blanco	No
B2	Irregular pinnada	Marrón		Amarillo	
B3	Dicotómica	Marrón		Café	No
C3	Dicotómica	Marrón		Blanca	Si
C4	Dicotómica	Marrón		Marrón claro	
D1	Dicotómica	Amarillo		Amarillo claro	No

Contenido nutrimental

El contenido de macronutrientes en acículas y raíz, disminuyó cuando las plantas se sometieron al anegamiento, con excepción de Ca, P y K quienes incrementaron posterior al anegamiento en raíz, para los inóculos A y C respectivamente (Cuadro 5). Este efecto benéfico de la inoculación en el contenido de macronutrientes concuerda con lo mencionado por Carrasco, Pérez, Espinoza, Almaraz, Quintero y Torres (2011), quienes registraron un mayor contenido nutrimental en *Pinus patula* y *Pinus pseudostrobus* inoculados con hongos ectomicorrízicos de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*. Chalot, Blaudez y Brun (2006) mencionaron que las plantas adquieren nutrientes del suelo, gracias a su asociación con hongos ectomicorrízicos, y según Jentschke, Brandes, Kuhn, Schroder y Godbold (2001), el flujo de N, P y K, en las hifas fúngicas, se da de manera interdependiente.

Por otro lado, existió una disminución generalizada del contenido nutrimental en las plantas (acículas y raíz), posterior al anegamiento, con excepción del inóculo A quien registró incrementos de Fe y Zn en acículas y raíz, además del incremento en Na y Mn en acículas, seguido del inóculo C con un incremento de Fe y Mn en raíz, posterior al anegamiento (Cuadro 6). Aunque en otros trabajos se ha reportado que el anegamiento que ocasiona un nivel reducido de oxígeno para las plantas en los suelos también dificulta la disponibilidad de micronutrientes, en particular Fe (Aguado,

Moreno, Jiménez, García,preciado, 2012) En el presente trabajo, las micorrizas pudieron influir en el paso de Fe a través de la raíz.

Cuadro 5. Contenido de Macronutrientes, en parte aérea y raíz, para plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* con (A) y sin (NA) anegamiento (testigo). Promedio \pm error estándar (n=5).

Inóculo	N		P		K		Ca		Mg	
	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A
Acículas										
A	6.4 \pm 1.0	0.002 \pm 0.00023	2088.7 \pm 331.0	0.02 \pm 0.1	3039.8 \pm 481.8	0.3 \pm 0.2	1711.8 \pm 271.3	0.5 \pm 0.3	1537.6 \pm 243.7	0.3 \pm 0.2
B	2.5 \pm 0.9	0.8 \pm 0.1	1156.2 \pm 415.7	290.1 \pm 46.3	1614.2 \pm 580.3	411.9 \pm 65.8	1704.7 \pm 612.9	435.3 \pm 69.5	1302.8 \pm 468.4	440.2 \pm 70.3
C	1.2 \pm 0.3	0.5 \pm 0.08	590.8 \pm 137.2	388.0 \pm 60.2	592.5 \pm 137.6	306.0 \pm 47.5	831.4 \pm 193.0	605.9 \pm 93.1	598.5 \pm 138.1	468.7 \pm 72.7
D	0.7 \pm 0.1	0.005 \pm 0.0004	409.9 \pm 55.1	293.0 \pm 25.6	315.3 \pm 42.4	282.0 \pm 24.6	665.6 \pm 89.5	481.1 \pm 42.0	476.7 \pm 64.1	393.5 \pm 34.4
Raíz										
A	1.7 \pm 0.3	0.6 \pm 0.1	650.5 \pm 13.6	234.7 \pm 48.0	581.2 \pm 101.5	53.9 \pm 11.0	532.5 \pm 92.9	598.2 \pm 122.5	548.5 \pm 95.7	333.1 \pm 68.4
B	1.0 \pm 0.2	0.9 \pm 0.08	427.9 \pm 96.7	135.7 \pm 12.6	243.6 \pm 55.0	103.0 \pm 9.5	540.4 \pm 122.1	271.2 \pm 25.1	524.5 \pm 118.5	228.5 \pm 21.2
C	1.0 \pm 0.7	0.8 \pm 0.2	298.5 \pm 196.5	299.6 \pm 66.7	49.6 \pm 32.7	128.8 \pm 28.7	1781.7 \pm 1172.7	1363.5 \pm 303.6	784.9 \pm 516.6	578.5 \pm 128.8
D	0.7 \pm 0.1	0.4 \pm 0.2	409.1 \pm 55.2	143.5 \pm 55.0	315.3 \pm 42.4	38.5 \pm 14.8	665.6 \pm 89.5	557.2 \pm 213.9	476.7 \pm 64.1	328.9 \pm 126.2

