



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**RESTABLECIMIENTO DE LA DINÁMICA DEL FÓSFORO Y ESTRUCTURA DEL
SUELO EN SITIOS DEGRADADOS MEDIANTE LA INOCULACIÓN DE HONGOS
MICORRÍZICOS: CONSECUENCIAS PARA LA PRODUCTIVIDAD FORESTAL Y LA
RESTAURACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD**

TESIS

Como requisito para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

presenta:

MARIELA GÓMEZ ROMERO.

Asesor:

DR. H. JAVIER A. VILLEGAS MORENO.

Co-Asesor:

DR. ROBERTO A. LINDIG CISNEROS.

Morelia, Michoacán, México. Noviembre de 2012.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN.....	1
Palabras clave.....	2
SUMMARY.....	3
Key words.....	4
I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	5
II. ANTECEDENTES GENERALES.....	9
2.1 Generalidades sobre la importancia del fósforo (P).....	9
2.2 Estudios realizados en el sitio de estudio.....	9
2.3 Estudios realizados con hongos micorrízicos.....	10
2.4 La Restauración Ecológica.....	13
2.5 Relevancia e impacto del proyecto en el área de estudio.....	13
III. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	15
3.1 Localización geográfica.....	15
3.2 Clima.....	16
3.3 Geología.....	16
3.4 Suelo.....	17
3.5 Vegetación.....	17
3.6 Hidrología.....	18
IV. HIPÓTESIS.....	19
V. OBJETIVO S.....	20

5.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	20

Capítulo I.

**ENSAYO DE EPECIES DE PINO PARA RESTAURACIÓN DE SITIOS
DEGRADADOS**

Resumen.....	22
Palabras clave.....	22
Introducción.....	23
Materiales y métodos.....	25
Resultados y Discusión.....	28
Conclusiones.....	35
Literatura citada	36

Capítulo II.

FERTILIZACIÓN Y ASOCIACIÓN CON ESPECIES PIONERAS HERBÁCEAS EN EL CRECIMIENTO DE *Pinus pseudostrobus*

Resumen.....	40
Palabras clave.....	40
Abstract.....	41
Key words.....	41
Introducción.....	42
Materiales y métodos.....	45
Resultados	49
Discusión.....	53
Referencias.....	55

Capítulo III.

DESEMPEÑO DEL tándem *Pinus pseudostrobus*-*Eysenhardtia polystachya* en ACRISOLES MEDIADO POR HONGOS MICORRÍZICOS

Resumen.....	60
Palabras clave.....	60
Introducción.....	61
Hipótesis.....	63
Objetivos.....	63
Objetivo general.....	63
Objetivos particulares.....	64
Materiales y métodos.....	64
Experimento de mesocosmos.....	64
Resultados.....	67
Concentración de fósforo en biomasa aérea de <i>Pinus pseudostrobus</i>	84
Concentración de fósforo en biomasa radical de <i>Pinus pseudostrobus</i>	85
Agregados estables.....	86
Fertilización en mesocosmos.....	87
Discusión.....	91
Conclusiones.....	94
Literatura citada.....	96

Capítulo IV.

APORTE DE HONGOS ECTOMICORRÍZICOS Y FERTILIZACIÓN EN EL ESTABLECIMIENTO DE *Pinus pseudostrobus* en SITIOS DEGRADADOS

Resumen.....	100
Palabras clave.....	100
Summary.....	101
Key words.....	101
Introducción.....	101
Métodos.....	104
Resultados.....	106
Discusión.....	111
Conclusiones.....	113
Referencias.....	114

Capítulo V.

**ESTABLECIMIENTO DE *Pinus pseudostrobus* Lindl. EN DOS CONDICIONES DE
REFORESTACIÓN EN CÁRCAVAS**

Resumen.....	119
Palabras clave.....	119
Summary.....	120
Key words.....	120
Introducción.....	120
Objetivos.....	122
Metodología.....	122
Resultados.....	126
Discusión.....	131
Conclusiones.....	132
Referencias.....	133
VI. DISCUSIÓN GENERAL.....	137
VII. CONCLUSIONES GENERALES.....	141
VIII. LITERATURA CITADA.....	143

ÍNDICE DE TABLAS Y CUADROS

CAPÍTULO II

Tabla 1. Análisis físico y químico del sustrato utilizado en el experimento.....	46
Tabla 2. Tratamientos de fertilización y presencia de especies pioneras herbáceas en el desempeño de <i>Pinus pseudostrobus</i>	48
Tabla 3. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a la altura, diámetro a la altura de la base (DAB), cobertura, número de ramas y longitud de ramas con hojas de <i>Pinus pseudostrobus</i> en presencia de fertilización y asociación con especies herbáceas pioneras <i>Lupinus mexicanus</i> y <i>Titonia tubaeformis</i>	51

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Tratamientos de inoculación para los experimentos en tándem.....	65
Tabla 1. Análisis de varianza aplicado al crecimiento de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos.....	70
Tabla 2. Análisis de varianza aplicado al crecimiento en diámetro de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.....	71
Tabla 3. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Pinus pseudostrobus</i> del experimento de mesocosmos.....	72
Tabla 4. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem.....	74
Tabla 5. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.....	75
Tabla 6. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.....	78
Tabla 7. Análisis de varianza aplicado al número de hojas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos.....	81
Tabla 8. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a las variables evaluadas posteriores a la cosecha de <i>Pinus pseudostrobus</i> en el experimento de mesocosmos.....	83

Tabla 9. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a las variables evaluadas posteriores a la cosecha de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos.....	84
Tabla 10. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a los agregados del experimento de mesocosmos.....	87
Tabla 11. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Pinus pseudostrobus</i> fertilizados con fósforo.....	87
Tabla 12. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> fertilizadas con fósforo.....	88
Tabla 13. Análisis de varianza aplicado al número de hojas de <i>Eysehardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos (junio y diciembre 2010) fertilizado con fósforo.....	89
Tabla 14. Análisis de varianza aplicado a la biomasa de semillas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> del experimento de mesocosmos fertilizado con fósforo.....	90

CAPÍTULO IV

Tabla 1. Tratamientos de <i>Pinus pseudostrobus</i> en presencia/ausencia de <i>Pisolithus tinctorius</i> y fertilización con fósforo.....	105
--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización Geográfica del Ejido de Atécuaro municipio de Morelia (Tomado de Ortega, 2004).....15

CAPÍTULO I

Figura 1. Diseño experimental indicando la composición de especies dentro las parcelas. Donde: *P. cembroides* = C, *Pinus greggii* = G, *P. devoniana* (*P. michoacana*) = M, *P. pseudostrobus* = P y Faja de protección = F. Número de plantas por especie: 144; plantas totales: 576. Condición de las pendientes: (0-5°) Testigo, (5-30°) suave y (>30°) Fuerte.....27

Figura 2. (A) Altura, (B) Diámetro basal de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* (2005-2011). Las barras indican el error estándar.....28

Figura 3. Supervivencia de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* (2005-2011) en el ensayo de especies.....29

Figura 4. Diámetro (A) y supervivencia (B) de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* en tres condiciones de pendientes (0-5°, 5-30° y >30°).....30

Figura 5. Altura (A) y diámetro basal (B) de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* con tratamientos de fertilización: P+N- (fosfato de potasio), P-N+ (nitrato de amonio), P+N+ (fosfato diamónico) y P-N- (control). Las barras indican el error estándar....31

Figura 6. (a) Clorofila *a*, (b) Clorofila *b* y (c) Clorofila *total* en *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* con tratamientos de fertilización: P+N- (fosfato de potasio), P-N+ (nitrato de amonio), P+N+ (fosfato diamónico) y P-N- (control). Las barras indican el error estándar.....32

CAPÍTULO II

Figura 1 A. Altura, B. Diámetro a la altura de la base (DAB), C. Cobertura, D. Número de ramas, E. Longitud de ramas con hojas y F. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en asociación con especies pioneras herbáceas *Lupinus mexicanus* y *Tithonia tubiformis*. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....52

CAPÍTULO III

Figura 1. Crecimiento en altura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos a partir del trasplante a los 3 meses de edad.....	68
Figura 2. Crecimiento de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos a partir del trasplante a los 3 meses de edad.....	69
Figura 3. Crecimiento de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	70
Figura 4. Diámetro de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	71
Figura 5. Cobertura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	73
Figura 6. Cobertura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación del pino. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	74
Figura 7. Cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	75
Figura 8. Cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	76
Figura 9. Número de ramas de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	77
Figura 10. Número de ramas de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación del pino. Las barras indican el error estándar.....	77
Figura 11. Número de ramas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	78
Figura 12. Número de ramas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	79
Figura 13. Número de hojas de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	80
Figura 14. Número de hojas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.....	81

Figura 15. Número de hojas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	82
Figura 16. Concentración de fósforo en biomasa aérea de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos. A) Tratamientos del tándem. B) Tratamientos de inoculación de la leguminosa en el tándem. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	85
Figura 17. Concentración de fósforo en biomasa radical de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos. A) Tratamientos del tándem. B) Tratamientos de inoculación de la leguminosa en el tándem. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	86
Figura 18. Cobertura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.....	88
Figura 19. Cobertura de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.....	89
Figura 20. Número de hojas de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos (diciembre 2010) con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.....	90
Figura 21. Semilla (gr) de <i>Eysenhardtia polystachya</i> en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.....	91

CAPÍTULO IV

Figura 1. Altura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en presencia/ausencia de <i>Pisolithus tinctorius</i> y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	106
Figura 2. Diámetro a la altura de la base (DAB) de <i>Pinus pseudostrabus</i> en presencia/ausencia de <i>Pisolithus tinctorius</i> y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	107
Figura 3. Cobertura de <i>Pinus pseudostrabus</i> en presencia/ausencia de <i>Pisolithus tinctorius</i> y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	108
Figura 4. Número de ramas de <i>Pinus pseudostrabus</i> en presencia/ausencia de <i>Pisolithus tinctorius</i> y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....	109

Figura 5. Longitud de ramas con hojas de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.....110

Figura 6. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo.....111

CAPÍTULO V

Figura 1. Sitios de estudio en la localidad de Atécuaro, Mich. Mpio. Morelia. A) Sitio donde se encuentran los experimentos de restauración. B) Sitio a 177 m de distancia donde se encuentra la reforestación convencional.....125

Figura 2. Altura de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.....127

Figura 3. Diámetro de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.....128

Figura 4. Cobertura de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.....129

Figura 5. Número de ramas de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.....130

Figura 6. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional.....131

DEDICATORIA

A mis padres:

Guillermina Romero Gómez y Víctor Manuel Gómez Dávalos.

Por haberme dado la vida y la libertad, por quienes he logrado realizar una parte más de mi sueño y escalar paso a paso un poco más pensando en ustedes.

A mis hermanos:

Manuel, Jaime, Azalea, Brisia, Corina y Memo.

Con quienes quiero compartir esta otra etapa tan importante en mi vida.

A Erick, Farid, Dalay, Julio y Fresia.

A mis cuñadas y cuñados

De una manera muy especial a **Esteban** por estar siempre presente, por compartir cada momento en esta etapa tan importante, por darme su apoyo y cariño en los momentos más complicados. Nunca olvidaré tus palabras de aliento en esos momentos.

A todas y cada una de las personas que han estado presentes en los momentos más decisivos.

Aún queda mucho camino por recorrer.

¡Cuánto mayor sentido tiene ahora la vida!

Podemos alzarnos sobre nuestra ignorancia, podemos descubrirnos como criatura de perfección, inteligencia y habilidad ¡Podemos ser libres!

¡Podemos aprender a volar!

AGRADECIMIENTOS

A la beca de CONACYT (219032) para la realización de este trabajo.

A mis asesores Dr. Javier Villegas y Dr. Roberto A. Lindig Cisneros con eterno agradecimiento por sus observaciones, por el invaluable aporte de sus conocimientos y por su apoyo, mi respeto y admiración.

A los integrantes de la comisión revisora Dra. Sabina I. Lara Cabrera, Dr. Cuauhtemoc Sáenz Romero, Dr. Erick de la Barrera Motppellier, Dr. José Arnulfo Blanco García y al Dr. Miguel Martínez Trujillo por sus aportes, revisión y corrección del manuscrito.

A Lorena Carreto Montoya por su valiosa colaboración y a los chicos entusiastas del laboratorio Erika, Charlie, Omar, Eneida, Santos y Enrique.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, al Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Al Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco) UNAM, Campus Morelia A cada uno de los profesores presentes en mi formación.

A mis compañeros de Laboratorio de Ecología de Restauración del Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco) UNAM, Campus Morelia y del Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo-Suelo. Todo ese gran ejército que me ayudó en alguna etapa del trabajo. Gracias por su colaboración, sin su ayuda no hubiera sido posible la toma de datos. Jeanneth, Adriana, Ana Laura, Carmelo, Verito, Denisse, Chuy, Enrique, Linberg, Lalo's, Sandra, Dilia, Yanira, Jessy, Mayra, Sussy, Lety, Dulce, Oscar, Mateo, Wilber, Chino, Marisoles, Liz, Luis y Bere. Gracias por todos los momentos compartidos.

A todos mis compañeros de la licenciatura de la Facultad de Biología 980304 Karla, Lalo, Rafa, Bani, Raquel, Cuauhtli, Lore, Magda, Sussy, Tana, Nancy, Concho, Julio, Juanito, Crisanto, Saúl e Iván † y al Gordo por el tiempo compartido, por esos momentos tan importantes que no olvido.

Va por todos y recuerden que...la jefa responde.

Los extraño...

A todas y cada una de las personas que estuvieron presentes y que de alguna forma influyeron para la realización de esta importante etapa.

GRACIAS una vez más.

"Si no luchas por tus sueños ¿Quién los hará realidad?"

Carlos Olivares.

La presente tesis fue realizada en el Laboratorio de Interacción Planta-Microorganismo-Suelo del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y en el Laboratorio de Ecología de Restauración del Centro de Investigaciones en Ecosistemas (CIEco) UNAM, Campus Morelia. Bajo la asesoría del Dr. Javier Villegas y el Dr. Roberto Lindig Cisneros.

RESUMEN

En condiciones de pérdida de suelo extrema, se requieren programas de restauración ecológica que garanticen el establecimiento de cobertura vegetal y protección de suelos. Este es el caso de sitios severamente degradados con problemas de erosión a lo largo del Cinturón Volcánico Trans Mexicano. Debido a la presencia en la zona de los suelos andosoles y acrisoles, aunado a la erosión causa numerosas cárcavas, niveles extremos de baja fertilidad, sobre todo de fósforo, que evitan el restablecimiento natural de la vegetación. Con la finalidad de restaurar este tipo de sitios, se contribuye con conocimientos para el restablecimiento del ciclo del fósforo y mejoramiento de la agregación del suelo, para lo cual se realizaron diversos experimentos. Inicialmente se realizó un ensayo de cuatro especies de pino: *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* para elegir aquella más sensible y que por lo tanto pudiera proporcionar mayor información sobre la interacción con hongos micorrízicos y el efecto de la fertilización. Las especies se plantaron en tres condiciones de pendientes y tres tratamientos de fertilización. Se evaluó supervivencia, altura y diámetro durante seis años y se analizó la concentración de clorofila, siendo *P. cembroides* la especie de mayor supervivencia pero con menor crecimiento. Y *P. pseudostrobus* mostró menor supervivencia. *P. greggii* con mayor crecimiento, respondió a la fertilización incrementando los niveles de clorofila. *P. devoniana* mostró una supervivencia del 80% y en general, *P. pseudostrobus* resultó ser la especie más sensible. En un segundo experimento, se estudió el efecto de la fertilización y la asociación con especies pioneras herbáceas en el desempeño de *P. pseudostrobus*, se utilizaron dos herbáceas de sotobosque *Lupinus mexicanus* y *Tithonia tubiformis* con un gradiente de fertilización con KH_2PO_4 . Los resultados mostraron que *L. mexicanus* puede influir en el desempeño y supervivencia de *P. pseudostrobus*, mientras que la fertilización no tuvo efecto. Los resultados sugieren que en acrisoles erosionados se requiere de agentes biológicos para solubilizar en mayor medida el fósforo y que de ésta manera sea incorporado a las plantas, lo anterior puede ocurrir con la interacción con hongos micorrízicos. Por lo cual, en una tercera etapa se realizó un experimento en condiciones de mesocosmos con un diseño ortogonal con ocho tratamientos en un sistema en tándem con *Pinus pseudostrobus*-*Eysenhardtia polystachya* para evaluar el efecto de los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices*, solos o en interacción, en el

desempeño de las variables evaluadas. En el experimento de mesocosmos, se presentó mayor desempeño en las plantas inoculadas con *G. intraradices* solo o en interacción con *P. tinctorius*. La presencia de *E. polystachya* es determinante en el tándem, debido a que *P. pseudostrobus*, no realiza asociación simbiótica con *G. intraradices*. La presencia de HE promueve la formación de macroagregados y los HMA promueve la formación de microagregados en el tándem *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya*. La mayor concentración de fósforo se presenta en los pinos asociados a la leguminosa con la presencia de HMA. La presencia de *E. polystachya*, se hace indispensable en este sistema para contribuir con el restablecimiento del ciclo del fósforo por realizar la asociación simbiótica con los HMA, que son los que están contribuyendo a solubilizar el fósforo e incorporarlo a la biomasa de la planta, lo que podría tener beneficios directos para contribuir a la restauración de sitios severamente degradados con problemas de erosión y baja fertilidad de fósforo. En una cuarta etapa, se estableció otro experimento con *P. pseudostrobus* y la adición de fertilización con fósforo, la inoculación con *P. tinctorius*, la combinación de ambos factores más un control. Los resultados mostraron que el desempeño de los árboles con presencia de inoculación y/o fertilización tienen un desempeño significativamente mayor. Las plantas inoculadas solas o con fertilización presentaron la mayor supervivencia, 23 % de diferencia en la supervivencia entre las plantas inoculadas con *P. tinctorius* y las control. Finalmente se evaluó el establecimiento de *P. pseudostrobus* en tres condiciones de propagación y trasplante *in situ*. La primera corresponde a plantas de procedencia conocida, germinadas y propagadas en condiciones controladas, para contar con un lote de plantas sin inóculo conocido y la segunda con *P. tinctorius*, estas fueron trasplantaron a los 15 meses de edad con adición de sustrato fértil en las cepas. En otro sitio muy cercano, una tercera condición, fue una reforestación convencional. Los resultados mostraron que los pinos plantados bajo las primeras condiciones presentaron mejor desempeño y supervivencia que los pinos de la segunda reforestación. La supervivencia de los pinos inoculados fue de 86%, sin inóculo conocido de 62% y los de la segunda reforestación 30%. Lo que corrobora que el esfuerzo adicional al momento de plantar y controlar las condiciones previas son de vital importancia para el establecimiento de *P. pseudostrobus* en sitios severamente degradados.

Palabras clave: fósforo, inoculación, fertilización, *Pinus pseudostrobus*, *Eysenhardtia polystachya*, restauración.

SUMMARY

Under extreme soil loss conditions, ecological restoration programs are needed to guarantee the establishment of a vegetation cover and soil protection. This is the case of severely degraded sites throughout the Trans Mexican Volcanic Belt. Because the presence in the zone of the soils andosols and Acrisols with the erosion causes gullies, extremely low levels of fertility, particularly of phosphorus, that prevent natural vegetation recovery. With the goal of restoring this type of sites, the present work provides knowledge on reestablishing the phosphorus cycle and improvement of soil aggregation through several experiments. Initially, an essay was done with four pine species: *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus*. This for choose the most sensible one that might provide most information about the interaction with mycorrhizic fungi and the effect of fertilization. This species were planted under three slope conditions and three fertilization treatments. Survival, height, and stem diameter were evaluated for six consecutive years, and chlorophyll concentration was also measured. *P. cembroides* was the species with the highest survival but with the lowest growth. And *P. pseudostrobus* had lower survival than the other species. *P. greggii* had higher growth than the other species, and responded to fertilization by increasing its chlorophyll concentration. *P. devoniana*, that had a survival of 80%. Overall, *P. pseudostrobus* was the most sensitive species. In a second experiment, the effect of fertilization and of the association with pioneer herbaceous species on the performance of *P. pseudostrobus* was studied. Two understory herbaceous species were used, *Lupinus mexicanus* and *Tithonia tubiformis* together with a fertilization gradient of KH_2PO_4 . Results show that there were statistically significant differences among treatments of presence of the herbaceous species. *L. mexicanus* had the highest influence on the performance and survival of *P. pseudostrobus*, fertilization had no effect. These results suggest that in eroded Acrisols, biological agents are needed to solubilize phosphorus and in this way be available for plants, this can occur through mycorrhizic interactions. In consequence, in a third stage, an experiment was carried with a tandem of *Pinus pseudostrobus*-*Eysenhardtia polystachya*, for evaluating the effect of the mycorrhizic fungi *Pisolithus tinctorius* and *Glomus intraradices*, alone and in interaction, in the performance of the evaluated variables. The experiment consisted an orthogonal design with 8 treatments. In the mesocosm experiment, the highest

performance was observed in plant inoculated with *G. intraradices*, alone or in interaction with *P. tinctorius*. Presence of *E. polystachya* was determinant for the tandem, because *P. pseudostrobus*, can not make a simbiotic relationship with *G. intraradices*. Presence of the HE promotes the formation of macro-aggregates, and HMA promotes the formation of micro-aggregates within the *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya* tandem. The highest concentration of phosphorus was obtained in pines associated with the legume and in the presence of the HMA. Presence of *E. polystachya*, was indispensable in the system to reestablish the phosphorus cycle because it can establish a simbiotic relationship with the HMA, which are responsible of solubilizing phosphorus that can be assimilated into the plant biomass, this might have a direct positive contribution for the restoration of severely degraded sites with erosion and low phosphorus fertility. In a fourth stage, another experiment was set with *P. pseudostrobus*, fertilization with phosphorus and inoculation with *P. tinctorius*, the combination of both factors and a control. Results showed that the performance of the trees that were inoculated and/or fertilized was significantly higher. Inoculated and fertilized plants had the better survival rate, a 23% difference between inoculated plants with *P. tinctorius* and control plants. Lastly, *P. pseudostrobus* establishment was evaluated under tree propagation conditions and *in situ* transplant. The first corresponds to plants of known origin, germinated and propagated under controlled conditions, to have a lot of plants without inoculation and a second lot of inoculated plants with *P. tinctorius*. These plants were transplanted at 15 months of age with fertile substrate incorporated into the planting sites. In a nearby site, the third condition, was a conventional reforestation. Results showed that pines planted under the first conditions had a better performance and survival than the pines of the conventional reforestation. Survival of inoculated pines was 86%, without inoculation was 62% and those from the reforestation was 30%. These results corroborate that the additional effort at planting and the previous conditions are vital for the establishment of *P. pseudostrobus* in severely degraded sites.

Key words: phosphorus, inoculation, fertilization, *Pinus pseudostrobus*, *Eysenhardtia polystachya*, restoration.

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La restauración de ecosistemas es una estrategia de manejo para recuperar la estructura y función de las comunidades naturales y con ello servicios ambientales, y por ello se ha reconocido la necesidad de abordarla desde una perspectiva ecosistémica (García-Oliva, 2005). La estructura del suelo se ve afectada por diversos tipos de manejo intensivos, como la deforestación, debido a que provoca cambios drásticos en la función del suelo (García-Oliva, *et al.*1999) y pérdida de hábitat para muchos organismos (Nebel *et al.*, 1999). Una de las consecuencias más graves de la pérdida de esta estructura es la desaparición de agregados del suelo. (Tisdall 1994, Six *et al.* 2000). La agregación es esencial para mantener la porosidad del suelo, mantener un buen intercambio de gases, buen drenaje y en general, facilitar los ciclos biogeoquímicos (Díaz-Zorrilla *et al.*, 2002). Además, la conservación de la estructura del suelo es crucial para la resistencia a la erosión. Como resultado de la experiencia acumulada en restauración ecológica, se consideran como áreas con altos niveles de disturbio a aquellas que sufrieron tala inmoderada, agricultura intensiva y la consecuente pérdida del suelo (Hardwick *et al.*,1997, Lindig- Cisneros *et al.*, 2005) ya que este es el medio de soporte para el crecimiento vegetal y por lo tanto, la base de todos los ecosistemas terrestres (Smith *et al.*, 2000), que son particularmente sensibles a la erosión por escorrentía que puede tener como consecuencia la formación de cárcavas (Wilson *et al.*, 1980). Cuando lo anterior ocurre, restablecer la cubierta vegetal y la estructura del suelo es de suma importancia para la rehabilitación del ecosistema. La mejor opción utilizada hasta ahora ha sido plantar especies resistentes al estrés por sequía, capaces de sobrevivir bajo las condiciones de un suelo degradado (Plancarte-Barrera, 1990), por lo tanto es frecuente que la restauración inicie con el establecimiento de pocas especies resistentes que pueden ser tanto herbáceas como arbustivas o arbóreas (Bradshaw, 2000).

La adición de nutrientes ha sido también una estrategia común en restauración, asociada a la práctica anterior (Quoreshi y Timmer, 2000, Olliet *et al.*, 2005). Sin embargo, la aplicación de algunos métodos específicos de mejoramiento del suelo puede favorecer otro tipo de procesos de degradación. Por ejemplo, fertilizar con nitrógeno puede incrementar la acidez del suelo, favoreciendo así la reducción del fósforo disponible, de modo que es

importante entender la química del suelo como un componente del ecosistema antes de aplicar métodos de restauración (García-Oliva, 2005). En estudios anteriores se ha demostrado que la adición de fósforo, si se realiza durante largos periodos de tiempo, puede ser una estrategia útil para la restauración (Will *et al.*, 2006), ya que la carencia de fósforo puede limitar el establecimiento (Oliet *et al.*, 2005) y el desempeño de las plantas (Mc Grath *et al.*, 2001). En este sentido, las leguminosas juegan un papel importante en la fertilidad del suelo, ya que su biomasa ha sido reconocida como una fuente importante de nutrientes, principalmente de fósforo, por descomponerse rápidamente e incorporarse al suelo (Jama *et al.*, 2000). Sin embargo, la mayoría de los estudios para conocer la dinámica del fósforo se ha realizado para entender los procesos de eutrofización de cuerpos de agua debido a la contaminación que causa la lixiviación desde los campos agrícolas (Silvan *et al.*, 2003, Gelbrecht *et al.*, 2005) y otros estudios se han realizado en bosques tropicales (Barajas-Guzmán *et al.*, 2006, Borbor-Córdova *et al.*, 2006). Sin embargo, no existen estudios sobre el restablecimiento de la dinámica del fósforo en sitios forestales templados severamente degradados. Nuestra experiencia sugiere que la deficiencia de fósforo es una limitante importante para el establecimiento de las plantas en sitios como los antes descritos. En este sentido, es necesario desarrollar estrategias nuevas que permitan optimizar la dinámica del fósforo en suelos severamente degradados.

El fósforo es uno de los elementos más críticos en el suelo, debido a que este elemento se mueve por difusión, sólo se desplaza por escasos milímetros, todo esto se debe a su intensa interacción con la matriz del suelo (Rubio, 2002). Además, hay que considerar que los nutrimentos, así como otros compuestos químicos del suelo, se presentan en un estado dinámico. De tal forma que son añadidos o removidos continuamente mediante diversas vías, y por lo tanto la fertilidad del suelo depende de las tasas relativas de adición y remoción de las sustancias químicas presentes (Bidwell, 1990).

Los procesos que llevan a cabo la formación y mantienen la dinámica del suelo se están viendo afectados por alteraciones de origen humano. La erosión recurrente de la capa superficial del suelo, la erosión en cárcavas como consecuencia de la deforestación y técnicas de cultivo inadecuadas, han sido identificadas en más del 65% de la superficie de los suelos del país (Covaleda, 2008) por lo que las consecuencias de la degradación acelerada ha dado

como resultado suelos sin capacidad de mantener la vida vegetal. Un ejemplo claro de esta problemática se presenta en los suelos Acrisoles, según la FAO-ISRIC (2006) estos suelos han sido clasificados como suelos evolucionados, que se han desarrollado principalmente sobre rocas muy ácidas o arcillas muy meteorizadas, que sufren posterior degradación (principalmente acidificación). Se caracterizan por presentar un contenido mayor de arcillas en los horizontes más profundos (en relación al horizonte superficial) como resultado de procesos pedogenéticos (especialmente la destrucción superficial y/o la migración de arcillas) que provocan la aparición de un horizonte árgico subsuperficial. Los Acrisoles tienen, a ciertas profundidades, una baja saturación de bases y arcillas de baja actividad. Por lo general, estos suelos son arcillosos y tienden a compactarse cuando carecen de cobertura vegetal, impidiendo la infiltración del agua (Covaleda, 2008).

Uno de los principales factores en ecosistemas terrestres, asociados a la sobrevivencia y crecimiento de la planta, así como a la conservación del suelo son los Hongos Ectomicorrízicos (HE) y los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). Estos organismos tienen la capacidad de establecer asociaciones simbióticas mutualistas llamadas micorrizas, las cuales pueden contribuir al desarrollo de la planta huésped debido principalmente a un aumento en la absorción de nutrientes minerales, especialmente el fósforo (P), además de realizar otras funciones importantes como estimular la formación y estabilidad de agregados del suelo a través de su micelio externo (Tisdall, 1994; Bearden, 2001). La utilización de estos organismos asociados a especies nativas fijadoras de nitrógeno y a especies arbóreas, tanto nativas como exóticas, representa una alternativa viable para la rehabilitación de ecosistemas degradados.

Se han encontrado registros de HE en pinos desde etapas muy tempranas, hace aproximadamente 50 m.a. (Axelrod, 1986; Smith y Read, 2000) y esto puede explicar que la asociación simbiótica puede ser la clave tanto para la permanencia como para la longevidad de este género de plantas. Además, se ha documentado que ciertas especies de leguminosas son capaces de formar asociaciones micorrízicas con ambos tipos de hongos (Smith y Read, 2000) y esta doble simbiosis contribuye a incrementar significativamente la absorción de fósforo, el número y la biomasa de nódulos en las raíces de la planta huésped y a aumentar los niveles de nitrógeno fijado (André *et al.*, 2005).

El estudio de plantas con el potencial de formar asociaciones simbióticas tanto con hongos MA como con HE puede contribuir de manera importante a mejorar las estrategias de restauración, al aumentar la capacidad de supervivencia y crecimiento de estas especies, así como para contribuir a mejorar la estructura del suelo. En este sentido *Eysenhardtia polystachya* es una planta nativa de México, abundante en zonas semicálidas con temperaturas entre 12 y 19 °C y una precipitación anual de 300 a 1,800 mm. Debido a su capacidad para prosperar en suelos perturbados y su tolerancia a la sequía, se ha considerado que tiene un potencial para ser utilizada en programas de conservación y recuperación de suelos. No obstante la importancia de esta especie, la información en torno a su biología, manejo y capacidad de formar asociaciones simbióticas es sumamente escasa (Vázquez-Yanes, 1999).

Planteamiento del problema

Existen sitios severamente erosionados en la cuenca del Lago de Cuitzeo, dominados por acrisoles, en donde el fósforo es muy limitante (el fósforo se encuentra en niveles de trazas de acuerdo al análisis por el método de Bray). Trabajos previamente desarrollados en esta zona han logrado el establecimiento de especies nativas fijadoras de nitrógeno (*Lupinus elegans*, *Crotalaria pumila*, *Senna hirsuta*, entre otras) y arbóreas, tanto nativas como exóticas (*Pinus pseudostrobus*, *P. michoacana*, *P. cembroides* y *P. greggii*). Sin embargo, el desempeño general de las leguminosas es muy pobre a pesar de que cuentan con nódulos funcionales, lo que se puede atribuir a la falta de fósforo disponible en el suelo, pues se sabe que la fijación de nitrógeno se ve limitada por la carencia de este nutriente (Vitousek y Howarth, 1991, Vitousek, 2004). En el caso de las especies arbóreas, se teme que su desempeño a largo plazo se vea comprometido por la carencia de fósforo, pues los datos preliminares obtenidos hasta la fecha indican una reducción en las tasas de crecimiento no atribuible a la fenología de las especies utilizadas en las restauraciones. Por lo anterior se propone estudiar la respuesta de especies nativas fijadoras de nitrógeno y especies arbóreas en “tándem” inoculadas con HE y HMA solos y en interacción, y sus efectos en la supervivencia y crecimiento de la planta así como en la formación y estabilidad de agregados en el suelo.

II. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Generalidades sobre la importancia del fósforo (P)

Los nutrientes que las plantas toman del suelo junto con el agua han sido clasificados en dos grupos: los **macronutrientes** que son elementos constituyentes de biomoléculas estructurales, tales como proteínas, lípidos o carbohidratos, o que actúan como osmolitos y como su nombre lo indica, se necesitan en grandes cantidades; estos son: Nitrógeno (N), Fósforo (P), Azufre (S), Potasio (K), Calcio (Ca) y Magnesio (Mg). Los **micronutrientes**, elementos traza u oligoelementos que corresponden a constituyentes enzimáticos y sólo son necesarios en muy pequeñas cantidades. Son: Hierro (Fe), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Boro (B), Manganeso (Mn), Molibdeno (Mo) y Cloro (Cl). Dentro de los nutrientes esenciales para las plantas se encuentra el fósforo que, después del nitrógeno, es el elemento que con mayor frecuencia resulta limitante en los suelos y sobre el cual hacemos mayor énfasis ya que este estudio se enfoca principalmente en conocer la dinámica del mismo. El fósforo se encuentra disponible para las plantas como anión monovalente fosfatado $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ en suelos con un pH inferior a 7 y como anión divalente HPO_4^{-2} en suelos básicos, con un pH arriba de 7 (Salisbury, 1994). El fosfato se distribuye en la mayoría de las plantas de un órgano a otro, se pierde en las hojas antiguas y se acumula en las hojas jóvenes, los síntomas de deficiencia se presentan en las hojas maduras. Este es parte esencial de muchos glucofosfatos que participan en la fotosíntesis, la respiración y otros procesos metabólicos, forma parte de nucleótidos (RNA y DNA) y de fosfolípidos presentes en las membranas, también es esencial en el metabolismo energético por su presencia en las moléculas de ATP, ADP, AMP y Pirofosfato (PPi).

2.2 Estudios realizados en el sitio de estudio

La existencia de áreas con muy distinto grado de perturbación, hace sumamente complicada la decisión de seleccionar la especie o especies más adecuadas para rehabilitar o restaurar un sitio determinado. La mejor manera es decidir la especie o especies a utilizar en función de los resultados de ensayos en campo. El objetivo de la restauración ecológica es múltiple: tratar de detener la erosión, fomentar la acumulación de materia orgánica para

reponer en parte el suelo orgánico ya perdido, tener éxito en la reforestación, entre otros. Estos objetivos pueden ser incluso de tipo social, como proveer de una fuente de madera a la población local. En la zona de estudio, *Pinus michoacana* y *P. pseudostrobus* se encuentran distribuidos de manera natural. Cabe mencionar que el segundo presenta mejor forma de fuste y tasa de crecimiento. Por otro lado, *P. cembroides* y *P. greggii* no se distribuyen de manera natural en Michoacán, la ventaja que presentan es que son especies resistentes a la sequía, factor importante en un suelo erosionado, siendo el primero un pino piñonero de amplia distribución en zonas semiáridas de México y el segundo, a pesar de ser una especie resistente a la sequía, crece relativamente rápido y su forma de fuste es recta. Estas especies fueron transplantadas en un sitio de restauración y evaluadas a los 24 meses posteriores a la plantación. La especie con mejor supervivencia fue *P. cembroides* (86 %), y la que presentó la más baja fue *P. pseudostrobus* (45%). Para *P. michoacana* fue de 78% y para *P. greggii* de 70 %. Las diferencias en porcentaje de supervivencia fueron significativas ($P=0.0266$) según un análisis de varianza. En cuanto al incremento en altura, *P. greggii* fue la mejor especie, alcanzando un incremento de altura promedio de 56 cm, el segundo fue *P. pseudostrobus* con 35 cm, el tercero *P. michoacana* con 17 cm y finalmente *P. cembroides* con 12 cm. con un valor de $P= 0.001$. (Sáenz-Romero y Soto-Correa, 2008).

Por otro lado, Aureoles-Celso (2006) realizó un estudio sobre el efecto de especies de leguminosas sobre la capacidad de retener el suelo, bajo condiciones de restauración ecológica y menciona la importancia y utilidad de este grupo de plantas como herramienta en la restauración de suelos.

2.3 Estudios realizados con hongos micorrízicos

La micorriza es la simbiosis entre un hongo y las raíces de una planta. Como en otras relaciones simbióticas, ambos participantes obtienen beneficios. En este caso la planta recibe del hongo principalmente nutrientes minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta hidratos de carbono principalmente. La mayoría de las plantas terrestres presentan micorrizas, y lo más probable es que las restantes descendan de plantas micorrizadas que han perdido

secundariamente esta característica. En el caso de los hongos, la mayor parte de las 5000 especies identificadas en las micorrizas pertenece a la división Basidiomycota mientras que en casos más excepcionales se observan integrantes de Ascomycota. La tercera división que se ha observado formando micorrizas es Glomeromycota, un grupo que, de hecho, sólo se conoce en asociación micorrizógena y cuyos integrantes mueren cuando se les priva de la presencia de raíces. Según su morfología, las micorrizas se dividen en distintos grupos entre los que cabe destacar dos principales: las ectomicorrizas y las endomicorrizas (Smith y Smith, 1990; Ambriz, 2007).

Las ectomicorrizas se caracterizan porque las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, si no que se ubican sobre y entre las separaciones de éstas. Se pueden observar a simple vista y presentan la llamada Red de Hartig. Este tipo de micorrización es el que predomina entre los árboles de zonas templadas, siendo especialmente característico en robles, eucaliptos y pinos. Los hongos son tanto Basidiomycota como Ascomycota. En las endomicorrizas, en cambio, no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, pero después penetran en el interior de éstas, formando vesículas alimenticias y *arbusculos*. Por ello se las conoce también como micorrizas VAM o micorrizas vesículoarbusculares. Los hongos pertenecen a la división *Glomeromycota* y se dan en todo tipo de plantas, aunque con predominio de gramíneas. Abundan en suelos pobres como los de las praderas y estepas, la alta montaña y las selvas tropicales (*Ibid*).

En condiciones similares de humedad del suelo, la presencia de micorrizas ayuda a las plantas a mantener un mejor estado hídrico. Estos potenciales hídricos más altos pueden ser un efecto indirecto de un mayor crecimiento de la raíz, resultado del mayor acceso al fósforo proporcionado por las micorrizas. Las plantas con un mayor acceso al fósforo pueden desarrollar raíces más eficaces en cuanto a extracción y conducción del agua (Allen y Allen, 1986; Molles, 2005).

En un experimento Hardie (1985) cultivó trébol rosa (*Trifolium pratense*) con y sin micorrizas en condiciones controladas en las que el crecimiento no estaba limitado por la disponibilidad de nutrientes. Estas condiciones produjeron plantas con superficies foliares y

proporciones raíz: parte aérea semejantes. Con estas condiciones cuidadosamente controladas, el trébol rosa con micorrizas mostraba tasas de transpiración más altas que las plantas sin micorrizas. Hardie avanzó en su estudio eliminando las hifas de los hongos micorrícicos de la mitad de los tréboles rosas que las tenían y observó que la eliminación de las hifas redujo considerablemente las tasas de transpiración, lo que indica un papel directo de los hongos micorrícicos en las relaciones hídricas de las plantas. Hardie sugiere que dichos hongos mejoran las relaciones hídricas de las plantas proporcionándoles un contacto más extenso con la humedad en la zona radical y superficie extra para la absorción del agua (Molles, 2005).

Ambriz (2007). Realizó un estudio sobre el efecto de la interacción de hongos micorrícicos en el crecimiento de la planta y la formación de agregados en el suelo y sugiere que tanto la especie de *Fraxinus* como la de aile pueden establecer una simbiosis con HMA (*Glomus intraradices*) y HE *Pisolithus tinctorius*). La respuesta en el crecimiento de las plantas debida a la presencia de *P. tinctorius* ha sido atribuida a un mayor contenido de fósforo (Thomson *et al.* 1994) y nitrógeno (Wullschleger y Reid 1990). Tanto en angiospermas como en gimnospermas ha sido ampliamente documentada la influencia de *P. tinctorius* en el crecimiento de las plantas, especialmente plantas de eucaliptos y de pinos.

El efecto de los hongos micorrizicos en la formación de agregados del suelo ha sido abordado preferentemente en sistemas agrícolas y de manera más reducida en sistemas forestales. Existen muchos trabajos donde se ha encontrado una relación directa entre la estabilidad de agregados del suelo y el contenido de una sustancia excretada por el micelio de hongos micorrizicos arbusculares llamada glomalina así como la densidad de hifas de los mismos organismos (Nobrega *et al.* 2001, Auge *et al.* 2001, Rillig *et al.* 2002, Lutgen y Rillig 2004), observando que la resistencia al rompimiento por parte de los agregados a través de los poros pequeños se debe a la presencia de hifas de hongos micorrizicos (Bearden 2001).

Además, es bien conocido el papel que tienen los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) en la nutrición mineral de su planta hospedera. Entre los minerales que puede tomar más eficientemente en comparación a la raíz sin hongo se encuentran el fósforo (P), el nitrógeno (N), zinc (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), azufre (S), manganeso (Mn), boro (B), hierro (Fe), calcio (Ca) y potasio (K) (Clark y Zeto 2000). La eficiencia en la toma depende en gran

medida de la mayor exploración el suelo por parte del micelio (Allen *et al.* 2003). Una vez que el HMA toma y transporta los nutrientes de la solución del suelo hacia su hospedero, se requiere de una zona de transferencia. Esta zona de transferencia está representada por la hifa que crece longitudinalmente dentro de la raíz y se presenta en la mayoría de las asociaciones con HMA (Smith y Smith 1990).

2.4 La Restauración Ecológica

La ecología de la restauración, es una rama de la ecología relativamente joven, que ha cobrado importancia en los últimos años por la preocupación de resolver los problemas ambientales a los que se enfrentan muchos ecosistemas del planeta y la mayor parte del territorio nacional. La restauración ecológica es la práctica o actividad que da como resultado de la investigación de la ecología de restauración. La definición de la restauración ecológica, aunque aun se encuentra en debate, se centra en el restablecimiento de la función y estructura de un ecosistema siendo la máxima prioridad (Hobbs y Norton 1996). Vázquez-Yanes y colaboradores (1999), hacen notar la importancia de las leguminosas en la restauración ecológica por resistir condiciones limitantes, como baja fertilidad, sequía, suelos compactados, pH alto o bajo y salinidad entre otros, por otra parte, favorecen el restablecimiento de la flora y fauna nativas, proporcionándoles hábitat y alimento. Estas plantas, presentan rápido crecimiento y buena producción de materia orgánica, sin tendencia a propagarse como malezas invasoras incontrolables, además algunas producen leña, carbón, forraje, vainas comestibles, néctar, y otros productos.

2.5 Relevancia e impacto del proyecto en el área de estudio

La cuantificación y determinación de barreras a la restauración ecológica es fundamental para entender la dinámica de sitios severamente degradados (Hobbs y Norton 1996, Suding *et al.*, 2004). El papel del fósforo en la dinámica de los ecosistemas terrestres es fundamental (Vitousek, 2004, Oberson *et al.*, 2001) así como en los procesos sucesionales y aquellos que determinan la productividad de los ecosistemas (Tamm, 1991, Vitousek y

Howarth, 1991). Sin embargo, poca atención ha recibido la carencia de fósforo como barrera para la restauración de ecosistemas terrestres, principalmente porque en muchos casos las condiciones no están tan deterioradas como para que este elemento sea la barrera principal para la restauración.

Una gran extensión del territorio nacional presenta graves problemas de deforestación y como consecuencia de erosión. Cuando los suelos son frágiles, el fósforo y los agregados de suelos se vuelven elementos limitantes importantes. Si se logran técnicas para restablecer tanto el ciclo del fósforo como la estructura del suelo mediante la adición de hongos hectomicorrízicos y hongos micorrízicos arbusculares, en estas condiciones es posible que se puedan reincorporar grandes extensiones improductivas al manejo sostenible de cuencas.

III. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

3.1 Localización geográfica

La microcuenca de Atécuaro se localiza a 15 km al sur de la ciudad de Morelia (Figura 1), entre los paralelos 19° 33' 05'' y 19° 37' 08'' de latitud norte y los meridianos 101°15' 07'' de longitud al oeste de Greenwich, con una área de 44.4 km² y un perímetro de 30.25 km. (Cejas, 1998).

LOCALIZACIÓN

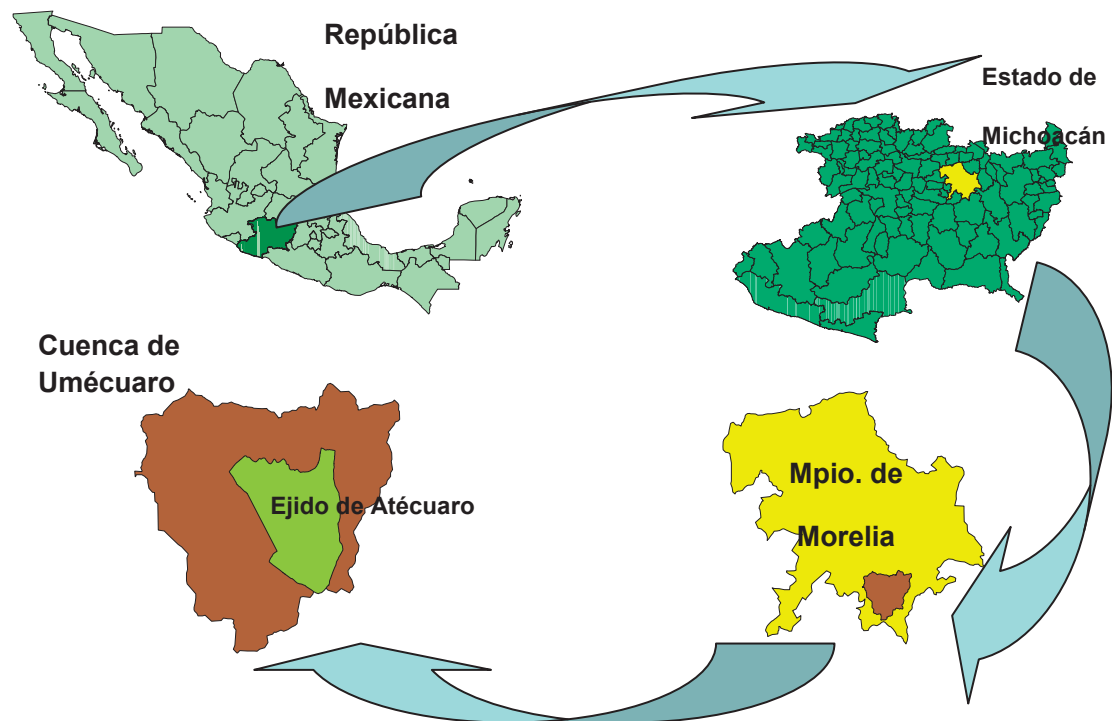


Figura 1. Localización Geográfica del Ejido de Atécuaro municipio de Morelia (Tomado de Ortega, 2004).

3.2 Clima

Con la clasificación de Koppen modificado por García (1994), el clima es C(w2)(w)b(i)g templado subhúmedo con lluvias en verano. Coeficiente p+/t mayor de 55.0. Lluvias invernales menores del 10% del total anual. Verano fresco y largo, tempera media del mes más caliente de menos 22°C. Marcha anual de temperatura tipo Ganges, mes más caliente antes de junio (antes del solsticio de verano). Oscilación térmica entre 5 y 7°C La temperatura media anual es de 13.8° C, el mes más caliente es mayo con 16.5°C., y el mes más frío enero con 11.3°C., presenta una precipitación media de 1002 mm distribuida de la siguiente manera: 48 mm en el mes de mayo, 182 mm en junio, 224 mm en julio, 234 mm en agosto, 172 mm en septiembre, 55 mm en octubre; el resto de la precipitación se distribuye en los meses restantes, teniendo valores menores de 20 mm de lluvia. La evapotranspiración potencial (ETP) es de 695 mm (69.36% de la precipitación total); y la evapotranspiración actual (ETA) es de 615 mm, ocurriendo la mayor magnitud en el mes de junio, con un descenso en los meses subsecuentes y manteniéndose constante hasta el mes de octubre. El escurrimiento superficial es 387 mm cuando se alcanza el punto de saturación para un suelo de tipo andosol. El escurrimiento se distribuye de la siguiente manera: 104 mm en el mes de junio, 168 mm para agosto, 114 mm para septiembre y 1 mm en el mes de octubre (Calderas, 1998).

3.3 Geología

Las rocas sobre la que se encuentra la microcuenca está constituida por rocas ígneas extrusivas y sedimentarias que a continuación se describen: Rocas ígneas extrusivas. ignimbritas riodacíticas (Ting), que son de color gris claro, rosáceo y rojizo, por su dureza y composición química forman suelos poco desarrollados, consideradas como rocas impermeables que se intemperizan lentamente, presentan un elevado contenido de cuarzo y baja cantidad de feldespato; que corresponde al terciario superior y ocupa el 63.38% de la microcuenca. Tobas púmicas (Ttr): son rocas de color beige claro y blanquizo son rocas fracturadas y ocupan el 5.16% de la área. Derrames fracturados, brechas y tobas básicas e intermedias (Tpb) son rocas originadas en el terciario superior, se caracterizan por ser de permeabilidad y dureza baja, y medianamente estable ocupando el 2.86% del área. Derrames

de lava, brechas y conglomerados (Mpca): tipo básico e intermedia formadas en el Mioplioceno, se caracteriza por presentar baja dureza, altamente permeable, de estabilidad media y fácilmente erosionable (dan origen a suelos de color rojizo), lo que representa 20.44% de la microcuenca. Las rocas sedimentarias son aluviones (Qal) compuesto por grava, arena y limos: se ubican en depresiones, barracas y valles, se originaron en el cuaternario, ocupan el 8.16% del terreno (INEGI, 1982).

3.4 Suelo

Se presentan tres tipos de suelo: Andosol húmico (Th), Acrisol ortico (Ao) y Luvisol crómico (L). El Andosoles: del japonés *an* oscuro y *do*, suelo; connotativo de suelos formados a partir de material rico en vidrios volcánicos y que comúnmente tienen un horizonte superficial oscuro, ocupan 16.7330 km² (37.69%). Acrisoles: del latín *acer*, acetum, fuertemente ácido; connotativo de baja saturación, ocupando 17.5575 km² (57.23%). Luvisoles: del latín *luere*, o lavar; connotativo de acumulación de arcillas, ocupando 2.2555 km² (5.08%), (INEGI, 1982).

3.5 Vegetación

El tipo de vegetación que se presenta en la zona sur de la microcuenca es bosque de pino, pino-encino y bosque de encino. En la parte norte se encuentran áreas dedicadas al pastoreo, uso agrícola y con vegetación arbustiva. La vegetación que se encuentra mejor representada es el matorral subtropical, ubicándose en áreas de disturbios donde se presentan especies de diversos géneros como: *Acacia*, *Baccharis*, *Brickellia*, *Calliandra*, *Condalia*, *Desmodium*, *Eupatorium*, *Opuntia*, *Salvia*, *Stevia*, *Valeriana*, etc. Las especies de encino representativas son: *Quercus crassifolia*, *Q. gentry*, *Q. rugosa*, *Q. castanea* y *Q. obtusata*. La vegetación del sotobosque es importante para el amortiguamiento de la energía cinética de la lluvia y para la retención del suelo por medio de sus raíces (Rzedowski y Rzedowski, 1979), se representa principalmente por especies de los siguientes géneros: *Lupinus*, *Festuca*, *Eupatorium*, *Senecio*. De la vegetación original asociada a los suelos de Andosol, podemos

mencionar a *Pinus leiophylla*, *P. pseudostrobus*, *P. michoacana*, *P. lawsoni* y *P. teocote*, (Cejas, 1998; García, 1999).

3.6 Hidrología

El área de estudio pertenece a la región hidrológica No. 12 Lerma-Santiago, forma parte de la subcuenca del Río grande que a su vez corresponden a la cuenca endorreica de Cuitzeo. La red de drenaje desacuerdo a la clasificación de Sánchez (1987) citado por Cejas (1998), es de tipo dendrítico en la parte norte y central del valle, paralelo en la porción Este y Oeste de la microcuenca. En diversos sitios, los suelos del sitio se encuentran desprovistos de vegetación, con un alto grado de erosión y numerosas cárcavas de gran magnitud.

IV. HIPÓTESIS

Las especies de pinos nativos tendrán mayor probabilidad de establecimiento en sitios severamente degradados en condiciones de menor pendiente, presentando mayor desempeño y eficiencia fotosintética.

Dado que *Pinus pseudostrobus* es una especie sensible al estrés, la asociación con herbáceas pioneras incrementará su desempeño y supervivencia.

Por otro lado, la inoculación con los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices*, solos o en simbiosis dual incrementará la productividad de los componentes del tándem “*Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya*”, incluyendo la acumulación de nitrógeno a través del mayor desempeño de las leguminosas, facilitando la retención del fósforo además de la formación y estabilidad de agregados en la rizosfera en experimentos de mesocosmos.

Así como las plantas de *P. pseudostrobus*, fertilizadas y/o inoculadas presentarán un mayor crecimiento y supervivencia comparado con las plantas control y las plantas de una reforestación convencional.

V. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la contribución de *Pisolithus tinctorius* (HE) y *Glomus intraradices* (HMA) solos o en interacción sobre la supervivencia y desarrollo de los componentes del “tándem” *Pinus pseudostrobus* – *Eysenhardtia polystachya*. Así como la fertilización y presencia de especies del sotobosque en el establecimiento y desempeño de *P. pseudostrobus* en condiciones de invernadero y campo.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Seleccionar la mejor especie en términos de sobrevivencia y/o crecimiento en un sitio con suelo degradado mediante un ensayo de especies de pino.
 - Cuantificar el efecto de la pendiente.
 - Determinar la respuesta en contenido de clorofila a la fertilización.
- Evaluar el efecto de la asociación con pioneras herbáceas *Lupinus mexicanus* (Fabaceae) y *Tithonia tubiformis* (Asteraceae) y la fertilización con fósforo en el desempeño de *Pinus pseudostrobus*.
- Evaluar la contribución de *Pisolithus tinctorius* (HE) y *Glomus intraradices* (HMA) solos o en interacción sobre la supervivencia y desarrollo de los componentes del “tándem” *Pinus pseudostrobus* – *Eysenhardtia polystachya* mediante el desempeño en condiciones de mesocosmos.
- Evaluar el efecto de *Pisolithus tinctorius* y la fertilización con fosfato de potasio (KH₂PO₄) en el desempeño y supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de campo para su establecimiento y contribución a la restauración de sitios severamente degradados con altos niveles de erosión y con presencia de numerosas cárcavas.

- Evaluar las plantas de *Pinus pseudostrobus* en un experimento en condiciones de restauración ecológica en presencia/ausencia de inoculación con *Pisolithus tinctorius*.
 - Comparar las plantas producidas bajo condiciones controladas y plantadas en una reforestación
 - Identificar las estrategias que mejoren la supervivencia y desempeño de las plantas para su establecimiento en un sitio severamente degradado.

Capítulo I.

ENSAYO DE ESPECIES DE PINO PARA RESTAURACIÓN DE SITIOS DEGRADADOS

TEST OF PINE ESPECIES FOR RESTORATION OF DEGRADED SITES

RESUMEN

En condiciones de pérdida de suelo extrema, se requieren programas de restauración ecológica que garanticen el establecimiento de cobertura vegetal y protección de suelos. Un primer paso es la selección de especies que puedan tolerar las condiciones de sitios degradados mediante ensayos de especies. Con la finalidad de restaurar sitios severamente erosionados con presencia de cárcavas en Atécuaro, municipio de Morelia, Michoacán, se estableció un ensayo de especies con *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus*. Se incluyeron tres condiciones de pendiente: testigo (0-5°), suave (5°-30°) y fuerte (>30°), adicionalmente se establecieron tres tratamientos de fertilización (fosfato de potasio, nitrato de amonio y fosfato diamónico y un testigo). El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con parcelas divididas, las especies plantadas en cuadro latino. El análisis estadístico consistió en análisis de varianza, el modelo estadístico fue simplificado eliminando los términos no significativos para todas las variables de respuesta. Se evaluó supervivencia, altura y diámetro durante seis años (2005-2011) y se analizó la clorofila al finalizar el ensayo. *Pinus cembroides* fue la especie de mayor supervivencia (81 %) pero menor crecimiento (76 cm). *P. pseudostrobus* mostró menor supervivencia (38 %) ($P < 0.0001$). *P. greggii* con mayor crecimiento (332 cm) ($P < 0.0001$), y también respondió a la fertilización con fosfato diamónico incrementando los niveles de clorofila a, b y total. *P. devoniana* presentó supervivencia del 80%. El análisis de resultados sugiere que una plantación mixta de *P. devonianan* y *P. greggii* (*P. pseudostrobus* sólo pendiente >30°) podría representar la mejor opción para restaurar este tipo de sitios. *P. greggii* (exótica al área de estudio), se puede utilizar en etapas iniciales de la restauración para crear micrositios favorables para el establecimiento de especies nativas, como *P. devoniana*, creando una cobertura vegetal minimizando la erosión.

Palabras clave: suelos degradados, revegetación, tepetate, supervivencia, clorofila.

INTRODUCCIÓN

La deforestación causa pérdida de suelos debido a la falta de protección vegetal y finalmente ocurre la erosión por viento y agua (Serrano, 2002). La pérdida de suelo depende también del porcentaje de cobertura vegetal del suelo y de la susceptibilidad a la erosión. En sitios deforestados, el proceso erosivo continúa debido al sobrepastoreo y el daño al suelo puede ser irreversible (Betancourt-Yáñez *et al.*, 2000). Esto es un problema social y económico porque la baja fertilidad de suelos degradados limita la producción de cultivos (Acevedo-Sandoval *et al.*, 2003). En México, la actividad forestal se centra principalmente en el género *Pinus*, debido a que representa el 60% de las especies maderables comerciales por su amplia distribución geográfica y su alto valor económico. La cosecha de madera y celulosa anual legal, equivale en México a 6.9 millones de m³ de los cuales un 85 % proviene de especies de pinos. La cosecha anual total de madera (legal o ilegal) representa 43 millones de m³, de los cuales 66% es cosechado informalmente para leña combustible (Caballero-Deloya, 2010) causando serios problemas de deforestación. En el estado de Michoacán, la causa principal es el cambio del uso de suelo, los incendios forestales y la tala ilegal. La deforestación ha provocado pérdidas de 260,000 ha por año en bosques templados (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros, 2004). El deterioro creciente de los recursos forestales en México y la erosión, asociados al cambio de uso del suelo y a prácticas agropastoriles inadecuadas, hacen necesario reforestar eficientemente tanto para fines comerciales, como para la recuperación de suelos y la restauración ecológica (Cetina-Alcalá *et al.*, 1999); de hecho, la pérdida de suelo y la formación de cárcavas es un problema global (Nagasaka *et al.*, 2005; Zhang y Dong, 2010). Sin embargo, una plantación convencional puede no ser adecuada en condiciones de pérdida extrema de suelo, en particular si se presentan cárcavas. En estas superficies se requieren programas de restauración ecológica más complejos, que garanticen el establecimiento exitoso de la cubierta vegetal y protección de suelos. En la gran mayoría de las superficies muy alteradas no es posible restaurar la vegetación original, pero es posible inducir el desarrollo de vegetación protectora que permita conservar e incrementar la fertilidad del suelo (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). Por ello es necesaria la adición de fertilizantes para regresar al suelo al menos una mínima parte de los nutrientes perdidos. Las

plantas sometidas a condiciones de estrés, tienden a perder capacidad fotosintética y disminuir el contenido de clorofila de sus hojas (Carter y Knapp, 2001). La clorofila total es la suma de las clorofilas *a* y *b*. La clorofila *a* es el pigmento principal, su presencia en cantidades adecuadas en las hojas y otros tejidos fotosintéticos es fundamental para el crecimiento de las plantas y se considera un pigmento activo. La clorofila *b* absorbe la luz en diferente longitud de onda; la luz se transfiere después a la clorofila *a*, que la transforma en energía, a la clorofila *b* se le considera un pigmento accesorio y forma parte de las antenas colectoras (García-Breijo *et al.*, 2006; Cambrón-Sandoval *et al.*, 2011).

Un primer paso en una reforestación, es la selección de especies mediante ensayos de especies que puedan tolerar las condiciones de los sitios de interés (Zobel y Talbert, 1992), considerando también las necesidades de las poblaciones humanas locales. Por lo anterior, se estableció un ensayo de especies de pino (*Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus*) en el Ejido de Atécuaro, Morelia, Michoacán, en un paraje que presenta grave pérdida de suelo. Las especies ensayadas se seleccionaron para representar un intervalo de características deseables de especies de pino, desde la perspectiva de la capacidad de sobrevivir en un sitio altamente degradado y de crecer satisfactoriamente para proveer productos maderables a las poblaciones locales, por ello se ensayaron algunas especies altamente resistentes a la sequía. *Pinus cembroides* que se distribuye en regiones semiáridas (Farjón *et al.*, 1997; Constante-García *et al.*, 2009), puede crecer en suelos pobres y es altamente resistente al estrés hídrico (Constante-García *et al.*, 2009), este tipo de estrés es común en sitios con pérdida de suelo (Ferrari y Wall, 2004); *P. greggii* var. *australis* (Donahue y López-Upton, 1999), que no es endémico de Michoacán, se distribuye en sitios con baja precipitación (López-Upton y Muñoz, 1991; López-Upton *et al.*, 2005), puede crecer en suelos pobres (López-Upton *et al.*, 2004) y tiene un potencial de crecimiento importante (López-Upton *et al.*, 2005). En el otro extremo del intervalo, se ensaya *P. pseudostrobus*, que resistente poco el estrés por sequía, pero en sitios apropiados presenta elevadas tasas de crecimiento (López-Upton, 2002) y es la especie más deseada por las comunidades humanas locales para las reforestaciones. Una especie intermedia en cuanto a resistencia al estrés, sería *P. devoniana* (también conocida como *P. michoacana*), se distribuye localmente en

Michoacán (SEMARNAP, 2000), y es probablemente menos resistente a sequía que *P. cembroides* y que *P. greggii*, pero más que *P. pseudostrobus*, con un potencial de crecimiento superior a *P. cembroides* pero probablemente inferior a *P. greggi* y *P. pseudostrobus* en condiciones normales.

Los objetivos de este estudio trabajo fueron seleccionar la mejor especie en términos de sobrevivencia y crecimiento en un sitio con suelo degradado, cuantificar el efecto de la pendiente en relación a la supervivencia y crecimiento. Además determinar la respuesta de las cuatro especies de pino en contenido de clorofila a la fertilización. La hipótesis fue que *Pinus greggii* y *P. cembroides* que son la especies más resistente al estrés por sequía, obtendrían mayor supervivencia que *P. devoniana* y *P. pseudostrobus*. En términos de crecimiento se esperaba que *P. greggi* y *P. pseudostrobus* presentaran mayor crecimiento que *P. cembroides* y *P. devoniana*, en el caso de esta última especie porque presenta un estado cespitoso que puede durar varios años. En general, las especies tendrían un mejor desempeño en pendientes planas y que el contenido de clorofila sería mayor en las plantas con tratamiento de fertilización dual de fósforo y nitrógeno.

