



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



**EFFECTO DE *Rhizobium* spp. y *Boletus frostii* EN EL CRECIMIENTO DE
PLÁNTULAS DE *Quercus resinosa***

Por:

Eyra Judith Hernández Hernández

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de
Ingeniera Agroecóloga**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



**EFECTO DE *Rhizobium* spp. y *Boletus frostii* EN EL CRECIMIENTO DE
PLÁNTULAS DE *Quercus resinosa***

Por:

Eyra Judith Hernández Hernández

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de
Ingeniera Agroecóloga**

Asesores

Dr. Jorge Alberto Flores Cano

M. C. Clara T. Monreal Vargas

Dr. Heriberto Méndez Cortés

El trabajo de tesis titulado **EFFECTO DE *Rhizobium spp.* y *Boletus frostii* EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Quercus resinosa*** fue realizado por: Eyra Judith Hernández Hernández como requisito parcial para obtener el título de “Ingeniera Agroecóloga” y fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis

Dr. Jorge Alberto Flores Cano
Asesor

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jorge Flores', is written over a horizontal line.

M. C. Clara T. Monreal Vargas
Asesora

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Clara T. Monreal', is written over a horizontal line.

Dr. Heriberto Méndez Cortés
Asesor

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Heriberto Méndez', is written over a horizontal line.

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S. L. P. a los 12 días del mes de mayo de 2014.

A Dios porque es el que me da la vida y las fuerzas para seguir adelante.

A mis padres porque con su demostración de amor siempre me dan ánimos de continuar hasta alcanzar mis propósitos.

A mis hermanos porque los amo y porque con su demostración de cariño siempre me han impulsado a hacer las cosas bien.

A mi comité de Tesis porque sin su apoyo no hubiera sido posible terminar este trabajo.

A mis profesores de la Facultad de Agronomía y Veterinaria por darme las herramientas necesarias para desarrollar esta investigación.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por acompañarme todos los días de mi vida y permitirme llegar a este momento de mi desarrollo profesional.

A mis Padres por darme la confianza, amor, consejos, valores y todo lo necesario para concluir mis estudios.

A mis hermanitos por estar ahí siempre.

A mi familia en general (abuelitos, tíos, primos) por darme su apoyo incondicional, a mi tío el P. Balta por escucharme y ayudarme a ver lo positivo de las cosas.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por crear el ambiente para el desarrollo de los estudiantes.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria por los espacios para lograr esta meta.

Al financiamiento recibido por el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEPE) Convenio PROMEP/103.5/11/3671, denominado Apoyo a la Incorporación de NPTC. A través del Dr. Jorge Alberto Flores Cano.

Al financiamiento recibido por el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEPE) Convenio PROMEP/103.5/13/6575, denominado Apoyo a la Incorporación de NPTC. A través del Dr. Heriberto Méndez Cortés.

A mis profesores de la Facultad de Agronomía y Veterinaria por transmitirme sus conocimientos y su experiencia profesional.

A la Maestra Clara Monreal Vargas por su valiosa amistad y su apoyo incondicional en todo momento.

Al Dr. Jorge Flores Cano por su tiempo al escuchar y darme ánimos para continuar.

Al Dr. Heriberto Méndez y Dr. Ramón Jarquin por su interés en mis estudios.

A mis compañeros de generación de la Facultad y a los de otras generaciones, por su interés y sus buenos deseos para finalizar esta tesis.

A mis amigas: Eva, Adriana y Carolina, por transmitirme su alegría y por compartir momentos conmigo.

A todos los que directa o indirectamente me ayudaron en la realización de este proyecto.

CONTENIDO

	Páginas
DEDICATORIAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	4
Hipótesis.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
<i>Quercus</i> spp.....	5
<i>Quercus resinosa</i> Liebm.....	6
Características botánicas.....	6
Distribución y hábitat.....	8
Rizósfera.....	9
Micorrizas.....	10
Ectomicorrizas (ECM).....	11
Endomicorrizas.....	11
Ectendomicorrizas.....	11

Asociación Ectomicorrízica.....	12
Taxonomía de Hongos Ectomicorrícicos.....	17
Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas (PGPR).....	17
Producción de sustancias que movilizan nutrientes.....	18
Micorrizósfera y PSRB.....	21
Interacción <i>Rhizobium</i> y Ectomicorriza en Especies Forestales.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Localización del Sitio Experimental.....	25
Material Biológico.....	25
Obtención de plántulas de <i>Quercus resinosa</i>	25
Inoculo de <i>Boletus frostii</i>	25
Inoculo de <i>Rhizobium</i> spp.....	26
Inoculación.....	26
Estado Nutricional de las Plántulas.....	26
Tratamientos y Diseño Experimental.....	27
Variables Evaluadas.....	27
Análisis Estadístico.....	28
RESULTADOS.....	29
Identificación de <i>Boletus frostii</i>	29
Efecto de los Tratamientos en la Supervivencia.....	30
Efecto de los Tratamientos en el Diámetro de las Plántulas.....	32
Efecto de los Tratamientos en la Altura de Plántulas.....	32

Efecto de los Tratamientos en el Desarrollo del Número de Hojas.....	33
Efecto de los Tratamientos en el Peso Seco.....	34
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIONES.....	44
LITERATURA CITADA.....	45

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Diferencias entre encinos blancos (<i>Q. resinosa</i>) y encinos rojos (<i>Q. magnoliifolia</i>).....	8
2	Clasificación taxonómica de <i>Boletus frostii</i>	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diagrama de solubilización de los fosfatos en la micorrizósfera y la absorción de P por la micorriza.....	22
2	Esporocarpos de <i>Boletus frostii</i> recolectados en un rodal de <i>Quercus resinosa</i> en la Sierra de Álvarez, S. L. P.....	29
3	Efecto de la inoculación de <i>Rhizobium</i> y/o <i>B. frostii</i> en la sobrevivencia de las plántulas, determinada a los 35 días. (A) Plántulas inoculadas con hongo, (B) Plántulas inoculadas con bacteria, (C) Plántulas coinoculadas con hongo y bacteria, (D) Plántulas testigo.....	31
4	Efecto de <i>B. frostii</i> y <i>Rhizobium</i> sobre el diámetro de las plántulas de <i>Q. resinosa</i> durante 335 días de evaluación. Los datos representan el diámetro medio \pm el error estándar.....	32
5	Efecto de <i>B. frostii</i> y <i>Rhizobium</i> sobre el incremento en altura de las plántulas de <i>Q. resinosa</i> durante 335 días de evaluación. Los datos representan la altura promedio \pm el error estándar.....	33
6	Efecto de <i>B. frostii</i> y <i>Rhizobium</i> sobre el número de hojas de las plántulas de <i>Q. resinosa</i> durante 335 días de evaluación.....	34
7	Efecto de la inoculación de <i>Rhizobium</i> y/o <i>B. frostii</i> en el crecimiento de plántulas de <i>Q. resinosa</i>	35
8	Peso seco total de plantas de <i>Q. resinosa</i> inoculadas o no con ectomicorriza y bacteria. Los valores representan el peso seco promedio \pm el error estándar, n=3. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).....	35
9	Daño foliar por toxicidad de la solución nutritiva en plántulas inoculadas con <i>Rhizobium</i>	39

RESUMEN

El estado de San Luis Potosí (SLP) es uno de los más diversos en especies de encino y se ha documentado que la familia *Fagaceae* ocupa el segundo lugar de diversidad en la Sierra de Álvarez. Lamentablemente, en este ecosistema la deforestación es muy alta y existe poco éxito en los proyectos de reforestación. Uno de los principales problemas es la alta mortalidad de plántulas durante el transplante. Es importante producir plántulas con características fisiológicas y anatómicas que les permitan sobrevivir en esta faceta, entre ellas está la inoculación con microorganismos benéficos que les ayuden a acomodar su fisiología a condiciones adversas de nutrición, y otros factores como déficit hídrico, altas o bajas temperaturas, entre otras. Esto requiere desarrollar técnicas con las que se obtengan dichas características; por ello, el objetivo general de este trabajo es evaluar el efecto de una cepa de la bacteria *Rhizobium* spp y el hongo ectomicorriza *Boletus frostii* en el crecimiento de plántulas de *Quercus resinosa*. Los objetivos específicos son: Identificar y obtener las esporas de *Boletus frostii*, así como propagar la cepa de *Rhizobium*; y elaborar el inóculo respectivo. Se prepararon los inoculos con una cepa de *Rhizobium* spp obtenida de Soconusco, Chiapas y el hongo ectomicorrízico *Boletus frostii* de la Sierra de Álvarez, SLP. Se establecieron tres tratamientos (aplicación de hongo, aplicación de bacteria y aplicación de bacteria más hongo) y el testigo correspondiente, cada uno con 20 repeticiones. Se efectuaron 19 evaluaciones con intervalos de 15 días, midiendo altura, diámetro de tallo, número de hojas, peso seco de hojas, tallo y raíz; así como sobrevivencia. Los datos se sometieron al análisis de varianza de un solo factor y comparación de medias con la prueba de Tukey $p \leq 0.05$. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos, sin embargo, las mejores características morfológicas se obtuvieron con la inoculación conjunta de ambos microorganismos. La interacción de los dos microorganismos indujo en las plántulas mayor altura, mayor peso seco total y sobrevivencia del 100%.

ABSTRACT

The state of San Luis Potosi (SLP) is one of the most diverse species of oak and has established that the family Fagaceae ranked second for diversity in the Sierra of Alvarez. Unfortunately in this ecosystem, deforestation is very high and there is little success in reforestation projects. One of the main problems is the high mortality of seedlings during transplanting. It is important to produce seedlings with physiological and anatomical characteristics that allow them to survive in this facet, including inoculation is beneficial microorganisms that help them to adjust their physiology to adverse nutritional conditions, and other factors such as water, high or low temperatures deficit, among others. This requires developing techniques that these characteristics are derived, so the overall objective of this work is to evaluate the effect of a strain of the bacterium *Rhizobium* spp and ectomycorrhiza fungus *Boletus frostii* on seedling growth of *Quercus resinosa*. The specific objectives are: Identify and obtain *Boletus frostii* spores and spread the strain of *Rhizobium*, and develop the respective inoculum. The inoculum was prepared with a strain of *Rhizobium* spp obtained from Soconusco, Chiapas and ectomycorrhizal fungus *Boletu frostii* of Sierra Alvarez, SLP. Four treatments (application of fungus, bacteria application and implementation of bacteria more fungus and control) were established with 20 repetitions. 19 evaluations were performed at intervals of 15 days, measuring height, stem diameter, number of leaves, dry weight of leaves, stem and root, as well as survival. Data analysis of variance single factor and comparison using the Tukey test $p \leq 0.05$ underwent. There was no significant difference between treatments; however, the best morphological characteristics were obtained with both micro joint inoculation. The interaction of the two microorganisms induced in greater seedling height, increased total dry weight and 100% survival.

INTRODUCCIÓN

En la familia *Fagaceae*, el género *Quercus* representa la mayor distribución en todo el mundo. Se encuentra en casi todos los bosques templados del hemisferio norte, así como en algunas regiones tropicales y subtropicales. Incluso, existen algunas especies en hábitats más secos, tales como el sureste de Asia y el nororiente de África. En América se localiza desde Canadá hasta Colombia, incluyendo el país de Cuba (Valencia, 2004).

El género *Quercus* se distribuye ampliamente en México (Rzedowsky, 1978; Zavala, 1998, citado por Mendoza *et al.*, 2006) y nuestro país es considerado centro de diversidad en América por el número de especies que posee (Nixon, 1993a). De acuerdo a la clasificación infragenérica de Nixon (1993b), las especies de encinos en México son representantes de tres secciones del género *Quercus* y corresponden a *Quercus* (encinos blancos), *Lobatae* (encinos rojos) y *Protobalanus* (encinos intermedios). Los encinos blancos y los rojos son los que tienen mayor diversidad (Valencia, 2004; Soto, 2007).

En México, los encinos se han utilizado industrialmente, obteniéndose diversos productos maderables, entre los que destacan los muebles de alta calidad en ebanistería, manufactura de chapa, celulosa para papel, artesanías, barricas de encino blanco para añejamiento de vinos; duela, parquet y lambrín para interiores de casas habitación (Bello y Labat, 1987). Sus raíces y fibras se usan en medicina, mientras que sus frutos tienen potencial como alimentación; de la corteza se extraen curtientes naturales para diversas pieles; además, sus bosques constituyen un recurso escénico o de recreación (Bello y Labat, (Op. Cit.). Aún y todas las cualidades anteriores, los encinos se emplean en la recuperación de suelos erosionados, así como en los programas de reforestación. No obstante, su uso para la construcción de muebles y casas, la elaboración de carbón, mangos de herramientas, postes para cerca o leña para combustible, son otras de las alternativas para su consideración (Valencia, 2004).

El estado de San Luis Potosí es uno de los más diversos en especies de encino y se ha establecido que la familia *Fagaceae* ocupa el segundo lugar de diversidad en la Sierra de Álvarez (Valencia, 2004; Soto, 2007; García *et al.*, 2000; Sabás, 2011). Sin embargo, actualmente la superficie ocupada por esta familia, específicamente del género *Quercus*, ha sido reducida significativamente, ya que durante mucho tiempo se usó como

combustible en la industria minera. La regeneración natural de los encinos a partir de bellotas es limitada, debido a que implica un proceso largo y complicado (Zavala, 2001; Mendoza *et al.*, 2006), y a que varias especies de fauna silvestre se alimentan de bellotas, por tanto los programas de reforestación son útiles para la recuperación de los mismos.

La especie *Q. resinosa* pertenece a los encinos blancos que se distribuyen entre 0 y 3,500 msnm, y los intervalos por especie oscilan entre 150 y 2,000 msnm, por lo que es apta para SLP. Se reporta que esta especie tiene potencial para usarse en la reforestación de la Sierra de Álvarez, porque los árboles sobreviven en espacios abiertos y en condiciones de poca humedad (Flores, comunicación personal) pero esto no sucede con las plántulas que tienen poca sobrevivencia en campo durante las reforestaciones, por lo que surge la necesidad de implementar nuevas técnicas en la producción de plántula en vivero con mayor capacidad de sobrevivencia.

Se conoce que la asociación de hongos benéficos con la raíz de las plantas (micorrizas) puede favorecer un mejor crecimiento de las plantas aún en condiciones desfavorables, por lo cual una alternativa de generar las plántulas con mayor capacidad de acomodamiento y sobrevivencia al trasplante, es producir plántulas micorrizadas en vivero (Pulido, 1994). Para las especies arbóreas de interés forestal el tipo de micorriza más importante es el conocido como ectomicorriza (Smith y Read, 1997). Pera y Parladé (2005), demostraron que la utilización de planta como *Pseudotsuga menziessi*, *Pinus pinaster*, *P. halepensis*, *P. pinea*, *P. radiata* micorrizada en vivero con hongos seleccionados mejoran la supervivencia y el crecimiento de las plantas después del trasplante en campo; así como la inoculación directa en campo de *Quercus pirenaica*, *Fagus sylvatica*, *Sorbus aucuparia* y *Betula celtibérica*, mejoraron significativamente el crecimiento de las plantas y su estado fisiológico. También se sabe que algunas bacterias son capaces de estimular el crecimiento de las plantas, a estas bacterias se les denomina rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Bent, 2006). Las PGPR estimulan el crecimiento mejorando la nutrición, suprimiendo enfermedades o produciendo hormonas como las auxinas, citocininas (CK), giberelinas (Gas) y compuestos orgánicos volátiles como el etileno (Silva, 2011). *Rhizobium* es una bacteria promotora del crecimiento en plantas y

se le reconoce como la principal fijadora simbiótica de nitrógeno en especies de la familia de las Leguminosas; sin embargo las asociaciones entre rizobios y plantas no leguminosas pueden mejorar el crecimiento de las plantas, aunque no se ha demostrado que sea mediante la fijación de nitrógeno, sino más bien debido a la producción de sideróforos, fitohormonas o solubilización de fosfatos (Rosenblueth y Martínez, 2006).