Cuadro 6. Contenido de Micronutrientes, en parte aérea y raíz, para plantas de siete meses de edad de *Pinus leiophylla* con (A) y sin (NA) anegamiento (testigo). Datos son promedios (n=5) \pm error estándar.

Inóculo	Fe		Zn		Mn		Na	
	NA	A	NA	A	NA	A	NA	A
Acículas								
A	44.2 \pm 7.0	116.9 \pm 12.9	21.7 \pm 3.4	24.4 \pm 2.7	55.8 \pm 8.8	63.7 \pm 7.0	957.1 \pm 151.7	1570.6 \pm 173.9
B	46.1 \pm 16.6	11.2 \pm 1.0	27.2 \pm 9.8	4.3 \pm 0.4	35.4 \pm 12.7	5.9 \pm 0.5	1119.1 \pm 402.7	454.5 \pm 39.7
C	10.0 \pm 2.3	8.5 \pm 1.3	7.8 \pm 1.8	5.5 \pm 0.9	12.2 \pm 2.8	5.2 \pm 0.8	472.1 \pm 109.6	469.4 \pm 72.8
D	9.1 \pm 1.3	9.6 \pm 1.5	6.3 \pm 0.8	7.6 \pm 1.2	8.4 \pm 1.1	7.0 \pm 1.1	217.6 \pm 29.3	486.2 \pm 77.6
Raíz								
A	24.0 \pm 4.2	111.8 \pm 22.9	25.9 \pm 4.5	31.5 \pm 6.4	62.9 \pm 10.9	16.5 \pm 3.4	304.8 \pm 53.2	159.9 \pm 32.7
B	51.9 \pm 11.7	39.5 \pm 15.1	20.2 \pm 4.6	26.6 \pm 10.2	29.9 \pm 6.8	1.9 \pm 0.7	312.5 \pm 70.6	132.0 \pm 50.7
C	85.3 \pm 56.1	124.7 \pm 27.8	75.6 \pm 49.7	44.4 \pm 9.9	5.1 \pm 3.4	13.1 \pm 2.9	236.1 \pm 155.4	163.8 \pm 36.5
D	37.2 \pm 8.4	16.1 \pm 1.5	54.9 \pm 12.5	26.4 \pm 2.4	5.3 \pm 1.2	5.0 \pm 0.5	137.8 \pm 31.3	174.0 \pm 16.1

CONCLUSIONES

El anegamiento afectó negativamente la actividad de las micorrizas pero no su viabilidad; por lo que plantas micorrizadas de *P. leiophylla* tuvieron mayor supervivencia que las no micorrizadas.

La colonización micorrízica permitió un mejoramiento en el funcionamiento del sistema radical, lo cual se reflejó en el crecimiento, biomasa, y conductividad hidráulica, e incremento de la translocación de macro y micronutrientes en las plantas micorrizadas, aún con la presencia de estrés, respecto de las no inoculadas.

Los inóculos con la mejor respuesta al anegamiento fueron el A y B, por lo que la identificación de la o las micorrizas de estas especies fúngicas es necesaria para su recomendación en programas de reforestación de sitios con problemas de anegamiento.

De estandarizarse, la aplicación de los inóculos micorrízicos utilizados en esta investigación tiene potencial para su utilización en programas de inoculación de plantas en vivero.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero del Proyecto CONACyT 246674.