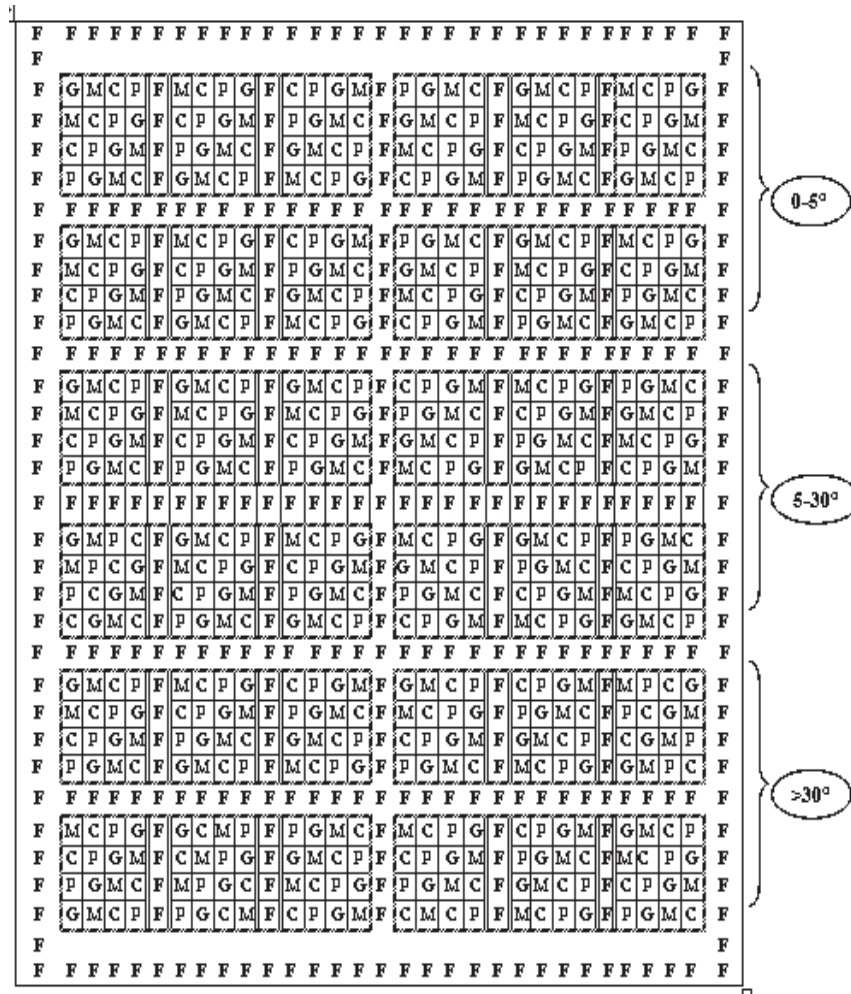
MATERIALES Y MÉTODOS

En junio de 2005 se estableció un ensayo de cuatro especies de pinos. *Pinus cembroides* (con procedencia de Quechulac, Municipio Ortega González, estado de Puebla), *P. greggii* (con procedencia de Pueblo Viejo, Municipio de Queréndaro, Michoacán), *P. devoniana* (con procedencia de San Miguel Charahuén, Municipio de Pátzcuaro, Michoacán) y *P. pseudostrobus* (con procedencia de Jeráguaro Municipio de Zinapécuaro, Michoacán). Para el ensayo, fueron seleccionaron 144 plantas de cada especie, aproximadamente de la misma edad para cada una (20 meses para cada una, excepto *P. greggii* con 17 meses). En total fueron 576 plantas más 120 plantas adicionales de *P. devoniana* que se usaron como faja de protección. Individuos de las cuatro especies se plantaron en junio de 2005 en un sitio degradado, en su mayoría desprovisto de vegetación, con numerosas cárcavas, severamente

erosionado, dominado por acrisoles (acrisol ócrico). El sitio se ubica en el paraje conocido como Huertitas en el Ejido Atécuaro ($19^{\circ} 33' 05''$ y $19^{\circ} 37' 08''$ N y $101^{\circ} 05' 07''$ O y altitud de 2275 m). La zona presenta un clima subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media anual de 13.8° C y precipitación media anual de 1000 mm (Werner *et al.*, 2007). El área es muy heterogénea con respecto a las pendientes, por lo que se tomaron en cuenta tres condiciones de pendiente: 1) sitios planos ($0-5^{\circ}$), en donde se conserva parte del suelo y se encuentra muy compactado por el sobrepastoreo, esta condición puede considerarse como testigo, 2) pendiente intermedia ($5-30^{\circ}$) con pérdida total de suelo orgánico (cárcavas), y 3) pendiente pronunciada ($>30^{\circ}$), con pérdida total de suelo orgánico (cárcavas). Se utilizaron 48 plantas de cada especie por cada pendiente.

Al tercer año de establecer el experimento (2008), se realizaron tratamientos de fertilización. Utilizando fosfato de potasio [KH_2PO_4], como fuente de fósforo (P+N-) (15.84 g/año), nitrato de amonio [NH_4NO_3] como fuente de nitrógeno (P-N+) (18.12 g/año) y fosfato diamónico [$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$] como fuente de nitrógeno y fósforo (P+N+) (18 g/año), el testigo en ausencia de fertilizante (P-N-). La fertilización se realizó dividida en cuatro pulsos mensuales durante la época de lluvias de junio a septiembre, durante tres años (2008-2010). Se realizaron evaluaciones anuales a cada planta de las variables supervivencia, altura y diámetro (basal, tomado a 2 cm del suelo), durante seis años (2005-2011). Al finalizar el experimento (2011) se realizó un análisis de clorofila (*a*, *b* y *total*) para conocer si hubo diferencia en la eficiencia fotosintética, el análisis se realizó por el método de Lichtenthaler (1987) entre especies y entre tratamientos de fertilización. La evaluación de la clorofila en experimentos sobre establecimiento de especies es útil, ya que las plantas sometidas a cualquier tipo de estrés tienden a perder capacidad fotosintética y disminuir el contenido de clorofila de sus hojas (Carter y Knapp, 2001). El diseño experimental fue de bloques completos al azar, con parcelas divididas, en donde las parcelas son los tratamientos de condiciones de suelo. Las especies estaban arregladas en cuadro latino. Se establecieron un total de 36 parcelas de 3 x 3 m, 12 en cada tipo de pendiente, cada parcela cuenta con 16 plantas, cuatro de cada especie (Figura 1). Se colocó una hilera de plantas de *P. devoniana* como faja de protección alrededor de cada bloque, para contrarrestar el efecto de orilla. Con los datos se realizó un

análisis de varianza (ANDEVA) y durante el análisis, el modelo estadístico fue simplificado eliminando los términos no significativos para todas las variables evaluadas (Underwood, 1997; Crowley, 2007; Sáenz-Romero *et al.*, 2011). Se utilizó el programa estadístico R (R Development Core Team, 2011).



Figural. Diseño experimental indicando la composición de especies dentro las parcelas. Donde: *P. cembroides* = C, *Pinus greggii* = G, *P. devoniana* (*P. michoacana*) = M, *P. pseudostrobus* = P y Faja de protección = F. Número de plantas por especie: 144; plantas totales: 576. Condición de las pendientes: (0-5°) Testigo, (5-30°) suave y (>30°) Fuerte.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de resultados indica que las plantas de *Pinus greggii*, fueron las de mayor crecimiento en altura (Figura 2A) pues llegaron a medir más de 3 m al finalizar el experimento, además mostraron un crecimiento en diámetro de más de 6 cm (Figura 2B), aunque fue la tercera especie en términos de supervivencia (70%, Figura 3). El segundo de mejor crecimiento en altura fue para *P. pseudostrobus* con más de dos metros de altura, aunque de manera contrastante, esta especie fue la de menor supervivencia (40 %). *P. devoniana* presentó una forma cespitosa durante los primeros tres años posteriores al trasplante, alcanzó más de 1 m de altura, presentó el mejor crecimiento en diámetro y fue el segundo mejor en supervivencia con un 80%. La especie de menor crecimiento en altura y diámetro fue *P. cembroides*, pero fue la que presentó la mejor en supervivencia (90%). Los análisis estadísticos a la edad de seis años (a partir de la fecha de plantación) indican que existen diferencias altamente significativas para las variables altura y diámetro entre especies ($p < 0.0001$) y para las diferencias en supervivencia ($\chi^2 = 77.6$ y $p < 0.0001$).

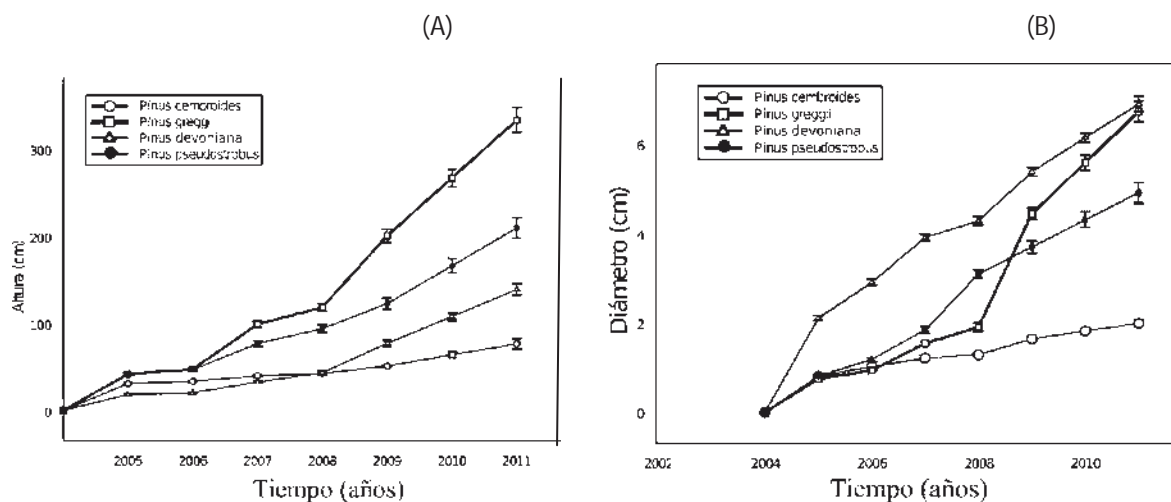


Figura 2. (A) Altura, (B) Diámetro basal de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* (2005-2011). Las barras indican el error estándar.

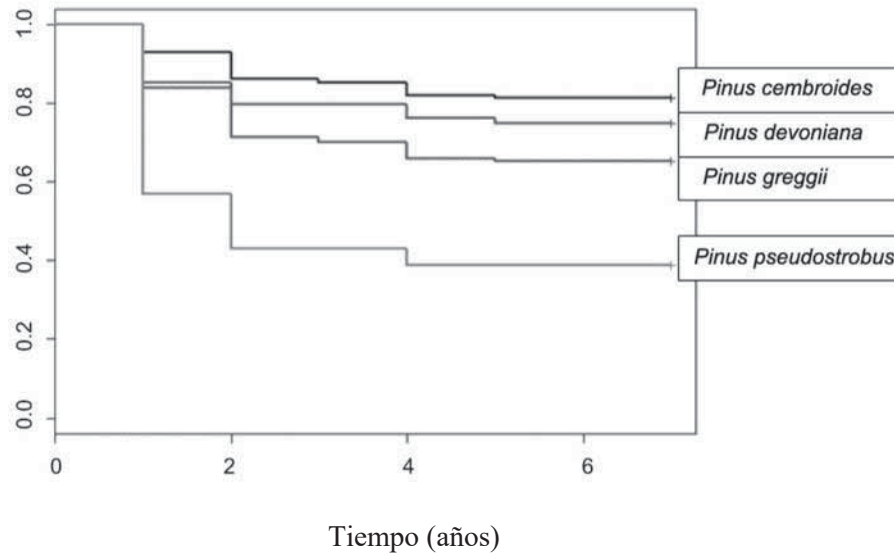


Figura 3. Supervivencia de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* (2005-2011) en el ensayo de especies.

Efecto de la pendiente en el crecimiento y supervivencia de las especies de pino

Se detectaron efectos de la pendiente en el crecimiento y supervivencia de las plantas, con diferencias estadísticamente significativas entre pendientes para diámetro basal ($P < 0.0001$), pero no significativas para la altura de las plantas. Debido a que la interacción pendiente-especie fue significativa para el diámetro ($P = 0.03$), se realizó un ANOVA por especie, que confirmó que existe un efecto significativo de la pendiente en todas las especies ($P < 0.01$), con una tendencia en la que a mayor pendiente menor diámetro (Figura 4A).

La supervivencia presentó un patrón contrastante y opuesto al diámetro, en donde a mayor pendiente mayor supervivencia y es estadísticamente significativo (Figura 4B). El análisis de las curvas de supervivencia por especie en relación a la pendiente, indica que la pendiente tiene un efecto significativo para cada una de las cuatro especies ensayadas (*P. cembroides* $\chi^2 = 24.8$, $P < 0.0001$; *P. greggii* $\chi^2 = 18.3$, $P = 0.00039$; *P. devoniana* $\chi^2 = 34.3$, $P < 0.0001$ y para *P. pseudostrobus* $\chi^2 = 74.3$, $P < 0.0001$).

Por tanto, la pendiente del sitio tiene efectos opuestos en dos características del desempeño: a menor pendiente menor supervivencia, pero mayor crecimiento en diámetro basal de las especies, a mayor pendiente, mayor supervivencia pero menor diámetro. En el caso particular de *P. pseudostrobus*, fue muy evidente que la mayor mortalidad estuvo concentrada en sitios planos, y la mejor sobrevivencia se encontró en los sitios de mayor pendiente (>30°; Figura 4B).

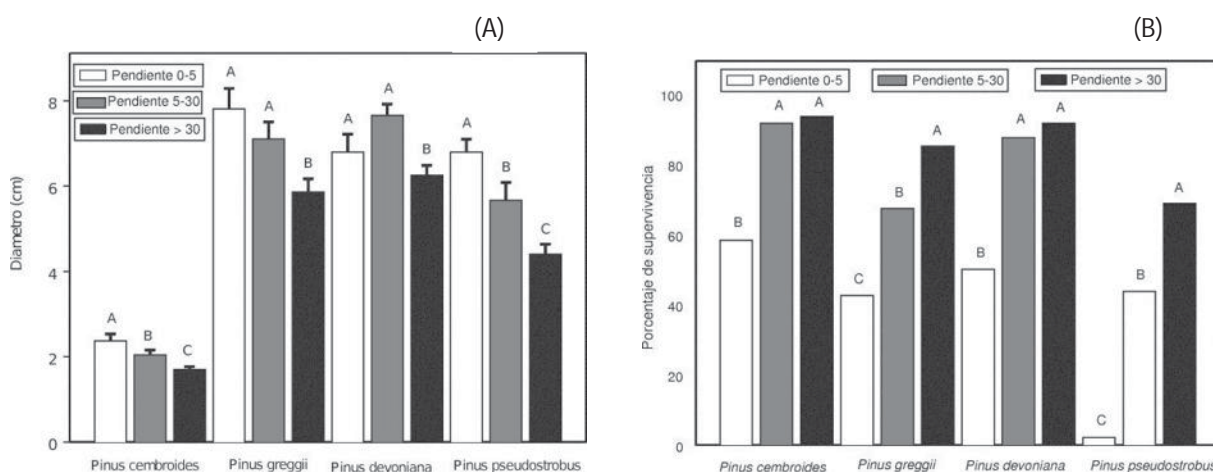


Figura 4. Diámetro (A) y supervivencia (B) de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* en tres condiciones de pendientes (0-5°, 5-30° y >30°).

Efecto de fertilización en el desempeño de las especies de pino

La fertilización tuvo efectos significativos para la altura de las especies ($P < 0.0001$) y el diámetro basal ($P = 0.023$). Cuando las especies se analizan individualmente, las plantas de *P.greggii* fertilizadas con fósforo presentaron alturas de planta mayores que las fertilizadas con nitrógeno (Figura 5A), mientras que la fertilización con ambos nutrientes (nitrógeno y fósforo) incrementó significativamente el diámetro (Figura 5B). Para *P. devoniana*, las plantas control (sin fertilización) presentaron tamaño, pero no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con fertilización ($P > 0.05$) (Figura 5). Para *P. pseudostrobus*, crecieron más las plantas fertilizadas simultáneamente con fósforo. Para *P. cembroides*, el fertilizante no mostró beneficio, incluso para altura, las plantas control presentan alturas ligeramente mayores.

(Figura 5). Un aspecto importante es que para todas las especies, las plantas fertilizadas con nitrato de amonio presentaron valores menores de diámetro, en comparación a los otros dos tratamientos de fertilización (Figura 5B).

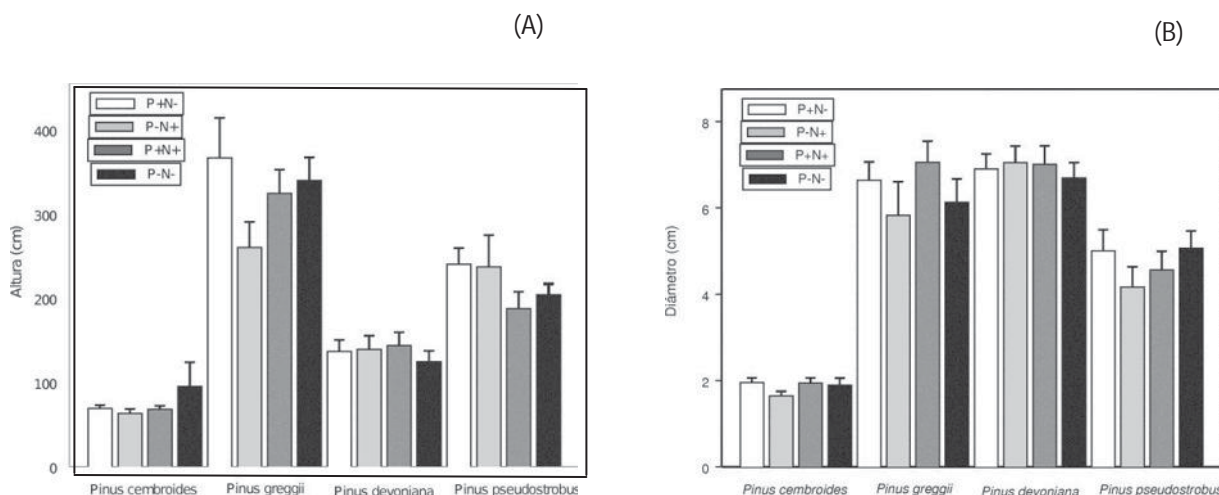


Figura 5. Altura (A) y diámetro basal (B) de *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* con tratamientos de fertilización: P+N- (fosfato de potasio), P-N+ (nitrato de amonio), P+N+ (fosfato diamónico) y P-N- (control). Las barras indican el error estándar.

Efecto de fertilización en la concentración de clorofila *a*, *b* y *total*

En cuanto a la clorofila *a*, el análisis de los resultados muestran que existen diferencias estadísticamente significativas para la concentración de clorofila entre especies ($P = 0.043$) y una respuesta positiva, marginalmente significativa al tipo de fertilizante ($P = 0.0506$). En general, la mayor concentración de clorofila *a* se encontró en plantas fertilizadas con nitrógeno, excepto para *Pinus greggii*, que presenta mayores concentraciones cuando es fertilizada de forma dual (nitrógeno y fósforo 115.35 mg/l), mientras que para la mayoría de las especies, la menor concentración ocurrió en plantas no fertilizadas (591.88 - 873.37 mg/l) (Figura 6A). Para clorofila *b* también existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de fertilización ($P = 0.002$), en donde la fertilización incrementó la concentración en clorofila *b*, excepto en *P. devoniana*, que presenta valores similares entre la fertilización dual, nitrógeno y testigo (Figura 6B). La clorofila *total* (suma de las clorofilas *a* y *b*), también

mostró diferencias estadísticamente significativas por efecto de la fertilización ($P=0.019$). Para *P. cembroides* y *P. pseudostrobus*, les favorece la fertilización con nitrógeno tanto en la clorofila *a*, *b*, así como *total*. Para *P. devoniana* la fertilización con fósforo y para *P. greggii* la fertilización dual induce una mayor concentración de clorofilas (Figura 6C). Los análisis de los resultados indican que la fertilización incrementa la eficiencia fotosintética en los pinos, siendo su efecto más evidente en *P. greggii* incrementando más del doble cuando se encuentra fertilizado con fósforo y nitrógeno.

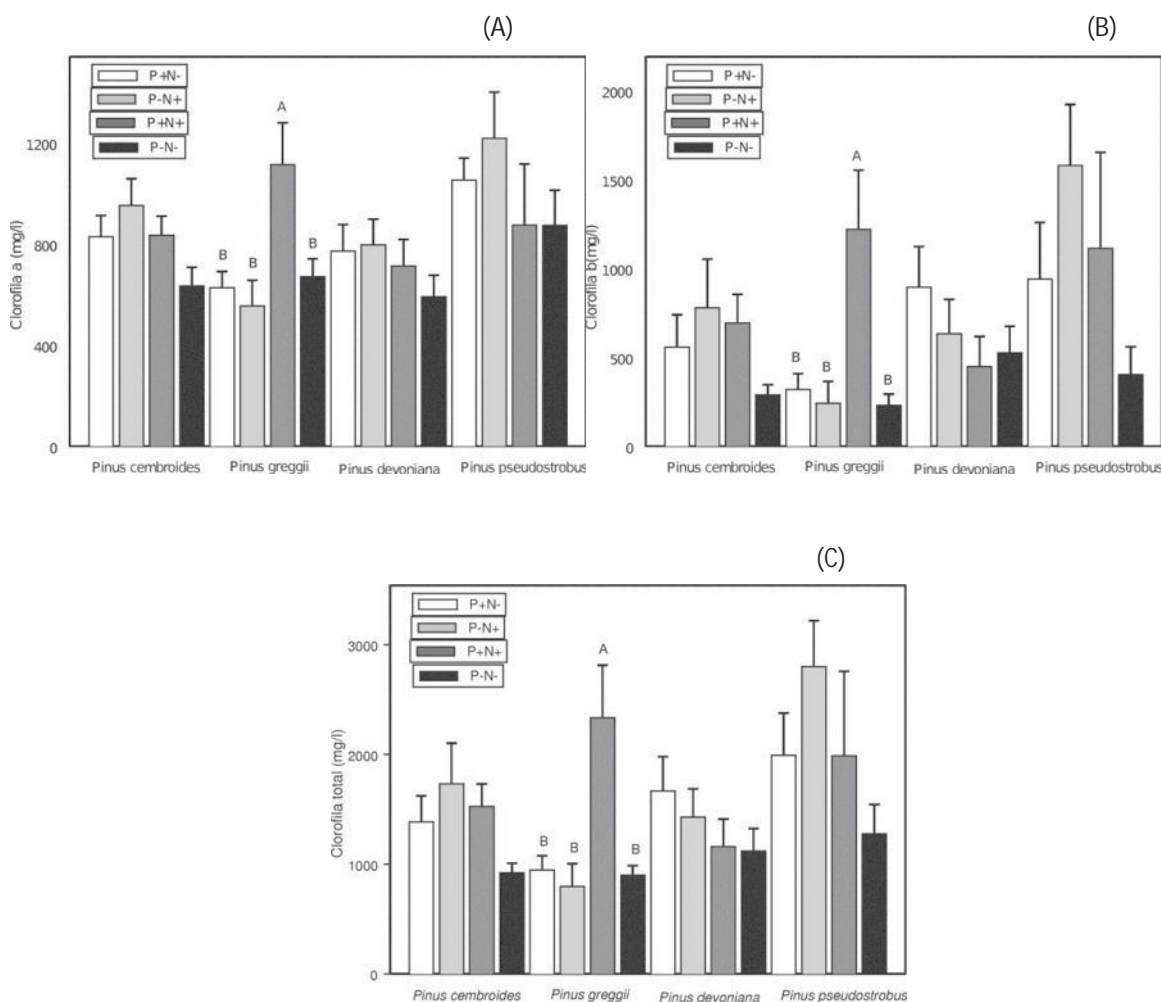


Figura 6. (a) Clorofila *a*, (b) Clorofila *b* y (c) Clorofila *total* en *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrobus* con tratamientos de fertilización: P+N- (fosfato de potasio), P-N+ (nitrato de amonio), P+N+ (fosfato diamónico) y P-N- (control). Las barras indican el error estándar.

Pinus greggii fue la especie con más potencial por presentar la combinación de un mejor crecimiento con más de 3 m de altura y 6.7 cm de diámetro basal al finalizar el ensayo y supervivencia del 70% después de seis años de plantación en campo. Estos resultados son congruentes con otros estudios que indican que esta especie tiene un gran potencial para adaptarse a condiciones limitantes (Vargas y Muñoz, 1999; Domínguez-Calleros *et al.*, 2001). Sin embargo, *P. greggii* no es nativa del sitio de estudio, y es posible que exista oposición a que sea usada con fines de restauración ecológica, particularmente si se da prioridad a restaurar vegetación endémica. *P. devoniana* presentó buena supervivencia a los seis años después del trasplante (76 %) y es nativa al sitio, pero presentó lento crecimiento, particularmente durante los primeros años (Musálem y Sánchez, 2003). De acuerdo con los resultados, se puede proponer una plantación mixta en al menos dos etapas: En la primera etapa, *P. greggii* para que desarrolle un dosel con rapidez que proteja y forme suelo. En la segunda etapa (probablemente cuatro años después) *P. devoniana* y finalmente, en la tercera etapa, remover *P. greggii*, dependiendo del grado de prioridad que tuviera el restablecimiento únicamente de especies nativas.

P. pseudostrobus mostró menor la supervivencia (38 %). Sin embargo, cuando se planta en pendientes pronunciadas la supervivencia es mejor (68 % en pendientes pronunciadas y 2 % en sitios planos). Si se desea utilizar esta especie en una reforestación, se puede compensar su elevada mortalidad en este sitio y en estas condiciones, plantando a mayor densidad. Por otro lado, *P. cembroides* presentó crecimiento más lento, natural de la especie, pero la supervivencia mejor (81 %). Esto es debido a la especie presenta un crecimiento lento de forma natural y también una resistencia alta a la sequía (Domínguez-Calleros, *et. al.*, 2001). Esta especie es importante comercialmente, por su producción de semilla comestible (piñón) de alto valor nutricional. Su desempeño en este tipo de sitios sería prometedor ya que abastece con más del 90 % de los piñones en el mercado nacional (CONABIO, 2006).

Los resultados del presente ensayo sugieren que las cuatro especies de pino, podrían estar un poco más protegidas en pendientes pronunciadas (>30°) de la insolación que aquellas

en sitios planos (pendientes de 0 a 5°), por lo que sobreviven más pero crecen menos en diámetro basal. Se ha demostrado que la supervivencia de muchas especies de plantas está asociada a las variables ambientales del micrositio, entre las que destacan temperatura, luz disponible, humedad y nutrientes (Price *et al.*, 2001). Por ejemplo en un ensayo de *P. ponderosa* se comparó la supervivencia en un sitio plano y una ladera (pendiente de 20° con exposición Este), en el sitio plano se presentó muy baja supervivencia (3%), mientras en las pendientes existió supervivencia y crecimiento mejor hasta 97% (Tejera y Davel, 2004). Una explicación a esto, es que las pendientes están menos expuestas a los rayos solares (30°), y por lo tanto son más húmedas y con temperaturas menores (Ramírez-Contreras y Rodríguez-Trejo, 2004). De modo que la baja disponibilidad de agua en el suelo podría representar una limitante para el desempeño de los árboles, como ocurre en la temporada de sequía, pues la falta de agua es un factor limitante del crecimiento y de la productividad de especies de pino (Flores y Allen, 2004). La disponibilidad de agua tiene un efecto directo sobre las plantas al disminuir su turgor, e indirectamente limita el incremento de biomasa, por lo que una cantidad adecuada de agua disponible es esencial para una alta productividad (Shibu *et al.*, 2003). La disponibilidad de agua durante el primer año de establecimiento, es el principal factor responsable de la supervivencia y desarrollo de especies arbóreas utilizadas en reforestación (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros, 2004).

Se puede mejorar el desempeño en crecimiento y supervivencia de las plantas mediante la fertilización, lo que se reflejó en el crecimiento y en la eficiencia fotosintética en este estudio, evaluada de manera indirecta a través de las concentraciones de clorofila a, b y total y coincide por lo reportado por Cambrón-Sandoval *et al.* (2011). Se presenta mayor eficiencia fotosintética cuando las plantas están fertilizadas con nitrógeno. Sin embargo para *P. greggi* se presenta un efecto interesante, con fertilización dual (fósforo y nitrógeno) presenta una eficiencia fotosintética significativamente mayor pero menor crecimiento, lo que sugieren los análisis de resultados, es que cuando es fertilizado de forma dual, su gasto energético está dirigido a mantenerse fotosintéticamente activo y no a crecer.

CONCLUSIONES

En sitios con problemas severos de erosión y presencia de cárcavas, es necesaria la implementación de programas de restauración ecológica que garanticen el establecimiento de cobertura vegetal y protección de suelos, para lo cual, se requiere de la selección de especies tolerantes a condiciones extremas de sitios degradados mediante ensayos de especies que tengan la capacidad de crear condiciones microambientales que favorezcan estas condiciones extremas. Una plantación mixta (*P. devonianana* y *P. greggii*) podría representar la mejor opción para la restauración de este tipo de sitios. *P. greggii* (exótica en el área de estudio), se puede utilizar en las primeras etapas de la restauración para crear micrositios favorables para el establecimiento de especies endémicas como *P. devoniana* (y *P. pseudostrobus* solo en pendiente $>30^\circ$). Con estas acciones, se podría revertir en parte, el grave problema de erosión y como consecuencia reducir la pérdida de suelo y la formación de cárcavas al incrementar la supervivencia y desempeño de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento del Fondo Sectorial CONACYT-SEMARNAT (2002-C01-0760), de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH y CONACYT por las becas de postgrado otorgadas a MGR y JCSC. Se agradece la ayuda en el trabajo de campo de Víctor Hugo Cambrón Sandoval y los valiosos comentarios del Ing. Víctor Quiñones y Melchor Medina Galván, Comisión Forestal de Michoacán, en la selección de especies a ensayar.

LITERATURA CITADA

- Acevedo-Sandoval, O., L. Ortiz-Hernández, D. Flores-Román, A. Velásquez-Rodríguez, y K. Flores-Castro. 2003. Caracterización física y química de horizontes endurecidos (tepetates) en suelos de origen volcánico del Estado de México. *Agrociencia* 37 (5): 435-449.
- Betancourt-Yáñez, P., J. L. Oropeza-Mota, B. Figueroa-Sandoval, V. Ordaz -Chaparro, C. Ortiz- Solorio, y A. Hernández-Garay. 2000. Pérdida de suelo y potencial hidrológico en parcelas con coberturas vegetativas de especies forrajeras. *Terra* 18 (3): 263-275.
- Caballero-Deloya, M. 2010. La verdadera cosecha maderable en México. *Rev. Mex. Ciencias For.* 1(1): 5-16.
- Cambrón-Sandoval, V. H., M. L. España-Boquera, N. M. Sánchez-Vargas, C. Sáenz-Romero, J. J. Vargas-Hernández e Y. Herrerías-Diego. 2011. Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Rev. Chapingo, Serie Ciencias Forestales* 17 (2): 253-260.
- Carter, G. y A. Knapp. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *Am. J. Bot.* 88 (4): 677-684.
- Cetina-Alcalá, V., V. González-Hernández y J. Vargas-Hernández. 1999. Manejo en vivero de *Pinus greggii* Engelm. y la calidad de planta. *Agrociencia* 33 (4): 423-430.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2006. *Pinus cembroides*. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/54-pinac11m.pdf. CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2005. Informe Nacional de México para la evaluación de los Recursos Forestales Mundiales. Disponible en <http://www.fao.org/forestry/media/8859/0/176/>.
- Constante-García, V., J. Villanueva-Díaz, J. Cerano-Paredes, E. H. Cornejo-Oviedo, y S. Valencia-Manzo. 2009. Dendrocronología de *Pinus cembroides* Zucc. y reconstrucción de precipitación estacional para el Sureste de Coahuila. *Ciencia For. Méx.* 34 (106):1-39.
- Crawley, M. 2007. *The R Book*. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England. 949 p.