La producción de especies forestales en contenedor tiene como objetivo obtener plantas grandes y vigorosas en una sola estación, tomando criterios de tamaño de tallo y follaje, pero es de mayor importancia el sistema radical que proporciona soporte y es fundamental en la obtención de los nutrientes y el agua (Rodríguez *et al.*, 2008). Existen informes que la combinación de ectomicorriza con PGPR inoculadas en plántulas mejoran parámetros como altura, diámetro del tallo, área foliar y peso seco, entre otros. El resultado es mucho mejor que con los inóculos aplicados por separado (SEMARNAT, s/f). Es importante que los hongos micorrízicos y las PGPR sean de preferencia nativos porque ya se encuentran adaptados a las condiciones de la región en que serán utilizados. Esto justifica investigar acerca de hongos micorrízicos y PGPR que deban o puedan seleccionarse para la inoculación de plántulas de especies forestales, en especial de *Q. resinosa*.

Objetivos

Objetivo general: Evaluar el efecto de una cepa *Rhizobium* spp y *Boletus frostii* en el crecimiento de plántulas de *Quercus resinosa*.

Objetivos específicos: Identificar y obtener las esporas de *Boletus frostii*, así como propagar la cepa de *Rhizobium* y elaborar el inóculo respectivo

Hipótesis

Rhizobium, *Boletus frostii* y la combinación de ambos microorganismos inoculados en plántulas de *Quercus resinosa* favorecen el crecimiento y desarrollo de éstas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Quercus spp.

Valencia (2004), menciona que en México se distribuyen 161 especies del género *Quercus*. De acuerdo con los datos más recientes sobre el número estimado de especies de encinos para todo el mundo, calculado entre 400 y 500, en nuestro país estarían representadas entre 32.2 y 40.2% de las especies del género (Manos *et al.*, 1999). Esto implica que la diversidad específica para *Quercus* en México equivale a casi una tercera parte respecto a la mundial.

De los dos subgéneros de *Quercus* (*Cyclobalanopsis* y *Quercus*), en México sólo está representado *Quercus*, con tres secciones: *Quercus* (encinos blancos) con 81 especies, *Lobatae* (encinos rojos) con 76 especies, y *Protobalanus* (encinos intermedios o de copa dorada) con cuatro de las cinco especies que en total lo conforman. Existen 109 especies endémicas de encinos mexicanos que equivalen a 67.7% del total de especies del género en México. Este endemismo contribuye con 2.2% del total aportado por los elementos leñosos que están representados por 4,900 especies de distribución restringida a México (Valencia, 2004).

Axelrod (1983) considera que la mayoría de los linajes de encinos evolucionaron localmente en latitudes medias durante el Terciario, explicando así el endemismo de las secciones del género. De manera general los encinos se encuentran en México desde el nivel del mar hasta 3,500 msnm. Las especies de encinos blancos se distribuyen entre 0 y 3,500 msnm, y los intervalos por especie oscilan entre 150 y 2,000 msnm. Es necesario recordar que la sección *Quercus* tiene amplia tolerancia ecológica y es relativamente más diversa en áreas xéricas que la sección *Lobatae* (Nixon, 1993b), lo cual es congruente con lo mencionado por Valencia (2004), que la sección *Quercus* es la que tiene mayor distribución latitudinal y altitudinal.

El género *Quercus* ha sido objeto de múltiples estudios, en los que se han tratado diversos aspectos por diferentes autores, sin embargo, dada la gran variación y amplia distribución de las especies que lo constituyen, se considera que los trabajos sobre este género son insuficientes (Zavala, 2001).

Los encinos o también llamados robles son ejemplo de un grupo de especies de origen de clima templado, pero actualmente dominan las latitudes tropicales. México tiene más de 150 especies de roble del género *Quercus*, incluyendo muchas especies endémicas (Valencia, 2004; Hernández *et al.*, 2013).

***Quercus resinosa* Liebm**

El establecimiento de *Q. resinosa* en San Luis Potosí se ubica en las partes altas de las cuencas, se distribuye en la región central y en la parte Sur de la región Oeste, en la Sierra de Álvarez y en la Sierra de Camarón, siendo una especie endémica de México (Sabás, 2011). Los bosques de encino en la Sierra de Álvarez apoyan funciones clave en el ecosistema, como proporcionar hábitat de vida silvestre, el mantenimiento de la calidad del agua y facilitar el ciclo de nutrientes.

Características botánicas

Árboles de 2.5-8 (-14) m de alto con ramillas de 4-7 mm de diámetro, surcadas, denso tomentosas: los tricomas persisten densos hasta la estación anterior o más, son de color café oscuro u oscuro rojizas, visibles sólo al removerlos, lenticelas pálidas, a veces visibles o sólo visibles en las ramillas de estaciones anteriores. Yemas ovoides, redondeadas a obtusas en el ápice, café a café rojizas, de (2.5-) 4-6 mm de longitud. Escamas ovadas, denso corto o largo pubescentes a glabrescentes, de margen corto a largo ciliado o pubescente. Estípulas subuladas o linear oblanceoladas, revolutas, de 10-14 mm de longitud, denso pubescentes en ambas superficies o en el envés sólo en la parte basal, persistentes en el ápice de las ramillas, algunas persisten hasta en las ramillas de la estación anterior (Sabás, 2011).

Las hojas maduras con pecíolos café oscuro a oscuro rojizos, visible sólo al remover los tricomas, de 3.5-5 (-8) mm de longitud, denso fasciculado pubescentes; láminas subcoriáceas, obovadas o elíptico obovadas, de (12-) 15-25 (-32) x (7.5-) 10-16.5 (-23.5) cm y (1.3-) 1.6-2 (-2.2), a veces más largas que anchas; base redondeada o cordado auriculada; margen plano o moderadamente revoluto, casi entero, variablemente sinuado a obtuso dentado con (8-) 10-13 (-16) lobos o dientes mucronados a cada lado de la hoja,

distribuidos desde cerca de la base; ápice obtuso, agudo o abruptamente redondeado a agudo mucronado; venas secundarias de (12-) 15-20 (-24) a cada lado de la vena media, que se ramifican antes del margen o terminan hasta los mucrones; haz verde olivo, ligeramente pálido o grisáceo, plano o ligeramente reticulado, lustroso y rugoso (venas terciarias impresas), con tricomas estrellados, de 4-9 radios cortos a largos, casi rectos o ligeramente ondulados, y tricomas glandulares, granulares y vermiformes color ámbar a rojizos, escasos, los estrellados persisten esparcidos y uniformemente distribuidos en toda la superficie, como algunas veces los tricomas glandulares, los cuales son más densos sobre nervaduras principales; envés más claro que el haz, reticulado (todas las venas elevadas), con tricomas estrellados, de (4-) 7-13 (-16) radios cortos a largos, casi rectos, curvos o ligeramente ondulados, y tricomas glandulares, granulares y vermiformes amarillos a rojizos, los dos tipos persisten uniformemente densos, cubren totalmente la superficie (Sabás, 2011).

Presenta amentos masculinos de (35-) 60 (-80) mm de longitud. Frutos de maduración anual, 1-3 o más cuando inmaduros, en un pedúnculo de (15) 30-60 (-90) mm de longitud; cúpulas hemisféricas a algo cilíndricas de borde recto, de 14-20 (-23) mm de longitud por (18-) 23-29 (-32) mm de diámetro, escamas agudo redondeadas en el ápice, muy engrosadas, el grosor disminuye de las proximales a las distales, denso corto a largo pubescentes, a veces la densidad disminuye en el ápice y en el área proximal al margen, éste es denso corto a largo pubescente; nuez ovoide, de (18-) 21-25 (-28) mm de longitud x (15-) 17-20 (-24) mm de diámetro, incluida de un tercio a un medio de su longitud total en la cúpula (Sabás, 2011). Florece en mayo, y fructifica de junio a octubre.

Las semillas de las angiospermas se forman dentro de ovarios que maduran para convertirse en frutos con semillas incluidas. En las semillas existe una gran variabilidad a nivel de individuo, población y entre poblaciones, lo cual se observa como polimorfismo; característica de los encinos (López, 2009).

El fruto de los encinos es un fruto seco, unilocular y contiene una sola semilla; botánicamente se le denomina nuez y está asociada a un involucro en forma de copa conocido como cúpula. En el fruto maduro la cúpula se encuentra alrededor de su base cubriéndolo total o parcialmente. La semilla carece de endospermo, posee dos

cotiledones y un embrión recto (Rubio, 2011). Las plántulas alcanzan un incremento inicial en altura sin tener que fotosintetizar debido a que sus cotiledones proveen una fuente de alimento (Rubio, 2011).

Es difícil distinguir los ejemplares de *Q. resinosa* con algunos de los de *Q. magnoliifolia*. Sin embargo, al comparar las descripciones y los ejemplares herborizados se distinguen las características que se indican en el cuadro 1.

Cuadro 1. Diferencias entre encinos blancos *Q. resinosa* y *Q. magnoliifolia*.

<i>Q. resinosa</i>	<i>Q. magnoliifolia</i>
Estipulas: 8-15mm de largo	Estipulas:5-8 mm de largo
Haz: Siempre pubescente, con pelos estrellados y aspecto aterciopelado.	Haz: glabro o con escasos pelos estrellados principalmente en la base de la hoja.
Epidermis: Del envés ampollosa y papilosa, densamente cubierta con pelos estrellados, pelos glandulares vermiformis, granular puberulenta.	Epidermis: del envés ampollosa, densa o laxamente cubierta por pelos glandulares vermiformis, pelos estrellados, ocasionalmente granular puberulenta.
	Peciolos glabros o glabrescentes.
	Cúpulas con escamas cortamente ceriáceas, canescentes o hialinas.

Distribución y hábitat

Se encuentra principalmente en los estados de Aguascalientes, Estado de México, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit, San Luis Potosí y Zacatecas (Valencia, 2004). En San Luis Potosí, en Ciudad Fernández, Guadalcázar, Mexquitic de Carmona, Rioverde, San Luis Potosí, Tierra Nueva, Villa de Arriaga, Villa de Reyes y Zaragoza (Sabás, 2011). Crecen en el pastizal inducido, matorral submontano con vegetación secundaria, matorral submontano, bosque de encino con vegetación secundaria, bosque de encino, bosque de encino-pino, bosque de pino-encino; en altitudes de 1300 - 2500 msnm.

Debido a la fertilidad de sus suelos y su clima, los bosques han sido objeto de procesos de transformación con fines agrícolas y energéticos (leña) o por asentamientos humanos a lo largo de milenios. A partir de la conquista española dichos procesos se acentuaron y perduran hasta hoy. El uso forestal no sostenible, los incendios forestales, el reparto agrario, así como la ganadería y el crecimiento urbano, han sido los factores más importantes en la destrucción de los bosques y de su biodiversidad (Garibay *et al.*, 2013).

Rizósfera

La rizósfera es la región del suelo que se encuentra inmediatamente cerca de la superficie de la raíz y que se ve afectada por los exudados de ésta (Cuadrado *et al.*, 2009). Se describió por primera vez en 1904 por Lorenz Hiltner. Hay diferentes tipos de sustancias que se difunden desde las raíces y que estimulan la actividad microbiana, como los hidratos de carbono (azúcares y oligosacáridos), ácidos orgánicos, vitaminas, nucleótidos, flavonoides, enzimas, hormonas y compuestos volátiles (Osorio, 2007). Esta se extiende hasta unos pocos milímetros de la superficie de la raíz y en ella se producen interacciones entre la planta y los microorganismos (Cuadrado *et al.*, 2009). Dos tipos de microorganismos pueden interactuar, los benéficos y los patógenos. Dentro de los benéficos se reconocen a las rizobacterias. Kloepper acuñó en 1978 el término Rizobacterias Promotora del Crecimiento de Plantas (PGPR) para las bacterias de vida libre de la rizósfera que son altamente eficientes para aumentar el crecimiento de las plantas, y muchas de ellas además incrementan sus defensas frente a los microorganismos patógenos causantes de enfermedades (Cuadrado *et al.*, 2009). Estas bacterias tienen la capacidad para colonizar preferentemente las interfaces suelo-raíz, donde mantienen poblaciones de individuos a un nivel que permite su efectividad (Franco, 2008).

También la mayoría de las plantas forman una asociación simbiótica con los hongos del suelo llamada micorrizas (mico = hongo, rhiza = raíz) (Sylvia, 1999). La hifa fúngica es prácticamente una extensión del sistema de raíces que aumenta el volumen de suelo explorado (Brady y Weil, 1999). Las hifas de micorrizas también liberan compuestos carbonosos en el suelo circundante formando un nicho llamado micorrizosfera (Osorio,

2007). Es importante considerar que los microorganismos rizosféricos pueden ser clave para el desarrollo e incremento en la simbiosis micorrícica.

Micorrizas

Una de las relaciones más importantes entre plantas y microorganismos es la micorriza. Este término, acuñado por Frank (1885), es utilizado para describir diversos tipos de simbiosis que se establecen entre las raíces de las plantas y ciertos grupos de hongos, la cual denominó mykorrhiza, que en griego significa “hongo-raíz”.

El principal beneficio para ambos simbioses micorrízicos es el intercambio de nutrientes (Pérez y Read, 2004). Los hongos que establecen esta simbiosis reciben carbono de las plantas hospederas y las plantas reciben principalmente fósforo y nitrógeno a través de las hifas asociadas (García *et al.*, 2000). Las plantas asociadas con hongos micorrízicos exploran de 10 a 200 veces más volumen de suelo y absorben y transportan hacia la raíz más intensivamente aquellos elementos nutritivos que son poco disponibles para la planta (Hernández y Salas, 2009).

Las plantas micorrízicas en algunas ocasiones pueden adquirir también protección en contra de organismos patógenos por factores distintos al de una nutrición mineral incrementada (Smith y Read, 1997). A pesar de que la relación micorrízica incluye parasitismo en un extremo y mutualismo en el otro, debido a que frecuentemente ambos simbioses resultan beneficiados, usualmente esta simbiosis ha sido considerada mutualista (Johnson *et al.*, 1997).

Se ha postulado que la micorriza jugó un papel crucial en la invasión, así como en la subsecuente colonización de las primeras plantas en los hábitats terrestres (Read, 1991; Brundett, 2002). La ocurrencia fósil de hongos micorrízicos arbusculares reportada incluye arbusculos, hifas y esporas fúngicas provenientes del Devónico temprano, hace 400 millones de años (Ma), cuando las plantas iniciaron la invasión terrestre. Actualmente las asociaciones micorrízicas se encuentran distribuidas en todos los ecosistemas terrestres (Honrubia, 2009).

Existe asimismo un reconocimiento de la importancia de la micorriza tanto en el funcionamiento como en el mantenimiento de dichos ecosistemas, principalmente en las regiones boreales y templadas, y tropicales (Honrubia, 2009).

Numerosos estudios paleobotánicos, morfoanatómicos y filogenéticos basados en técnicas moleculares evidencian que la coevolución mantenida entre hongos micorrícicos y raíces de plantas se remonta al Paleozoico, hace más de 400 Ma, con el origen de las primeras plantas terrestres (Honrubia, 2009).