REFERENCIAS

Agerer, R. and Rambold, G. (2015). DEEMY. An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae. München, Germany. URL: <http://www.deemy.de>

Aguado, G. A., Moreno, G. B., Jiménez, F. B., García, M. E., Preciado, O. R. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 35(1). 9-21. URL: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v35n1/v35n1a4.pdf>

Bremner, J.M. (1975) *Total nitrogen*. In: *Black CA (ed) Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9*: 1149-1178. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

Carrasco, H. V., Pérez, M. J., Espinosa, H. V., Almaraz, S. J.J., Quintero, L.R., Torres, A.M. (2011). Contenido de nutrientes e inoculación con hongos ectomicorrízicos comestibles en dos pinos neotropicales. *Bosque 84*. 83-96. doi: 10.4067/S0716-078X2011000100006

- Calvaruso, C., Turpault, M.-P., Uroz, S., Leclerc, E., Kies, A., Frey-Klett, P. (2010). Laccaria bicolor S238N improves Scots pine mineral nutrition by increasing root nutrient uptake from soil minerals but does not increase mineral weathering. *Plant and Soil*, 328 (1-2). 145-154. doi: 10.1007/s11104-009-092-0
- Calvo, P., Molina, S., Zamarreño, A.M., García, M. J.M. and Aroca R. (2014). The Symbiosis with the Arbuscular Mycorrhizal Fungus Rhizophagus irregularis Drives Root Water Transport in Flooded Tomato Plants. *Plant Cell Physiol* 55 (5): 1017-1029.
- Chalot, M., Blaudez, D., & Brun. A. (2006) Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends plant science.* 11.: 263-266. URL: http://ac.els-cdn.com/S136013850600104X/1-s2.0-S136013850600104X-main.pdf?_tid=1df9f7bebf9a-11e5-adcc0000aacb361&acdnat=1453310615_4b7e57fc82465a685663036bcfce7c52
- Chapman, HD & Parker, FP. (1986) *Métodos de análisis para suelos, plantas y agua*. Quinta reimpresión. Editorial Trillas, México, DF.
- Chimal, S. E., Araiza, J. M. L., Román, C. V. J. (2015). El efecto del fuego en la riqueza de especies de hongos micorrízicos arbusculares asociados a plantas de matorral xerófilo, en el parque ecológico “cubitos”. *Revista especializada en ciencias Químico-biológicas*. 18 (2). 107-115. doi: 10.1016/j.recqb.2015.09.002

De la cruz, J.J., Moreno, L. P., Magnitkiy, S. (2012). Respuesta de las plantas a estrés por inundación. *Revista colombiana de ciencias hortícolas*. Vol. 6 (1) 96-109. URL:<http://www.soccolhort.com/revista/pdf/magazin/Vol6/Vol.6%20No.1/Vol.6%20No.1.%20Art.9.pdf> (27 de junio de 2015).

Fajardo, L., Cuenca, G., Arrindell, P., Capote, R., Hasmy, Z. (2011). El uso de los hongos micorrízicos arbusculares en las prácticas de restauración ecológicas. *Interciencia*. Vol. 32. (12). 931 a 936. URL: http://www.interciencia.org/v36_12/931.pdf

Ferrari, A. E. y Wall L. G. (2004). Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Revista de la facultad de agronomía, La Plata*. 105 (2), 63-87. URL:http://www2.agro.unlp.edu.ar/uploads/R/Ag105_2_63_87.pdf

Gernandt, D. y Pérez, J. (2014). Biodiversidad de Pinophyta en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Supl. 85. 126-133. doi: 10.7550/rmb.32195

Gómez, R. M., Villegas, J., Sáenz, R. C., Lindig, C. R. (2013). Efecto de la micorrización en el establecimiento de *Pinus pseudostrobus* en cárcavas. *Madera y bosques*. Vol 19 (3). 51-63. URL:<http://www1.inecol.edu.mx/myb/resumeness/19.3/myb1935163.pdf>

Goodman, D.M., Durall, D.M., Trofymow, J.A., (2008). Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizae. Canada-British Columbia Partnership Agreement On Forest Resource Development: Frda II.
URL:http://forestrydev.org/biodiversity/bcern/cde/index_e.html

He, K., Yang, J., Huang, L. (2008). Physiological responses of seedlings of two oak species to flooding stress. *Forestry Studies in China*. 10 (4). 259-264.doi: 10.1007/s11632-008-0046-2

Henke, C., Martina, J. E., Kothe, E. (2015). Hartig'net formation of *Tricholoma vaccinum*-spruce ectomycorrhiza in hydroponic cultures. *Environ Sci Pollut Res*. 22.19394-19399. doi: 10.1007/s11356-015-4354-5