- Dominguez-Calleros, P. A., J. J. Návar Cháidez. y J. A. Loera-Ortiz. 2001. Comparación del rendimiento de pinos en la reforestación de sitios marginales en Nuevo León. *Madera y Bosques* 7 (1): 27-35.
- Donahue, J. K. y López-Upton, J. 1999. A new variety of *Pinus greggii* (Pinaceae) in México. *SIDA* 18 (4): 1083-1093.
- Farjón, A., J. A. Pérez de la Rosa y B. T. Styles. 1997. Guía de campo de los pinos de México y América Central. The Royal Botanic Gardens, Kew producido en asociación con el Instituto Forestal de Oxford, Universidad de Oxford. 151 p.
- Ferrari, A. E. y L. G. Wall. 2004. Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados. *Rev. Fac. Agron.* 105 (2): 63-87.
- Flores, F. J y H. K. Allen. 2004. Efectos del clima y capacidad de almacenamiento de agua del suelo en la productividad de rodales de pino radiata en Chile: un análisis utilizando el modelo 3-PG. *Bosque.* 25 (3): 11-24.
- García-Breijo F., J. Roselló, y J. Caselles. 2006. Introducción al Funcionamiento de las plantas. Univ. Politécnica de Valencia. Valencia, España. 181 p.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer, L. Douce, R. (Eds.), *Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes*, Vol. 148. Academic Press, San Diego, California. 350-382 p.
- López-Upton, J. y A. Muñoz. 1991. Selección familiar por tolerancia a sequía en *Pinus greggii* Engelm. I. Evaluación en plántula. *Agrociencia, Serie Fitociencia* 2 (2): 111-123.
- López-Upton, J. 2002. *Pinus pseudostrobus* Lindl. In: *Tropical Tree Seed Manual*. J. A. Vozzo (ed). USDA Forest Service. 636-638 p.
- López-Upton, J., C. Ramírez-Herrera, O. Plascencia-Escalante y J. Jasso-Mata. 2004. Variación en crecimiento de diferentes poblaciones de las dos variedades de *Pinus greggii*. *Agrociencia* 38 (4): 457-464.
- López-Upton, J., J. K. Donahue, F. O. Plascencia-Escalante and C. Ramírez-Herrera. 2005. Provenance variation in growth characters of four subtropical pine species planted in Mexico. *New Forests* 29: 1-13.

- Musálem, M. y O. Sánchez. 2003. Monografía de *Pinus michoacana* Martínez. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental del Valle de México. El Horno, Chapingo, México. 230 p.
- Nagasaka, A., S. Yanai, H. Sato y S. Hasegawa. 2005. Soil erosion and gully growth associated with cultivation in southwestern Hokkaido, Japan. *Ecological Engineering* 24: 503-508.
- Price, T. D., N. E. Zimmermann, P. Van Der Meer, M. J. Lexer, P. Leadley, I. T. M. Jorristma, J. Schaber, D. F. Clark, P. Lasch, S. McNulty, W. Jianguo y B. Smith. 2001. Regeneration in gap models: Priority issues for studying forest responses to climate change. *Climatic Change* 3-4 (51): 475-508.
- R Development Core Team, 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.
- Ramírez-Contreras, A. y D. A. Rodríguez-Trejo. 2004. Efecto de la calidad de la planta, exposición y micrositio en una plantación de *Quercus rugosa*. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 10 (1): 5-11.
- Sáenz-Romero, C., J. Beaulieu y G. E. Rehfeldt. 2011. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. *Agrociencia*. 45 (3): 399-411.
- Sáenz-Romero, C. y R. Lindig-Cisneros. 2004. Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita*. 37:107-122.
- SEMARNAP. 2000. (Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca), Subsecretaría de Recursos Naturales, Programa Nacional de Reforestación Evaluación de la Reforestación de 1999 en el Estado de Michoacán. Reporte interno. México D.F. 18 p.
- Serrano, G. E. 2002. Contribución al conocimiento del México forestal. *Notas. Revista de Información y análisis*. 22:7-14 p.

- Shibu, J., C. Merritt y C. L. Ramsey. 2003. Growth, nutrition, photosynthesis and transpiration responses of longleaf pine seedling to light, water and nitrogen. *Forest Ecology and Management* 180 (10): 335-344.
- Tejera, L. y M. Davel. 2004. Establecimiento en *Pino oregon* en Patagonia. Ficha Técnica. Patagonia Forestal. Año IX, N° 2. 10 (2): 9-12.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in ecology: Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press. 504 p.
- Vargas H., J. J. y A. Muñoz O. 1991. Potencial hídrico, transpiración y resistencia estomatal en plántulas de cuatro especies de Pino. *Agrociencia, Serie de Recursos Naturales Renovables*. 1 (3): 25-28.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer-Silva, M. Gual-Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO-Instituto de Ecología-UNAM. México.
- http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/introd-J084.html
- Werner, G., M. Bravo, J. E. Frchevers, J. F. Gallardo, M. Haulon, M. Mazzoncaini, M. Petri, L. Padilla, C. Prat, J. Queitsch. A. Vera, I. Vidal y E. Zapata. 2007. Alternative Agriculture for sustainable rehabilitation of deteriorated volcanic soils in México and Chile (REVOLSO) 2002-2006; INCO-DEV (International Cooperation with Developing Countries 1998-2002). Final report. Univ. Giessen Giessen, (Alemania). 123-128.
- Zhang, J. T. y Y. Dong. 2010. Factors affecting species diversity of plant communities and the restoration process in the loess area of China. *Ecological Engineering* 36 (3): 345-350.
- Zobel, B. y J. Talbert. 1992. *Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales*. Ed. Limusa. México. 545 p.

Capítulo II.

FERTILIZACIÓN Y ASOCIACIÓN CON ESPECIES PIONERAS HERBÁCEAS EN EL CRECIMIENTO DE *Pinus pseudostrabus*

DESEMPEÑO DE *Pinus pseudostrabus*, ¿fertilización o pioneras herbáceas?

Resumen

En condiciones severas de degradación, como la que presentan muchos acrisoles, se debe de establecer el papel de las interacciones planta-planta en la su supervivencia y crecimiento. Se realizó un experimento, con sustrato obtenido de un sitio erosionado (acrisoles con presencia de cárcavas), en condiciones de invernáculo cubierto con maya de sombra del 30%, para evaluar el efecto de la fertilización y la asociación con especies herbáceas pioneras en el crecimiento y supervivencia de *P. pseudostrabus*. Se utilizaron las herbáceas pioneras *Lupinus mexicanus* y *Tithonia tubiformis* en tres tratamientos experimentales y un control. Para la fertilización, se utilizaron cuatro concentraciones de KH_2PO_4 , la combinación de ambos factores generó 16 tratamientos. Los resultados indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de presencia de herbáceas pioneras ($P \leq 0.01$). La especie que incrementó significativamente el crecimiento y supervivencia del pino fue la leguminosa *Lupinus mexicanus*, en su presencia los pinos presentaron una mayor supervivencia que los pinos control (98% contra 78%). Los tratamientos de fertilización no tuvieron efecto en la supervivencia ni en el crecimiento de *P. pseudostrabus*. Los resultados sugieren que en acrisoles degradados se requiere restablecer interacciones bióticas para mejorar el desempeño de especies arbóreas.

Palabras clave: *Lupinus*, erosión, sotobosque, restauración ecológica, fósforo.

FERTILIZATION AND THE ASSOCIATION WITH PIONEER HERBACEOUS SPECIES IN THE PERFORMANCE OF *Pinus pseudostrabus*

Abstract

When degradation is severe, as seldom occurs in Acrisols, it is necessary to test the effect of plant-plant interactions in their survival and growth. An experiment was conducted, with substrate from an eroded site (Acrisols with gullies), in a shade house to evaluate the effect of fertilization and the presence of pioneer herbaceous species in the performance of *Pinus pseudostrabus*. The pioneer species *Lupinus mexicanus* and *Tithonia tubiformis* were used in three experimental treatments and a control. To fertilize, KH_2PO_4 was applied in four concentration levels, for a total of 16 combinations of treatments when considering both factors. Results showed statistically significant differences among the treatments of presence of pioneer herbaceous species ($P \leq 0.01$). The species that was more influential in the performance of the pines was the legume *Lupinus mexicanus*, when present, the pines had a higher survival 98% than pines under control conditions (78%), being the difference statistically significant. Fertilization had no effect neither in the survival or the performance of *P. pseudostrabus*. These results suggest that in this soils, reestablishing biotic interactions is necessary for improving the performance of tree species.

Key words: *Lupinus*, erosion, understory, ecological restoration, phosphorus.

Introducción

La erosión es el resultado de perturbaciones naturales o es causada por acciones humanas como el cultivo intensivo, el pastoreo excesivo y la deforestación (Nebel *et al.*, 1999). El agua erosiona el suelo tanto por el impacto de las gotas de lluvia como por la fricción del escurrimiento superficial (Medina, 2002). La lluvia que cae sobre un terreno desnudo golpea directamente sobre su superficie, eliminando la materia orgánica ligera, fragmentando los agregados del suelo. Cuando se forman corrientes como consecuencia del escurrimiento, éstas van subcavando el suelo y forman surcos llamados cárcavas. La presencia de estas cárcavas en un terreno indica un grado avanzado de degradación (Tyler, 1994). Por otro lado, se sabe que los suelos protegidos por vegetación, mantienen su integridad y la vegetación minimiza la acción del viento y dispersa las gotas de lluvia, reduciendo la fuerza erosiva, por lo tanto ayuda a la conservación y formación del suelo (Smith *et al.*, 2000; Ruiz-Reyes *et al.*, 2000; Acevedo-Sandoval *et al.*, 2003). La presencia de árboles y arbustos permite una mayor diversidad estructural en los ecosistemas, y además de ofrecer protección contra la erosión del suelo, crea regímenes locales favorables de temperatura y humedad, permite la reposición constante de materia orgánica del suelo y son albergue para gran cantidad de especies de fauna (Suárez-Pérez *et al.*, 2012). Las poblaciones de *P. pseudostrobus* han sido fuertemente afectadas por la deforestación a todo lo largo de su rango de distribución en México, la recuperación de esta especie es difícil en sitios degradados porque es poco resistente al estrés por sequía, pero es muy valiosa para los pobladores locales porque en sitios apropiados presenta elevadas tasas de crecimiento y la madera es de buena calidad (Rzedowski, 1978; López-Upton, 2002). Por lo anterior es necesario establecer bajo que condiciones se puede favorecer su desempeño, entendido como supervivencia y crecimiento, en sitios degradados y para este fin determinar el papel de la asociación con otras especies.

En este sentido, las interacciones entre plantas influyen fuertemente la estructura y dinámica del ecosistema y son responsables de la presencia o ausencia de determinadas especies (Padilla y Pugnaire, 2006). En las últimas décadas se ha reconocido el papel determinante de la facilitación como una interacción positiva que afecta directamente el crecimiento, distribución y metabolismo de las especies (Bruno *et al.*, 2003). Aún cuando las

interacciones negativas como alelopatía o competencia han sido temas centrales en el estudio de la ecología y evolución, es claro también que los organismos pueden mejorar el desarrollo de sus vecinos al modificar el ambiente de forma que los beneficie por diversos mecanismos (Callaway, 2007). Se ha documentado que algunas especies arbustivas, pueden funcionar como nodrizas de especies arbóreas facilitando su establecimiento más que compitiendo por recurso o espacio. *Lupinus elegans* puede facilitar el establecimiento de coníferas como *Pinus montezumae* y *Abies religiosa* (Blanco García *et al.*, 2011).

Bajo condiciones severas de degradación, se requiere de la implementación de técnicas de restauración para recuperar la vegetación y en consecuencia reducir la erosión de los suelos y propiciar su recuperación. Las especies pioneras y del sotobosque son de particular importancia para la restauración ecológica, especialmente las leguminosas, por su gran capacidad de fijar nitrógeno (Lindig-Cisneros *et al.*, 2002). Es por ello que, *Lupinus mexicanus* presenta características para contribuir en la restauración de sitios degradados, de hecho, varias especies del género han sido utilizadas con estos fines (Ávila y Vargas, 2009; Blanco-García *et al.*, 2011). En la gran mayoría de las superficies muy alteradas no es posible restaurar la vegetación original, pero es posible inducir el desarrollo de una vegetación protectora que permita conservar e incrementar la fertilidad del suelo (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). Por lo que es necesaria la adición de fertilizantes para regresar al suelo al menos una mínima parte de los nutrientes perdidos. Además, las plantas sometidas a estrés por deficiencias nutricionales, tienden a perder capacidad fotosintética y disminuir el contenido de clorofila de sus hojas (Carter y Knapp, 2001). En estos términos, el papel del fósforo en la dinámica de los ecosistemas terrestres es fundamental (Vitousek, 2004; Oberson *et al.*, 2001) así como en los procesos sucesionales y aquellos que determinan la productividad de los ecosistemas (Tamm, 1991; Vitousek y Howarth, 1991). La disponibilidad de fósforo es muy importante para el establecimiento inicial de la vegetación (Oliet *et al.*, 2005) y posteriormente para el desempeño de las plantas (Mc Grath *et al.*, 2001). Por lo tanto, la adición de nutrientes ha sido también una estrategia común en restauración (Quoreshi y Timmer 2000, Oliet *et al.* 2005). Sin embargo, la aplicación de algunos métodos específicos de mejoramiento del suelo puede favorecer otro tipo de procesos de degradación. Por ejemplo, fertilizar con nitrógeno puede incrementar la acidez del suelo, favoreciendo así la reducción del fósforo disponible, de

modo que es importante entender la química del suelo como un componente del ecosistema antes de aplicar métodos de restauración (García-Oliva, 2005).

Para evitar mayores daños en condiciones de campo, es una alternativa ensayar bajo condiciones controladas con modelos experimentales donde se puedan controlar las interacciones entre plantas y estudiar mecanismos como la facilitación. Con esta estrategia se decidió estudiar el efecto de dos especies herbáceas pioneras en el crecimiento y supervivencia de *Pinus pseudostrabus*.

Lupinus mexicanus Cerv. In Lag. (Fabaceae) y *Tithonia tubiformis* (Jacq.) Cass. (Asteraceae) son especies herbáceas pioneras que fueron seleccionadas para estudiar su efecto y el de la fertilización con fósforo en el crecimiento y supervivencia de *Pinus pseudostrabus* Lindl. Estas herbáceas se caracterizan por encontrarse en sitios con algún grado de disturbio en bosques de pino y pino-encino en la región central de México. Se han realizado trabajos con *T. diversifolia* en sistemas sostenibles de producción agropecuaria (Rivera, 2002), lo que sugiere que especies de este género podrían tener un efecto positivo en el desempeño de especies arbóreas. Además, diversas especies de este género, se establecen en sitios altamente degradados y tienen la capacidad de tolerar la acidez de los suelos y la baja fertilidad (Reyes, 2006; Suárez-Pérez *et al.*, 2012). *Tithonia tubiformis* es una especie prometedora que se encuentra en la región occidental de México (Rzedowski y Rzedowski, 2004).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la presencia de *Lupinus mexicanus* (Fabaceae), y *Tithonia tubiformis* (Asteraceae) de forma individual y en conjunto, así como la fertilización con fósforo, en el crecimiento y supervivencia de *Pinus pseudostrabus* en un experimento de invernáculo para contribuir con el desarrollo de estrategias para restaurar la vegetación y como consecuencia, la disminución de la vegetación a mediano plazo en el sitio con la problemática planteada.

Materiales y métodos

El experimento se inició en marzo de 2008. Las semillas de pino se estratificaron en condiciones controladas, fueron esterilizadas previamente con hipoclorito de sodio al 20% (NaClO 1:5 H₂O), y posteriormente se colocaron en cajas de Petri con papel filtro como sustrato humedecido con 2ml de agua destilada. Las cajas fueron selladas con parafilm (R) y permanecieron durante 15 días a una temperatura de 4°C. Una vez transcurrido este tiempo, se trasladaron a una cámara de crecimiento a una temperatura constante de 25°C con 12 horas luz, manteniendo la humedad durante el proceso de germinación que fue de 21 días. Después de este período de tiempo, se realizó el trasplante una vez que la radícula ya estaba emergida, en el sustrato previamente esterilizado en autoclave. Las plántulas fueron propagadas en contenedores rígidos de plástico (350 cm³), en condiciones de invernáculo cubierto con maya del 30% de sombra que reduce la radiación. Como sustrato se utilizó una mezcla comercial a base de fibra de coco, corteza y agrolita mezclado con arena en combinación 1:1 y esterilizado. A los tres meses de edad, los pinos fueron trasplantados a contenedores rígidos de plástico con capacidad de 4 litros con sustrato obtenido del sitio de estudio y fue previamente homogeneizado. El sustrato se extrajo de un sitio conocido como Huertitas en el Ejido de Atécuaro (19° 33' 05'' y 19° 37' 08'' N y 101°05'07''O y altitud de 2275 m), en el Municipio de Morelia, la capital del estado de Michoacán. Es un sitio deforestado que en su mayoría se encuentra desprovisto de vegetación, donde existen numerosas cárcavas y se encuentra severamente erosionado, con presencia de acrisoles (acrisol ócrico). Los análisis de suelo indican que el contenido de fósforo es extremadamente pobre (Tabla 1). La zona presenta un clima subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media anual de 13.8°C y precipitación media anual de 1000 mm (Warner *et al.*, 2007).

Tabla 1. Análisis físico y químico del sustrato utilizado en el experimento.

Determinación		
Análisis físico	% arcilla	71.80
	% limo	16.00
	% arena	12.20
	Clasificación	Arcilloso
	Interpretación	Pesado
	Densidad aparente	1.20
	Capacidad de campo (C.C.)	43.16
	Punto de marchites permanente (P.M.P.)	23.45
	% humedad aprovechable total	19.54
	% saturación	56
	% humedad aprovechable en función al % de saturación	10.64
	% humedad del suelo al momento del análisis	N.D.
	% humedad aprovechable de la humedad actual	N.D.
	Color Munsell seco	2.5 YR 3/6
	Color Munsell húmedo	2.5 YR 3/4
Análisis químico	pH H ₂ O Q.P. 1:2	5.4
	Clasificación	Moderadamente ácido
	pH CaCl ₂ 1:2	4.9
	Clasificación	Ácido
	C.E. milimohos	0.06
	Clasificación	No salino
	% M.O.	0.83
	Clasificación	Pobre
	Nitrógeno total orgánico kg/ha	20.88
	Clasificación	Pobre
	Nitrógeno aprovechable	8.40
	Clasificación	Muy pobre
	Fósforo kg/ha Bray	Trazas
	Clasificación	Extremadamente pobre
	Fosforo asimilable kg/ha	Trazas
	Clasificación	Extremadamente pobre
	Potasio kg/ha	92
	Clasificación	Muy pobre
	Potasio asimilable kg/ha	36.88
	Clasificación	Extremadamente pobre
	Ca kg/ha	1148.00
Clasificación	Muy pobre	
Mg kg/ha	133.00	
Clasificación	Medio	
C.I.C.	28.40	

Se utilizaron dos especies herbáceas pioneras: *Lupinus mexicanus* y *Tithonia tubiformis*. *L. mexicanus* es una leguminosa herbácea anual o bianual, de 20 a 60 cm de alto con hojas alternas, palmadamente compuestas, flores dispuestas en racimos terminales de 10 a 30 cm de largo de color generalmente azules o azul-moradas, legumbre de 3 a 4 cm de largo, y es nativa de México (Calderón y Rzedowski, 2005). *T. tubiformis* es una herbácea robusta, llega a medir hasta 4 m de alto, de tallos gruesos, con frecuencia áspera en algunas porciones por la presencia de pelos rígidos con hojas de disposición alterna, presenta flores individuales agrupadas por muchas en cabezuelas que semejan flores sencillas y llegan a medir hasta 15 cm de diámetro. Suele cubrir terrenos baldíos, parcelas de cultivo abandonadas, y es frecuente a lo largo de caminos o canales (Rzedowski y Rzedowski, 2004).

El montaje del experimento se llevó a cabo con 160 contenedores. Todos con una planta de *Pinus pseudostrobus*. Cuarenta contenedores tenían una planta de *L. mexicanus*, 40 *T. tubiformis*, 40 la combinación de ambas especies herbáceas y los 40 restantes sin herbáceas (control). Los contenedores fueron distribuidos en un diseño de 10 bloques completos, 16 plantas en cada bloque, 4 por cada tratamiento de asociación de herbáceas. Se decidió fertilizar con fosfato de potasio en un gradiente de fertilización con 4 dosis (control, baja, media y alta de P por contenedor), quedando así 16 tratamientos. Cada bloque quedó con una réplica de cada tratamiento, en total 10 réplicas por tratamiento (Tabla 2). Los bloques no tuvieron un acomodo específico de acuerdo a un gradiente de luz, ni de pendiente en el invernáculo. Las condiciones fueron muy similares entre los bloques de acuerdo a mediciones de PAR realizadas de manera rutinaria como parte del manejo de las instalaciones experimentales, sólo se separaron para tener el total de tratamientos representados en el grupo y prever pérdida de réplicas de algún tratamiento específico.

Tabla 2. Tratamientos de fertilización y presencia de especies pioneras herbáceas en el desempeño de *Pinus pseudostrobus*.

Tratamientos	Asociación con especies pioneras herbáceas	Fertilización (KH ₂ PO ₄)
1	<i>Lupinus mexicanus</i>	Control
2	<i>Tithonia tubiformis</i>	Control
3	<i>Lupinus mexicanus</i> + <i>Tithonia tubiformis</i>	Control
4	Control	Control
5	<i>Lupinus mexicanus</i>	Dosis baja (0.1 g P)
6	<i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis baja (0.1 g P)
7	<i>Lupinus mexicanus</i> + <i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis baja (0.1 gr P)
8	Control	Dosis baja (0.1 g P)
9	<i>Lupinus mexicanus</i>	Dosis media (0.2 g P)
10	<i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis media (0.2 g P)
11	<i>Lupinus mexicanus</i> + <i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis media (0.2 g P)
12	Control	Dosis media (0.2 g P)
13	<i>Lupinus mexicanus</i>	Dosis alta (0.4 g P)
14	<i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis alta (0.4 g P)
15	<i>Lupinus mexicanus</i> + <i>Tithonia tubiformis</i>	Dosis alta (0.4 g P)
16	Control	Dosis alta (0.4 g P)

Las semillas de *Lupinus mexicanus* recibieron un tratamiento pregerminativo de escarificación química mediante ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) durante 20 minutos. Las semillas de *Tithonia tubiformis* no recibieron tratamiento pregerminativo.

Se mantuvo la presencia de una planta de la especie o especies pioneras (dependiendo del tratamiento), a través del sembrado directo en los contenedores. Para los tratamientos de fertilización, se aplicó un gradiente de fertilización: ausencia de fertilizante, dosis baja con 0.1 g de P, dosis media con 0.2 g de P y dosis alta con 0.4 g de P. La forma química de adición del fósforo fue KH₂PO₄. El fertilizante se disolvió en agua destilada, en diferente concentración de soluciones, una para cada tratamiento. Se fertilizó con 30 ml de solución por cada contenedor. En el caso del control, se adicionaron 30 ml de agua destilada. La fertilización se llevó a cabo semanalmente durante tres meses (julio-septiembre) por año

durante dos años. El riego se mantuvo constante cada tercer día durante todo el experimento, con excepción de la época de lluvias en la que se suspendió el riego. El experimento tuvo una duración de dos años y 4 meses.

Para evaluar el crecimiento de los pinos, se registraron las variables de altura, diámetro a la altura de la base (DAB en el cuello de la planta a un cm del suelo), cobertura (evaluado mediante la fórmula de la elipse $r_1 r_2 \pi$ con dos radios de la copa para inferir el dosel), número de ramas, longitud de las ramas con hojas y supervivencia. La variable de longitud de ramas con hojas, se tomó como una alternativa para evaluar el área foliar, ya que debido a la estructura de los pinos resulta muy complicado cuantificar el número de acículas y su área. Esta variable se relaciona con el área fotosintética de la planta. Todas las variables fueron evaluadas a los 2 años y 4 meses. Al finalizar el experimento, se colectaron muestras de tejido (tres fascículos al azar del principio del tercio apical de cada planta) para realizar un análisis de clorofila por el método de Lichtenthaler (1987).

El modelo estadístico fue simplificado eliminando el factor bloque que no fue significativo siguiendo la metodología sugerida por varios autores (Underwood, 1997; Crowley, 2007; Sáenz-Romero *et al.*, 2011). El análisis estadístico consistió en análisis de varianza (ANOVA) de dos vías considerando como factores: especie (1. *L. mexicanus*, 2. *T. tubiformis*, 3. *L. mexicanus* + *T. tubiformis* y 4. sin planta) y fertilización (1. Sin fertilizante, 2. dosis baja 0.1 g de P, 3. dosis media 0.2 g de P y 4. dosis alta 0.4 g de P). Se evaluaron las variables de altura, diámetro, cobertura, ramas y longitud de plantas con hojas, para la supervivencia se utilizó un Modelo Linear Generalizado (GLM) con distribución binomial. Se utilizó el paquete R (R Development Core Team, 2011).

Resultados

Los resultados indican que la adición de fosfato de potasio (KH_2PO_4) no influye de manera significativa en el crecimiento de *Pinus pseudostrabus* bajo las condiciones experimentales. Sin embargo, la presencia de la leguminosa *Lupinus mexicanus* se asoció con mejor crecimiento del pino, y *Tithonia tubiformis*, en general no se asoció con un mejor

crecimiento. La concentración de clorofila no presentó diferencias entre los tratamientos de fertilización ni de presencia de especies herbáceas.

Por otro lado, la presencia de *L. mexicanus* incrementó la altura de los pinos ya sea que la presencia de esta especie era de forma individual ($63.13\text{cm} \pm 1.49$) o combinada ($63.95\text{cm} \pm 1.84$) y las diferencias son significativas ($F_{(3,123)} = 5.51$, $P = 0.001$) cuando se les compara con el control (54.16 ± 1.88), la fertilización no tuvo efectos detectables (Figura 1A).

Lupinus mexicanus incrementó el diámetro en la base (DAB) causando diferencias significativas ($F_{(3,123)} = 6.55$, $P = 0.0003$), pues los pinos con esta especie presente tuvieron un diámetro de $1.67\text{cm} (\pm 0.054)$ y las plantas control de $1.36\text{cm} (\pm 0.05)$. Las tendencias de esta variable, son muy parecidas a lo que ocurre con la altura, presentando un incremento en el diámetro de las plantas por asociación con la leguminosa (Figura 1B). La leguminosa también incrementó la cobertura, presentándose diferencias estadísticamente significativas para esta variable ($F_{(3,123)} = 8.35$, $P = 0.0004$), pues la cobertura fue mayor cuando la leguminosa estaba presente de forma individual ($0.065\text{m}^2 \pm 0.003$) o combinada ($0.0594 \pm 0.003\text{m}^2$), que en el control ($0.0454 \pm 0.003\text{m}^2$). Los valores mayores corresponden a las plantas en asociación con la leguminosa (Figura 1C). También la presencia de esta especie herbácea incrementó significativamente el número de ramas ($F_{(3,123)} = 8.73$, $P < 0.0001$; $L = 7 \pm 0.511$, $T = 5.54 \pm 0.334$, $L+T = 5.86 \pm 0.37$, $C = 4.12 \pm 0.23$). En esta variable, las plantas control presentaron valores menores, donde las plantas cuentan con un eje principal donde se está elongando la yema, con escasa ramificación, por lo que en consecuencia la cobertura también es menor. La asociación con *L. mexicanus*, incrementa la ramificación del pino, la influencia de la leguminosa es significativamente mayor que el efecto de *T. tubiformis* (Figura 1D). Además, incrementa significativamente la longitud de ramas con hojas ($F_{(3,123)} = 3.76$, $P = 0.012$; $L = 69.11 \pm 3.96$, $T = 53.21 \pm 3.032$, $L+T = 55.97 \pm 3.62$, $C = 59.39 \pm 3.53$); (Figura 1E).

La presencia de especies herbáceas pioneras incrementan significativamente la supervivencia de *Pinus pseudostrobu*, ($X^2=0.09$; $P = 0.028$); (Figura 1F). La supervivencia es mayor cuando se encuentra en asociación con *L. mexicanus* presentando una supervivencia del 98%, con *T. tubimormis* 90%, con ambas especies 93% y las plantas control, sin herbáceas

pioneras 78%. Aún cuando las herbáceas no crecieron más de 20 cm, si representaron un aporte para el crecimiento y supervivencia de los pinos.

Tabla 3. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a la altura, diámetro a la altura de la base (DAB), cobertura, número de ramas y longitud de ramas con hojas de *Pinus pseudostrobus* en presencia de fertilización y asociación con especies herbáceas pioneras *Lupinus mexicanus* y *Titonia tubaeformis*.