Se reconocen siete tipos de micorriza, siguiendo criterios estructurales, funcionales y taxonómicos (Smith y Read, 1997).

Ectomicorrizas (ECM)

Se presenta en especies de plantas con interés forestal como Fagáceas, Betuláceas, Pináceas, entre otras familias, lo que supone el 3% de especies vegetales micorrizables. Se caracterizan principalmente porque las hifas del hongo limitan su desarrollo a los espacios intercelulares del córtex, sin penetrar las células vegetales de la raíz, dando lugar a una estructura denominada como red de Hartig (Smith y Read, 1997; Franco, 2008). Los hongos que forman este tipo de micorrizas pertenecen al *phylum* Basidiomycota, aunque algunos también están clasificados en el Ascomycota.

Endomicorrizas

Estos hongos inferiores que forman endomicorrizas arbusculares pertenecen a un solo grupo, los Glomeromycetes, con 25 géneros y más de 250 especies distribuidas en todos los continentes; son estrictamente simbióticos y no pueden ser cultivados *in vitro*, o sea en ausencia de su hospedero, contrariamente a los hongos ectomicorrícicos. (Noda, 2009). Su nombre está asociado con estructuras especializadas denominadas arbusculos, que se forman en las células corticales de la raíz como resultado de la interacción planta-hongo. Estas estructuras constituyen el punto de intercambio de metabolitos entre los dos participantes de la simbiosis (Noda, 2009).

Ectendomicorrizas

Presentan características comunes con los dos tipos de micorrizas expuestos anteriormente y son las menos extendidas. Con las ectomicorrizas tiene en común que

pueden formar un “manto” más o menos desarrollado y red de Hartig, y con las endomicorrizas, que existe penetración de las hifas en las células de la corteza formando enrollamientos u ovillos (Franco, 2008). Los hongos pertenecen al *phylum* Basidiomycota y las plantas son fundamentalmente arbutoides o monotropales. Fueron descritas en pinos y formadas por Ascomycota, como *Peziza*, *Geopyxis*, *Ascobolus*, entre otros géneros próximos. Las ectomicorrizas adquieren especial significado ecológico en situaciones de estrés abiótico, como incendios, prolongados periodos de sequía o inundación, contaminación atmosférica o edáfica, entre otras. Representan una alternativa trófica oportunista para estos grupos fúngicos, frente al debilitamiento de las poblaciones de los hongos ectomicorrícicos, fundamentalmente Basidiomycotina, que habitualmente ocupan el espacio de estas raíces secundarias de crecimiento limitado (Honrubia, 2009).

Otros tipos de micorrizas son los casos de las micorrizas ericoides de ericas (*Erica* spp), gayubas (*Arbutus uva-ursi* L.) y arándanos (*Vaccinium myrtillus* L.) con Ascomycota; las micorrizas arbutoides de madroños (*Arbutus unedo* L.) con Basidiomycota; las ectomicorrizas de jaras (*Cistus ladanifer* L.) y las micorrizas heliantemoides de jarillas (*Larrea cuneifolia* C.) con *Asco* y Basidiomycota indistintamente; y por supuesto, las micorrizas, en un sentido amplio, de las plantas aclorofílicas como *Monotropa* (micorriza monotropoide), incluso las orquídeas (micorriza orquidioide) establecidas respectivamente también con Ascomycota y Basidiomycota que, a su vez, están asociados tróficamente a otros hospederos.

Asociación Ectomicorrízica

La microflora de la rizósfera, compuesta principalmente por hongos y bacterias, desarrolla una intensa actividad, cuyo efecto es la estimulación del crecimiento vegetal, gracias a las interacciones que se establecen entre los microorganismos y las raíces. La inoculación con hongos formadores de micorrizas y/o bacterias promotoras del crecimiento constituye una herramienta biotecnológica para fortalecer, en condiciones de invernadero, las plantas objeto de repoblaciones forestales, como estrategia previa a su trasplante a campo. De este modo, los plantones ya preparados tendrían más

posibilidades de arraigar en el suelo en condiciones naturales; y en consecuencia, las repoblaciones podrían ser finalmente más exitosas (García *et al.*, 2000).

La ECM es uno de los más importantes tipos de asociaciones micorrízicas desde el punto de vista ecológico y biogeográfico. En zonas de bosques donde el disturbio es severo, o donde se ha perdido la vocación forestal del suelo o lejos del borde del bosque, las plántulas se micorrizan gracias a las esporas de hongos ECM. Los bancos de esporas y otros propágulos resistentes de ECM son determinantes en la regeneración después de una perturbación (Garibay *et al.*, 2013).

La importancia ecológica de la asociación ECM se fundamenta en que mejora el crecimiento de las plantas (Carrera y López, 2004) porque incrementa la capacidad para la adquisición de nutrientes minerales (aumenta de forma marcada la absorción de nutrientes como el nitrógeno, el potasio, el calcio, el zinc, el magnesio y especialmente el fósforo), mejora la absorción del agua del suelo y el transporte en el vegetal, así como la resistencia de la planta a la sequía. Reduce la toxicidad de metales pesados y otros contaminantes. Además contrarresta el ataque de patógenos, ya sea por la ocupación previa del espacio de las raicillas o por la estimulación de los mecanismos de defensa bioquímica (Noda, 2009).

A su vez, la planta hospedera le proporciona al hongo fuentes de carbono precedentes de la fotosíntesis y la raíz constituye en realidad un nicho ecológico protegido donde éste se desarrolla y aprovecha (Brundrett, 2002; Smith y Read, 2008; Franco, 2008; Honrubia, 2009). La germinación de esporas requiere en muchos casos del estímulo de exudados radicales (Román, 2003). El tubo de germinación se proyecta desde la espора hasta encontrar la superficie de la raíz. La hifa micelial tiene, en cambio, un origen menos definido y puede ser el producto de múltiples ramificaciones dicotómicas (Román, 2003). Estudios de campo han estimado que 10 a 15% de la producción total de los fotosintatos de los árboles en los bosques es transferido a los simbioses fúngicos (Smith y Read, 2008).

Los componentes estructurales de la simbiosis ectomicorrízica (ECM) incluyen i) las raíces modificadas, que contienen tejidos vegetales y fúngicos, ii) las estructuras fúngicas reproductivas, y iii) el micelio externo que incluye hifas absorbentes, cordones miceliales y rizomorfos (Pérez y Read, 2004).

En la simbiosis ECM, el hongo asociado cubre las raíces cortas, formando un manto o vaina. Las hifas crecen de este manto hacia afuera en el sustrato y hacia dentro entre los espacios intersticiales de las células corticales de la raíz, formando la “red de Hartig” sin que exista generalmente penetración intracelular en las plantas asociadas. Las estructuras diagnósticas de la ECM son 1) el manto fúngico, 2) la red de Hartig, y 3) el micelio externo vegetativo que emerge a partir de las raíces, micelio externo que incluye hifas absorbentes, cordones miceliales y rizomorfos (Rodríguez, *et al.*, 2008). Las puntas de raíces micorrizadas y la red de micelio extraradicular son esenciales en la mineralización de nutrimentos, su conversión a formas disponibles para la absorción por la planta (Smith y Read, 1997; Garibay *et al.*, 2013).

El micelio externo es uno de los más importantes componentes en el funcionamiento de la simbiosis ECM debido a que además de absorber y transportar nutrientes minerales y orgánicos del suelo, inician asociaciones ECM al contactar hospederos jóvenes (Pérez y Read, 2004). También funciona como propágulo fúngico, al ser separado (por modificaciones físicas en los suelos) de los árboles asociados (Pérez y Read, 2004) e inician la formación de cuerpos fructíferos como primordios; y una de las propiedades más importantes es que conectan árboles de la misma o diferente especie en la naturaleza (Pérez y Read, 2004; Honrubia, 2009).

La transferencia de agua, a través de rizomorfos, en plantas interconectadas fue reportada por Duddrige *et al.* (1980). Las velocidades de transporte de agua fueron similares a aquellas reportadas para xilema, sugiriendo fuertemente una alta conductividad hidráulica en los rizomorfos. Estudios microscópicos en estas estructuras demostraron la presencia de dos tipos de células, unas de menor diámetro con contenido protoplásmico y otras de mayor diámetro carentes del mismo (Perez y Read, 2004).

La simbiosis ECM es una asociación mutualista entre las raíces de árboles cuyo diámetro es menor de 2 mm y especies de hongos Ascomycetos y Basidiomicetos; y es un componente esencial de la mayoría de las comunidades forestales, ya que las especies arbóreas dominantes en bosques templados, en regiones alpinas y boreales, en muchos bosques mediterráneos y en grandes áreas tropicales y subtropicales son especies ectomicorrizadas (Garibay *et al.*, 2013). Numerosos árboles de algunas familias son dependientes de esta asociación para su supervivencia y crecimiento normal (Smith y

Read, 1997), como los de *Pináceas* (pinos), *Fagáceas* (haya, encino, roble), *Betuláceas* (abedul, aile o aliso), y los de la familia tropical asiática *Dipterocarpacea* (Mangachapuy) (Rodríguez *et al.*, 2004).

Las ECM son especialmente importantes para los árboles forestales, pues son las que se establecen con familias y géneros de especial importancia forestal: *Abies*, *Picea*, *Pinus*, *Larix*, *Tsuga*, *Salix*, *Populus*, *Betula*, *Carpinus*, *Corylus*, *Quercus*, *Castanea*, *Fagus*, *Nothofagus* y otros. En particular los géneros completos de árboles como *Abies*, *Betula*, *Pinus*, *Picea*, *Fagus* y *Quercus*, que cubren extensas áreas del planeta, no sobrevivirían en condiciones naturales en ausencia de la simbiosis ECM (Smith y Read, 1997; Smith y Read, 2008).

Se estima que el origen de las ectomicorrizas fue hace unos 200 Ma, a mediados del Mesozoico, coincidiendo con la aparición de sus plantas hospederas (Cairney, 2000). Paralelamente, las familias más importantes de angiospermas ectomicorrizadas (*Fagáceas*, *Salicáceas*, *Betuláceas*) tuvieron también su origen durante el Cretácico (Honrubia, 2009). En definitiva, la aparición de las ectomicorrizas parece obedecer a la necesidad de adaptación a ambientes inhóspitos por parte de diferentes grupos vegetales arbóreos con gran desarrollo aéreo y, por tanto, con elevados requerimientos nutricionales, cuyos sistemas radicales habrían ido evolucionando hacia formas jerárquicamente bien ramificadas (Honrubia, 2009). De esta forma, serán algunos hongos septados, principalmente *Basidiomycota*, ya presentes en el Cretácico hace más de 130 Ma, cuyo hábito alimenticio era fundamentalmente saprofítico, los que mayoritariamente se adaptaron a la forma de vida simbiótica y consolidaron el mutualismo ectomicorrízico. En menor medida, algunos grupos de *Ascomycota*, probablemente de los más recientes (ciertos *Pezizales*, sobre todo hipogeos), también se incorporan a este tipo de simbiosis. La ECM juega un papel fundamental en la biología y ecología de los árboles al incrementar la toma de agua y nutrientes, así como al proteger a los mismos contra patógenos radicales (Smith y Read, 1997; Pérez y Read, 2004). Estas funciones se entenderán mejor si se toma en cuenta que la proporción longitudinal entre la raíz y el micelio absorbente de la ECM en la etapa de plántula de los pinos es 1:105 (Read, 1991).

Las ectomicorrizas de las especies forestales latifoliadas como en *Q. resinosa*, no son fácilmente visibles como lo son en las coníferas. Pueden ser distinguidas de los hongos patógenos por la presencia de micelios visibles que rodean la raíz y la ausencia de descomposición. Las siguientes características pueden guiar a su reconocimiento (Rodríguez *et al.*, 2008):

1. Las ectomicorrizas son típicamente estructuras gruesas (hinchadas) y carecen de pelos absorbentes.
2. El manto del hongo o cubierta es usualmente de un color diferente al de los pelos absorbentes, algunos mantos son de colores vivos o blanco puro.
3. El micelio del hongo o la ramificación de las hifas comúnmente se desarrollan fuera del tejido que compone el manto, dando una apariencia algodonosa.
4. Las ectomicorrizas maduras comúnmente ramifican varias veces en patrones regulares e irregulares.
5. Las raíces alimentadoras no micorrizadas son gruesas, usualmente están cubiertas de pelos absorbentes y para muchas de las especies de coníferas se presentan sin ramificaciones.

La apariencia estructural de las ectomicorrizas está en función tanto de los mismos hongos como de la planta hospedera.

Los parámetros que se pueden evaluar del sistema radical micorrizado o no micorrizado son: peso seco, longitud, frecuencia de ramificación, velocidad de crecimiento, etc. Mientras que en la parte aérea las variables que son modificadas por la asociación del hongo con la planta es la altura, diámetro del tallo, expansión foliar, área foliar específica y relación raíz/parte aérea (Rodríguez *et al.*, 2008).

Recientemente, en algunos viveros se ha empezado a utilizar hongos ectomicorrícicos con el objetivo de incrementar la supervivencia y tasas de crecimiento de los árboles en el vivero y en el campo (Carrera y López, 2004). Las micorrizas mejoran el enraizamiento de las plantas, gracias a la producción de hormonas, vitaminas y otras sustancias fitoactivas; mejoran la estructura del suelo al participar en la formación de agregados estables; protegen a la planta de estreses bióticos y abióticos ambientales, por lo cual estos hongos pueden generar la reducción sustancial de agroquímicos (principalmente compuestos xenobióticos); y favorecen la diversidad de las

comunidades vegetales (Franco, 2008). Es muy importante la especificidad cuando se trata de la introducción de especies exóticas. Si una especie es específica en este sentido, el éxito de la reforestación dependerá de la introducción del hongo micorrízico apropiado (Donoso, 2008).

Taxonomía de Hongos Ectomicorrízicos

Se han descrito unas 6 000 especies de hongos ectomicorrízicos de los Phyla Ascomycota y Basidiomycota. Entre los Zygomycota lo está únicamente el género *Endogone* (Rodríguez *et al.*, 2008), la mayoría de éstos presentan un ciclo de vida con fases asexuales y sexuales. La fase asexual está representada por el micelio y las micorrizas; la fase sexual por esporocarpos y esporas (Rodríguez *et al.*, 2008).

Los hongos formadores de ectomicorrizas pertenecen a los géneros de *Amanita* (amarillo), *Boletus* (pante), *Cenococcum*, *Elaphomyces*, *Endogone*, *Hebeloma* (xolete), *Laccaria* (xocoyul), *Lacterius* (azules, enchilados), *Paxillus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Russula* (pastelito), *Scleroderma*, *Suillus* (Pancita), *Telephora*, *Tuber*, entre otros (Rodríguez *et al.*, 2008).

El orden Boletales incluye géneros que han sido muy estudiados y utilizados en la producción de planta forestal micorrizada, tales como *Rhizopogon*, *Suillus*, *Pisolithus* o *Scleroderma* (Díaz *et al.*, 2009).

Los resultados positivos de micorrización controlada en condiciones experimentales son muy escasos, en ocasiones confusos o con poca difusión, y siempre utilizando cepas europeas (Díaz *et al.*, 2009).

Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas (PGPR)

Las PGPR estimulan el crecimiento vegetal a través de diversos mecanismos y se reconocen dos tipos de estimulación: directa e indirecta (Colón *et al.*, 1999; Silva, 2011).