Hernández W. y Salas E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía Costarricense*. 33 (1). 17-30.
URL:<http://www.revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/6732/6420>

Jentschke, G., Brandes, B., Kuhn, A., Schroder, W., and Godbold, D. (2001). Interdependence of phosphorus, nitrogen, potassium, and magnesium translocation by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *New phytologist*. 149. 327-337. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1469-8137.2001.00014.x/pdf>

- Lacona, C., Cirilli, M., Zega, A., Frioni, E., Silvestri, C., and Muleo, R. (2013). A somaclonal myrobalan rootstock increases waterlogging tolerance to peach cultivar in controlled conditions. *Scientia Horticulturae*. 156 (7). 1-8.
- Lodge, D.J. (1989). The influence of soil moisture and flooding on formation of VA-endo-and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant and Soil*. Vol. 117. 243-253. URL:<http://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02220718#page-1>
- Martínez, R. M., Pérez, M. J., Villareal, R. L., Ferrera, C. R., Xoconostle, C. B., Vargas, H. J. J., Honrubia, G. M. (2012). Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* Engelm. inoculado con el hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. Vol 18 (2). 183-192. doi: 10.5154/r.rchscfa.2010.11.112.
- Méndez, G. J., Navar, C. J., González, O. V. (2007). Análisis de tendencias de precipitación (1920-2004) en México. *Investigaciones geográficas*. Boletín del instituto de geografía, UNAM. Núm. 65. 38-55. URL:<http://www.ejournal.unam.mx/rig/RIG065/RIG000006503.pdf>
- Moreno, A. C. & Fischer, G. (2014). Efectos del anegamiento en los frutales. *Temas Agrarios*. Vol. 19 (1).106-123. URL:https://www.researchgate.net/publication/274065256_Efectos_del_anegamiento_en_los_frutales_Una_revision

Nathalie, D., Diegane, D., Svistoonoffc, S., Kanea, A., Nobaa, K., Franchec, Boguszc, C.D., Duponnoisd, R. (2013). Casuarina in Africa: Distribution, role and importance of arbuscular mycorrhizal, ectomycorrhizal fungi and Frankia on plant development. *Journal of Environmental Management*. 128. 204–209.

Olsen, S. R., Watanabe, F. S., & Dean, L. A. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United states department of agriculture. Washington, D.C. Circular No. 939.

Pedraza, O. R., Teixeira, K. R., Fernández, S. A., García, S. I., Baca, B. E., Azcón, R., Baldani, V., Bonilla, R. (2010). Microorganisms that improve plant growth and soil quality. Review. *Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria*.
Vol 11 (2).155-164.
URL:<http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Revista/Microorganismos.pdf>

Pérez, M. J., Read, D. J. (2004). Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*. Vol. 29 (5). 239 - 247. URL:http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442004000500004&script=sci_arttext&tlng=es (29 de junio de 2014)

Sairam, R.K. (2008). Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biologia Plantarum*. Vol. 52 (3). 401-412. URL:
<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10535-008-0084-6#/page-1>

Tedersoo, L., May, T. W., Smith, M. E. (2010). Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*. Vol 20. 217-263. doi 10.1007/s00572-009-0274-x

Valino, M., Fiorilli, V., Bonfante, P. (2014). Rice flooding negatively impacts root branching and arbuscular mycorrhizal colonization, but not fungal viability. *Plant Cell Environ.* 37(3).557-72. doi: 10.1111/pce.12177.

Vignolio, O. R., Maceira, N. O., Fernández, O. N. (1994). Efectos del anegamiento en invierno y verano sobre el crecimiento y la supervivencia de *Lotus tenuis* y *Lotus corniculatus*. *Ecología Austral.* 4. 19-28.
URL:<http://www.ecologiaaustral.com.ar/files/4-1-2.pdf> (14 de octubre de 2015).

Weishuang, Z., Morris, E. K., Rilling, M. C. (2014). Ectomycorrhizal fungi in association with *Pinus sylvestris* seedlings promote soil aggregation and soil water repellency. *Soil Biology & Biochemistry.* 78 326-331. doi: 10.1016/j.soilbio.2014.07.015

CONCLUSIONES GENERALES

La asociación de hongos ectomicorrízicos con especies forestales, representa una alternativa para la repoblación de sitios de interés forestal con problemas de degradación de suelo, originados por el anegamiento.