Variable	Factores	G.L.	S.C.	C.M.	Valor F	Valor P
Altura	Herbáceas	3	2091.19	697.06	5.1	0.001
	Fertilización	3	112.31	37.44	0.29	0.83
	Herb:Fert	9	719.98	79.99	0.63	0.77
	Residuales	123	15559.47	126.49		
Diámetro a la altura de la base (DAB)	Herbáceas	3	2.13	0.71	6.55	0.0003
	Fertilización	3	0.06	0.02	0.18	0.91
	Herb:Fert	9	0.55	0.06	0.57	0.82
	Residuales	123	13.33	0.11		
Cobertura	Herbáceas	3	0.008	0.0026	8.35	0.00004
	Fertilización	3	0.0004	0.0001	0.44	0.72
	Herb:Fert	9	0.0023	0.0003	0.84	0.58
	Residuales	123	0.039	0.00031		
Numero de ramas	Herbáceas	3	142.49	47.49	8.73	0.00002
	Fertilización	3	10.03	3.34	0.61	0.61
	Herb:Fert	9	42.99	4.78	0.88	0.54
	Residuales	123	668.97	5.44		
Longitud de planta con hojas	Herbáceas	3	5269.77	1756.59	3.76	0.012
	Fertilización	3	801.50	267.17	0.57	0.63
	Herb:Fert	9	2566.90	285.21	0.61	0.79
	Residuales	123	57427.70	466.89		

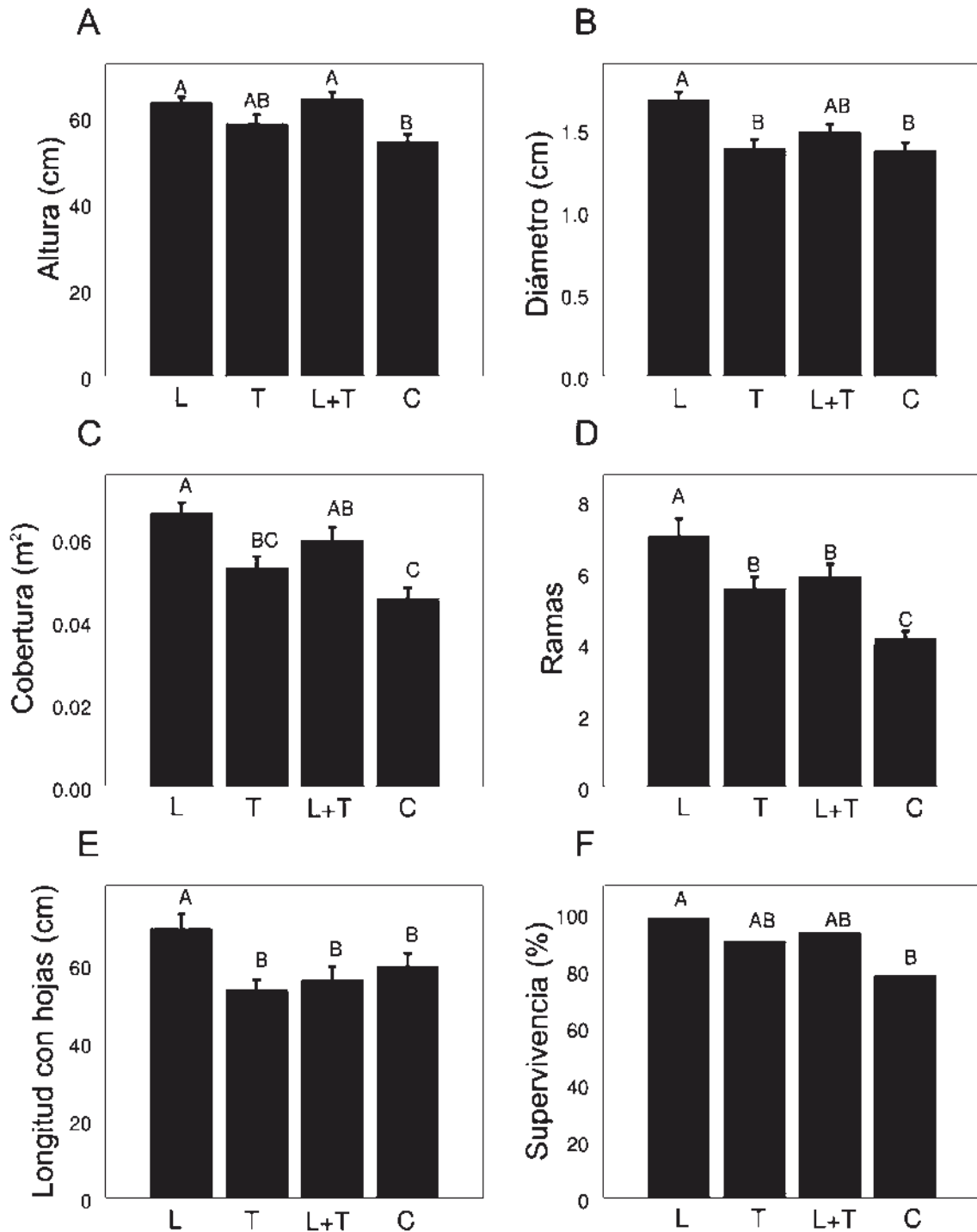


Figura 1 A. Altura, B. Diámetro a la altura de la base (DAB), C. Cobertura, D. Número de ramas, E. Longitud de ramas con hojas y F. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en asociación con especies pioneras herbáceas *Lupinus mexicanus* y *Tithonia tubiformis*. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Discusión

Generalmente el proceso de revegetación de sitios severamente degradados se ha concentrado en el uso de pastos y en menor medida de herbáceas pero ignorando casi en su totalidad a arbustos y árboles (Suárez, 1998; Rivera-Posada y Sinisterra-Reyes, 2005), pues el cubrimiento del suelo con vegetación herbácea, ha demostrado ser la práctica más eficiente en la prevención de la erosión en las zonas de ladera (Federacafé, 1982). Pero la vegetación arbórea y arbustiva permite que se presenten sistemas radicales de anclaje mayor, aumentando la resistencia del suelo a la ruptura, fracturación o fallamiento (Waldron, 1977; Rivera-Posada y Sinisterra-Reyes, 2005). El refuerzo mecánico se manifiesta en un aumento considerable en el componente cohesivo, debido al peso de la vegetación y a la interacción entre el suelo y las raíces (O'Loughlin y Ziemer, 1982). La vegetación al remover cantidades considerables de agua del suelo por transpiración, disminuye la presión de agua en los poros (Ziemer, 1981).

El suelo del sitio de estudio, acrisol ócrico, presenta condiciones que dificultan el desarrollo de las plantas, pues el fósforo se encuentra unido a minerales de Al y Fe lo que lo hace insoluble y por lo tanto no disponible para las plantas. El fósforo es uno de los nutrientes esenciales para las plantas, pero también, es uno de los elementos que con mayor frecuencia resulta limitante por su alta interacción con la matriz del suelo (Oliet *et al.*, 2005). Cuando este elemento se encuentra en cantidades mínimas, la adición se tiene que realizar por periodos prolongados de tiempo (McGrath *et al.* 2001). En el sistema estudiado, la fertilización no tuvo efecto en el crecimiento del pino. Una hipótesis a explorar, es que el fósforo quedó retenido en el suelo y la planta no pudo tomarlo, lo que se sugiere que la adición de otros agentes biológicos, como son los hongos micorrízicos, podría mejorar la disponibilidad de este nutriente para las plantas. Aún cuando no se descarta la opción de que las herbáceas tomaron fósforo, no se observó competencia entre el pino con las herbáceas, que se esperaba como valores medios de las variables evaluadas, menores en presencia de las herbáceas que en el control. Cada herbácea presentó altura menor a los 20 cm, al senecer, la biomasa era incorporada a los contenedores y se realizaba la siembra posterior, debido a que ambas son especies anuales, este proceso podría explicar que no se detectara un efecto de competencia y si un efecto positivo de la presencia de las herbáceas.

Pinus pseudostrobus puede mejorar su crecimiento y supervivencia en presencia de *Lupinus mexicanus*, efecto que se observó en todas las variables evaluadas: altura, diámetro, cobertura, número de ramas y longitud de ramas con hojas. Esta última variable relacionada con el área fotosintética, es fundamental para el establecimiento de las plantas, ya que las plantas con mayor longitud de ramas con hojas pueden tener una mayor área fotosintética. La variable cobertura, puede ser muy importante para crear condiciones de microambiente, lo que podría representar el establecimiento de otras especies del sotobosque, debido a que puede amortiguar los cambios drásticos de temperatura, por otro lado, puede influir de manera significativa en disminuir la erosión por efecto de lluvia, al incrementar la cobertura del suelo.

El uso del fertilizante no mostró ningún efecto. Esto se puede deber a que fueron las herbáceas del sotobosque, sobre todo la leguminosa, las que podrían haber asimilado la mayor parte del fósforo debido a su capacidad de absorber este nutriente (Corona Mora, 2010) sin ayuda de micorrizas.

Sin embargo, independientemente del mecanismo que operó en el experimento y que debe ser estudiado a detalle, lo que es posible afirmar, es que la presencia de *L. mexicanus* puede representar una opción para incrementar la supervivencia y el crecimiento de *P. pseudostrobus* en campo. Esto tiene implicaciones directas en la restauración de sitios altamente degradados con fuertes problemas de erosión y presencia de numerosas cárcavas. Las leguminosas son de gran importancia en la restauración ecológica por resistir condiciones limitantes, como baja fertilidad (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999), por la ventaja de la fijación de nitrógeno. En este sentido, *L. mexicanus* puede presentar ventajas adicionales.

Se sugiere que suelos como los acrisoles ócricos, se requiere de aprovechar interacciones entre plantas como las descritas en este estudio para mejorar el crecimiento de especies herbáceas, y que es necesario explorar mecanismos para que las plantas puedan incorporar el fósforo de manera más eficiente como puede ser la utilización de hongos micorrízicos (Clark y Zeto, 2000).

Referencias

- Acevedo-Sandoval, O., L. Ortiz-Hernández, D. Flores-Román, A. Velásquez-Rodríguez y K. Flores-Castro. 2003. Caracterización física y química de los horizontes endurecidos (tepetates) en suelos de origen volcánico del Estado de México. *Agrociencia*. 37 (5): 435-449.
- Ávila, L. y O. Vargas. 2009. Formación de núcleos de restauración de *Lupinus bogotensis* dentro de claros en plantaciones de *Pinus patula* y *Cupressus lusitanica*. p. 234-262. En: O. Vargas, O., León and A. Diaz-Espinosa, editores. Restauración ecológica en zonas invadidas por retamo espinoso y plantaciones forestales de especies exóticas. Bogotá. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.
- Blanco-García, A., C. Sáenz-Romero, C. Martorel, P. Alvarado-Sosa y R. Lindig-Cisneros. 2011. Nurse-plant and mulching effects on three conifer species in a Mexican temperate forest. *Ecological Engineering*. 37: 994-998.
- Bruno, J., J. Stachowicz y M. Bertness. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology and Evolution* 28 (3): 119-125.
- Calderón de Rzedowsky, G. y J. Rzedowsky. 2004. Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. Instituto de Ecología, A. C. Pátzcuaro, Michoacán, México. 313 p.
- Callaway, R. (2007). *Positive interactions and Interdependence in plant communities*. Netherlands. Springer.
- Carter, G. y A. Knapp. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*. 88 (4): 677-684.
- Clark, R. B. y S. K. Zeto. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*. 23: 867-902.

- Corona-Mora, A. Estudio de la dinámica del fósforo en el desempeño de *Lupinus mexicanus* en condiciones controladas en suelos intemperizados. 2010. Tesis profesional. Facultad de Biología. UMSNH. México. 48 p.
- Crawley, M. 2007. The R Book. John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England. 949 p.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Centro Nacional de Investigaciones de Café. 1982. Chinchiná (Colombia). Cuarenta años de investigación en Cenicafé. Suelos Vol 1. Chinchiná (Colombia) Cenicafé 74 p.
- García-Oliva, F. 2005. Algunas bases del enfoque ecosistémico para la restauración. En Sánchez, O, E. Peters, R. Márquez-Huitzil, E. Vega, G. Portales, M. Valdés y D. Azuara eds. Temas sobre restauración ecológica. Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto de Ecología, U.S. Fish and Wildlife Service, Unidos para la conservación A. C. México. p. 101-111.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. In: Packer, L. Douce, R. (Eds.), Methods in Enzymology, *Plant Cell Membranes*, Vol. 148. Academic Press, San Diego, California, E.U.A. p. 350-382.
- Lindig-Cisneros, R., C. Saenz-Romero, N. Alejandre-Melena, E. Aureoles-Celso, S. Galindo-Vallejo, M. Gómez-Romero y E. Medina-Sánchez. 2002. Efecto de la profundidad de los depósitos de arena volcánica en el establecimiento de la vegetación nativa en las inmediaciones del Volcán Parícutín, México. *Ciencia Nicolaita* 13: 47-54.
- López-Upton, J. 2002. *Pinus pseudostrobus* Lindl. In: Tropical Tree Seed Manual. J. A. Vozzo (ed). USDA *Forest Service*. p. 636-638.
- McGrath, D., M. L. Duryea y W.P. Cropper. 2001. Soil phosphorus availability and fine root proliferation in Amazonian agroforests 6 years following forest conversion. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83:271-284.

- Medina, L. E. 2002. Erosión hídrica y transporte de sedimentos en la microcuenca de Atécuaro Mich. Tesis profesional. Facultad de Biología UMSNH. México. 58 p.
- Nebel, B. J. y R. T. Wright. 1999. Ciencias Ambientales. 6° edición. Editorial Pearson. Educación Prentice Hill. México. 148 p.
- Oberson, A., D. K. Friesen, I. M. Rao, S. Buehler y E. Frossard. 2001. Phosphorus transformations in an oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant Soil*. 237: 197-210.
- O'Loughlin, C. y Ziemer, R.R. 1982. The importance of root strength and deterioration rates upon edaphic stability in steepland forests. Proceedings of I.U.F.R.O. Workshop P.1.07-00 *Ecology of Subalpine Ecosystems a Key to Management*. p. 70-78.
- Oliet J.A, R. Planelles, F.A. Douglass y F. Jacobs. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management* 215: 339-351.
- Padilla, F. y F. Pugnaire. (2006). The role of nurse plants in the restoration of degraded environments. *Front. Ecol. Environ* 4 (4): 196–202.
- Quoreshi, A. M. y V. R. Timmer. 2000. Early outplanting performance of nutrient-loaded containerized black spruce seedlings inoculated with *Loccaria bicolor* a bioassay study. *Canadian Journal Forest Restoration*. 30: 744-752.
- R Development Core Team, 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.

- Rivera, J. H. 2002. Utilización del Nacedero *Trichanthera gigantea* (H.& B.) Nees. para la prevención y recuperación de áreas degradadas por erosión y remociones masales en suelos de ladera Colombiana. IN: Seminario Taller Tres Especies Vegetales Promisorias para Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria: Nacedero *Trichanthera gigantea*, Botón de oro *Tithonia diversifolia* y Bore *Alocasia macrorrhiza*. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria CIPAV. Cali, Colombia. p. 54-62.
- Rivera-Posada, J. H. y J. A. Sinisterra Reyes. 2005. Restauración Social de Suelos Degradados por Erosión y Remociones Masales en Laderas Andinas del Valle del Cauca Colombia con la utilización de obras de Bioingeniería. Quinto congreso Nacional de Cuencas Hidrográficas, Santiago de Cali. 35 p.
- Ruiz-Reyes, C., M. Gómez-Romero y R. Lindig-Cisneros. Desempeño de *Lupinus elegans* y *Senna hirsuta* bajo condiciones de restauración ecológica. 2009. *Biológicas* 11: 10-15.
- Rzedowski, G. y J. Rzedowski. 2005. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C. Centro regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán. CONABIO. 1406 p.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa. México. 432 p.
- Sáenz-Romero, C., J. Beaulieu y G. E. Rehfeltdt. 2011. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. *Agrociencia*. 45 (3): 399-411.
- Smith, R. L. y T. M. Smith. 2000. Ecología. 4º edición. Editorial Addison Wesley. España. 458 p.
- Suárez, D. J. 1998. Deslizamientos y estabilización de laderas en zonas tropicales. Corporación para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB). *Bucaramanga*. 548 p.
- Suárez Pérez, C., I. Orrantía Cárdenas, A. Díaz Medina y R. Hurtado Escalante. 2012. El manejo de la flora para la restauración ecológica en áreas protegidas de Tope de Collantes. *Desarrollo Local Sostenible*. 5 (14): 1-13.

- Tamm, C. O. 1991. Nitrogen in terrestrial ecosystem. *Ecological Studies* 81: 1-15.
- Tyler, G. 1994. Ecología y Medio ambiente. 7° Ed. Grupo Editorial Iberoamericana, S.A. de C.V. México. 865 p.
- Underwood, A. J. 1997. Experiments in ecology: Their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press. 504 p.
- Vázquez-Yanes, C. y A. I. Batis-Muñoz. 1996. Adaptación de árboles nativos valiosos para la Restauración ecológica y la reforestación. Centro de Ecología. UNAM. México 75 p.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y reforestación. Reporte técnico del proyecto 1084 CONABIO. Instituto de Ecología UNAM. México. 38 p.
- Vitousek, P. M. 2004. Nutrient Cycling and limitation. Princeton University press. Oxford and Princeton. E.U.A. 233 p.
- Vitousek, P.M. y R. Howarth. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? *Biogeochemistry*. 13: 87-115.
- Waldron, L. J. 1977. The shear resistance of root-permeated homogeneous and stratified soil. *Soil Science Society of American Journal*. 4: 843-849.
- Warner, G., M. Bravo, J. Frchevers, J. F. Gallrdo, M. Haulon, M. Mazzoncaini, L. Padilla, C. Prat, J. Queitsch, A. Vera Vidal y E. Zapata. 2007. Alternative Agriculture for sustainable rehabilitation of deteriorated volcanic soils in México and Chile (REVOLSO) 2002-2006; INCO-DEV (International Cooperation with Developing Countries 1998-2002). Final report. Univ. Giessen Giessen, Alemania. p. 123-128.
- Ziemer, R. R. 1981. The role of vegetation in the stability of rooted slopes. In: Proceedings of the International Union of Forestry Research, XVII World Congress. Kyoto, Japan. p. 297-308.

Capítulo III.

DESEMPEÑO DEL tándem *Pinus pseudostrobus-Eyzenhardtia polystachya* en ACRISOLES MEDIADO POR HONGOS MICORRÍZICOS

RESUMEN

Se realizó un experimento en condiciones de mesocosmos con el tándem *Pinus pseudostrobus-Eyzenhardtia polystachya* para evaluar el efecto de los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* en el desempeño de las plantas y diversas propiedades del suelo. Esto, para contribuir al conocimiento sobre la restauración de suelos de tipo acrisol con problemas de erosión, presencia de cárcavas y que como consecuencia presentan niveles extremos de baja fertilidad, sobre todo de fósforo (en general se encuentra en trazas y secuestrado por las altas concentraciones de hierro). El experimento consistió en un diseño ortogonal con ocho tratamientos. Los resultados muestran que se presentó un mayor desempeño para la mayoría de las variables, en las plantas con inoculación dual de los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices*, para que los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) tengan efecto en otras variables, se hace determinante la presencia de *Eyzenhardtia polystachya* en tándem con el pino, debido a que *P. pseudostrobus* no realiza asociación simbiótica con *Glomus intraradices*. La presencia de Hongos Ectomicorrízicos (HE) promueve la formación de macroagregados, mientras que la presencia de HMA promueve la formación de microagregados en el tándem *Pinus pseudostrobus-Eyzenhardtia polystachya*. La mayor concentración de fósforo se presenta en los pinos asociados a la leguminosa con la presencia de HMA. Adicionalmente, la presencia de *Eyzenhardtia polystachya* es indispensable para contribuir con el restablecimiento del ciclo del fósforo por su capacidad para realizar la asociación simbiótica con los HMA. Los HMA son los que contribuyen a solubilizar el fósforo e incorporarlo a la biomasa de la planta. Esto podría tener beneficios directos para la restauración de sitios severamente degradados con problemas de erosión y baja fertilidad de fósforo.

Palabras clave: fósforo, hongos micorrizicos, leguminosa, pino, restauración ecológica.

INTRODUCCIÓN

La estructura del suelo se ve afectada por diversos tipos de manejo intensivos, como la deforestación, debido a que provoca cambios drásticos en la función del suelo (García-Oliva, et al 1999; García-Oliva, *et al.*, 2005) y pérdida de hábitat para muchos organismos (Nebel *et al.*, 1999). Una de las consecuencias más graves de la pérdida de esta estructura es la ausencia o disminución de agregados del suelo (Tisdall, 1994; Six *et al.*, 2000). Restablecer la cubierta vegetal y la estructura del suelo es de suma importancia para la rehabilitación de ecosistemas, para lo que la mejor opción hasta ahora disponible ha sido plantar especies resistentes al estrés por sequía, que sean capaces de sobrevivir en suelo degradado (Bradshaw, 2000). En este sentido, las leguminosas juegan un papel importante al mejorar la fertilidad del suelo, ya que su biomasa al descomponerse rápidamente e incorporarse al suelo constituye una fuente importante de nutrientes, principalmente de nitrógeno y fósforo, por (Jama *et al.*, 2000). Sin embargo, hasta donde sabemos, no existen estudios sobre el restablecimiento de la dinámica del fósforo en sitios forestales templados severamente degradados. Uno de los principales factores en ecosistemas terrestres que está asociado a la supervivencia y crecimiento de las plantas, así como a la conservación del suelo, es la presencia de hongos ectomicorrízicos (HE) y de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos organismos tienen la capacidad de establecer asociaciones simbióticas mutualistas llamadas micorrizas, las cuales pueden contribuir al desarrollo de la planta huésped debido principalmente a un aumento en la absorción de nutrientes minerales, especialmente el fósforo (P), además de realizar otras funciones importantes, como estimular la formación y estabilidad de agregados del suelo a través de su micelio externo. La formación y estabilidad de agregados es un aspecto importante que hay que tomar en cuenta, para tratar la degradación del suelo que es un grave problema a nivel global y cada día se va intensificando a medida que se incrementa el aclareo de los bosques (Sivakumar 2007), trayendo como consecuencia la degradación del suelo por la pérdida de los agregados (Six *et al.*, 2000). En este sentido, los hongos micorrízicos influyen en el ambiente edáfico al prevenir la formación de claros entre las raíces y el suelo, lo que mantiene la continuidad del líquido a través de la interfase suelo-raíz (Reid, 1984; Miller y Jastrow, 1992).

Además, la asociación micorrízica otorga ventajas para el establecimiento de las plantas ante condiciones estresantes, como la habilidad de la planta hospedera para resistir a condiciones de sequía (Haselwandter, 1997; Álvarez 2009). Los hongos ectomicorrízicos pueden proporcionar estos beneficios, dentro de este grupo se encuentra *Pisolithus tinctorius*, que se utiliza para inocular plantas forestales. Las plantas con las que *P. tinctorius* establece simbiosis ectomicorrízica incluyen más de veinte géneros de gimnospermas y angiospermas incluyendo especies forestales de la familia Pinaceae (Pérez-Moreno y Read, 2004; Ambriz *et al.*, 2010). El cuerpo fructífero suele medir entre 5 y 20 cm de altura y hasta 10 cm de diámetro, es fibroso de color pardo amarillento, las esporas son de color marrón canela, globosas de 7 a 12 μ y presentan espinas de hasta 2 μ de largo. Fructifica al comienzo del otoño. Un aspecto muy importante es que puede sobrevivir en suelos empobrecidos o terrenos perturbados, así como en suelos de alta acidez, o con altas concentraciones de metales pesados y resiste periodos de estrés por sequía (García-Rodríguez *et al.*, 2009). Específicamente para el caso de *Glomus*, que es un HMA que presenta una alta colonización y rápido crecimiento, se hacen más abundantes en condiciones de estrés ambiental (por ejemplo, los ecosistemas agrícolas) (Helgason *et al.*, 1998; Oehl *et al.*, 2004). Sin embargo, existen factores ambientales limitantes para la simbiosis de los Hongos micorrízicos (HM) como son la temperatura, la disponibilidad de agua y de elementos minerales.

Por otro lado, *Pinus pseudostrabus* Lindl. además de ser una especie nativa, resultó ser la especie más sensible al estrés y se eligió como modelo de estudio. Esta especie es un árbol de 15 a 25 m, se encuentra en laderas con elevaciones de 1 600 a 3 200 msnm con temperatura de 9 a 40 °C con media de 14 °C, con precipitaciones de 600 a 2000 mm y media de 1000 mm (Cruz de León, 1991) y se le utiliza extensivamente para reforestación (CONAFOR, 2006).

El estudio de plantas con potencial de formar asociaciones simbióticas tanto con HMA como con HE puede contribuir de manera importante a mejorar las estrategias de restauración, al aumentar la capacidad de sobrevivencia y crecimiento de estas especies, así como contribuir a mejorar la estructura del suelo. En este sentido *Eysenhardtia polystachya* es una planta nativa de México, abundante en zonas semicálidas a templadas con temperaturas entre 12 y 19 °C y una precipitación anual

de 300 a 1,800 mm Debido a su capacidad para prosperar en suelos perturbados y su tolerancia a la sequía, tiene potencial para ser utilizada en programas de conservación y recuperación de suelos. Por lo anterior se propone estudiar la respuesta de especies nativas fijadoras de nitrógeno y especies arbóreas en “tándem” *Eysenhardtia polystachya* - *Pinus pseudostrobus* inoculadas con HE y HMA solos y en interacción, además de evaluar sus efectos en la sobrevivencia y crecimiento de la planta.

HIPÓTESIS

La inoculación con los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices*, solos o en simbiosis dual incrementará la productividad del tándem “*Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya*”, incluyendo la acumulación de nitrógeno a través del mejor desempeño de las leguminosas, facilitando la retención del fósforo además de la formación y estabilidad de agregados en la rizósfera.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la contribución de *Pisolithus tinctorius* (HE) y *Glomus intraradices* (HMA) solos o en interacción sobre la supervivencia y desarrollo de los componentes del “tándem” *Pinus pseudostrobus* – *Eysenhardtia polystachya* mediante el desempeño *in situ* y en condiciones de mesocosmos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer el efecto de *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* solos o en interacción en el desempeño (altura, diámetro, cobertura, ramas y hojas) en el “tándem” *Pinus pseudostrobus* - *Eysenhardtia polystachya* en condiciones de mesocosmos.
- Evaluar la contribución de *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* solos o en interacción sobre el contenido de fósforo de los componentes del “tándem” *Pinus pseudostrobus* – *Eysenhardtia polystachya* en condiciones de mesocosmos.
- Evaluar el efecto de *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* solos o en interacción en el “tándem” *Pinus pseudostrobus* - *Eysenhardtia polystachya* y su contribución en la formación y estabilidad de agregados del suelo, en condiciones de mesocosmos.

MATERIALES Y MÉTODOS

De manera preliminar se realizaron experimentos de laboratorio e invernadero para determinar la cantidad de fósforo que es necesario adicionar a las plantas para permitir que este elemento se encuentre disponible como pulsos de fertilización, debido a que las altas concentraciones de hierro en estos suelos inmovilizan a este elemento.

Experimento de Mesocosmos

El experimento, consistió en un sistema de mesocosmos (condiciones que simulan las condiciones naturales al sitio de establecimiento de una especie, como contenedores grandes para cantidades altas de sustrato; sin controlar la mayoría de las variables como insolación, herbivoría, etc.) con el tándem de *Pinus pseudostrobus* y *Eysenhardtia polystachya*, se sometió a 8 tratamientos experimentales distintos (Tabla 1).

Cuadro1. Tratamientos de inoculación para los experimentos en tándem.

Tratamientos	pino	leguminosa
1	P _{HE}	E _{HMA}
2	P _{HE}	E _{HE}
3	P _{HE}	E _{HMA + HE}
4	P _{HE}	E
5	P	E _{HMA}
6	P	E _{HE}
7	P	E _{HMA + HE}
8	P	E (control)

P=*Pinus pseudostrobus*, E=*Eysenhardtia polystachya*,
HMA=*Glomus intraradices*, HE= *Pisolithus tinctorius*

Para establecer el experimento de mesocosmos, se utilizaron macetas de plástico rígido con capacidad de 20 litros, como sustrato se utilizó el material edáfico del sitio de estudio. En este experimento se evaluó el desempeño de las plantas del tándem *Pinus pseudostrobus* - *Eysenhardtia polystachya* y su respuesta a la inoculación con HM y HMA mediante un diseño ortogonal, Utilizando una planta de cada especie por contenedor.

Las semillas de *Pinus pseudostrobus* procedentes de la región se estratificaron en condiciones controladas, fueron esterilizadas con hipoclorito de sodio al 20% (NaClO 1:5 H₂O) sumergiéndolas durante un minuto y posteriormente se colocaron en cajas de Petri con papel filtro como sustrato humedecido con 2 ml de agua destilada. Las cajas fueron selladas con parafilm (R) y permanecieron durante 15 días a una temperatura de 4°C. Posteriormente, se mantuvieron durante el proceso de germinación, que fue de 21 días en una cámara de crecimiento a una temperatura constante de 25°C con 12 horas luz, manteniendo la humedad constante. Después de este período de tiempo, se realizó el trasplante una vez que la radícula ya había emergido. En el caso de *Eysenhardtia polystachya*, las semillas fueron colectadas en la Cd. De Morelia, éstas fueron retiradas de la vaina y germinadas también en condiciones controladas como en el caso de *P. pseudostrobus*.

Las plántulas fueron propagadas en casa de sombra en contenedores rígidos de plástico (350 cm³), se utilizó un sustrato comercial a base de fibra de coco, corteza de árbol y

agrolita (creci-root) mezclado con arena esterilizado en combinación 1:1. A las cuatro semanas, las plantas fueron inoculadas con su tratamiento respectivo de *Glomus intraradices* (30 propágulos por planta) y *Pisolithus tinctorius* (500 000 esporas) y a los tres meses de edad, ambas especies fueron trasplantadas en tándem al mesocosmos. El montaje del experimento se llevó a cabo con 19 réplicas por cada tratamiento en un diseño completamente al azar. El experimento se mantuvo durante tres años (2008-2011) incluyendo la preparación del material, propagación, montaje, evaluación y cosecha.

Cada maceta contaba con una charola del mismo material de las macetas y una protección de plástico para reducir la probabilidad de contaminación por contacto del suelo o salpicaduras en tiempo de lluvia en la parte inferior. Las macetas estuvieron expuestas a las condiciones ambientales sin control de la insolación temperatura o lluvia, para simular las condiciones naturales. Durante la época de secas, se mantuvo el riego constante cada tercer día. Se llevaron a cabo evaluaciones de altura de forma mensual y las variables de diámetro a la altura de la base (DAB), cobertura, ramas y hojas de forma semestral para ambas especies (en el pino se evaluó la longitud de ramas con hojas).

Se tomaron muestras de tejido para realizar el análisis de clorofila (Lichtenthaler, 1987) con el propósito de conocer la respuesta a los tratamientos experimentales. Al finalizar el experimento, se cosecharon cinco réplicas de cada tratamiento y se evaluaron variables de biomasa como peso fresco aéreo, peso seco aéreo, peso fresco radical, peso seco radical, longitud, volumen y densidad radical. Las plantas fueron secadas en horno de secado durante 72 horas a 60° C. Posteriormente, se tomó una muestra de las plantas y fueron trituradas en un molino de tejido para realizar el análisis de fósforo, tanto de la biomasa aérea como de la biomasa radical. El análisis se realizó por medio de fluorescencia de rayos X con muestras de 2.5 gr de tejido. Además se tomaron muestras de suelo de la rizósfera para la determinación de agregados estables en húmedo (Kemper y Rosenau, 1986). A los 22 meses de edad (evaluación 19) se fertilizaron ocho réplicas de cada tratamiento con seis dosis quincenales de 4.22 gr de KH_2PO_4 (0.996 gr de P) por maceta.

RESULTADOS

Crecimiento en altura

Pinus pseudostrobus

En cuanto a las plantas de *Pinus pseudostrobus* del tándem, en el experimento de mesocosmos, al finalizar no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para el crecimiento entre los tratamientos. Se puede observar (Figura 1) que en la época de secas (meses 4 a 7) se presenta una tendencia a que las plantas inoculadas tienen un mayor crecimiento. El efecto más notable en el tratamiento 1, es cuando los pinos están asociados a la leguminosa (*Eysenhardtia polystachya*) con presencia de HMA.

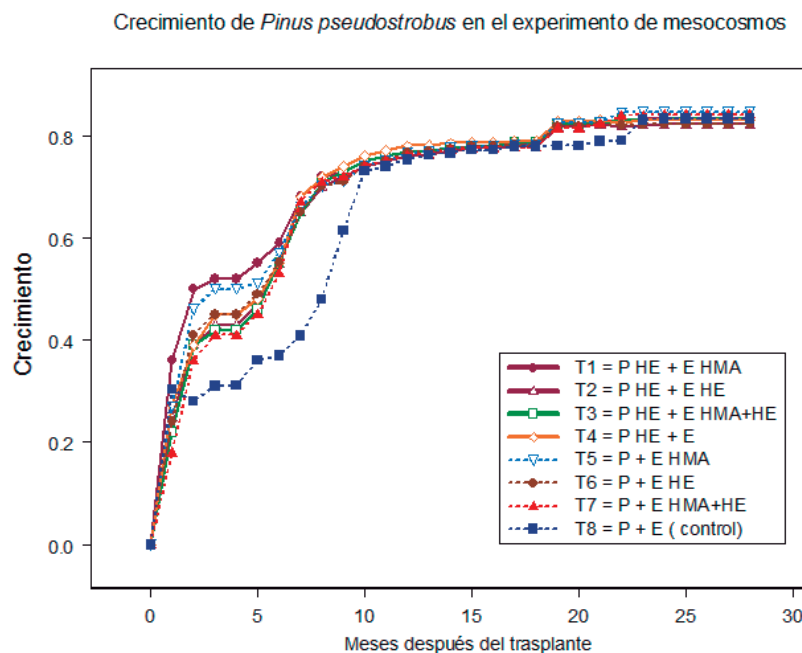


Figura 1. Crecimiento en altura de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos a partir del trasplante a los 3 meses de edad.