Estimulación directa es la fijación de nitrógeno y producción de sustancias reguladoras del crecimiento: Estas sustancias son fitohormonas que estimulan el crecimiento de las plantas entre las que destacan las auxinas, las giberelinas y las citoquininas.

Estimulación indirecta es cuando la bacteria es capaz de liberar una o varias sustancias o metabolitos que intervienen en procesos que mejoran el crecimiento vegetal. Los mecanismos fundamentales de estimulación indirecta se pueden resumir en los siguientes (Silva, 2011):

Producción de sustancias que movilizan nutrientes

Ácidos orgánicos, enzimas, aminoácidos, entre otras son sustancias liberadas al medio y son capaces de movilizar elementos nutricionales como hierro, fósforo y aluminio. Producción de sideróforos que son sustancias de bajo peso molecular que tiene alta afinidad por el hierro. Producción de antibióticos que pueden tener efectos antagónicos sobre los patógenos y gracias a ello aumentan el crecimiento. Producción de sustancias que inducen la resistencia sistémica en algunas plantas similar a la resistencia sistémica adquirida (SAR) cuando son atacadas por patógenos. La mediación de diferentes cepas bacterianas en la resistencia sistémica inducida (SIR) ha sido demostrada contra hongos, bacterias y virus en diversos cultivos como cucurbitáceas, frijoles, tabaco, tomate, etc., (Colón *et al.*, 1999)

Basán y Holguín (1998) propusieron la división de PGPR en dos clasificaciones: bacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPB) y bacterias promotoras del crecimiento por biocontrol de fitopatógenos (PGBB). Estos autores afirman que esta separación es importante con el fin de diferenciar los mecanismos empleados por estas bacterias para promover el crecimiento de las plantas. PGBB son estrictamente aquellas bacterias que participan en el biocontrol de patógenos de las plantas, mientras que PGPB es una bacteria que tiene otras funciones diferentes a biocontrol (por ejemplo, nutricionales, hormonales). También se sugirió reemplazar las rizobacterias para simplemente bacterias, debido a que algunas bacterias pueden promover el crecimiento de las plantas, pero no ser habitantes de la rizósfera.

Las bacterias promotoras del crecimiento en plantas son conocidas como microorganismos benéficos utilizados en lugar de productos químicos sintéticos porque son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas a través del suministro de nutrientes y puede ayudar a mantener la salud ambiental y la productividad del suelo (Esitken *et al.*, 2009).

Estudios recientes confirman que un gran número de especies bacterianas en su mayoría asociados a la rizósfera de las plantas son benéficas para el crecimiento, el rendimiento y la calidad del cultivo, como son las cepas de *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholdria*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Rhizobium* y *Serrotia* (Esitken *et al.*, 2009).

El efecto promotor de las PGPB se explica principalmente por la liberación de metabolitos que estimulan directamente el crecimiento. Los mecanismos por los que las PGPB promueven el crecimiento vegetal incluyen: (a) la capacidad para producir fitohormonas, tales como auxinas, citoquininas, giberelinas, e inhiben la producción de etileno; (b) fijación asimbiótica de N₂; (c) solubilización de fosfato inorgánico y la mineralización de fosfato orgánico y/o otros nutrientes (Esitken *et al.*, 2009).

Las PGBB ejercen diferentes tipos de antagonismo hacia los microorganismos fitopatógenos como son: producción de sideróforos, antibióticos, enzimas y/o compuestos antifúngicos; así como competencia e inducción de resistencia (Esitken *et al.*, 2009).

En los casos de no leguminosas, los resultados de la inoculación con bacterias de vida libre fijadoras de N₂, tales como *Azospirillum* y *Azotobacter*, son inciertos. Se han obtenido resultados exitosos cuando estas bacterias de la rizósfera se combinan con las plantas que tienen alta eficiencia en la fotosíntesis (plantas C₄), por lo tanto el suministro de C para estas bacterias heterótrofas podría ser satisfactoria (Osorio, 2007).

Las bacterias rizosféricas más conocidas son las especies del género *Rhizobium* (Santillana *et al.*, 2005). Las investigaciones se han centrado principalmente en la asociación simbiótica mutualista que establece con las leguminosas para efectuar la fijación de N₂. Es marcado el interés que estas bacterias representan para la agricultura, que se emplean como inoculantes (biofertilizantes). *Rhizobium* fue la primera bacteria producida a gran escala y se ha añadido como inoculante durante 105 años a diversos cultivos agrícolas, con éxito en muchos casos (Cuadrado *et al.*, 2009). Su aplicación como biofertilizantes con el fin de incrementar la producción primaria, cobra cada vez más importancia debido a los problemas ambientales por el uso excesivo de fertilizantes. Sin embargo, también se han realizado investigaciones orientadas al estudio de rizobios como promotores del crecimiento de plantas leguminosas y no leguminosas. Por ejemplo

R. leguminosarum bv *trifolii* y cepas de *Bradyrhizobium* se han encontrado en raíces de arroz y *R. etli* en raíces de maíz. Los rizobios pueden también introducirse y colonizar otras plantas, tal como sucede con *Azorhizobium caulinodans* detectado en las raíces de la oleaginosa *Brassica napus*. Estas asociaciones entre rizobios y plantas no leguminosas pueden mejorar el crecimiento de las plantas aunque no se ha demostrado que sea mediante la fijación de nitrógeno (Santillana *et al.*, 2005).

Antoun *et al.* (1998) reportaron algunas evidencias directas de la colonización de raíces y la actividad PGPB de rizobios con no leguminosas. En plantas de tomate inoculadas con *Rhizobium* se observó mayor incremento de la materia seca de la raíz con relación a la materia seca de la parte aérea, incrementos que superaron a la fertilización química. Dichos resultados concuerdan con los de Mayak *et al.* (2004) y Esquivel *et al.* (2013), quienes refieren sobre la habilidad de las cepas de rizobio para producir ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) diaminasa, compuesto que reduce el nivel de etileno en las raíces de las plantas, incrementándose de esta manera la longitud y el crecimiento de las raíces (Santillana *et al.*, 2005). Por otro lado, Perrine *et al.* (2004); entre otros, sostienen que las moléculas promotoras del crecimiento como el ácido indol acético, las giberelinas y las citoquininas producidas por los rizobios, presentes ya sea en la rizósfera o en los tejidos de las plantas, estimulan el mayor desarrollo de la raíz y realizan la capacidad de absorción de nutrientes de la raíz en beneficio de la planta no leguminosa (Santillana *et al.*, 2005).

Otras bacterias rizosféricas de gran importancia son las solubilizadoras de fosfato (PSRB). En los últimos años se ha investigado el papel que juegan los microorganismos del suelo en la dinámica del fosfato (P), en particular los que pueden solubilizar formas insolubles de P (Azcón y Barea, 1996). Se han propuesto varios mecanismos para explicar la solubilización de P, que están asociados con la liberación de ácidos orgánicos e inorgánicos, y la excreción de protones que acompaña la asimilación del NH_4^+ (Osorio, 2007). Muchos ácidos orgánicos son eficaces en la solubilización de los fosfatos del suelo, estos ácidos son producidos por microorganismos rizosféricos (Marschner, 1997). También se ha considerado la liberación de enzimas fosfatasa que mineralizan los compuestos orgánicos de P (Stevenson, 1986).

Al parecer los microorganismos rizosféricos poseen varias funciones fisiológicas con las que establecen una compleja relación con las plantas, de esta forma, las PSRB, además de solubilizar P, pueden liberar sustancias que promueven el crecimiento de las raíces tales como hormonas, enzimas, antibióticos; mejorar la disponibilidad de otros nutrientes (por ejemplo, Mn y Fe), y ejercen el control biológico de patógenos de plantas (Toro *et al.*, 1996; Basán y Holguín, 1998; Azcón y Barea, 1996). La eficiencia de PSRB ha sido cuestionada debido a que: (i) las sustancias orgánicas necesarias para estos microorganismos son escasas en microsítios no rizosféricos, (ii) el antagonismo y la competencia con otros microorganismos en la rizósfera y (iii) la translocación baja de fosfatos solubilizados a través del suelo, ya que se pueden volver a fijar otra vez por los componentes del suelo (Azcón y Barea, 1996).

Micorrizósfera y PSRB.

En primer lugar, las plantas micorrizadas pueden liberar una mayor cantidad de sustancias carbonosas en su rizósfera que las plantas no micorrizadas (Osorio, 2007). En segundo lugar, la extensa red formada alrededor de las raíces por las hifas de micorrizas puede facilitar de manera eficiente la absorción de fosfato liberado por PSRB, evitando así su refijación. Mientras las PSRB permanecen en la micorrizósfera, tienen oportunidades de satisfacer su requisito de carbono y liberar los fosfatos en la solución del suelo (Fig. 1). Se estudió el efecto de la inoculación individual y dual de *Enterobacter agglomerans* (PSRB) y *Glomus etunicatum* (AMF) sobre el crecimiento del tomate y la absorción de P. Se encontró que había un efecto sinérgico cuando se inocularon ambos microorganismos (Osorio, 2007).

Toro *et al.* (1996) estudiaron el efecto de la combinación de la AMF (*Glomus spp.*) y ocho PSRB en el crecimiento y la nutrición de P de una leguminosa tropical, el kudzu (*Pueraria phaseoloides*). Las PSRB fueron aisladas de un Oxisol y se caracterizan por su capacidad para solubilizar fosfato de roca, fosfato de hierro y fosfato de aluminio. En general, cuando el kudzu se coinoculó con *Rhizobium*-AMF-PSRB, hubo un aumento en el crecimiento de las plantas, rendimiento y en el estado nutricional.

Germida y Walley (1996), señalaron que también es posible que no exista ningún efecto o incluso efectos desfavorables con la inoculación de PSRB. Esto parece ser causado por la alteración en los patrones de enraizamiento (distribución de raíces y longitud de la raíz), reducción en la colonización de las raíces de la AMF. Baas (1990) afirma que la inoculación múltiple de microorganismos puede provocar la competencia entre ellos por los exudados de la rizósfera y con la planta hospedera para la absorción de P disponible.

Las bacterias de la rizósfera solubilizadoras de fosfato tienen un alto potencial para ser utilizadas en la gestión de suelos deficientes de P. Las PSRB pueden ser coinoculadas con AMF generando efectos sinérgicos sobre el crecimiento de la planta y la absorción de P. La compatibilidad entre PSRB y AMF parece tener cierto grado de especificidad, por lo que se recomienda investigar cuáles son las combinaciones más eficaces. La inoculación con PSRB y hongos formadores de micorrizas podría aumentar aún más los beneficios de la solubilización de P (Osorio, 2007).

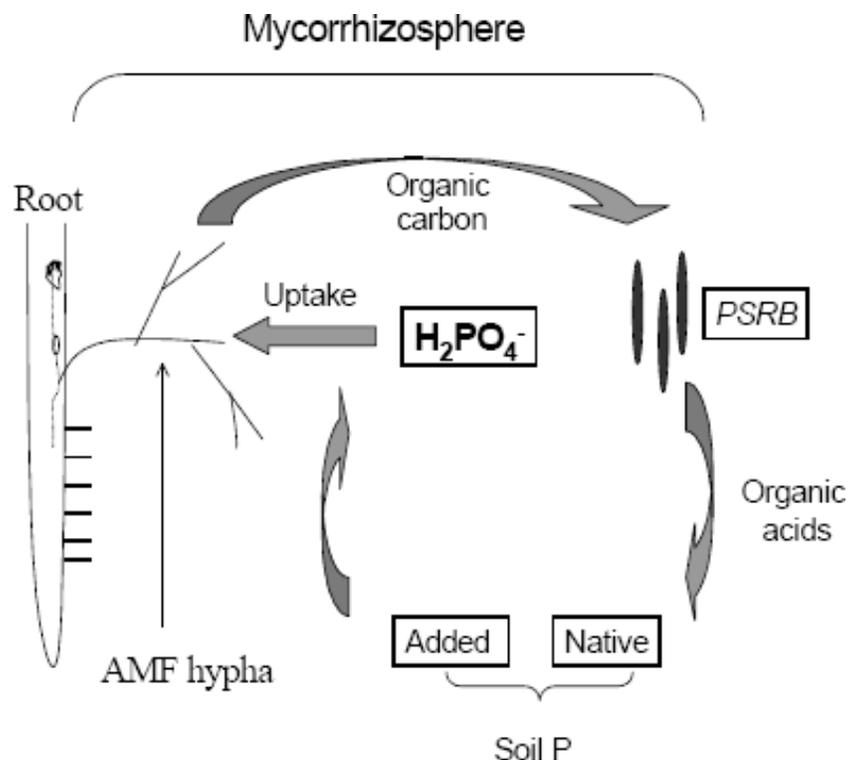


Figura 1. Diagrama de solubilización de los fosfatos en la micorrizósfera y la absorción de P por la micorriza (Osorio, 2007).

Interacción *Rhizobium* y Ectomicorriza en Especies Forestales

Los hongos micorrizógenos y las bacterias fijadoras de N₂ son los componentes más destacados entre los simbioses mutualistas, en la rizósfera. Las bacterias simbióticas fijadoras de N₂ (*Rhizobium*, *Frankia* y cianobacterias) efectúan su relevante función en la rizósfera de plantas de interés tanto en agrosistemas como en ecosistemas naturales (Franco, 2008). No son abundantes los estudios orientados a PGPRs y plantas forestales. Sin embargo, Chanway (1997) señala que su uso es un sistema emergente para la obtención de plantas robustas destinadas a la repoblación forestal en suelos pobres.

Además existen implicaciones prácticas relacionadas con la viabilidad a largo plazo del almacenamiento del inoculo y la posible potenciación de la persistencia de las bacterias en condiciones de campo, durante periodos de situaciones adversas usando PGPRs gram positivas esporuladas (por ejemplo *Bacillus* o *Streptomyces*) (Colón *et al.*, 1999).

No se encontró bibliografía en relación con plantas del género *Quercus* inoculadas con *Rhizobium* y ectomicorrizas. Existen investigaciones en acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.), especie fijadora de Nitrógeno y fresno (árbol no fijador de nitrógeno), sobre la sobrevivencia y crecimiento temprano de plantas trasplantadas a un terreno deforestado en Argentina. Las plántulas fueron inoculadas con una cepa efectiva de *Rhizobium* y el hongo endomicorrícico arbuscular (*Glomus deserticola*) y se demostró que la doble inoculación previa con *Rhizobium* y *Glomus* en acacia blanca mejoró la sobrevivencia inicial, aumentó la tolerancia al estrés hídrico y el crecimiento en dos años y medio desde la plantación. La sobrevivencia inicial fue muy buena (mayor al 77%), especialmente para los fresnos y las acacias inoculadas, las cuales mostraron significativamente mayor sobrevivencia al estrés por sequía que las acacias control. En este trabajo se observó claramente una mayor sobrevivencia inicial de las acacias inoculadas, que podría atribuirse a la inoculación con *Rhizobium* y micorrizas, tal como fue reportado para *Leucaena leucocephala* y *Centrolobium tomentosum* (Ferrari, 2009).

En general, los plantones de árboles caducifolios suelen permanecer en etapa de vivero entre seis meses y uno o dos años antes de ser llevados a campo. La apropiada inoculación con rizobios y micorrizas, disminuye considerablemente el tiempo de permanencia de las plantas en vivero, mejorando su sobrevivencia y vigor al ser luego

trasplantados al campo. Esto se ha comprobado para *Acacia auriculiformis*, *Acacia nilotica*, *Albizia lebbek* y *Hardwickia binata*, donde el período de vivero pudo reducirse en un 33% con respecto a los plantines sin inocular, observándose una significativa mejora en la sobrevivencia (Ferrari, 2009).