La reforestación de áreas forestales representa una iniciativa para la mitigación del cambio climático gradual en el planeta. El presente trabajo demuestra que la ectomicorrización de *P. leiophylla* es un factor crucial en la supervivencia, crecimiento y funcionamiento de dicha especie en condiciones de anegamiento.

Es necesario el desarrollo de un mayor número de investigaciones en torno a los factores que podrían contribuir a incrementar la tolerancia de las especies forestales a las condiciones de anegamiento, incluyendo de manera relevante sus simbiontes ectomicorrízicos.

ANEXOS



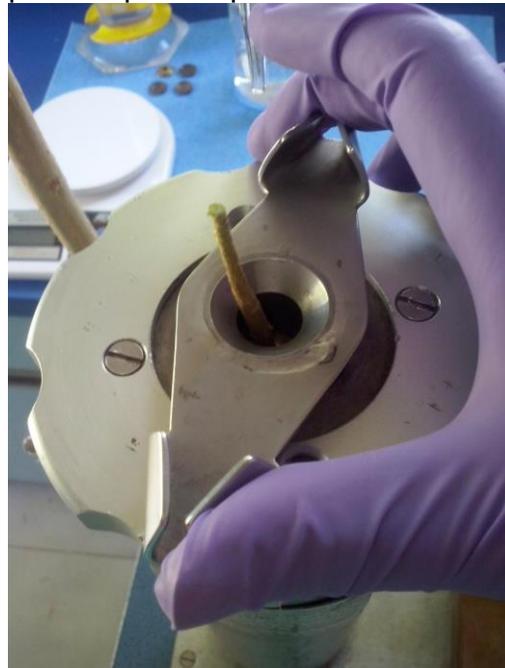
Plantas de *Pinus leiophylla* en contenedor de plástico para anegamiento



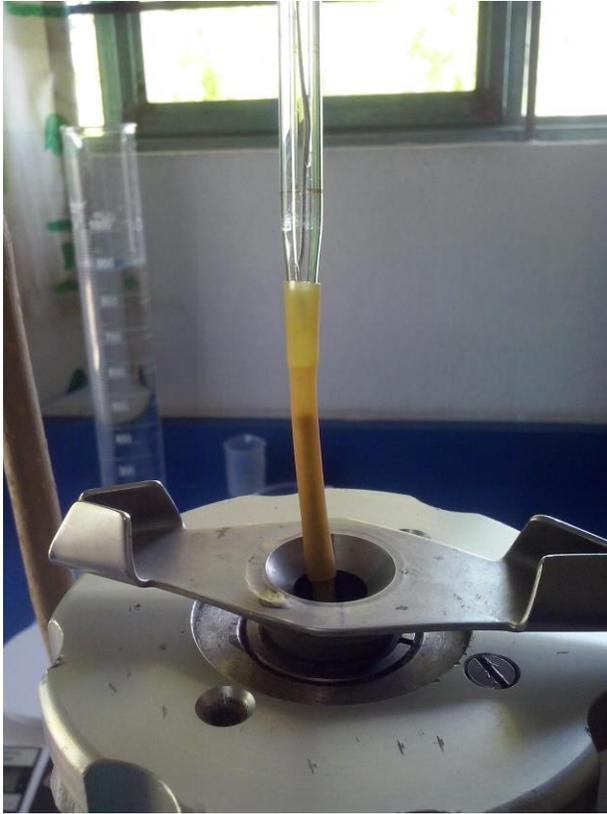
Recuperación del nivel de agua, tras pérdida por evaporación



Plantas de *Pinus leiophylla* hidratándose, para la medición de conductividad hidráulica de la raíz.



Cuello de la raíz de *Pinus leiophylla* en Cámara de Scholander



Desplazamiento de flujo de agua de plantas de *Pinus leiophylla* en cámara de Scholander



Raíz de *Pinus leiophylla* con presencia de morfotipos micorrízicos



Plantas de *Pinus leiophylla* inoculadas con hongos ectomicorrízicos