Eysenhardtia polystachya

Para el caso de *Eysenhardtia polystachya* sí se observa diferencia entre los tratamientos (Figura 2) a lo largo del experimento, los tratamientos se separan en forma más notable que en los pinos. Los tratamientos que presentan mayor crecimiento son los inoculados de forma dual HMA + HE, aun cuando el pino no está inoculado, como es el caso del tratamiento 7 y en segundo lugar el tratamiento 3; donde ambos presentan la inoculación dual, solo que en este último caso está asociado al pino no micorrizado. En tercer lugar, el tratamiento 5 de inoculación con HMA asociado a un pino no inoculado, que durante la época de secas está por encima del tratamiento 1 que posteriormente pasa a un cuarto lugar alternándose finalmente con el tratamiento 1 que presenta la misma inoculación, solo que en este caso, la leguminosa está asociada al pino inoculado. Al final, los tratamientos que reflejan un mayor crecimiento en altura, son el 7 y 3. Los que presentaron un menor crecimiento son los que presentan solo HE o ausencia de inoculación independientemente de si están asociados a pinos con presencia o ausencia de HE. Lo que sugiere que lo que está dando mayor aporte a las leguminosas es la presencia de HMA y si se encuentra asociado directamente con HE se ve incrementado el crecimiento, pero cuando el pino se encuentra inoculado, no hay aporte de los HE para el crecimiento de las leguminosas.

De modo que tomando en cuenta los tratamientos de inoculación de las leguminosas, independientemente si el pino está inoculado o no con los HMA, se presentan diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1) con un mayor crecimiento, los tratamientos que presentan la inoculación dual de HMA + HE, posteriormente los inoculados con HMA y finalmente los no inoculados o los que tienen solo presencia de HE (Figuras 3).

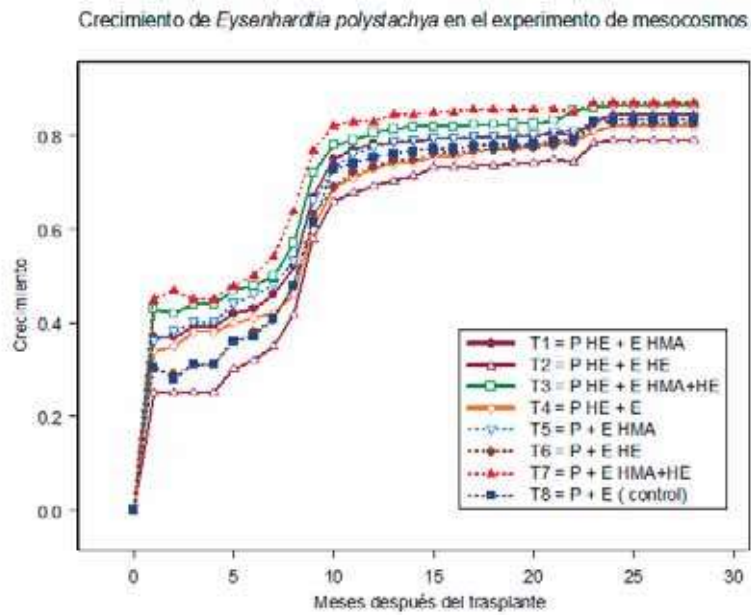


Figura 2. Crecimiento de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos a partir del trasplante a los 3 meses de edad.

Tabla 1. Análisis de varianza aplicado al crecimiento de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Leguminosa (lluvias)	3	3 0.14	0.046	8.051	0.00005
residuales	147	148	0.847	0.005	

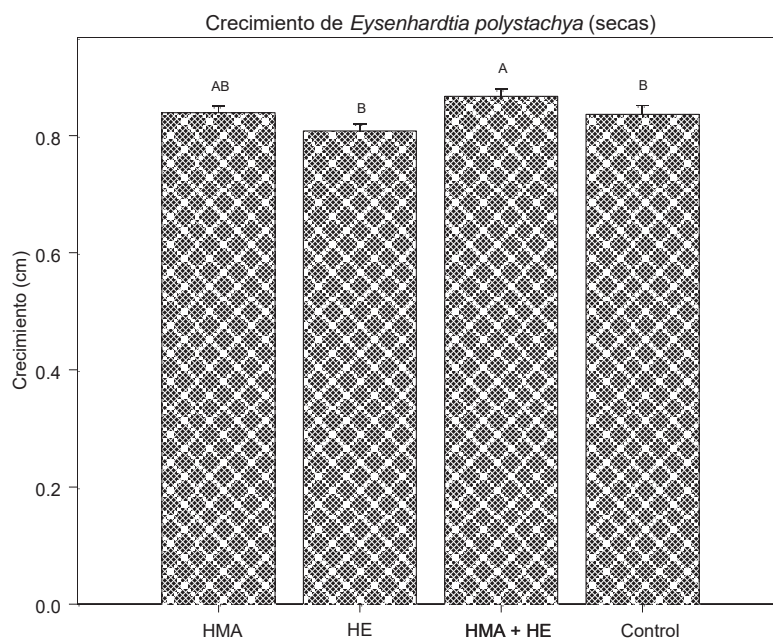


Figura 3. Crecimiento de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Crecimiento en diámetro

Pinus pseudostrobus

Para el diámetro de los pinos, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de inoculación del tándem.

Eysenhardtia polystachya

Para la leguminosa se muestran diferencias estadísticamente significativas por efecto de los hongos micorrízicos solos o en inoculación dual (Tabla 2). Lo que indica que las plantas en ausencia de inoculación son las que ensanchan menos (Figura 4).

Tabla 2. Análisis de varianza aplicado al crecimiento en diámetro de *Eisenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Leguminosa	3	0.38	0.127	3.783	0.011
residuales	147	4.93	0.034		

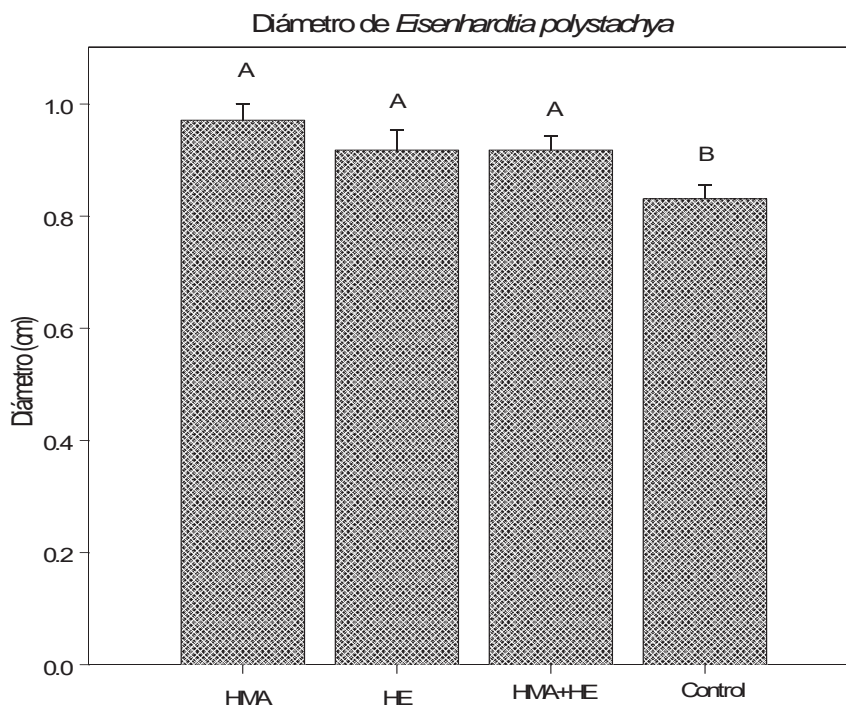


Figura 4. Diámetro de *Eisenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Cobertura

Pinus pseudostrobus

Para *Pinus pseudostrobus*, si se presentaron diferencias estadísticamente significativas para la cobertura (Tabla 3). En el análisis de varianza se observa que para esta especie si es importante la presencia de HE, para el desarrollo de mayor cobertura (Figura 5).

Tabla 3. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Pinus pseudostrobus* del experimento de mesocosmos.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
PHE	1	0.011	0.011	7.122	0.008
E	3	0.001	0.0001	0.122	0.947
PHE:E	3	0.005	0.002	1.089	0.356
residuales	144	0.23	0.002		

Un aspecto muy relevante es que *Pinus pseudostrobus* responde a la presencia de las especies de hongos en los tratamientos de *Eysenhardtia polystachya* a los cuales se encuentra asociado. Esto significa que las plantas de pino asociados a las plantas de leguminosa en presencia de HMA (*Glomus intraradices*) (tratamiento 1) o la inoculación dual HMA + HE (*Pisolithus tinctorius*) (tratamiento 3) responden presentando una mayor cobertura que los que están asociados a la leguminosa, sólo con HE o en ausencia de inoculación. Esto sugiere que *P. pseudostrobus* recibe un aporte indirecto por la presencia de los HMA la leguminosa, aun cuando los pinos no sean capaces de establecer las asociaciones simbióticas con este tipo de hongos micorrízicos.

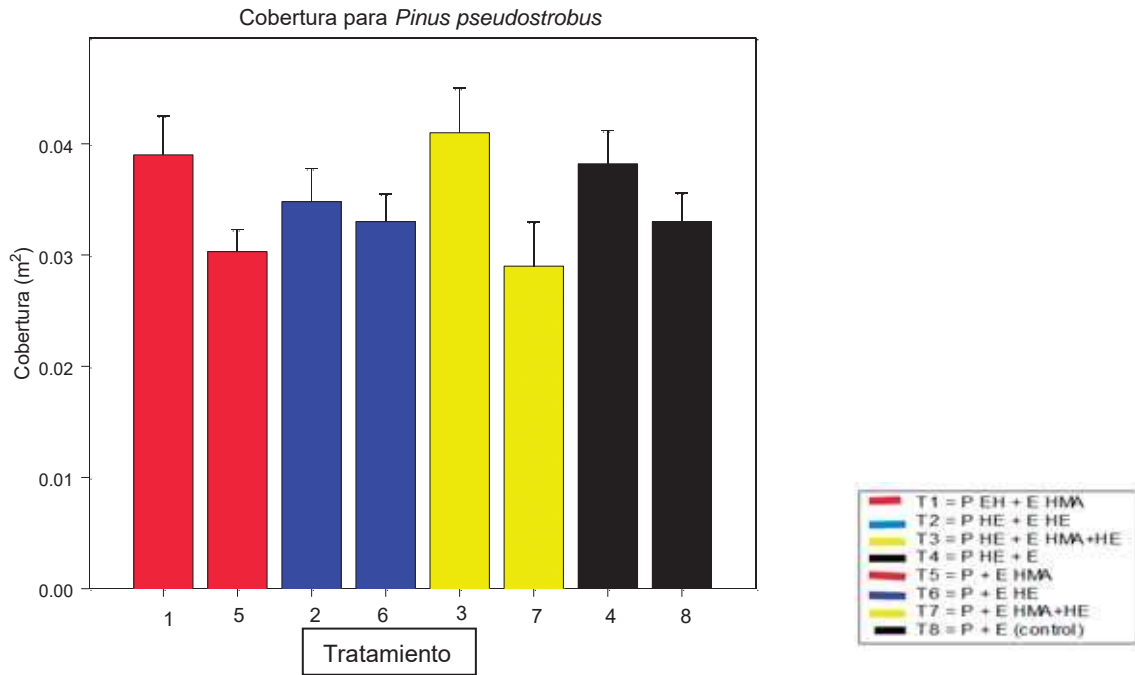


Figura 5. Cobertura de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

Es interesante notar, que aun cuando para otras variables como crecimiento o diámetro, no se observan diferencias estadísticamente significativas, en el caso de cobertura si es importante la presencia de los hongos micorrízicos (Figura 6).

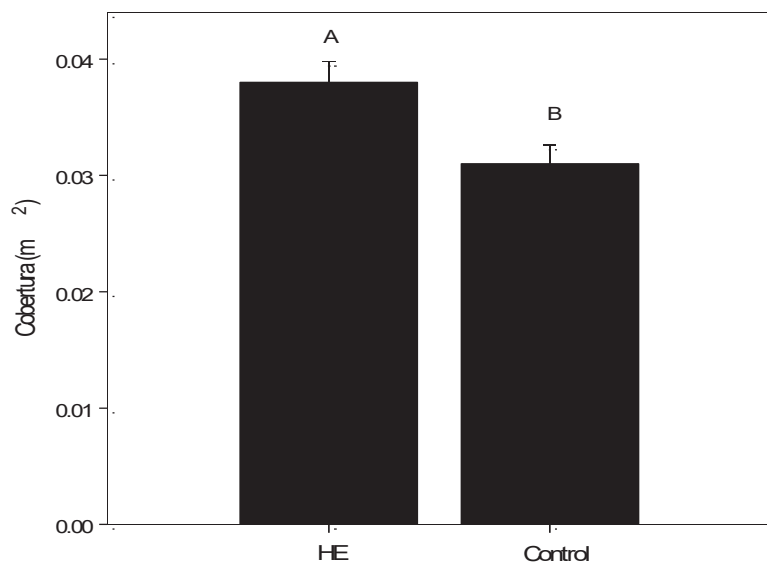


Figura 6. Cobertura de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación del pino. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Eysenhardtia polystachya

Para *Eysenhardtia polystachya* las diferencias de cobertura entre tratamientos también muestra diferencias marginalmente significativas (Tabla 4). Los HE en tratamiento 6 y la inoculación dual en los tratamientos 3 y 7 presentan valores mayores (Figura 7).

Tabla 4. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
E HMA	1	3.87	3.86	4.79	0.40
E HE	1	0.0002	0.0001	0.0002	0.07
P HE	1	0.39	0.39	0.48	0.08
E HMA:E HE	1	0.37	0.38	0.47	0.49
E HMA:P HE	1	0.94	0.94	1.16	0.28
E HE:P HE	1	1.05	1.05	1.31	0.25
E HMA:E HE:P HE	1	0.87	0.87	1.07	0.01
Residuales	144	116.22	0.81		

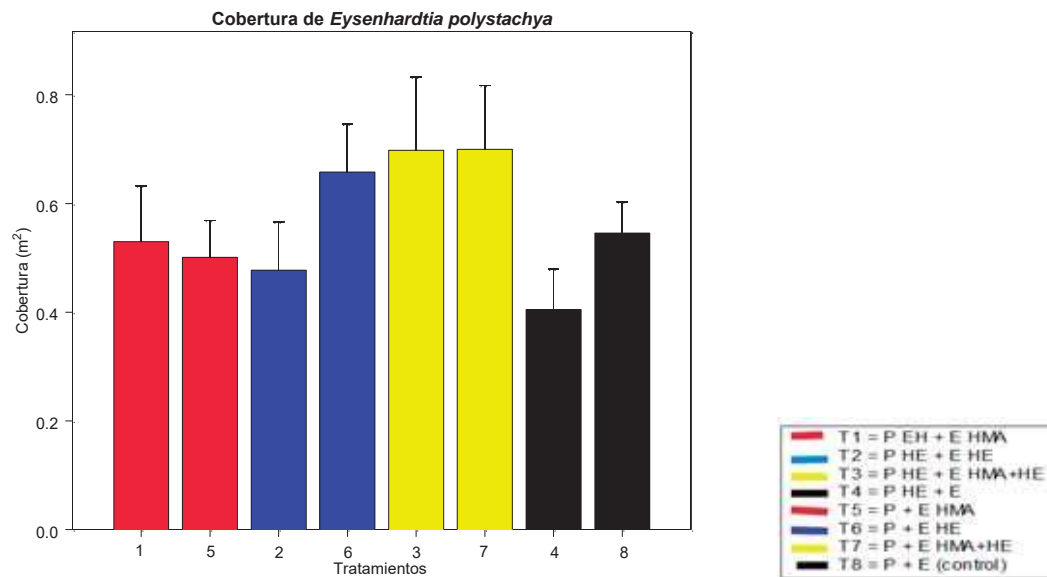


Figura 7. Cobertura de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

Mediante un análisis de varianza aplicado a las plantas de *Eysenhardtia polystachya* con respecto a los tratamientos de inoculación, se presentan diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5). Los tratamientos con presencia de HMA en asociación dual con HE presentan valores mayores (Figura 8).

Tabla 5. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Leguminosa	3	0.09	0.03	3.552	0.016
residuales	148	1.242	0.008		

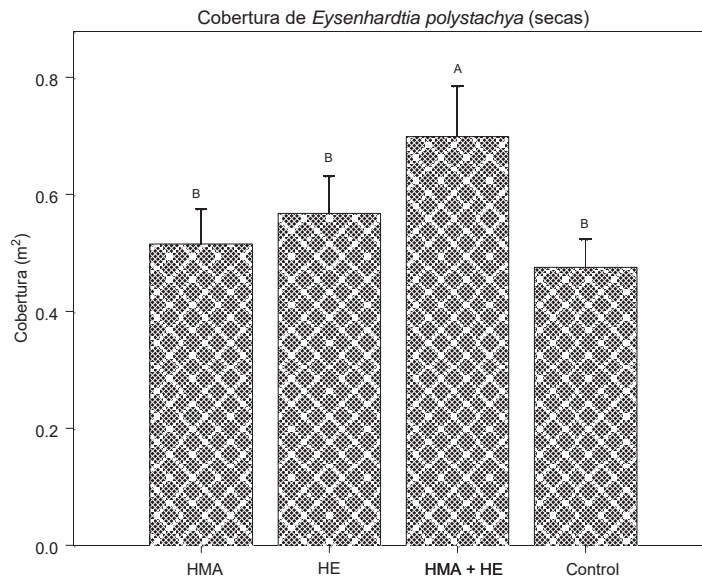


Figura 8. Cobertura de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Número de ramas

Pinus pseudostrobus

En cuanto al número de ramas, se presenta una ramificación menor para las plantas que se encuentran en ausencia de inoculación o con inoculación individual de HE (Figura 9). Las plantas con mayor ramificación son las plantas que están asociadas a las leguminosas con presencia de HMA solos o en inoculación dual como ocurre con el tratamiento 3. Es importante mencionar que existe un patrón, cuando los pinos están inoculados ramifican más, aun cuando las diferencias nos son significativas (Figura 10).

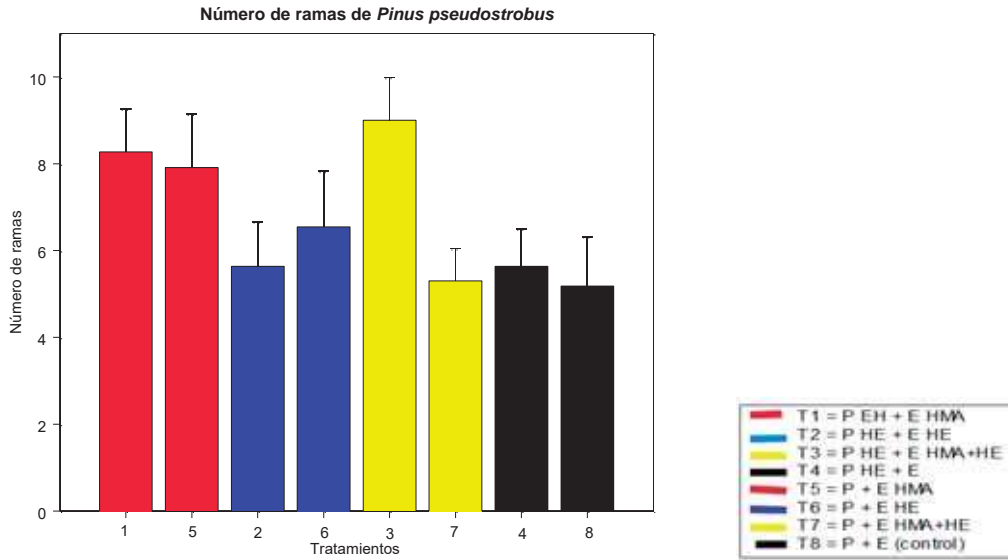


Figura 9. Número de ramas de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

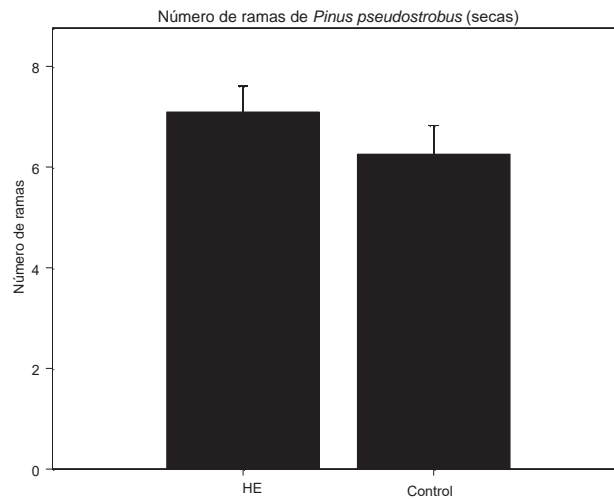


Figura 10. Número de ramas de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación del pino. Las barras indican el error estándar.

Eysenhardtia polystachya

Para *Eysenhardtia polystachya*, se observa una mayor cantidad de ramas en los tratamientos inoculados (Figura 11), presentándose diferencia estadísticamente significativa (Tabla 6). Es importante señalar que para esta especie es importante la presencia de hongos micorrízicos para incrementar la ramificación (Figura 12).

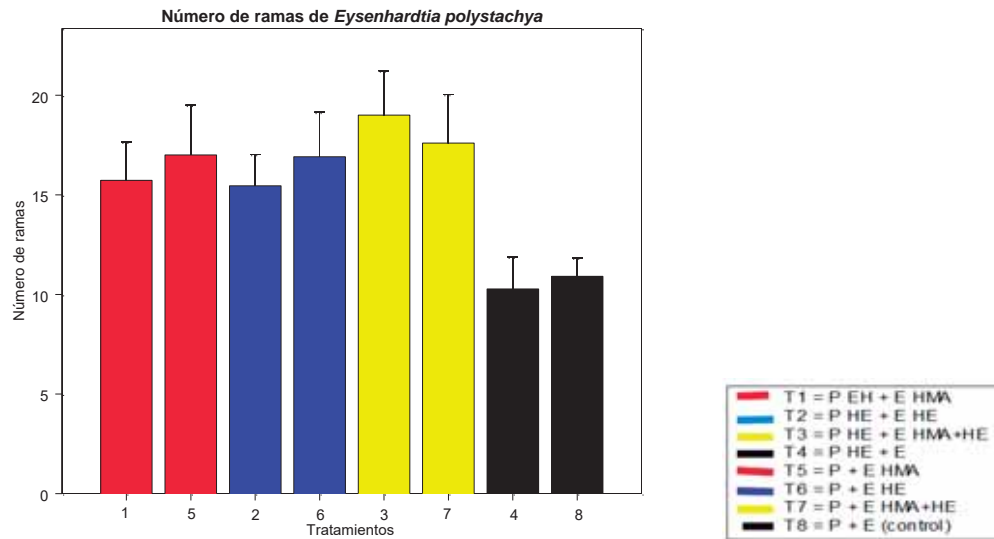


Figura 11. Número de ramas de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

Tabla 6. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos con respecto a sus tratamientos de inoculación.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Leguminosa	3	709.851	236.617	5.837	0.001
residuales	82	3323.882	40.535		

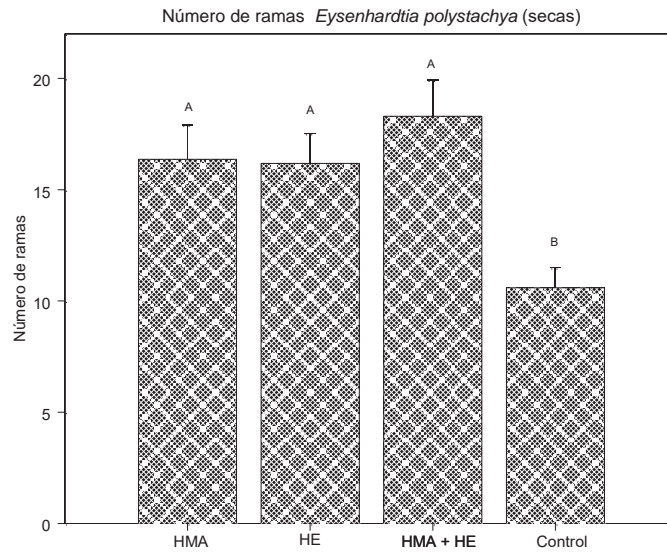


Figura 12. Número de ramas de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Hojas

Pinus pseudostrobus

Aun cuando no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos del tándem en *P. pseudostrobus*, se observa que el mayor aporte para incrementar las hojas se encuentra relacionado a los HMA por medio de la leguminosa (Figura 13).

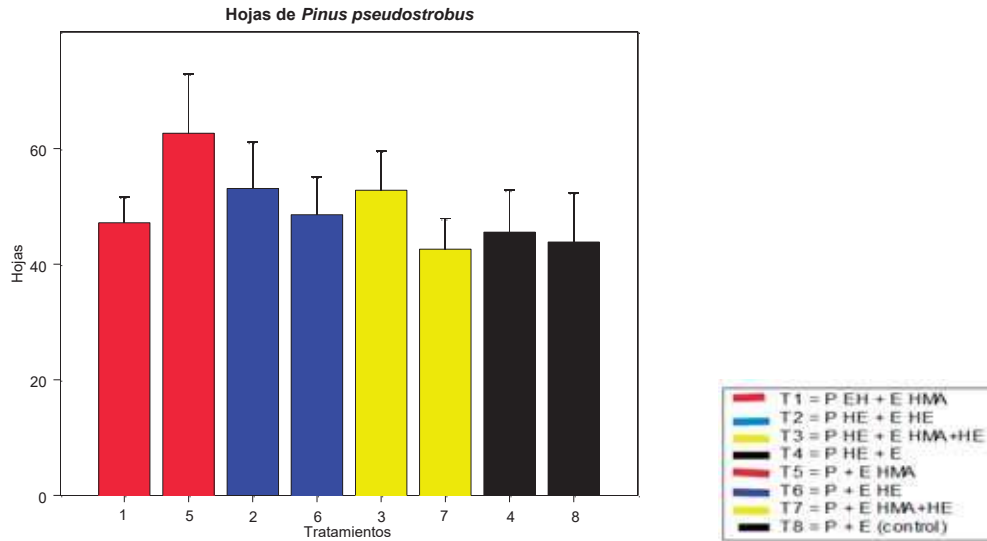


Figura 13. Número de hojas de *Pinus pseudostrabus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

Eysenhardtia polystachya

Para *Eysenhardtia polystachya*, en cuanto al número de hojas, se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tabla 7), la mayor cantidad de hojas corresponde a los tratamientos con presencia de HMA solos o en inoculación dual con HE, posteriormente el tratamiento con HE y finalmente, el tratamiento en ausencia de inoculación (Figura 14). Los HMA son los que están haciendo aportaciones importantes para la presencia en mayor cantidad de hojas para *E. polystachya* (Figura 15).

Tabla 7. Análisis de varianza aplicado al número de hojas de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
E HMA	1	111.06	111.06	11.73	0.0009
E HE	1	0.51	0.51	0.05	0.81
P HE	1	23.76	23.76	2.51	0.11
E HMA:E HE	1	35.37	35.37	3.73	0.05
E HMA:E HE	1	0.39	0.39	0.041	0.83
E HMA:P HE	1	4.28	4.28	0.45	0.50
E HE:P HE	1	7.60	7.60	0.80	0.37
E HMA:E HE:P HE	78	738.38	9.46		

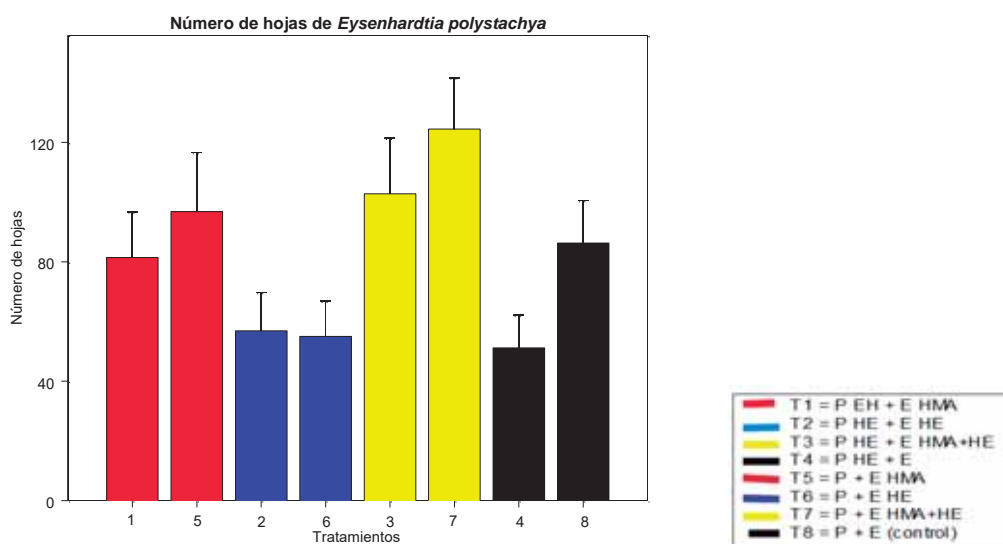


Figura 14. Número de hojas de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos del tándem. Las barras indican el error estándar.

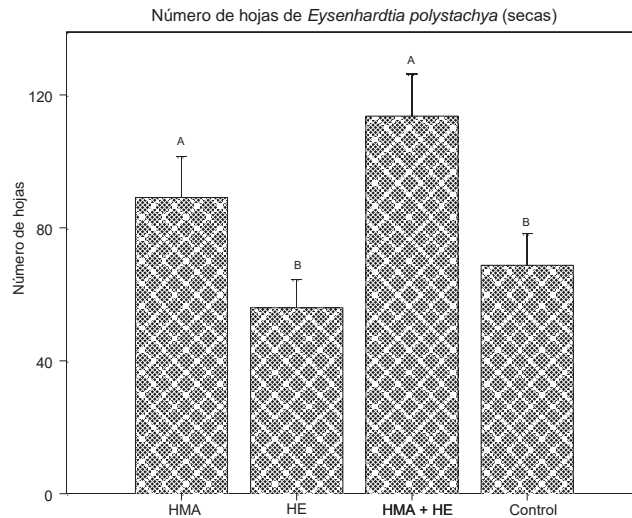


Figura 15. Número de hojas de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de inoculación de la leguminosa. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Los análisis de clorofila no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos de inoculación.

Biomasa

Pinus pseudostrobus

En lo que respecta a la biomasa de *Pinus pseudostrobus*, se presentaron diferencias estadísticamente significativas en las variables de peso seco tanto de la parte aérea como de la raíz, en el peso fresco radical y en el volumen de la raíz. Los resultados presentan valores mayores en los pinos que se encuentran asociados a la leguminosa con inoculación dual. En el caso de biomasa aérea en peso seco, con valores altos también para las plantas que están asociados a las plantas con la presencia de HMA, lo que indica, que *P. pseudostrobus* está recibiendo un aporte indirecto de *Glomus intraradices* por parte de *Eysenhardtia polystachya* (Tabla 8). En estas variables, resaltan claramente la importancia de la leguminosa en este

sistema. Aun cuando en longitud de la raíz, no existe diferencia significativa, el patrón se mantiene ya que se obtienen los valores mayores en las plantas con inoculación completa.