Una gran aplicabilidad de los microorganismos rizosféricos benéficos es su uso como biofertilizantes. Éstos están constituidos por microorganismos vivos; los cuales, cuando se aplican a semillas, superficies de plantas o suelos, colonizan la rizósfera o el interior de la planta, y promueven el crecimiento al incrementar el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios a la planta huésped, no contaminan los productos vegetales, ni el suelo; por el contrario, son regeneradores de éste, además algunos inducen el desarrollo de mecanismos de defensa de las plantas y generan ambientes adversos a patógenos (Adriano *et al.*, 2011).

Entre los microorganismos de mayor importancia usados como biofertilizantes, destacan bacterias como los rizobios, *Azotobacter* y *Azospirillum*, hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) y rizobacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus*. Varios autores han obtenido resultados favorables con la aplicación individual o con la combinación de microorganismos benéficos (Adriano *et al.*, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Sitio Experimental

El trabajo se realizó en un invernadero y en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP, ubicados en el ejido Palma de la Cruz, municipio de Soledad de Graciano Sánchez de San Luis Potosí.

Material Biológico

Obtención de plántulas de *Quercus resinosa*

Las plántulas se obtuvieron a partir de semillas recolectadas en la Sierra de Álvarez, S.L.P. Las semillas fueron primero estratificadas con baja temperatura (4 °C). Posteriormente se embebieron en agua fría próxima a la congelación, durante un día. En seguida se desinfectaron con el fungicida captan, a una dosis de 10 g por litro de agua. Se disolvieron 60g en 6 litros de agua para cubrir todas las semillas. Posteriormente se secaron a la sombra con el fin de que el fungicida se adhiera mejor a la semilla.

Las semillas se germinaron en el mismo sustrato utilizado por CONAFOR (Comisión Nacional Forestal), para las reforestaciones. Se mezclaron los sustratos comerciales Vermiculita, Agrolita y Peat most con porcentajes de 20%, 20% y 60% respectivamente. Posteriormente se humedeció a capacidad de campo y se pasó a bolsas, donde en seguida se colocaron las semillas a germinar a 2 cm de profundidad, de acuerdo al doble de su diámetro. Las plántulas se trasplantaron a bolsas más grandes, después de 3 meses de edad; seleccionándose 80 plántulas para establecer los tratamientos.

Inoculo de *Boletus frostii*

El hongo *Boletus frostii* se recolectó en un rodal de *Q. resinosa* en la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí. La identificación se realizó por la morfología macroscópica de la especie.

El inóculo se elaboró a partir de la extracción de esporas de *B. frostii*. Primero se lavaron los esporocarpos y después se embebieron en agua durante una hora. Posteriormente se licuaron hasta obtener una mezcla fina que se pasó por un tamiz de 100u para obtener las esporas con la menor cantidad de basura. Se determinó el número de esporas con la cámara de New Bauer y se ajustó a una concentración de 1×10^5 esporas por mililitro.

Inóculo de *Rhizobium* spp.

El inóculo de la bacteria *Rhizobium* spp fue proporcionado por la Dra. Adriano del Centro de biociencias de la Universidad Autónoma de Chiapas, esta cepa se obtuvo de la región del Soconusco y se aisló de la rizosfera del café (*Coffea* spp).

La cepa se reconstituyó en el medio de cultivo Extracto de levadura-Peptona-Glucosa-Agar (YPGA), posteriormente se aisló y en el medio de cultivo selectivo para *Rhizobium*, llamado medio 79 (Cuadrado *et al.*, 2009). Se reconocieron las características morfológicas macroscópicas y las microscópicas a través de la tinción de Gram.

Inoculación

Las plántulas seleccionadas fueron inoculadas directamente a la raíz con 10 ml de la solución de 1×10^5 esporas por mililitro de *B. frostii*. Se efectuaron tres aplicaciones, la primera se hizo al momento del trasplante y las otras dos, cada ocho días después de la primera. De manera similar se inocularon plántulas con *Rhizobium*, a una densidad de 1×10^5 UFC (unidades formadoras de colonias) por mililitro, también se aplicaron 10 ml a cada plántula.

Estado Nutricional de las Plántulas

Para que las plántulas tuvieran un adecuado crecimiento, se utilizó una solución nutritiva ensayada en *Cedrela odorata* L (Méndez, 2012), debido a que no existe una diseñada para *Q. resinosa*. Esta solución corresponde a la de Long Ashton modificada baja en fósforo (Hewitt, 1966), que consiste en 80.8 g/l de KNO_3 , 73.6g/l de $MgSO_4$,

188.6 g/l de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 36.8 g/l de $\text{NaM}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, de los elementos traza se tomó 1.69 g/l de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.25 ml/l de $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.29 g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.10 g/l de H_2Bo_3 , 5.9 ml/l NaCl , 0.088 g/l de $\text{NH}_4_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, de la solución de citratos se tomó 4.98 g/l $\text{FeC}_6\text{H}_2\text{O}_7$, 4.98 g/l $\text{H}_3\text{C}_6\text{M}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$. A cada plántula se le aplicó 100 ml de solución nutritiva.

Se hicieron tres aplicaciones de la solución nutritiva cada 15 días, posteriores a la inoculación de los microorganismos benéficos. Se aplicó nuevamente la solución al cuarto mes del haber establecido el experimento, pero solo los macronutrientes.

Tratamientos y Diseño Experimental

Se establecieron tres tratamientos que consistieron en: plántulas inoculadas con *B. frostii*, plántulas inoculadas con *Rhizobium* y plántulas inoculadas con ambos microorganismos, además de las plántulas testigo sin inocular. La unidad experimental fue una plántula y cada tratamiento estuvo constituido por 20 repeticiones, con un diseño de bloques al azar. Cabe mencionar que las mejores plántulas constituyeron el grupo testigo. En el caso del grupo inoculado con bacteria, las plántulas de este tratamiento fueron las menos desarrolladas a las del resto, debido a la disponibilidad de plántulas

Variables Evaluadas

Se midieron los siguientes parámetros: altura total de la planta (cm), diámetro del tallo (mm) y número de hojas, Estos parámetros se evaluaron a cada planta de todos los tratamientos cada 15 días después del trasplante a bolsas más grandes. Se hicieron 19 evaluaciones en total después de la inoculación. La sobrevivencia se evaluó con el número de plántulas sobrevivientes al final del experimento y mediante la fórmula $P_x = \frac{n!}{k! (n-k)!} x p^k x 1 - p^{(n-k)}$, donde P=Probabilidad de una combinación particular; n=Número de eventos o pruebas; k=Número indicado de un resultado en particular (sobrevivencia) y p=Probabilidad de un resultado en particular (sobrevivencia). Después de concluir el experimento se determinó el peso seco de tallo, raíz y hojas (secado hasta peso constante).

Análisis Estadístico

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor y la comparación de medias por la prueba de Tukey con $p=0.05$, efectuado con el programa Minitab (2007) 15 Español.

RESULTADOS

Identificación de *Boletus frostii*

El hongo ectomicorrícico *Boletus frostii* se identificó tomando en cuenta las características morfológicas descritas por Smith (1904): Píleo: color rojo brillante, desarrollando zonas amarillentas con la edad; borde amarillo pálido, semiesférico cuando joven y convexo aplanado en el estado maduro. Pegajoso o viscoso cuando está fresco, de muy marcadas picaduras superficialmente. Su tamaño varía de 3.5 hasta 15 cm (Figura 2). El píleo al cortarse cambia al color azulado y su carne es blanca amarillenta. Superficie de poro: pálido rojo cuando son jóvenes, luego se torna rojo parduzco; hematomas azul oscuro; a menudo exudan gotas de color amarillento cuando es joven; 2-3 poros por mm; tubos de color amarillento a oliva a 15 mm de profundidad. Tallo: 4-8 cm de largo hasta 2 cm de espesor; grueso y prominente reticular en toda la longitud; rojo o en ocasiones con zonas amarillas o azules.



Figura 2. Esporocarpos de *Boletus frostii* recolectados en un rodal de *Quercus resinosa* en la Sierra de Álvarez, S. L. P.

La clasificación taxonómica de *B. frostii* se expone en el cuadro No. 2.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Boletus frostii*

Categoría Taxonómica	
Reino	<i>Fungi</i>
División	<i>Basidiomycota</i>
Clase	<i>Agaricomycetes</i>
Orden	<i>Boletales</i>
Familia	<i>Boletaceae</i>
Género	<i>Boletus</i>
Especie	<i>frostii</i>
J.L. RUSSELL APUD FROSTI	

Efecto de los Tratamientos en la Supervivencia

A los 35 días posteriores al inicio del experimento, se obtuvo una supervivencia del 100% en las plántulas inoculadas con ambos microorganismos. Esto se observa en la distribución binomial (Fig. 3C) con una $p=1$ que es la mayor probabilidad para obtener todas las plantas, ya que de veinte plantas que se inocularon al inicio del experimento, sobrevivieron las veinte bajo estas condiciones. El menor porcentaje de supervivencia (35%) se presentó en las inoculadas con bacteria, con una probabilidad máxima de 0.18 y una acumulada de 0.34 (Fig. 3B); es decir, de 20 plántulas que se establecieron únicamente sobrevivieron 7. Las plántulas testigo sobrevivieron en un 95%, con una probabilidad máxima de 0.37 y una acumulada de 0.98 (Fig. 3D) es decir, sobrevivieron 19 plántulas y las inoculadas con hongo sobrevivieron 16 plántulas, un 80%, con una p máxima de 0.21 y una acumulada de 0.84 (Fig. 3A). De acuerdo a la distribución binomial, la probabilidad máxima disminuye si queremos un mayor o menor número de plantas sanas bajo estas condiciones.

Cabe señalar que todas las plántulas de encino expresaron fitotoxicidad en respuesta a la solución nutritiva aplicada, motivo por el que se dejó de utilizar. Después de tres meses las plántulas se recuperaron con excepción del grupo inoculado con bacterias.

Además de la supervivencia, se observó que en algunas plántulas presentaron rebrotes. Dos plántulas inoculadas con la ectomicorriza *B. frostii* mostraron rebrotes, una de ellas a los nueve meses y en la otra planta el rebrote se produjo a los 11 meses, esto

ocurrió a los 3 meses después aparentemente haber muerto la parte aérea de la segunda planta mencionada. En las plántulas testigo también se registraron 3 rebrotes a los 9 meses, pero éstas sin haber muerto la parte aérea.

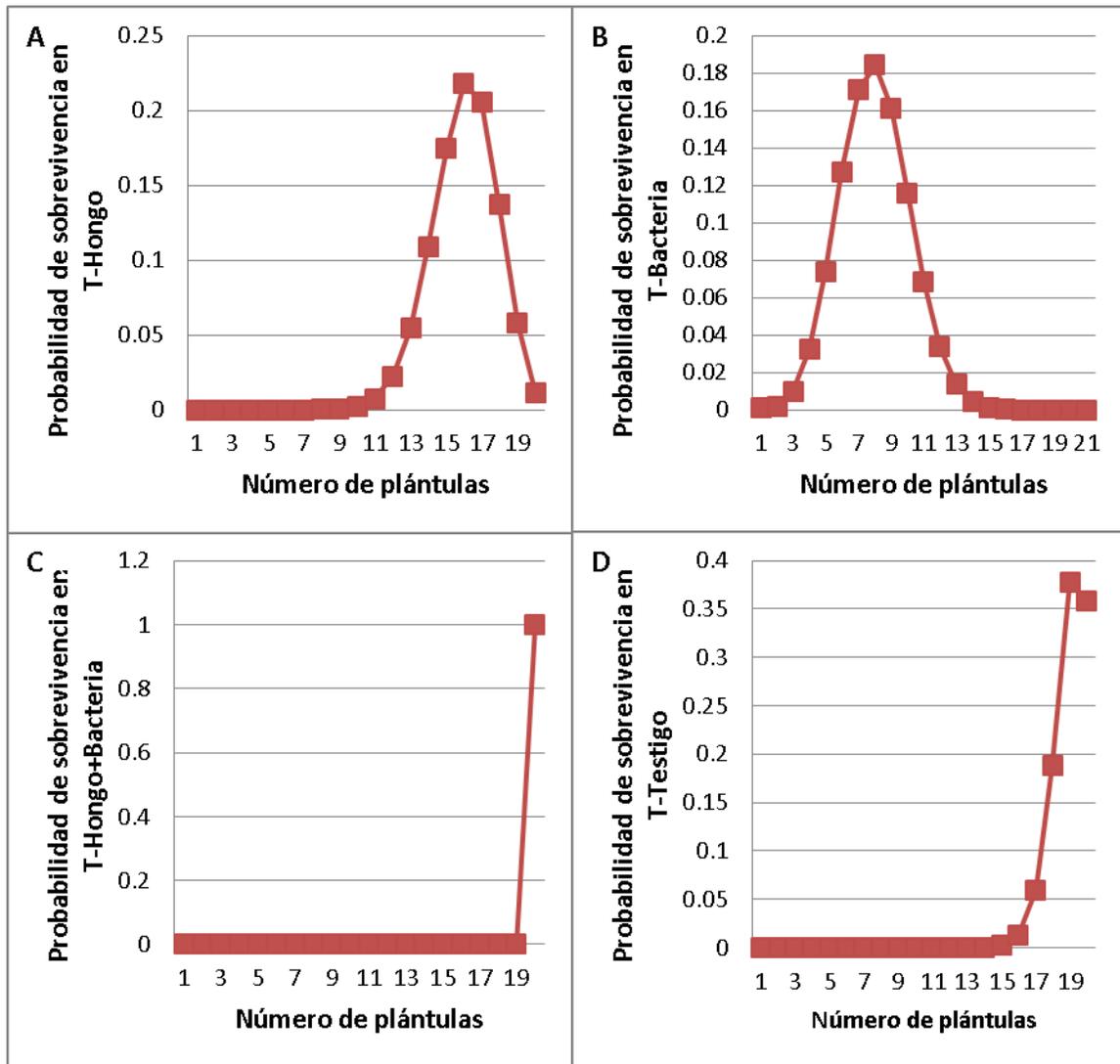


Figura 3. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* y/o *B. frostii* en la sobrevivencia de las plántulas, determinada a los 35 días. (A) Plántulas inoculadas con hongo, (B) Plántulas inoculadas con bacteria, (C) Plántulas coinoculadas con hongo y bacteria, (D) Plántulas testigo.

Efecto de los Tratamientos en el Diámetro de las Plántulas

En la figura 4 se presentan los datos del diámetro evaluado en este experimento, en la cual se indica que no existió una diferencia estadística entre las plántulas inoculadas y el testigo. Las plántulas inoculadas con *Rhizobium* fueron las que presentaron menor incremento en diámetro durante los primeros siete meses de evaluaciones, pero a partir de julio se observó un incremento en su crecimiento y resultaron al final aparentemente (no hay diferencia estadística) ser mejores respecto a los demás tratamientos.

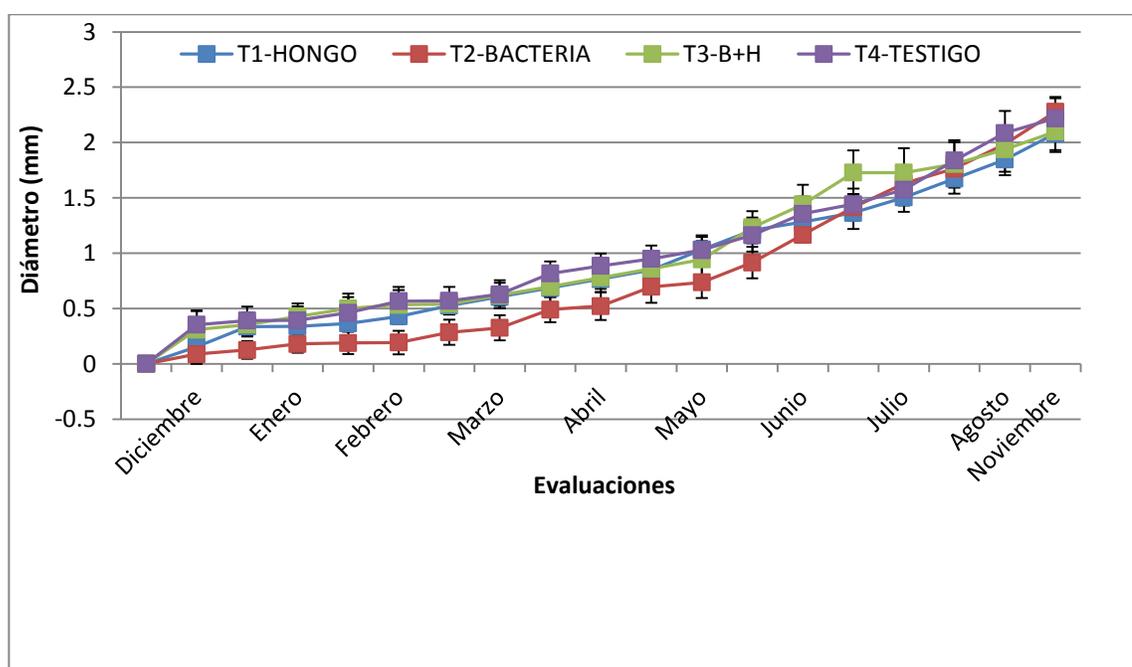


Figura 4. Efecto de *B. frostii* y *Rhizobium* sobre el diámetro de las plántulas de *Q. resinosa* durante 335 días de evaluación. Los datos representan el diámetro medio \pm el error estándar.

Efecto de los Tratamientos en la Altura de Plántulas

La mayor altura de las plántulas se obtuvo con la coinoculación de *Rhizobium* y *B. frostii*, sin embargo, el análisis estadístico indicó al final del experimento que este tratamiento no presentó diferencia significativa (Figura 5). Los mayores incrementos se presentaron a partir de los 150 días para los tres tratamientos y los testigos.

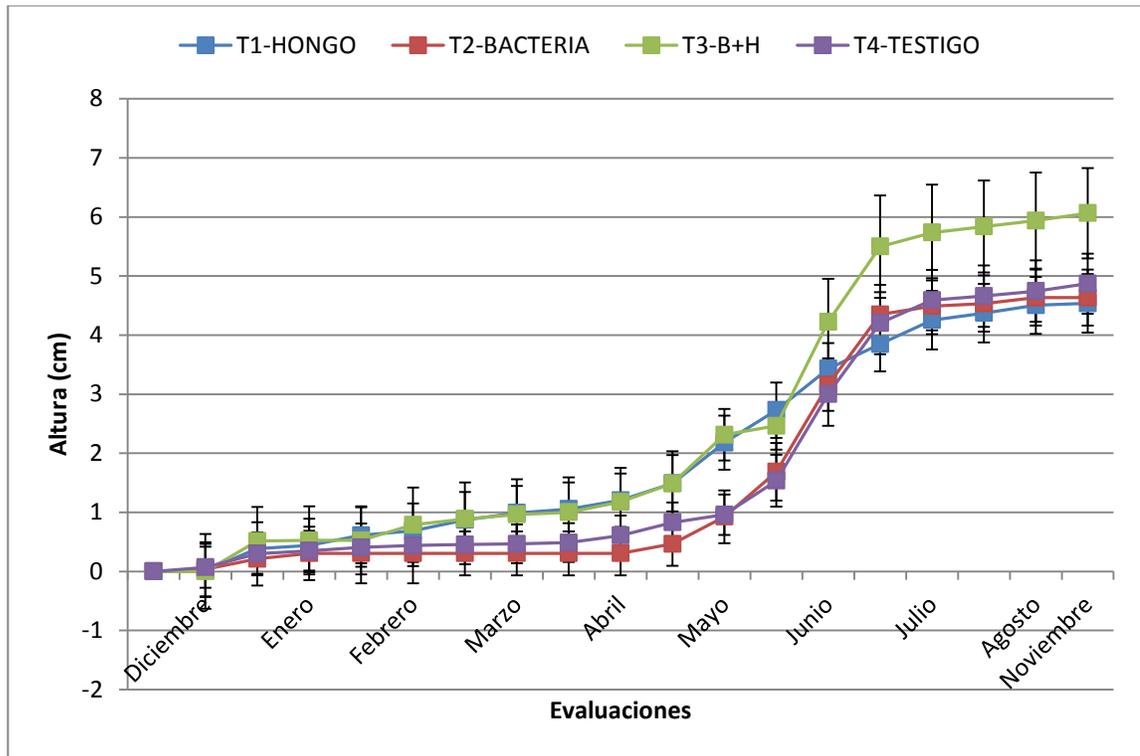


Figura 5. Efecto de *B. frostii* y *Rhizobium* sobre el incremento en altura de las plántulas de *Q. resinosa* durante 335 días de evaluación. Los datos representan la altura promedio \pm el error estándar.

Efecto de los Tratamientos en el Desarrollo del Número de Hojas

En la figura 6 se puede observar que entre los meses de diciembre a abril, el número de hojas tiende a ser constante, a excepción del tratamiento con *Rhizobium* en el cual hubo defoliación. Al igual que lo que aconteció para la altura de plántula, a partir de abril, se favorece para todos los tratamientos y el testigo el desarrollo foliar, presentando el testigo el mayor número de hojas

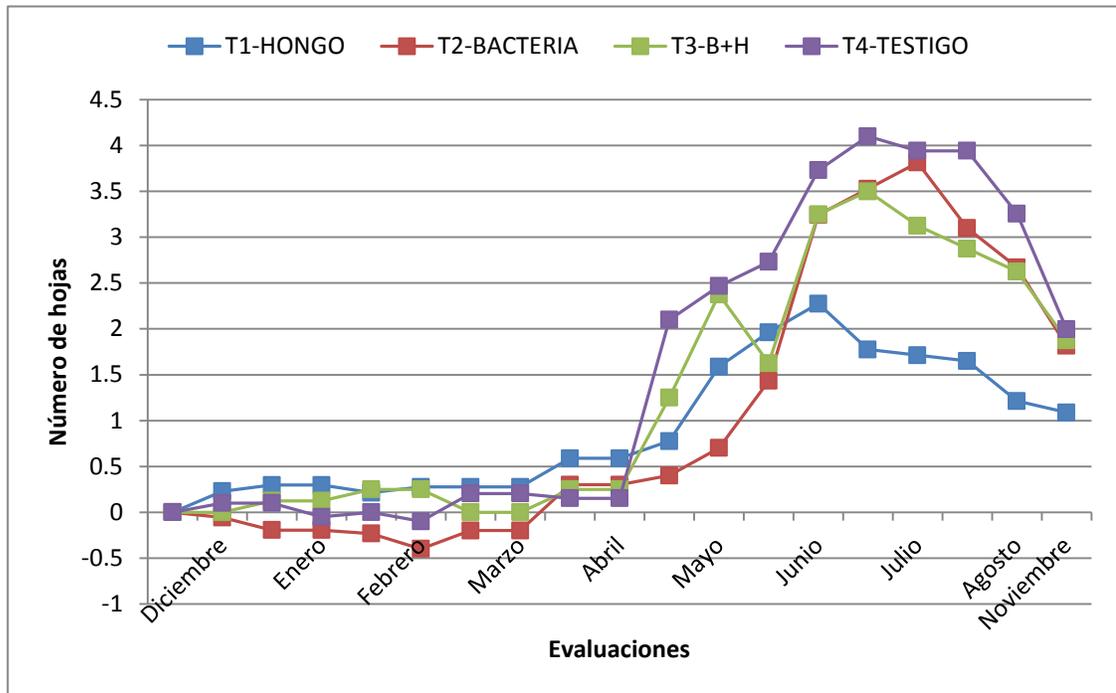


Figura 6. Efecto de *B. frostii* y *Rhizobium* sobre el número de hojas de las plántulas de *Q. resinosa* durante 335 días de evaluación.

Efecto de los Tratamientos en el Peso Seco

Cualitativamente se observó que el mejor desarrollo de la raíz se obtuvo con la coinoculación del hongo y la bacteria en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 7). Al determinar la biomasa de cada órgano vegetal a través del peso seco, las plántulas inoculadas con ambos microorganismos tuvieron mayor peso seco en tallo, raíz y hojas; en comparación con los demás tratamientos, siendo este tratamiento y el de la aplicación de bacteria, los que estuvieron por arriba de los testigos; y los valores más bajos se obtuvieron en las plántulas inoculadas con hongo, sin embargo, no existió diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo (Figura 8).

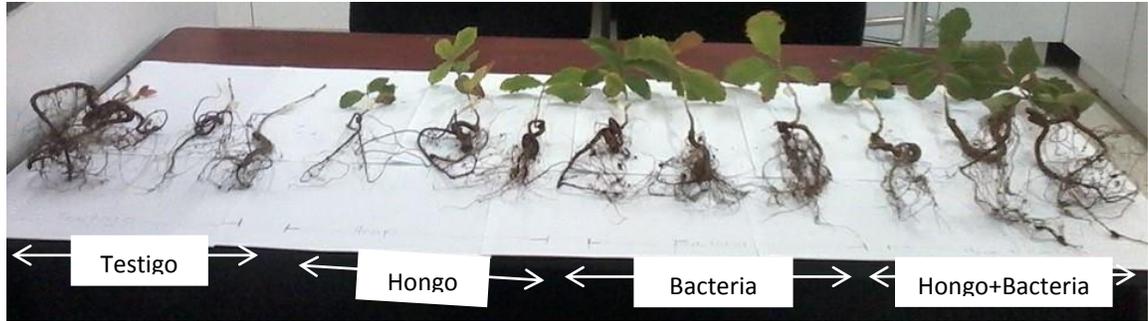


Figura 7. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* y/o *B. frostii* en el crecimiento de plántulas de *Q. resinosa*.

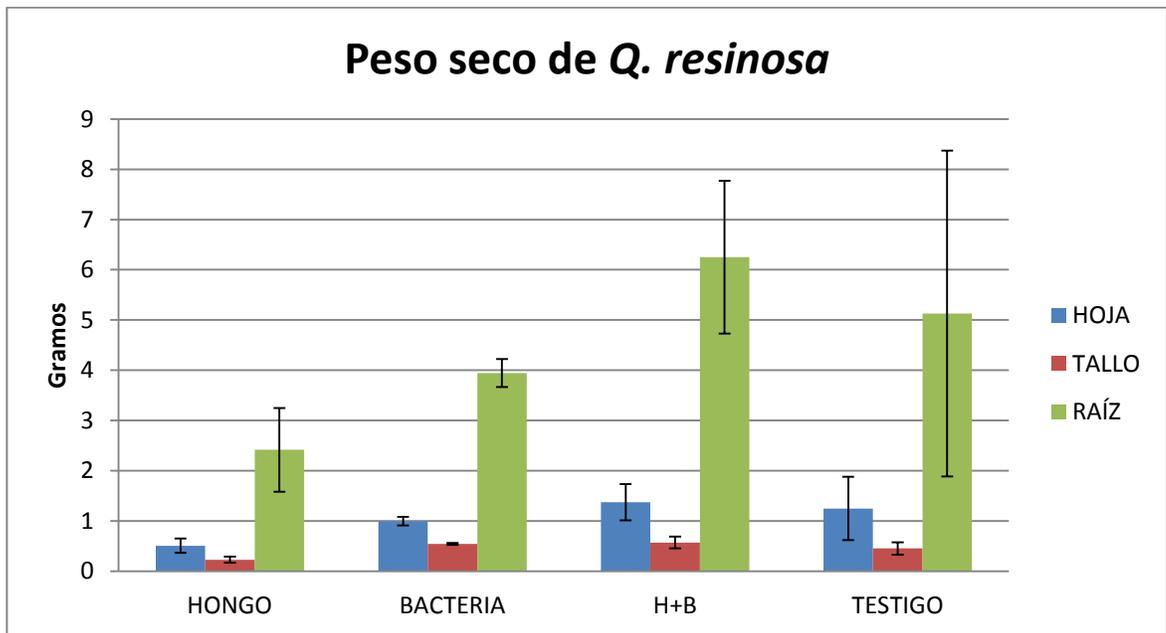


Figura 8. Peso seco total de plantas de *Q. resinosa* inoculadas o no con ectomicorriza y bacteria. Los valores representan el peso seco promedio \pm el error estándar, $n=3$. Los tratamientos no presentaron diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p<0.05$).

DISCUSIÓN

En términos generales, los resultados obtenidos nos confirman que para cualquier planta, la fase de plántula es una de las etapas más susceptibles de su ciclo de vida a factores bióticos como hongos y bacterias patógenas, así como a los abióticos, en particular a la temperatura, luminosidad, humedad y pH del suelo. Esta situación se acentúa para aquellas leñosas que basan su regeneración en la producción de semillas (Zavala, 2001).

Los microorganismos rizosféricos establecen una compleja relación con la planta y tienen efectos multifactoriales. En este trabajo se encontró que en general, las plantas testigo exhibieron el mejor desarrollo, lo que se observó desde el inicio de las evaluaciones, debido a que estas plántulas eran las más grandes al momento de establecer el experimento con respecto al resto. De todos los tratamientos probados, en ninguno de los parámetros evaluados se estableció una diferencia significativa pero en el que se aprecia mejor altura, es en el tratamiento que correspondió a la inoculación de plántulas con la combinación de *Rhizobium* y *B. frostii*. Este tratamiento también fue el que propició el 100% de sobrevivencia. Es probable que los factores que pudieron haber influido en no haber obtenido diferencias significativas son: Que las plántulas testigo desde un inicio llevaban ventaja al exhibir un mejor crecimiento con relación a las demás plántulas utilizadas. Se incurrió en el error de no haber separado lo suficiente a las testigos de las plantas inoculadas, lo que propició que a través del agua de riego se liberaran esporas y estas fueran absorbidas por las raíces de las plántulas testigo y las de otros tratamientos, debido a que al evaluar la colonización de la ectomicorriza en las plántulas, se corroboró que todas estaban micorrizadas, incluyendo a las del tratamiento solo con bacteria y las testigos; esto podría explicar que las plantas testigo aunado al buen crecimiento inicial, mostraran mejor follaje (Fig. 5), una sobrevivencia del 95% y el mejor diámetro. La época en que se inició el experimento y se inocularon las plántulas (otoño de 2013), así como en la que se desarrollaron las primeras etapas de las mismas, no fueron las más adecuadas, por las bajas temperaturas que se presentaron y que pudieron influir en la eficiencia de colonización por *B. frostii* y *Rhizobium*.

En este experimento la luz no era regular para todas las plántulas, las testigos tenían más sol que el resto. Además la solución nutritiva generó daño por fitotoxicidad dos días después de haberla aplicado lo cual afectó la fisiología de las plántulas, misma que pudo ser desfavorable para los microorganismos inoculados.