Tabla 8. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a las variables evaluadas posteriores a la cosecha de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos.

<i>Pinus pseudostrobus</i>							
Tratamiento	Peso fresco biomasa aérea (gr)	Peso seco biomasa aérea (gr)	Peso fresco biomasa radical (gr)	Peso seco biomasa radical (gr)	Longitud radical (cm)	Volumen radical (ml)	Densidad radical (gr/ml)
1. P _{HE} +E _{HMA}	107.8 ± 10.89	53.24 ± 6.23 (a)	55.06 ± 9.12 (b)	22.12 ± 3.64 (b)	108.6 ± 46.88	74 ± 14 (b)	0.31 ± 0.027
2. P _{HE} +E _{HE}	83.86 ± 15.64	43.7 ± 7.52 (b)	76.56 ± 26.69 (b)	18.7 ± 3.73 (b)	102.4 ± 24.77	102.0 ± 27.46 (ab)	0.207 ± 00.027
3. P _{HE} +E _{HMA+HE}	142.85 ± 5.49	81.2 ± 3.58 (a)	139.1 ± 6.09 (a)	52.43 ± 4.31 (a)	162.25 ± 26.22	202.5 ± 17.02 (a)	0.26 ± 0.014
4. P _{HE} +E	86 ± 17.74	45.9 ± 9.23 (a)	92.8 ± 12.46 (b)	29.3 ± 2.5 (b)	144.6 ± 45.69	152 ± 39.67 (ab)	0.23 ± 0.043
5. P+E _{HMA}	109.72 ± 17.47	58.08 ± 6.87 (a)	106.78 ± 24.48 (b)	28.95 ± 7.04 (ab)	136.5 ± 15.05	162.5 ± 37.5 (ab)	0.178 ± 0.013
6. P+E _{HE}	72.6 ± 13.94	37.2 ± 6.35 (b)	72.3 ± 22.89 (b)	23.98 ± 5.63 (b)	80.6 ± 9.59	94 ± 28.04 (ab)	0.28 ± 0.051
7. P+E _{HMA+HE}	90.72 ± 20.71	46.4 ± 9.82 (b)	93.2 ± 19.77 (b)	32.56 ± 6.78 (ab)	108.4 ± 14.19	128 ± 22.23 (ab)	0.25 ± 0.022
8. P+E	68.74 ± 15.93	42.78 ± 6.96 (b)	53.18 ± 5.09 (b)	20.86 ± 2.32 (b)	79 ± 15.65	84 ± 8.12 (ab)	0.25 ± 0.042
Valor de P	P = 0.06	P = 0.016	P = 0.048	P = 0.001	P = 0.43	P = 0.026	P = 0.31

Eysenhardtia polystachya

En la leguminosa se mantiene la misma tendencia que ocurre con las plantas en presencia de inoculación dual. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas en las variables de peso fresco y seco de la parte aérea, biomasa en peso seco radical, longitud y volumen de raíz. Las plantas con mayor longitud y volumen tienen la capacidad de explorar mayor cantidad de suelo, lo que tendría beneficios directos en la toma de nutrientes, por lo tanto en el desarrollo de la planta, esto a su vez realizaría un aporte de materia orgánica al suelo lo que también podría reflejarse en el desarrollo y establecimiento del pino (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a las variables evaluadas posteriores a la cosecha de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos.

<i>Eysenhardtia polystachya</i>							
Tratamiento	Peso fresco biomasa aérea (gr)	Peso seco biomasa aérea (gr)	Peso fresco biomasa radical (gr)	Peso seco biomasa radical (gr)	Longitud radical (cm)	Volumen radical (ml)	Densidad radical (gr/ml)
1. P _{HE} +E _{HMA}	109.86 ± 12.27 (ab)	65.2 ± 7.78 (ab)	155.34 ± 34.12	75.64 ± 13.3 (ab)	68.8 ± 5.093 (b)	190 ± 33.16 (ab)	0.405 ± 0.042
2. P _{HE} +E _{HE}	91.2 ± 21.17 (ab)	64.76 ± 1236 (ab)	148.66 ± 36.64	52.1 ± 13.05 (b)	60.8 ± 7.05 (b)	154 ± 37.63 (b)	0.46 ± 0.047
3. P _{HE} +E _{HMA+HE}	171.28 ± 7.93 (a)	113.33 ± 4.59 (a)	285.88 ± 28.42	115.68 ± 10.96 (a)	115 ± 6.14 (a)	255 ± 18.48 (ab)	0.46 ± 0.047
4. P _{HE} +E	76.38 ± 22.36 (b)	54.92 ± 13.67 (b)	179.66 ± 24.96	67.48 ± 9.02 (ab)	60 ± 3.48 (b)	188 ± 22.45 (ab)	0.36 ± 0.017
5. P+E _{HMA}	132.8 ± 27.53 (ab)	87.85 ± 12.57 (ab)	204.5 ± 53.96	81.73 ± 14.02 (ab)	99.75 ± 18.97 (ab)	218.75 ± 37.33 (ab)	0.37 ± 0.005
6. P+E _{HE}	114.7 ± 13.21 (ab)	81.84 ± 10.11 (ab)	217.32 ± 23.69	78.56 ± 6.22 (ab)	68.6 ± 8.81 (b)	280 ± 20 (a)	0.29 ± 0.031
7. P+E _{HMA+HE}	102 ± 24.19 (ab)	66.2 ± 14.97 (ab)	219.34 ± 37.84	98.26 ± 18.47 (ab)	64.4 ± 2.9 (b)	218 ± 11.14 (ab)	0.45 ± 0.08
8. P+E	64.1 ± 8.12 (b)	43.44 ± 5.67 (b)	161.2 ± 17.94	59.3 ± 8.25 (ab)	72 ± 8.1 (b)	190 ± 10 (ab)	0.32 ± 0.045
Valor de P	P = 0.014	P = 0.006	P = 0.125	P = 0.026	P = 0.0007	P = 0.035	P = 0.298

Concentración de fósforo en biomasa aérea de *Pinus pseudostrobus*

El análisis de fósforo por medio de fluorescencia de rayos X, muestra que en la biomasa aérea de *Pinus pseudostrobus*, es significativamente más abundante en las plantas que tienen el inóculo individual (P = 0.014). Los valores de los pinos asociados a la leguminosa con inoculación del HMA presentan valores ligeramente mayores a los que se encuentran con HE, estos dos diferentes a las concentraciones en los pinos con inoculación dual y el control (Figura 16 A y B). Esto podría sugerir que en los pinos asociados a las leguminosas con inoculación dual, el fósforo que están logrando extraer del sustrato, lo están aprovechando energéticamente para lograr un mayor desarrollo, ya que son las plantas que tienen mayor crecimiento en diferentes variables.

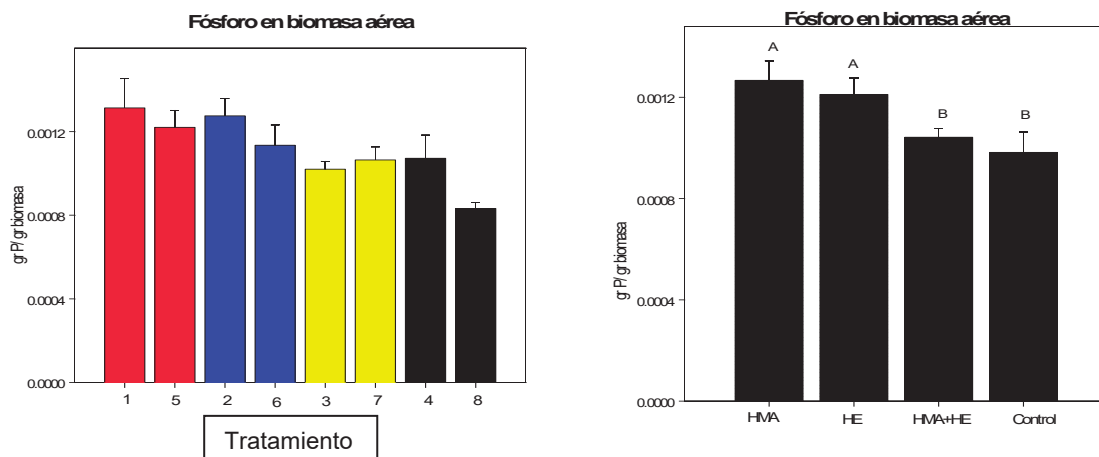


Figura 16. Concentración de fósforo en biomasa aérea de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos. A) Tratamientos del tándem. B) Tratamientos de inoculación de la leguminosa en el tándem. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Concentración de fósforo en biomasa radical de *Pinus pseudostrobus*

En biomasa radical se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de inoculación del tándem, claramente el mayor contenido de fósforo se presenta en los pinos asociados a la leguminosa con la presencia de HMA existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.04$). Los pinos control (ausencia total de inoculación) presentan la menor concentración de fósforo (Figura 17A). La presencia de *Eysenhardtia polystachya*, se hace indispensable en este sistema para contribuir con el restablecimiento del ciclo del fósforo (Figura 17B) ya que es la especie que realiza la asociación simbiótica con los HMA, que son los que están contribuyendo a solubilizar el fósforo e incorporarlo a la biomasa de la planta, lo que podría tener beneficios directos para contribuir a la restauración de sitios severamente degradados con problemas de erosión y baja fertilidad de fósforo.

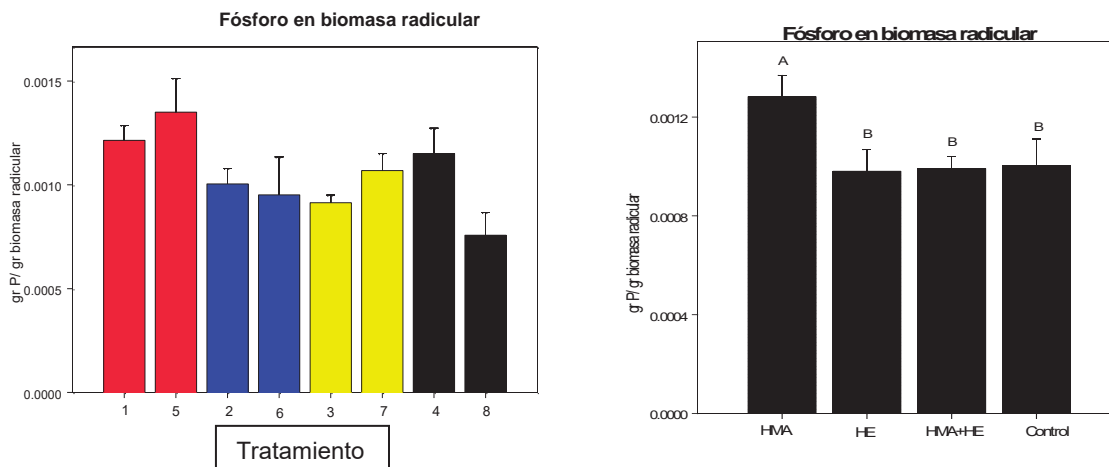


Figura 17. Concentración de fósforo en biomasa radical de *Pinus pseudostrobus* en el experimento de mesocosmos. A) Tratamientos del tándem. B) Tratamientos de inoculación de la leguminosa en el tándem. Las barras indican el error estándar, las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Agregados estables

Los resultados sobre los agregados del suelo resistentes al agua, muestran que se presenta una formación de macroagregados de 1 mm en los tratamientos asociados a los HE, existiendo diferencias estadísticamente significativas, ya que los tratamientos con mayor formación de macroagregados son los tratamientos donde la leguminosa presenta la inoculación con HE con el pino en presencia de inoculación. En los microagregados de 0.5 mm, existen diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos en presencia de HMA solos o en interacción con los HE. Los microagregados menores a 0.25 mm presentan valores mayores en los tratamientos en presencia de HMA solos o en inoculación dual con HE, en el tratamiento 6 solo con HE no es diferente. En general el patrón que se muestra es que la presencia de HE promueve la formación de macroagregados y la presencia de HMA promueve la formación de microagregados en el tándem *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya* (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de Varianza (ANOVA) aplicado a los agregados del experimento de mesocosmos.

Tratamiento	Macroagregados		Microagregados			Material no consolidado
	2 mm (2000 mics)	1mm (1000 mics)	0.5 mm (500 mics)	0.25 mm (250 mics)	0.125 mm (125 mics)	<0.125 mm (<125 mics)
1. P _{HE} +E _{HMA}	3.82 ± 0.49	5.15 ± 0.82 (c)	21.28 ± 0.43 (a)	11.25 ± 1.86 (abc)	1.33 ± 0.43	7.17 ± 2.46 (b)
2. P _{HE} +E _{HE}	5.8 ± 2.37	21.7 ± 5.38 (a)	11.73 ± 0.98 (b)	4.93 ± 1.74 (cd)	0.7 ± 0.21	6.13 ± 3.49 (b)
3. P _{HE} +E _{HMA} +E _{HE}	6.23 ± 0.74	9.28 ± 2 (bc)	14.1 ± 1.44 (b)	13.45 ± 2.07 (a)	2.15 ± 0.44	4.8 ± 2.02 (b)
4. P _{HE} +E	3.81 ± 0.42	16.46 ± 1.78 (ab)	13.24 ± 1.07 (b)	5.18 ± 0.89 (d)	2.44 ± 0.63	8.86 ± 0.46 (b)
5. P+E _{HMA}	3.16 ± 0.6	6.78 ± 1.51 (c)	19.42 ± 1.09 (a)	12.42 ± 0.81 (ab)	2.04 ± 0.64	6.18 ± 2.27 (b)
6. P+E _{HE}	5.36 ± 0.61	9.24 ± 1.74 (bc)	13.60 ± 1.1 (b)	8.94 ± 1.23 (abcd)	2.54 ± 0.4	10.32 ± 1.51 (b)
7. P+E _{HMA} +E _{HE}	3.24 ± 0.38	8.5 ± 0.94 (bc)	21.64 ± 0.61 (a)	7.24 ± 0.48 (bcd)	2.06 ± 0.19	7.32 ± 1.42 (b)
8. P+E	4.22 ± 0.71	6.1 ± 0.82 (c)	12.64 ± 0.37 (b)	5.68 ± 1.8 (cd)	2.34 ± 0.31	18.94 ± 0.84 (a)
Sustrato (valor de referencia)	0.73 ± 0.68	1.967 ± 0.37	9.57 ± 0.88	3.4 ± 0.21	1.53 ± 0.28	32.8 ± 1.09
Valor de P	P = 0.062	P < 0.0001	P < 0.0001	P < 0.0001	P = 0.21	P = 0.0001

Fertilización en mesocosmos

Los resultados indican que cuando se adiciona fertilización en forma de fosfato de potasio al tándem se presentan diferencias estadísticamente significativas entre las plantas que fueron fertilizadas, a diferencia de las que no se fertilizaron (Tabla 11). Adicionalmente, la fertilización inhibió la cobertura de *P. pseudostrobis* (Figura 18).

Tabla 11. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Pinus pseudostrobis* fertilizados con fósforo.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Trat	1	0.0001	0.0001	0.21	0.65
Fert	1	0.0165	0.016	32.33	0.0000001
Trat:Fert	1	0.001	0.0014	2.82	0.095
Residuales	147	0.075	0.0005		

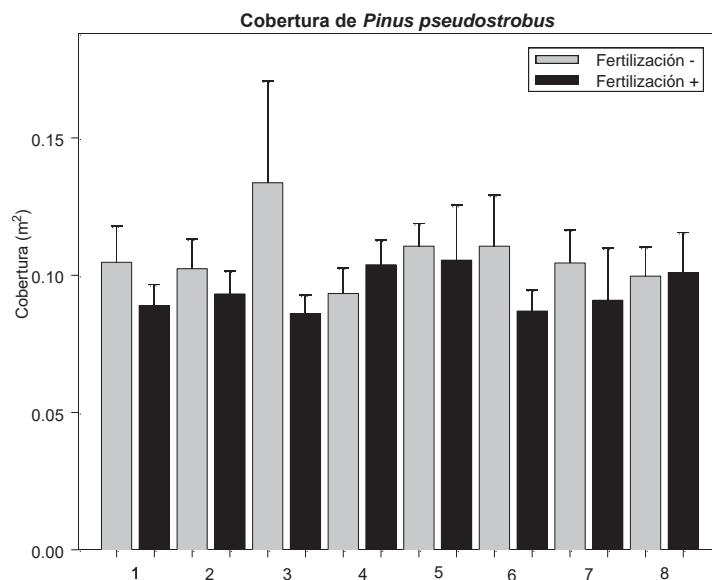


Figura 18. Cobertura de *Pinus pseudostrabus* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.

Para la variable cobertura de la leguminosa en el experimento de mesocosmos en presencia/ausencia de fertilización, se presenta diferencias estadísticamente significativas (Tabla 12), aunque para algunos tratamientos no representa diferencia, pero para otros si existe incremento como en los tratamientos 1, 5 y 7 que es donde las plantas se encuentran inoculadas con HMA (Figura 19).

Tabla 12. Análisis de varianza aplicado a la cobertura de *Eysenhardtia polystachya* fertilizadas con fósforo.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor F	P
Trat	1	0.07	0.07	0.64	0.42
Fert	1	0.46	0.46	4.29	0.039
Trat:Fert	1	0.08	0.087	0.80	0.37
Residuals	148	15.99	0.10		

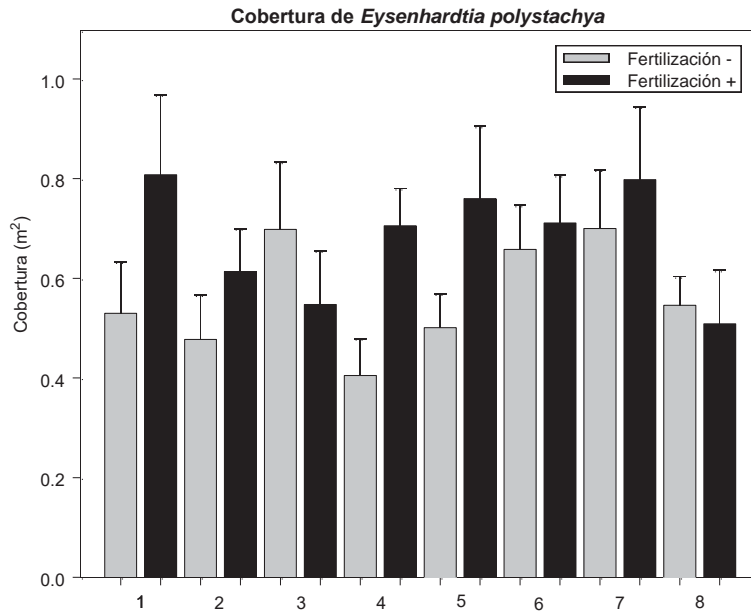


Figura 19. Cobertura de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.

Para el número de hojas en la leguminosa, se presentan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos por las plantas fertilizadas con fósforo (Tabla 13). Las plantas fertilizadas presentan un incremento en el número de hojas cuando están fertilizadas en todas las variables (Figura 20).

Tabla 13. Análisis de varianza aplicado al número de hojas de *Eysehardtia polystachya* del experimento de mesocosmos (junio y diciembre 2010) fertilizado con fósforo.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Trat	1	3108	3107.6	0.33	0.56
Fert	1	738217	738217.1	79.59	0.000001
Trat:Fert	1	2464	2464.3	0.26	0.607
Residuales	146	1354157	9275.0		

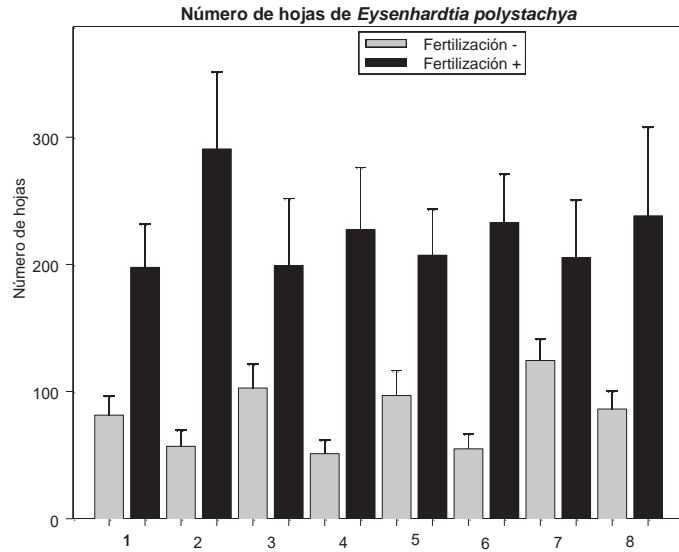


Figura 20. Número de hojas de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos (diciembre 2010) con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.

Además se realizó un análisis para determinar si existe diferencia de la biomasa en peso seco de las semillas de *Eysenhardtia polystachya*, entre las plantas con presencia/ausencia de fertilización (Figura 21), se obtienen diferencias estadísticamente significativas (Tabla 14), cuando las plantas están fertilizadas presentan una mayor producción de semillas.

Tabla 14. Análisis de varianza aplicado a la biomasa de semillas de *Eysenhardtia polystachya* del experimento de mesocosmos fertilizado con fósforo.

	g.l.	S.C.	C.M.	Valor de F	P
Trat	1	3.472	3.47	0.12	0.72
Fert	1	807.91	807.90	27.99	0.00005
Trat:Fert	1	13.074	13.07	0.45	0.50
Residuales	138	3981.89	28.85		

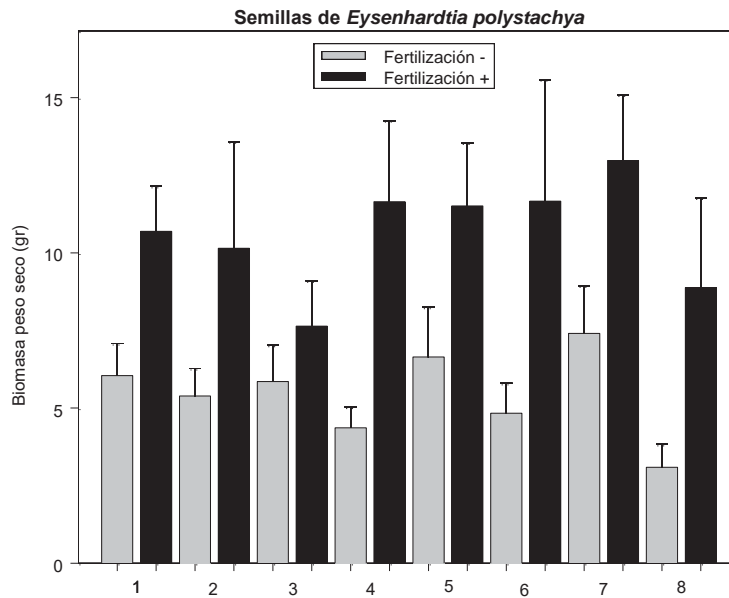


Figura 21. Semilla (gr) de *Eysenhardtia polystachya* en el experimento de mesocosmos con respecto a los tratamientos de fertilización con fósforo.

DISCUSIÓN

El fósforo que se encuentra disponible para ser absorbido es el que se encuentra muy cerca de las raíces, dentro de los límites de la rizósfera, y a los fines de proceso de absorción se encuentra fuera de la zona de interacción con factores propios de la masa circundante de suelo, los cuales afectan la dinámica de suministro del fósforo y no los mecanismos de absorción y de acceso al fósforo por las raíces de las plantas (Junk *et al.*, 1993). Sin embargo, en condiciones donde este elemento es una limitante, se requiere de interacciones bióticas que puedan mejorar estas condiciones. Se sabe que es un elemento no móvil, por lo que hace más difícil la incorporación a las plantas cuando este se encuentra extremadamente limitado.

La movilización del fósforo dentro de la planta, desde las raíces hacia la parte aérea, se ocasiona en parte por la presión del crecimiento. Esto también incide sobre el crecimiento diferencial de raíces y el tallo, al no producirse un flujo de asimilados adecuados desde el tallo hacia las raíces, se origina una descompensación debido a deficiencia de fósforo en la planta

por lo que se reduce el crecimiento, y en la medida en que una especie tenga mayor capacidad de acceder al fósforo (solubilizado en forma de P_i), la deficiencia interna del fósforo será menor y el crecimiento mayor. La absorción de fósforo por las raíces se explica mejor tomando como referencia la longitud total y no el peso seco de las raíces, que es una variable explicativa débil del proceso de absorción de nutrientes por las raíces, cuando la deficiencia interna del fósforo en la planta produce una disminución en la longitud de las raíces, se podría observar un aumento en la eficiencia de absorción (Asencio y Lazo 2001). Nuestros resultados coinciden con este estudio, ya que los tratamientos con inoculación individual, presentan valores menores de longitud de raíz aun cuando las diferencias no son significativas, pero en el análisis de fósforo, se detectaron los valores mayores significativamente a diferencia de los tratamientos con inoculación dual que presenta menor concentración de fósforo en raíz, específicamente en el tratamiento con la inoculación con HMA. En el caso de la concentración de fósforo en la biomasa aérea, también con HE.

Cuando la planta detecta carencia de fósforo en el suelo al no subir suficiente por el tallo, se incrementa el transporte de azúcar hacia la raíz, lo cual es una señal para la producción de ácidos que solubilizan el fósforo. Se incrementa el número de transportadores de fósforo. Esto hace que se detenga la producción de citoquininas. Como consecuencia, las auxinas aumentan en la raíz (lo cual incrementa la producción de raíces laterales) al igual que el etileno (que promueve la formación de pelos absorbentes). Como resultado de todo esto, la raíz aumenta considerablemente a costa de una disminución del crecimiento del tallo (Hammond y White, 2008). Esto podría ser más evidente en condiciones de campo, donde además existe una combinación de estrategias, ya que los primeros años durante el establecimiento, algunas plantas además tienden a desarrollar un sistema de anclaje y destinar menor cantidad de recurso al desarrollo aéreo y si a esto sumamos la deficiencia de fósforo, el efecto se puede ver potencializado.

Las interacciones bióticas, pueden ser una estrategia para amortiguar cambios drásticos tanto de factores bióticos como abióticos. Se ha reportado que los hongos micorrízicos promueven la resistencia a deficiencias hídricas en la planta hospedera, lo cual es consecuencia de diferentes mecanismos, que van desde una respuesta física hasta una respuesta a nivel bioquímico (Augé, 2001). Por otro lado, cuando se incrementa la biomasa en

las plantas inoculadas, es principalmente debido a la acumulación de fósforo. Farahani *et al.*, (2008), documentaron que los HMA son capaces de incrementar la biomasa de plantas de *Coriandrum sativum* sometidos a estrés hídrico y estos incrementos fueron atribuidos a un aumento en la adquisición del fósforo por parte de los HMA. Varios mecanismos han sido sugeridos a través de los cuales, las plantas micorrizadas pueden incrementar su crecimiento y la adquisición de nutrientes (Miyasaka y Habte, 2001). Esto coincide con nuestros resultados, ya que las plantas en presencia de hongos micorrízicos presentan valores significativamente mayores que las plantas en ausencia de inoculación.

Otro estudio que confirma esta tendencia, es el reportado con plantas de *Alnus* colonizadas con *Glomus intraradices* y observaron que la colonización micorrízica además de incrementar la biomasa de las plantas, incrementa la absorción y utilización del fósforo. En plantas de trigo (*Triticum aestivum*) la micorriza incrementa la concentración de fósforo (Zhu y Smith, 2001).

Por otro lado, microorganismos del suelo como los HMA y HE están involucrados en los procesos de agregación (Six *et al.*, 2004), que es de vital importancia para la estructura del suelo, esta es una propiedad física fundamental de los ecosistemas terrestres (Simard *et al.*, 2003), lo cual involucra partículas orgánicas e inorgánicas en un arreglo gerárquico (Tisdall y Oades, 1982). Los agregados estables al agua pueden mejorar la retención del agua, el intercambio de gases y la fertilidad del suelo, además son componentes esenciales para prevenir la erosión (Oades y Waters, 1991). La materia orgánica es incorporada al suelo y tiene efectos directos en la formación y estabilidad de agregados. Los carbohidratos principalmente están formando los microagregados (Spaccini *et al.*, 2002) y componentes orgánicos menos humificados están formando los macroagregados (Denef *et al.*, 2001).

En este sentido, los HMA están involucrados también en la conservación de suelos al mejorar la estructura, sin embargo, el efecto de los hongos ectomicorrízicos solos o interacción con los HMA ha sido mucho menos estudiado. Nuestros resultados coinciden con los reportados por Ambriz *et al.*, (2010) en un estudio donde trabajó con *Fraxinus uhdei* inoculado con el HMA *Glomus intraradices* y el HE *Pisolithus tinctorius* y encontraron que estos hongos micorrízicos incrementan la cantidad de agregados estables al agua. Los HMA

están involucrados principalmente en la formación de agregados de menor tamaño y los HE solos o en interacción con los HE está involucrados principalmente en la formación de agregados mayores a 0.5 mm de diámetro. En el presente estudio se encontró que los HMA se encuentran asociados a la formación de microagregados (menores a 1mm de diámetro) y los HE se encuentran asociados a los macroagregados (mayores a 1mm de diámetro).

Por otro lado, se sabe que las plantas requieren fósforo desde las etapas más tempranas del crecimiento. Sin embargo, la fertilización puede ser una alternativa para mejorar las condiciones de nutrición de las plantas. Sin embargo, otra alternativa mejor es la utilización de los HMA y el efecto puede ser mayor en suelos pobres en fósforo, debido a que un excedente en el suministro, puede restringir el desarrollo de micorrizas (Grant, 2004). En este estudio, la fertilización no tuvo mayor efecto en el pino, incluso se inhibió la cobertura. Presentó incrementos en la leguminosa en cobertura, número de hojas y cantidad de semillas, por los que en estas condiciones, se considera mejor opción la inoculación con hongos micorrízicos.

La combinación de estrategias ecofisiológicas con la eficiencia de absorción y utilización de fósforo podría ampliar las posibilidades de restaurar sitios con deficiencia de fósforo, donde este elemento es una barrera para la restauración de sitios severamente degradados como lo menciona Asencio y Lazo (2001). Al ser los HMA los que contribuyen en mayor medida a incorporar el fósforo del suelo a su biomasa de la planta, se hace muy importante la presencia de la leguminosa *Eysenhardtia polystachya* en el tándem para llevar a cabo este mecanismo, ya que esta especie es la que hace la asociación simbiótica con *Glomus intraradices* y *Pinus pseudostrobus* recibe el aporte indirecto de este hongo por medio de la leguminosa.

CONCLUSIONES

Los resultados del experimento con las plantas en tándem *Pinus pseudostrobus*-*Eysenhardtia polystachya*, muestra que hay un aporte de los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* solos o en interacción en el desempeño de las variables evaluadas en el experimento en condiciones de mesocosmos.

En el experimento de mesocosmos, que es una escala intermedia, ya que la cantidad de sustrato que tienen disponible es mayor y por lo tanto la duración del experimento también puede serlo, la exposición a la insolación es la misma que en campo, también están expuestos a cambios bruscos de temperatura, y a la lluvia. Cuando se presentan fuertes lluvias, las plantas están totalmente expuestas a sufrir daños, por otro lado, en temporada de sequía, las plantas son regadas de manera continua. En este sentido, es posible entender la dinámica del sistema de manera realista.

Se presenta mayor desempeño en las plantas que cuentan la inoculación dual, los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* (tratamiento 3), en la mayoría de las variables se observa esta tendencia. En otras variables la presencia de HMA se hace determinante; aquí radica la principal importancia de la presencia de *Eysenhardtia polystachya* en tándem con el pino, ya que el pino, no realiza asociación simbiótica con estos hongos, sin embargo, está recibiendo el aporte por parte de la leguminosa que es la que establece la relación simbiótica con *Glomus intraradices*.