Existen pocos trabajos en materia de nutrición vegetal aplicada a especies forestales en etapa de vivero (Calderón *et al.*, 2006). De manera particular no se dispuso de información en la literatura sobre una solución nutritiva para la fertilización adecuada de liberación lenta para las plántulas de *Q. resinosa*, y se utilizó una diseñada para *Cedrela odorata*, obteniendo con ella un mal desarrollo en la fase de establecimiento. Flores (2010) refiere que no existe una solución nutritiva ideal única aplicable a todos los cultivos, y en general varían según la especie forestal, estadio fenológico, fotoperiodo y factores ambientales. La nutrición mineral es después del riego la práctica que mayor influye en el crecimiento y calidad de las plantas. Los programas de reforestación demandan plantas de calidad que garantice su supervivencia. Bello y Cibrian (2000) indican que en la mayoría de las especies forestales, las plántulas para reforestación suelen presentar una mortalidad tan alta (43% de supervivencia), motivo por el que se requieren técnicas para incrementar la sobrevivencia. La información acerca de los encinos sobre estos temas es incipiente e incompleta (Zavala, 2001).

Puesto que todos los tratamientos presentaron los mayores incrementos en altura a partir de los 150 días, esto se puede explicar por el efecto de la temperatura y luminosidad de los meses de abril a julio, en donde se favorece la tasa de crecimiento de acuerdo a la fenología de la especie. La luz y su intensidad son factores que tienen gran influencia en el crecimiento de las plantas. Los encinos pueden presentar crecimiento regular o irregular dependiendo de la especies. En algunas especies el crecimiento irregular se debe al prolongado reposo de las plántulas por insuficiente luz, situación que se presenta en el sotobosque (Zavala, 2001). Con excepción de la sobrevivencia, las plántulas inoculadas solo con *B. frostii*, tuvieron los valores de los parámetros evaluados más bajos, como ya se mencionó, probablemente por una micorrización ineficiente por bajas temperaturas o porque los exudados de las plántulas y las condiciones de la rizosfera de *Q. resinosa* no fueron suficientes para promover un adecuado desarrollo de *B. frostii*. Resultados similares fueron obtenidos por Carrera y López (2004), quienes

reportan que en plántulas de *Pinus greggii* inoculadas con los ECM *Laccaria laccata*, *Suillus pseudobrevipes*, *Boletus pinophilus* y *Pisolithus tinctorius*; al evaluar altura y peso seco total, no existieron diferencias estadísticas entre las plantas inoculadas con cualquiera de las especies de hongos ECM y los testigo a los 345 días después de la inoculación. Sudhakara y Natarajan (1997), estudiaron el efecto de la inoculación de *Telephora terrestris* en plántulas de *Pinus patula* y a los 10 meses no encontraron diferencias estadísticas en términos de altura y peso seco de la parte aérea y raíz. En contraste, en Honduras se realizó un ensayo con plántulas de *Quercus costarricensis*, utilizando diversos procesos de inoculación ectomicorrícica; dicho ensayo mostró que a los siete meses las plántulas inoculadas con los hongos *Lactarius sp.* y *Andropogon sp.* registraron el mejor crecimiento en altura, diámetro al cuello de la raíz y biomasa foliar (Hernández y Salas, 2009).

La interacción planta hospedera-ECM define grados de especificidad, como lo demostraron Klironomos y Hart (2001), en una investigación en la que encontraron que una proporción importante de nitrógeno fue transferido al follaje de pinos creciendo en asociación con *Laccaria bicolor*, mientras que solo una pequeña parte del nitrógeno fue transferida a estas plantas cuando estuvieron asociadas con *Cenococcum geophilum*. Situación similar pudo acontecer en este trabajo. Estos datos enfatizan nuevamente la necesidad de reconocer que pueden ocurrir considerables diferencias en la capacidad de los hongos micorrízicos para asegurar la movilización y transferencia de nutrientes desde sustratos orgánicos a las plantas (Pérez y Read, 2004), y por ello es importante continuar investigando la relación de diversos géneros de hongos ECM con diversas especies de plantas forestales, en diferentes tipos de sustratos

Barea *et al.* (1991) citado por Adriano *et al.* (2011) refieren que la eficiencia micorrízica se explica por el incremento del área de exploración radical de las plantas y sus consiguientes incrementos en la absorción de nutrimentos, lo que implica que en una misma condición de disponibilidad de éstos, se presenten mayores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento de las plantas en el caso de una micorrización eficiente.

Es importante considerar que en el caso de *Rhizobium*, ésta es una cepa nativa de zonas tropicales cuyo hábitat es la rizósfera del cafeto, por lo cual pudo ser mayormente afectada por la temperatura y los exudados diferentes de *Q. resinosa*. También es

factible que el establecimiento eficiente de esta bacteria en la rizósfera de *Q. resinosa* no se haya favorecido por el daño foliar que la toxicidad de los microelementos causó a las plántulas (Figura 9) y las hizo más susceptibles a los factores climáticos, motivo por el cual el porcentaje de sobrevivencia fue muy bajo (35%). Se ha determinado que uno de los factores que afecta a los microorganismos rizosféricos es el estadio fisiológico de las hojas. En las hojas se sintetizan aminoácidos, azúcares y flavonoides que se movilizan hacia la raíz y son excretados por ésta, mismos que promueven el desarrollo de los microorganismos rizosféricos (Cleveland *et al.*, 2004). Cortes *et al.* (2009) en el estudio de los microorganismos de la rizosfera de ilama (*Annona diversifolia* Saff.), encontraron que las UFC de bacterias totales, bacterias solubilizadoras de fosfatos y las bacterias fijadoras de N de vida libre fueron más abundantes en la rizosfera de plantas con hojas comparadas con plantas parcialmente o totalmente defoliadas. Estos datos indican que la colonización por los microorganismos rizosféricos y sus poblaciones son influenciadas por diversos factores dentro de los cuales se incluyen: condiciones ambientales (humedad y temperatura del suelo), fenología y estadio fisiológico de las plantas hospederas, y tasa de crecimiento radical (Brundrett, 2002; Cleveland *et al.*, 2003 y 2004). También Cortes *et al.* (2009) determinaron que las poblaciones microbianas rizosféricas varían con la estacionalidad y la edad de las plantas.



Figura 9. Daño foliar por toxicidad de la solución nutritiva en plántulas inoculadas con *Rhizobium*.

En cuanto al tratamiento de la coinoculación de plántulas con *Rhizobium* y *B. frostii*, a pesar de que no se obtuvo diferencia significativa en el parámetro altura de planta con

la inoculación de éstos, se puede decir que éste se perfiló como el mejor tratamiento que influyó en este parámetro; lo cual es probable que se debiera a que la micorrizósfera resultó ser un mejor hábitat que la rizósfera para *Rhizobium*, conforme a lo que Artusson *et al.* (2006) sugieren, que las bacterias de la rizósfera son activadas por los hongos micorrícicos. A su vez las bacterias produjeron metabolitos que influyeron positivamente en el desarrollo del ECM y una micorrización más eficiente, lo que ha sido demostrado en diversos estudios (Artusso *et al.*, 2006); por lo que se puede inferir que estas poblaciones microbianas interactuaron favorablemente entre sí. El aumento en altura se pudo deber a una mayor producción de auxinas, lo cual coincide con lo que refieren Perrine *et al.* (2004); quienes sostienen que los rizobios tienen un metabolismo favorable a la síntesis de moléculas promotoras del crecimiento como el ácido indol acético, las giberelinas y las citoquininas, las cuales secretan ya sea en la rizósfera o en los tejidos de las plantas. Estas estimulan el mayor desarrollo de la raíz y realizan la capacidad de absorción de nutrientes en beneficio de la planta. Adriano *et al.* (2011), consideran que la coinoculación de los microorganismos necesita de condiciones adecuadas para su establecimiento e interacción positiva que conduzca a la efectividad de la simbiosis micorrízica; y a su vez que ésta garantice una absorción de nutrientes suficientes para satisfacer las exigencias de la estimulación. Estas condiciones pueden derivarse del microhábitat que implica tipo de suelo, influido por la especie y variedad del cultivo. Cabe señalar que las interacciones microbianas en la rizósfera no siempre son mutualistas y por ende no se obtiene un efecto sinérgico que favorezca el crecimiento y desarrollo de las plantas (Adriano *et al.*, 2011).

La sinergia entre microorganismos se ha señalado en algunos trabajos con bacterias promotoras del crecimiento en encinos (SEMARNAT, s/f). En un trabajo hecho con *Pinus piñonero* se explica que el sinergismo de dos microorganismos se da en tiempos largos, mínimo a 5 años. En este trabajo se estableció el sinergismo entre los hongos del propio suelo que forman micorrizas y las bacterias inoculadas *B. pumillus* y *B. liqueniformis* que ejerce un efecto benéfico en el crecimiento y desarrollo de los pinos piñoneros. Es notable el efecto del *B. liqueniformis* y de la coinoculación con ambos bacilos (*B. pumillus* y *B. liqueniformis*), manifestándose sobre todo en tiempos largos. Seguramente los bacilos han favorecido que los hongos puedan micorrizar las raíces de

los pinos (Chanway, 1997), además del hecho de que la micorrización sea inducida por el bajo contenido en fósforo de los suelos (García *et al.*, 2000). Es factible que el efecto de *Rhizobium* y *B. frostii* en el desarrollo de las plántulas de *Q. resinosa* se pueda evidenciar en un mayor período de tiempo.

Colón *et al.* (1999) señalan que la utilización de las PGPRs y ectomicorriza producen un doble beneficio: incremento de la biomasa aérea y radical; y mejora la fertilidad del suelo. Además Chanway (1997), indica que la “técnica de inocular PGPRs puede llegar a ser una forma barata y respetuosa con el medio ambiente para la regeneración de plántulas leñosas, puesto que suelen soportar condiciones extremas después del trasplante”. En la medida que el interés por esa técnica crece, aumenta la investigación, y se conocen mejor los factores que contribuyen a la variabilidad en la respuesta de crecimiento vegetal al inoculo, de tal manera que podrá optimizarse la inoculación bacteriana y fúngica como herramienta para la reforestación.

Esta sinergia favorable se ha aprovechado en la elaboración de biofertilizantes mediante consorcios microbianos (combinaciones de diversas especies de hongos y bacterias) y su aplicación en diferentes plantas, y tienen generalmente efecto sinérgico en la nutrición de la planta y su concomitante beneficio en el desarrollo vegetativo y reproductivo.

Como ya se mencionó, las condiciones ambientales son cruciales tanto para el desarrollo de las plantas como de los microorganismos, y a su vez éstas influyen en la interacción de las poblaciones vegetales y microbianas; por ello, en los meses fríos, el número de hojas se mantuvo constante en todos los tratamientos, pero a partir de abril se observa un incremento en todos ellos (Figura 4). Hernández *et al.* (2013), señalan que a mayor altitud, los encinos tienen mayor retraso en la brotación de hojas, en promedio 3.3 días por cada 100 metros; y que las temperaturas bajas retrasan la aparición de brotes en *Q. resinosa*, siendo la temperatura del aire el principal factor ambiental que regula el momento de la apertura de las yemas de los árboles de clima templado (Cannell, 1997). Esto concuerda con el desarrollo de nuevas hojas en el mes de abril, puesto que no se suspendió ningún riego y la temperatura del aire es mayor en esas fechas, sin embargo al llegar a julio las plantas empiezan a tirar sus hojas. A este respecto, Borchert (1994) citado por Hernández *et al.* (2013), explica que *Quercus magnoliifolia* y *Q. resinosa* son

dos especies de robles caducifolios que se establecen en los bosques templados en las latitudes tropicales, que en la temporada seca de estas zonas, las plantas responden a las variaciones en temperatura y disponibilidad de agua a través de la hoja deciduas, mecanismo que evolucionó para combatir la falta de agua o para aumentar la resistencia a la sequía.

El conocimiento de las características y condiciones de la producción de plántulas de especies forestales es fundamental en las prácticas de recuperación y restauración de los ecosistemas forestales.

La micorrización y la incorporación de microorganismos benéficos de manera controlada en las plántulas en el vivero, puede facilitar los procesos de revegetación y reforestación (Pera *et al.*, 1998). Como ya se mencionó se usó la mezcla de sustratos: Peat most, agrolita y vermiculita, probablemente los resultados serían mejores si se hubiera utilizado suelo nativo. A pesar de que la comprensión de la movilización de nutrientes a partir de sustratos orgánicos naturales recién se inicia, los estudios efectuados a la fecha sugieren que la naturaleza distintiva de los tipos de sustratos determina importantes diferencias en estos procesos (Pérez y Read, 2004). Los materiales vegetales en descomposición muestran considerable variabilidad en su grado de movilización. En algunas ocasiones una combinación planta-hongo puede proporcionar acceso preferencial a un nutriente específico contenido en los sustratos orgánicos naturales (Pérez y Read, 2004).

La capacidad de formar rebrotes está influida por las condiciones ambientales. En este trabajo se desarrollaron rebrotes en las plántulas inoculadas con *B. frostii* y el testigo. De acuerdo con Zavala (2001), los rebrotes pueden surgir de la raíz, lo cual podría contrarrestar el efecto de mortalidad durante la regeneración. Plántulas de *Q. douglasii* han mostrado rebrotes al perder completamente el vástago, lo cual ha sido reiterativo después de muertes sucesivas de la parte aérea. Esto también fue observado en la Sierra de Pachuca, en el estado de Hidalgo, en donde fueron registrados rebrotes de raíz de plántulas de *Q. rugosa*. Se ha sugerido que dicha respuesta es una adaptación que permite a plántulas de encino persistir por años bajo los árboles maduros y así constituirse en una fuente importante de regeneración (Zavala, 2001). En general, todas

las especies de encino son capaces de producir rebrotes, solo que en algunas esta producción es más frecuente.

B. frostii es un hongo ectomicorrícico asociado con maderas duras (especialmente robles) en el este de América del Norte, Suroeste de México y América Central. Crece solo, disperso o gregario en el verano y otoño. Se ha identificado en diversas regiones de México, en bosques de encino (Villaseñor, 1999), sin embargo, existe poca información sobre la interacción *B. frostii*-*Q. resinosa*, y este trabajo es una primera contribución en San Luis Potosí.

Las plántulas inoculadas se establecerán en campo y se continuará evaluando el efecto de los microorganismos benéficos. Es importante volver a efectuar este trabajo, haciendo las correcciones pertinentes y además se podrían obtener mejores resultados si la inoculación se realiza durante la fase de germinación.

CONCLUSIONES

Se identificó al hongo micorrícico *Boletus frostii* en la Sierra de Álvarez, San Luis Potosí, en un bosque de *Quercus resinosa*.

Rhizobium y *Boletus frostii* reflejaron una interacción positiva entre ellos, por su efecto sobre el desarrollo de las plántulas de *Quercus resinosa*.

Ninguno de los tratamientos aplicados mostraron diferencias significativas en los parámetros evaluados, sin embargo, el tratamiento que promovió el desarrollo de las mejores características anatómicas y con los que se obtuvieron los valores más altos en los diversos parámetros que se midieron en las plántulas de *Quercus resinosa*, fueron las inoculadas simultáneamente con *Rhizobium* y *Boletus frostii*.

LITERATURA CITADA

- Adriano, M. L., R. Jarquín, C. Hernández, M. Salvador y C. T. Monreal (2011). Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol.2. No.3: ISSN 0304-2847. Texcoco. México.
- Antoun, B. Ch. y N. Goussard (1998). Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non legumes. Effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). Plant and Soil. 204: 57-67.
- Artursson, V., D. Finlay y K. Jansson (2006). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental Microbiology, 8(1): 1-10.
- Axelrod, D. L. (1983). Biogeografía of oaks in the Arcto-Tertiary province. Annals of the Missouri Botanical Garden. 70:629-657.
- Azcón, C. y M. Barea (1996). Interacciones de las micorrizas arbusculares con microorganismos de la rizósfera. pp. 47-68. Guerrero, E., ed. Las micorrizas. biológica de los recursos del suelo. Santafé de Bogotá, Colombia: FEN.
- Bass, R. (1990). Efectos de *Glomus fasciculatum* y microorganismos de la rizosfera aisladas sobre el crecimiento y la absorción de fosfato de *Plantago major* spp. pleiosperma . En: Plantas y Suelos. Vol. 124, no. 2, pp. 187-193.
- Basán, Y. y G. Holguín (1998). Propuesta de la división de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en dos clasificaciones: Biocontrol-PGPB y PGPB. Biología del Suelo y Bioquímica. Vol. 30, no. 8, p. 1225-1228.
- Bent, E. (2006). Induced systemic resistance mediated by plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF), pp. 225-258. In S. Tuzun and E. Bent (eds.). Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants. Springer-Verlag, New York.
- Bello, G. M. y N. Labat (1987). Los Encinos (*Quercus*) del Estado de Michoacán. Centre de Études Mexicaines et Centroaméricaines. Cuadernos de Estudios Michoacanos 4, SARH-INIFAP: México, p. 97.
- Bello, L. A. y T. J. Cibrián (2000). Evaluación técnica de la reforestación 1998. Resumen del 1er. Congreso Nacional de Reforestación. Colegio de Postgraduados, México.
- Brady, N. C. y R. Weil (1999). The nature and properties of soils. 12th ed. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall, 881 p.

- Brundrett, M. C. (2002). Co-evolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 154: 275.
- Cairney, J. W. (2000). Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften* 87: 467-475.
- Calderón, N., J. Jasso, J. J. Martínez, J. Vargas y A. Gómez (2006). Estimulación temprana del crecimiento del epicotilo en plántulas de *Pinus montezumae* Lam. *Ra Ximahi Vol 2. No. 3:* 847-864.
- Cannell, G. R. (1997). Spring phenology of trees and frost avoidance. *Weather*, 52(2): 46–52. doi:10.1002/j.1477-8696.1997.tb06268.x.
- Carrera A. y G. F. López (2004). Manejo y evaluación de ectomicorrizas en especies forestales. *División de Ciencias Forestales* 10(2): 93-98. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. México.
- Chanway, C. P. (1997). Inoculation of tree roots with plant growth promoting soil bacteria: an emerging technology for reforestation. *Forest Science* 43: 99-112
- Cleveland, C., R. Townsend, K. Schmidt y C. Constance (2003). Soilmicrobial dynamics and biogeochemistry in tropical forests and pastures, southwestern Costa Rica. *Ecol. Appl.* 13: 314-326.
- Cleveland, C., R. Townsend, K. Schmidt y C. Constance (2004). Soil microbial dynamics in Costa Rica: seasonal and biogeochemical constraints. *Biotropica.* 36: 184-195.
- Colón, J. J., M. Gutiérrez, M. Ruíz y A. Probanza (1999). Incremento de parámetros biométricos y de la actividad biológica rizosférica de *Pinus pinea* mediante la utilización de bacterias promotoras del crecimiento y ectomicorrizas. Universidad San Pablo CEU. Fac. CC. Experimentales y Técnicas, Urb. Montepríncipe, Ctra. Boadilla del Monte 28668 Madrid.
- Cortes, J., J. Pérez, J. Delgadillo, R. Ferrera, G. Ballesteros (2009). Estacionalidad y microorganismos rizosféricos de ilama (*Annona diversifolia* Saff.) en huertos naturales del trópico seco. *Terra Latinoamericana* 27 (1): 27-34.
- Cuadrado, B., G. Rubio y W. Santos (2009). Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) seleccionados de los cultivos de fríjol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Cartagena. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* Vol. 38 (1), pp 78-104.
- Díaz, G., R. Flores y M. Honrubia (2009). Descripción de cultivos miceliares de Boletales neotropicales y europeos (*Boletus* grupo *edulis*, *Boletellus* y *Suillus*) y formación de primordios de *B. edulis* en cultivo puro. *Revista Mexicana de Micología*, vol. 30, pp. 1-7, Sociedad Mexicana de Micología. México.

- Donoso, Z. C. (2008). Ecología Forestal, el bosque y su medio ambiente. Editorial Universitaria bosque nativo. Sexta edición. Factores biológicos. pp 296-299.
- Duddrige, J.A., A. Malibari y J. Read (1980). Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature* 287: 834-836.
- Esitken A., E. Yildiz, S. Ercisli, F. Donmez, M. Turan y A. Gunes (2009). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *ELSEVIER. Scientia Horticulturae* 124: 62–66. www.elsevier.com/locate/scihorti.
- Esquivel, C. R, M. Gavilanes y R. Cruz (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima acc desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Laboratorio de Microbiología Experimental. Universidad Nacional Autónoma de México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36 (3): 251 – 258.*
- Ferrari, A. E., C. Esparrach, A. Galetti y G. Wall (2009). Forestación de un terreno decapitado con *Robinia pseudoacacia* inoculada con *Rhizobium* spp. y *Glomus deserticola*. 1: Universidad Nacional de Quilmes, R. Sáenz Peña 352 (B1876BXD) Bernal, Buenos Aires; 2: EEA INTA Balcarce, C.C. 276 (7620) Balcarce, Buenos Aires. Correo electrónico: lgwall@unq.edu.ar
- Flores, S. (2010). Determinación de dosis óptimas NKP en especies de interés económico y forestal en cultivo hidropónico. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduado, México.
- Franco, C. M. (2008). Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e Interacciones de estas Rhizobacterias con Hongos Formadores de Micorrizas. Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos. Tesis doctoral. Granada.
- Frank, A. B. (1885). Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze (On the root-symbiosisdepending nutrition through hypogeous fungi of certain trees). *Ber. Deut. Bot. Gesell.* 3: 128-145 (translated by J.M. Trappe, *Proc. 6th N. Amer. Conf. Myc.*:18-25).
- García, S., C. Rubio, L. Rodríguez, M. Pozuelo, M. Lucas, A. Probanza y R. De Felipe (2000). Mejora de la producción de plantas de vivero (*Pinus pinea* L.) mediante el empleo de rizobacterias (PGPRs) y ectomicorrizas para la recuperación de suelos degradados. Centro de Ciencias Medioambientales (C.S.I.C.) Dpto de Bioquímica y Fisiología Vegetal. C/ Serrano 115 duplicado. Madrid 28006.
- Garibay, O. R., E. Morales, M. Domínguez y A. Flores (2013). Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. 84, núm. 1, pp. 153-169. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México.

- Germida, J. y L. De Walley (1996). Rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas alteran los patrones de enraizamiento y la colonización de hongos micorrícicos arbusculares de campos de cosecha de trigo en primavera. *Biología y Fertilidad de Suelos*. Vol. 23, N° 2, pp. 113-120.
- Hernández, W. y E. Salas (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía Costarricense* 33(1): 17-30. ISSN:0377-9424/2009www.mag.go.cr/revagr/inicio.htm. www.cia.ucr.ac.cr.
- Hernández, E., A. González, R. Méndez, E. Vega y K. Oyama (2013). Contrasting leaf phenology in two white oaks, *Quercus magnoliifolia* and *Quercus resinosa*, along an altitudinal gradient in Mexico. *Can. J. For. Res.* 43: 208–213 (2013) dx.doi.org/10.1139/cjfr-2012-0406.
- Hewitt, E. J. (1966). The composition of the nutrient solution. In: Hewitt, E. J. (ed). In Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham. United Kingdom. pp 187-246.
- Honrubia, M. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, vol. 66, núm. 1, 2009, pp. 133-144, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. España.
- <http://conabio.inaturalist.org/taxa/194178-Boletus-frostii>
- http://www.mushroomexpert.com/boletus_frostii.html
- Johnson, C., H. Graham y A. Smith (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytol.* 135: 575-585.
- Klironomos, N. y M. Hart (2001). Animal nitrogen swap for plant carbon. *Nature* 410: 651- 652.
- López, G. F. (2009). Ecofisiología de árboles. In: Fisiología de la semilla. 2ª edición. Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Impreso en México. pp 195-212.
- Manos, S., J. Doyle y C. Nixon (1999). Phylogeny, biogeography and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetic and Evolution.* 12: 333-349.
- Marschner, H. (1997). Nutrición mineral de las plantas superiores. London: Academic Press. 889 p.
- Mayak, S., T. Tirosh y B. Glick. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry.* 42:565-572.

- Méndez, H. (2012). Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares asociados al cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) en dos ecosistemas tropicales de Veracruz, México. Tesis. UANL. Facultad de Ciencias Forestales. Linares, Nuevo León, México.
- Mendoza, M., F. Zavala y E. Estrada (2006). Hongos asociados con encinos en la porción Noreste de la Sierra de Pachuca, Hidalgo. *Revista Chapingo. Serie forestales y del ambiente*, año/vol. 12, numero 001. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 13-18.
- Minitab, Inc. (2007). Meet Minitab 15. Statistical Software. State Coll. Pa.
- Morris, H., E. Smith, M. Rizzo, M. Rejmánek y S. Bledsoe (2007). Contrasting ectomycorrhizal fungal communities on the roots of co-occurring oaks (*Quercus* spp.) in a California woodland. Department of Land, Air and Water Resources, 2Department of Plant Pathology, and 3Section of Evolution and Ecology, University of California, Davis, CA 95616, USA. *New Phytologist* (2008) 178: 167–176.
- Nixon, C. (1993a). The genus *Quercus* in Mexico. In: Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fay (Eds). *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press: U.S.A., pp. 447-458.
- Nixon C. (1993b). Infrageneric classification of *Quercus* (*Fagaceae*) and typification of sectional names. *Annales des Sciences Forestières* 50, Suppl 1:25–34.
- Noda, Y. (2009). Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”. Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba. *Pastos y Forrajes*, Vol. 32, No. 2.
- Osorio, N. W. (2007). Una revisión sobre efectos benéficos de bacterias de la rizósfera sobre disponibilidad de nutrientes del suelo y planta, absorción de sustancias nutritivas. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. Colombia. Vol.60 no.1. pp 3621-3643. Medellín.
- Pera, J., F. Álvarez y J. Parladé (1998). Eficacia del inoculo miceliar de 17 especies de hongos Ectomicorrícicos para la micorrización controlada de: *Pinus pinaster*, *Pinus radiata* y *Pseudotsuga menziesii*, en contenedor. Dpto. de Patología Vegetal. IRTA Centre de Cabrils. Ctra. de Cabrils, s/n. 08348 Cabrils, Barcelona. ESPAÑA. *Invest. Agr.: Sist. Recur. For.* Vol. 7 (1 y 2), 1998.
- Pera, J. y J. Parladé (2005). Inoculación controlada con hongos ectomicorrícicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: estado actual en España. Departament de Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Centre de Cabrils. ctra. de Cabrils s/n. 08348 Cabrils. Barcelona *Invest Agrar: Sist Recur For* (2005) 14(3), 419-433.

- Pérez, J. y J. Read (2004). Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivos que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*, vol. 29, núm. 5, pp. 239-247, Asociación Interciencia. Venezuela.
- Perrine, F., B. Rolfe, M. Hynes, C. Hocart (2004). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indolacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatization of *Rhizobium* exudates. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 723-729.
- Pulido, A. (1994). Micorrización sencilla para viveros elementales. Madrid. *Revista Quercus*. 105:34-36.
- Read, J. (1991). Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47: 376-391.
- Rodríguez, T. A., C. B. Xoconostle, M. Valdés (2004). Ecología molecular de hongos ectomicorrízicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 27, núm. 3, pp. 267-278, Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. México.
- Rodríguez, B. R., A. Olivares y M. C. Zamora (2008). Guía Técnica de reconocimiento de Micorrizas. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo.
- Román, G. F. (2003). Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de Chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis para obtener el grado de doctor en ciencias, del área de Biotecnología. Universidad de Colima.
- Rosenblueth, M. y E. Martínez (2006). Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México. *The American Phytopathological Society*. MPMI Vol. 19, No. 8, pp. 827-837.
- Rubio, L. E., S. Romero, E. Rojas, A. Durán y J. Gutiérrez (2011). Variación del tamaño de frutos y semillas en siete especies de encino (*Quercus*, Fagaceae). Laboratorio de Ecología y Taxonomía de Árboles y Arbustos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala (UNAM). México. Núm. 32, pp. 135-151.
- Sabás, J. (2011). "Taxonomía, Diversidad Y Distribución De Los Encinos (*Quercus* spp.) Del Estado De San Luis Potosí, México" Tesis para Obtener El Grado Académico De Maestro En Ciencias Y Tecnologías, Agrícolas, Pecuarias Y De Los Alimentos. Universidad Autónoma De Aguascalientes.
- Santillana, N., C. Arellano y D. Zúñiga (2005). Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Ecología Aplicada*, 4(1,2), 2005. ISSN 1726-2216. Depósito legal 2002-5474. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima - Perú.

- SEMARNAT, CONAFOR. (s/f). Foro Temático del encino, Pabellón de Artega, Aguascalientes. Conservación, aprovechamiento y manejo. Desarrollo tecnológico de bacterias promotoras de crecimiento para mejorar establecimiento y sanidad de árboles para reforestación. www.conafor.gob.mx. Gobierno Federal.
- Silva, M. (2011). Caracterización molecular de dos hongos, durante la interacción microorganismo-planta, para control biológico y promoción del crecimiento en *Arabidopsis thaliana*. Para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Biología Molecular. Instituto Potosino De Investigación Científica Y Tecnológica A.C. Posgrado En Ciencias En Biología Molecular. San Luis Potosí S.L.P.
- Smith, A. H. (1904). The boletes of Michigan. University of Michigan Herbarium Fungus Monographs.
- Smith, E. y J. Read (1997). Mycorrhizal Symbioses. 2nd. Ed. Academic Press. London. 605 p.
- Smith, E. y J. Read (2008). Mycorrhizal Symbiosis. Third edition. Academic Press. London. Pp. 611-636.
- Soto, O. (2007). Identificación de especies de encinos de México por medio del Sistema de Policlaves. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México.
- Stevenson, J. (1986). Los ciclos de la tierra. Nueva York: John Wiley and Sons. p 380
- Sudhakara, M. y K. Natarajan (1997). Coinoculation efficacy of ectomycorrhizal fungi on *Pinus patula* seedlings in a nursery. *Mycorrhiza* 7: 133-138.
- Sylvia, D. (1999). Mycorrhizal symbioses. *In: Principles and applications of soil microbiology*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall. pp. 408-426.
- Toro, M., R. Azcón y R. Herrera (1996). Efectos sobre el rendimiento y la nutrición de *Pueraria phaseoloides* ejercidos por la micorriza y noduladas por rizobacterias solubilizadoras de P. *Biología y Fertilidad de Suelos*. Vol. 21, no.1-2, pp. 23-29.
- Valencia, S. (2004). Diversidad Del Género *Quercus* (*Fagaceae*) En México. Boletín de la Sociedad Botánica de México, diciembre, número 075. Sociedad Botánica de México, A.C. Distrito Federal, México. pp 33-53.
- Villaseñor, I. L. (1999). Etnomicología de la etnia Wirrárixa (Huichol), Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. México
- Zavala, F. (2001). Introducción a la ecología de la regeneración natural de encinos. Ed. UACH. 1ra edición. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp 39-77.