Esto se explica en parte por las bajas condiciones de fertilidad del sustrato en el cual las plantas se encuentran creciendo. La asociación con hongos micorrízicos incrementa la posibilidad de establecimiento. La mayor producción de biomasa de las plantas, representa un aporte importante de materia orgánica al suelo. La reactivación de los ciclos biogeoquímicos podría estar en mejores posibilidades.

La fertilización con fosfato de potasio inhibe la cobertura de *P. pseudostrobus* y promueve la de *E. polystachya*, así como las hojas y frutos.

El patrón que se muestra es que la presencia de HE promueve la formación de macroagregados y la presencia de HMA promueve la formación de microagregados en el tándem *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya*.

La mayor concentración de fósforo se presenta en los pinos asociados a la leguminosa con la presencia de HMA. Los pinos control presentan la menor concentración de fósforo. La presencia de *Eysenhardtia polystachya*, se hace indispensable en este sistema para contribuir con el restablecimiento del ciclo del fósforo ya que es la especie que realiza la asociación

simbiótica con los HMA, que son los que están contribuyendo a solubilizar el fósforo e incorporarlo a la biomasa de la planta, lo que podría tener beneficios directos para contribuir a la restauración de sitios severamente degradados con problemas de erosión y baja fertilidad de fósforo.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, J. F. 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. Las prensas de ciencias. 360 p.
- Ambríz, E., A. L. Báez-Pérez, J. M. Sánchez-Yáñez, P. Moutoglis y J. Villegas. 2010. Fraxinus-Glomus-Pisolithus symbiosis: Plant growth and soil aggregation effects. *Pedobiologia*. 53: 369-373.
- Ambríz, J. E. 2007. Efecto de la interacción de hongos micorrízicos en el crecimiento de la planta y formación de agregados del suelo. Tesis doctoral. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Mich. México. 103 pp.
- Ascencio, J. y J. V. Lazo. 2001. Crecimiento y eficiencia de fósforo de algunas leguminosas cultivadas en arena regada con soluciones nutritivas con fosfatos inorgánicos de hierro y calcio. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 18: 13-32.
- Augé, R. M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11:3-24.
- Bradshaw, A. 2000. The use of natural processes in reclamation advantages and difficulties. *Landscape and Urban Planning* 51:89-100.
- CONAFOR (Comisión nacional forestal). 2006. *Pinus pseudostrabus* http://www.conafor.gob.mx/programas_nacionales_forestales/pronare/Fichas%20Técnicas/Pinus%20pseudostrabus.pdf.
- Cruz de León, J. 1991. Untersuchung des technologischen Gebrauchswertes der mexikanischen Kiefernart *Pinus pseudostrabus* Lindley. *Göttinger Beiträge Zur Land-und Forstwirtschaft in den Tropen und Subtropen*, 66-185.

- Denef, K., J. Six, H. Bossuyt, S. D. Frey, E. T. Elliot, R. Merckx, y K. Paustian. 2001. Influence of dry-wet cycles on the interrelationship between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1599–1611.
- Farahani, H. A. M.H. Labaschi y A. Hamidi. 2008. Effects of arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phosphorus and Water Stress on Quantity and Quality Characteristics of Coriander. *Advances in Natural and Applied Science.* 2:55-59.
- García-Oliva, F. 2005. Algunas bases del enfoque ecosistémico para la restauración. En Sánchez, O, E. Peters, R. Márquez-Huitzil, E. Vega, G. Portales, M. Valdés y D. Azuara (eds). *Temas sobre restauración ecológica.* Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto de Ecología, U.S. Fish and Wildlife Service, Unidos para la conservación A. C. México. pp. 101-111.
- García-Oliva, F., R. L. Sanford Jr. y E. Kelly. 1999. Effects of Slash-and-burn Management on Soil Aggregate Organic C and N in a tropical Deciduous Forest. *Geoderma* 88:1-12.
- García-Rodríguez, J. L., J. Pérez-Moreno, A. Aldrete, V. M. Cetina-Alcalá, y H. Vaquera-Huerta. 2009. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia.* 40: 665-676.
- Grant, C., S. Bittman, M. Montreal, C. Plenchette y C. Morel. 2004. Soil and fertilizer phosphorus: Effects on plant P supply and mycorrhizal development. *Agriculture and Agri.Food.* pp.1-12.
- Hammond, J. P. y P. J. White. 2008. Transport of Plant Growth Regulators Special Issue *Journal of Experimental Botany.* 59: 93-109.
- Haselwandter, K. 1997. Soil micro-organisms, mycorrhiza and restoration ecology. En: K.M. Urbanska, N.R. Webb, y P. J. Edwards (Eds.). *Restoration ecology and sustainable development.* Reino Unido. Cambridge University Press. p: 65-80.
- Helgason T., T. J. Daniell, R. Husband, A. H. Fitter y J. P. W. Young. 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394:431–431. doi: 10.1038/28764.

- Jama, B., C. A. Palm, R. J. Buresh, A. Niang, C. Gachengo, G. Nziguheba y B. Amadalo. 2001. *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya: A review. *Agroforestry Systems* 49: 201–221.
- Junk, A., B. Seeling y J. Gerke. 1993. Mobilization of different phosphate fractions in the rhizosphere. p. 95-98. En: N.J. Barrow (Ed.) *Plant nutrition-from genetic engineering to field practice*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Lichtenthaler, H. K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. In: Packer, L. Douce, R. (Eds.), *Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes*, Vol. 148. Academic Press, San Diego, California, pp. 350-382.
- Miller R. M. y J. D. Jastrow 1992. The role of Mycorrhizal fungi in soil conservation. En: Bethlenfalvai GJ, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. 124 pp.
- Miyasaka, S. C. y M. Habte. 2001. Plant Mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Commun Soil. Sci. Plant Anal.* 32: 1101-1147.
- Nebel, B. J. y R. T. Wright. 1999. *Ciencias Ambientales*. 6^o edición. Editorial Pearson. Educación Prentice Hill. México. 148 pp.
- Oades, J.M. y A. G. Waters. 1991. Aggregated hierarchy in soils. *Aust. J. Soil Res.* 29, 815–828.
- Oehl, F., E. Sieverding, P. Mader, D. Dubois, K. Ineichen, T. Boller y A. Wiemken 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *ecologia* 138:574–583. doi:10.1007/s00442-003-1458-2.
- Price, T. D., N. E. Zimmermann, P. Van Der, M. J. Lexermeer, P. Leadley, I. T. Jorristma, J. Schaber, D. F. Clark, P. Lasch, S. McNulty, J. Wu, y B. Smith. 2001. Regeneration in gap models: Priority issues for studying forest responses to climate change. *Climatic Change*. 3-4(51): 475-508.
- Reid, C. P. 1984. Mycorrhizae: a root-soil interface in plant nutrition. En: Todd RL, Giddens JE (eds) *Microbial-Plant interactions*. ASA special Publication Number 47, Soil Science Society of America. Madison. 68 pp.

- Simard, S. W., M. D., Jones, D. M. Durall, G. D. Hope, R. J. Stathers, N. S. Sorensen y B. J. Zimonick. 2003. Chemical and mechanical site preparation: effects on *Pinus contorta* growth, physiology and microsite quality on grassy, steps forest sites in British Columbia. *Can. J. For. Res.* 33, 1495-1515.
- Sivakumar, M.V.K. 2007. Interactions between climate and desertification. *Agricultural and Forest Meteorology.* 142:143-155.
- Six, J., H. Bossuyt, S. Degryze y K. Denef. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & Tillage Research.* 79:7-31.
- Six, J., K. Paustian, E. T. Elliott y C. Combrink. 2000. Soil structure and organic matter: I. Distribution of aggregate-size classes and aggregate-associated carbon. *Soil science society of American journal.* 64:681-689.
- Spaccini, R., A. Piccolo, J. S. C. Mbagwu, A. Z. Teshale y C. A. Igwe. 2002. Influence of the addition of organic residues on carbohydrate content and structural stability of some highland soils in Ethiopia. *Soil Use Manage.* 18, 404-411.
- Tisdall, J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil.* 159:115-121.
- Tisdall, J. M y J. M. Oades. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33: 141-163.
- Zhu, Y. G. y S. E. Smith. 2001. Seed phosphorus (P) content affects growth, and P uptake of wheat plants and their association with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Plant Soil.* 231:105-112.

Capítulo IV.

Aporte de hongos ectomicorrízicos y fertilización en el establecimiento de *Pinus pseudostrobus* en sitios degradados

Resumen

En un área con una larga historia de degradación ambiental, que en consecuencia presenta suelos severamente erosionados y con graves problemas de fertilidad (deficiencia de fósforo), se estableció un experimento en un sitio desprovistos de vegetación y con numerosas cárcavas plantando *Pinus pseudostrobus* Lindl. en el cual se probó el efecto de la adición de fósforo en forma de KH_2PO_4 durante dos años, la inoculación con el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch., y la combinación de ambos factores. Los resultados mostraron que el desempeño de los árboles con presencia de inoculación y/o fertilización es significativamente mayor para la altura, el diámetro y longitud de las ramas con hojas. Las variables de cobertura y número de ramas presentan un patrón similar a las variables ya mencionadas. Las plantas inoculadas y fertilizadas presentan un 88% de supervivencia, las plantas inoculadas presentan 85% de supervivencia, las plantas que únicamente fueron fertilizadas un 75% y las plantas control un 62%. Es un 23 % de diferencia en la supervivencia entre las plantas que fueron inoculadas con *P. tinctorius*. Lo que sugiere que se necesita de un agente biológico que pueda ayudar a solubilizar el fósforo y éste pueda ser incorporado a los pinos.

Palabras clave fósforo, acrisol, supervivencia, plantación, restauración ecológica.

Contribution of ectomycorrhizal fungi and fertilization in the establishment of *Pinus pseudostrabus* in degraded sites

Summary

In an area with a long history of environmental degradation, that as a consequence has severely eroded soils with serious fertility problems (phosphorus deficiency). An experiment was set up in a site that lacks vegetation cover and has numerous gullies, planting *Pinus pseudostrabus* Lindl., to test the effect of adding phosphorus as KH_2PO_4 for two years, inoculation with the ectomycorrhizal fungi *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch. And both factors together. Results show that performance of the inoculated and/or fertilized trees was significantly higher for height, diameter and the length of the branches covered with leaves. Cover and number of branches had a similar trend. Plants that were inoculated and fertilized had 88% survival, inoculated plants 85%, fertilized plants 75%, and control plants 62%. The difference in survival between with *P. tinctorius* inoculated plants and control plants was 23%. These results suggest that a biological agent that can facilitate phosphorus solubilization is needed in order for this element to be incorporated into the pines.

Key words: phosphorus, acrisol, survival, plantation, ecological restoration.

Introducción

La degradación del suelo es un problema grave a nivel global y cada día se va intensificando a medida que se incrementa el aclareo de los bosques (Sivakumar 2007). Las consecuencias de esta degradación ambiental son suelos improductivos, entre otras cosas, por la pérdida de los agregados (Six *et al.* 2000). A escala del paisaje, la deforestación da paso a la desertización, que acelera los procesos de erosión de los suelos por viento y agua (Serrano 2002). En sitios con suelos expuestos, el proceso erosivo continúa debido al manejo inadecuado, muchas veces el sobrepastoreo, o a la aplicación de medidas de reforestación

inadecuadas (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros 2004), a tal grado que el daño a las condiciones edáficas se hace irreversible (Betancourt-Yáñez 2000). Lo anterior constituyen un problema ambiental, social y económico (Acevedo- Sandoval *et al.* 2003).

La erosión recurrente de la capa superficial del suelo y la erosión en cárcavas como consecuencia de la deforestación y técnicas de cultivo inadecuadas han sido identificadas en más del 65% de la superficie de los suelos (Covaleda 2008) por lo que las consecuencias de la degradación acelerada ha dado como resultado suelos sin capacidad de mantener la vida vegetal. Un ejemplo claro de esta problemática se presenta en los suelos Acrisoles, según la FAO-ISRIC (2006) estos suelos han sido clasificados como suelos evolucionados, que se han desarrollado principalmente sobre rocas muy ácidas o arcillas muy meteorizadas, que sufren posterior degradación (principalmente acidificación). Se caracterizan por presentar un contenido mayor de arcillas en los horizontes más profundos (en relación al horizonte superficial) como resultado de procesos pedogenéticos (especialmente la destrucción superficial y/o la migración de arcillas) que provocan la aparición de un horizonte árgico subsuperficial (Corona-Mora 2010). En estas condiciones, la fertilidad es muy baja y limita el establecimiento de las plantas. La disponibilidad de fósforo es relativamente más importante para el establecimiento inicial en sitios de baja fertilidad (Oliet *et al.* 2005), es uno de los elementos más críticos en el suelo, debido a que este elemento se mueve por difusión, sólo se desplaza por escasos milímetros, todo esto se debe a su intensa interacción con la matriz del suelo (Rubio 2002). La presencia de fertilizantes podría incrementar la concentración de fosforo en el suelo, sin embargo, agentes biológicos como los hongos micorrízicos podría contribuir a incrementar la movilidad de este elemento.

La adición de nutrientes ha sido también una estrategia común en rehabilitación y restauración ecológica (Quoreshi y Timmer 2000, Oliet *et al.* 2005). Sin embargo, la aplicación de algunos métodos específicos de mejoramiento del suelo puede favorecer otro tipo de procesos de degradación. Por ejemplo, fertilizar con nitrógeno puede incrementar la acidez del suelo, favoreciendo así la reducción del fósforo disponible, de modo que es importante entender la química del suelo como un componente del ecosistema antes de aplicar métodos de restauración (García-Oliva 2005). En estudios anteriores se ha demostrado que la adición de fósforo, si se realiza durante largos periodos de tiempo, puede ser una estrategia útil

para la restauración (Will *et al.* 2006) al mejorar el desempeño de las plantas (Mc Grath *et al.*, 2001), aunque puede ser costosa.

Por otro lado, se ha reportado que cuando las plantas se encuentran micorrizadas, el micelio se encuentra extensamente distribuido por el suelo y contribuyen al reciclaje y absorción de nutrimentos en los ecosistemas forestales (Pérez-Moreno y Read 2000, Pérez-Moreno y Read 2004). Este micelio funciona como un sistema radical complementario, fundamental también para la absorción de agua por la planta, ya que explora microhábitats del suelo inaccesible para las raíces (Agerer 2001). Las raíces de plantas con presencia de los hongos ectomicorrízicos, se caracterizan por la presencia de un manto de hifas que cubren las puntas de las raíces más finas y una red de hifas entre las células epidérmicas o células corticales conocida como red de Hartig. La presencia del hongo ectomicorrízico en las raíces modifica su morfología, promueven su bifurcación, ramificación, ensanchamiento y aumenta con ello su superficie de absorción (Smith y Read 2000). Por la presencia de hifas, es posible explorar un mayor volumen de suelo. Algunas especies pueden formar cordones miceliales o rizomorfos, los cuales tienen una mayor capacidad exploratoria y pueden tolerar condiciones adversas más fácilmente, tal es el caso de *Pisolithus tinctorius*, el cual se ha reportado como una especie capaz de persistir bajo condiciones adversas y superviven en suelos empobrecidos o terrenos perturbados (García-Rodríguez *et al.* 2009). Por otro lado, se ha reportado que microorganismos del suelo como hongos ectomicorrízicos, también están involucrados en el proceso de agregación del suelo (Tisdall 1994, Six *et al.* 2004, Rilling 2005, Rilling y Mummey 2006), *Pisolithus tinctorius* incrementa la formación de macroagregados estables al agua (Ambríz *et al.* 2010).

Este fenómeno de degradación del suelo se presenta gravemente en la microcuenca de Atécuaro, Michoacán, estado que se encuentra al occidente de México. Esta es una zona de accidentada topografía, que aunado a sus características morfométricas, favorecen la erosión hídrica manifestándose en cárcavas que están ganando terreno a las áreas agrícolas. El sitio conocido como Huertitas en el Ejido Atécuaro (19° 33' 05'' y 19° 37' 08'' N y 101°05'07''O y altitud de 2275 m) es un sitio que en su mayoría se encuentra desprovisto de vegetación, donde existen numerosas cárcavas y se encuentra severamente erosionado, dominado por acrisoles (acrisol ócrico). Los análisis de suelo, reportan el contenido de fósforo en trazas, lo

cual no está disponible para las plantas. La zona presenta un clima subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media anual de 13.8°C y precipitación media anual de 1000 mm (Warner *et al.* 2007). Sitio con estas características, requieren de la implementación de estrategias adecuadas que puedan contribuir con la restauración de condiciones severas de erosión con el establecimiento de *Pinus pseudostrobus*, aun cuando es poco resistente al estrés por sequía, cuando logra su establecimiento, presenta elevadas tasas de crecimiento (López-Upton 2002) y es la especie más deseada por las comunidades locales.

En el presente trabajo se planteó evaluar el efecto del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* y la fertilización con fosfato de potasio (KH₂PO₄) en el desempeño y supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de campo para su establecimiento y contribución a la restauración de sitios severamente degradados con altos niveles de erosión y con presencia de numerosas cárcavas.

Métodos

Se estableció un experimento con fines de restauración con *Pinus pseudostrobus* (2009-2012). Las semillas procedentes de la región se estratificaron en condiciones controladas, fueron esterilizadas previamente con hipoclorito de sodio al 20% (NaClO 1:5 H₂O), y posteriormente se colocaron en cajas Petri con papel filtro como sustrato humedecido con 2ml de agua destilada. Las cajas fueron selladas con Parafilm (R) y permanecieron durante 15 días a una temperatura de 4°C. Una vez transcurrido este tiempo, se trasladaron a una cámara de crecimiento a una temperatura constante de 25°C con 12 horas luz, manteniendo la humedad constante durante el proceso de germinación que fue de 21 días. Después de este período de tiempo, se realizó el trasplante una vez que la radícula ya estaba emergida. Las plántulas fueron propagadas en condiciones de casa de sombra en contenedores rígidos de plástico medianos (350 cm³), como sustrato se utilizó una mezcla comercial a base de fibra de coco, corteza de árbol y agrolita mezclado con arena en combinación 1:1 y esterilizado. A las cuatro semanas de edad, las plantas de pinos con tratamiento de micorrizas, fueron inoculadas con 500,000 esporas del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* por cada planta. Posteriormente a los tres meses de edad, se realizó un trasplante a bolsa de vivero de

600 cm³ con mayor cantidad de sustrato y se mantuvieron en casa de sombra durante once meses más con riego constante cada tercer día. Posteriormente las plantas se sacaron de la casa de sombra para su endurecimiento durante quince días antes de ser llevadas a campo.

Una vez que inició la época de lluvias, las plantas fueron transportadas a campo, donde permanecieron durante un día antes de ser trasplantadas *in situ*. En la cepa se adicionó ½ litro del medio de cultivo antes descrito y se realizó el trasplante a los 15 meses de edad de las plantas con el cuidado suficiente para que las raíces no quedaran dobladas o expuestas y se cubrió bien la cepa con sustrato del sitio.

Se realizaron tratamientos de fertilización con fosfato de potasio [KH₂PO₄], como fuente de fósforo (15.84 gr/año). La fertilización se realizó dividida en cuatro pulsos mensuales durante la época de lluvias de junio a septiembre, durante dos años (2009-2011). Los tratamientos que se establecieron fueron inoculación y fertilización, cada uno de los factores independientes y un control. El diseño se realizó completamente al azar con 160 plantas, 40 por cada tratamiento (Tabla 1).

Se evaluaron las variables de altura, diámetro a la altura de la base (DAB), cobertura (evaluado mediante la fórmula de la elipse [$r_1 r_2 \pi$]), número de ramas, longitud de las ramas con hojas y supervivencia. El análisis estadístico consistió en análisis de varianza (ANOVA) de una vía para las variables de altura, diámetro, cobertura, ramas y longitud de ramas con hojas (medida indirecta del área foliar que podría aproximar para conocer el área fotosintética de los árboles) y para la supervivencia un Modelo Linear Generalizado (GLM) con distribución binomial. Se utilizó R (R Development Core Team, 2011) y S-Plus 2000.

Tabla 1. Tratamientos de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo.

Tratamientos	<i>Pisolithus tinctorius</i> (M)	Fertilización KH ₂ PO ₄ (F)
1. <i>Pinus pseudostrobus</i>	+	+
2. <i>Pinus pseudostrobus</i>	+	-
3. <i>Pinus pseudostrobus</i>	-	+
4. <i>Pinus pseudostrobus</i>	-	-

Resultados

Los resultados muestran que cuando las plantas se encuentran fertilizadas con fosfato de potasio o inoculadas con *Pisolithus tinctorius*, presentan diferencias estadísticamente significativas en las variables evaluadas cuando se comparan con las plantas control. Cuando las plantas se encuentran inoculadas y fertilizadas, presentan valores mayores, lo que indica que en suelo como el del sitio de estudio es importante tomar medidas adicionales al simple plantado de los árboles.

Los resultados muestran que para la altura, hay diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos ($F_{(3,120)} = 3.67$; $P = 0.014$). Los pinos inoculados con *Pisolithus tinctorius* y fertilizados con fosfato de potasio presentaron alturas mayores que los pinos control, cuando sólo se inoculan o se fertilizan las alturas son intermedias (Figura 1).

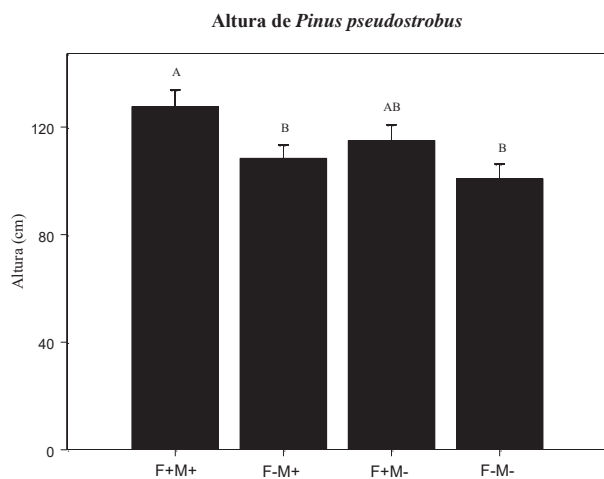


Figura 1. Altura de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

El diámetro es una de las variables que pueden reflejar mejor el desempeño de las plantas leñosas con un tallo definido. En este estudio, se presenta un aspecto muy interesante, existen

diferencias estadísticamente significativas ($F_{(3,120)}= 5.83$; $P = 0.0009$) entre los tratamientos, que forman dos grupos, uno de las plantas que presentan inoculación y/o fertilización y el otro en de las plantas control (Figura 2). Esto sugiere que las plantas por sí solas en este tipo de suelo, donde la baja fertilidad es muy limitante, dependen ya sea de una interacción biótica o de la adición artificial de fósforo para tener un desempeño adecuado.

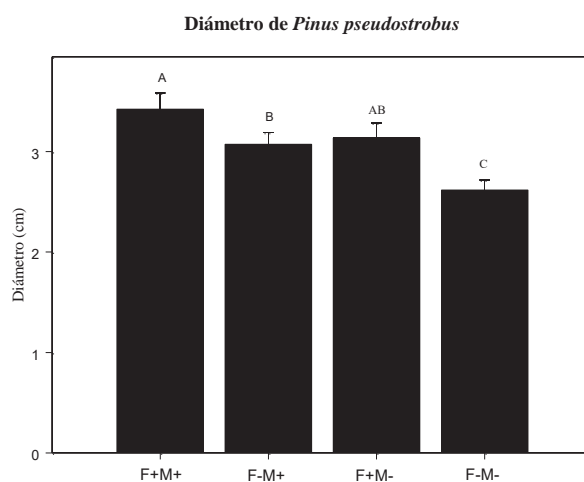


Figura 2. Diámetro a la altura de la base (DAB) de *Pinus pseudostrabus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

En el caso de la cobertura, aun cuando no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($F_{(3,120)}=2.009$; $P = 0.11$), se sugiere un patrón similar a lo que ocurre con el diámetro (Figura 3), donde se reflejan los valores mayores con la adición dual de los factores y con valores intermedios la presencia de fertilización o inoculación de forma individual. Las plantas control con valores menores.

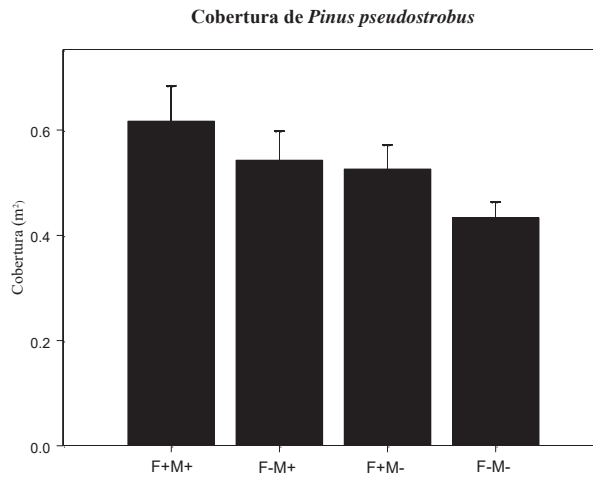


Figura 3. Cobertura de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

Al igual que la cobertura, el número de ramas no presenta diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(3,120)}=1.96$; $P = 0.12$), sin embargo, es notable que ramifica más cuando las plantas está inoculadas y fertilizadas (Figura 4).

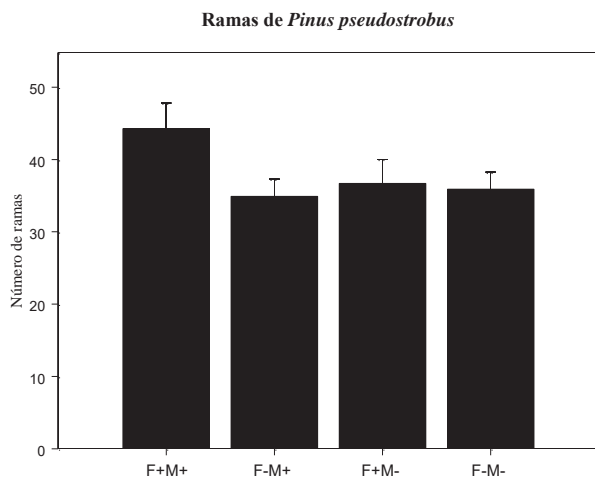


Figura 4. Número de ramas de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

La variable de longitud de las ramas con hojas, muestra diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos ($F_{(3,120)} = 2.27$; $P = 0.048$), con una tendencia muy similar a lo que ocurre con la altura (Figura 5). Las plantas control son significativamente menores en el área fotosintética de la planta (que se evalúa de manera indirecta considerando la longitud de las ramas que tienen hojas). Esta variable puede reflejar de manera indirecta el aporte de materia orgánica que los árboles puedan incorporar al suelo para mejorar sus condiciones de microambiente para el establecimiento de otras especies al mejorar las condiciones nutrimentales, así como de temperatura y humedad del sitio.

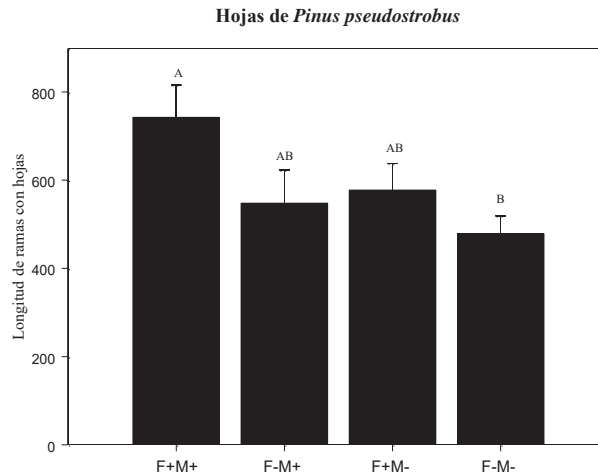


Figura 5. Longitud de ramas con hojas de *Pinus pseudostrabus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo. Las barras indican el error estándar y las letras grupos de acuerdo a la prueba de Tukey.

La supervivencia puede reflejar de mejor manera el importante aporte que están realizando los hongos micorrízicos ($X^2=8.33$, $P = 0.0316$), para el adecuado desempeño de *P. pseudostrabus* en el sitio de estudio. Las plantas inoculadas y fertilizadas presentaron un 88% de supervivencia, las plantas micorrizadas presentaron 85% de supervivencia, las plantas que únicamente fueron fertilizadas un 75% y las plantas control un 62% (Figura 6). Es un 23 % de diferencia en la supervivencia entre las plantas que fueron inoculadas con el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* y las plantas control, en cambio fertilizar además de inocular sólo incrementa la supervivencia en un 3%. Lo que sugiere que se necesita de un agente biológico que pueda ayudar a solubilizar el fósforo y éste pueda ser incorporado a los pinos.

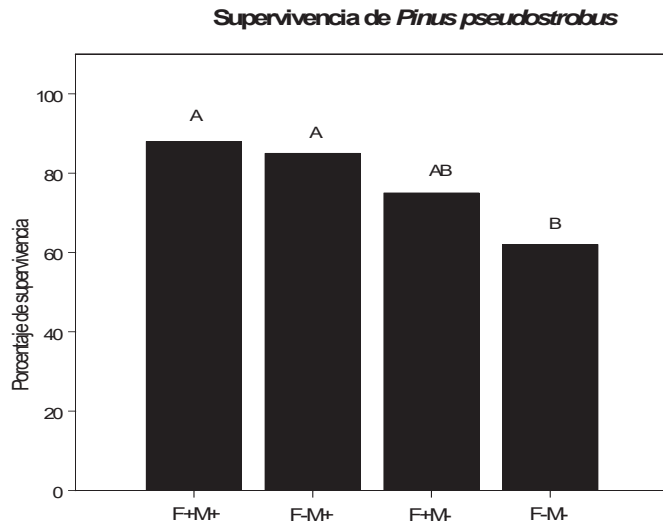


Figura 6. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en presencia/ausencia de *Pisolithus tinctorius* y fertilización con fósforo.

Discusión

El fósforo es uno de los elementos más críticos para el desarrollo de la vegetación por su relativa escasez edáfica, la elevada retención por parte de la matriz del suelo, la falta de reposición natural y la progresiva escasez de sus fuentes naturales (Rubio 2002), dificulta de manera importante el establecimiento de especies nativas. En la mayoría de las ocasiones en las que el fósforo se encuentra en cantidades mínimas, la adición, se tiene que realizar por periodos prolongados de tiempo como lo reporta McGrath *et al.* (2001), donde compararon la disponibilidad de fósforo para las plantas en un sistema agroforestal y un sistema de cultivo tradicional, agregando fósforo durante 6 años, encontraron que la dinámica del fósforo se mantiene cuando se trata de un sistema menos impactado en comparación con un cultivo tradicional, ya que la productividad se incrementa al mantener menos alterada la dinámica del fósforo en condiciones de manejo más conservadoras. En este caso, el suelo se caracteriza por ser muy pobre en nutrientes y donde los fosfatos (presencia sólo en trazas) se encuentran secuestrados por minerales de Al y Fe, por lo cual, se encuentran de forma insoluble. Por otro

lado, la mayoría de los estudios para conocer la dinámica del fósforo se ha realizado para entender los procesos de eutrofización de cuerpos de agua debido a la contaminación que causa la lixiviación desde los campos agrícolas (Silvan *et al.* 2003, Gelbrecht *et al.* 2005). Por lo que en sitios en condiciones como se han mencionado, la fertilización por tiempos prolongados no es una opción viable, debido a que al intentar solucionar un problema, puede incrementarse contribuir con la eutrofización de los cuerpos de agua cercanos. Por otro lado, se ha reportado que las hifas de los hongos micorrízicos pueden asimilar fósforo y nitrógeno de fuentes inorgánicas y orgánicas (Wallander 2002) y muy probable es por ello el incremento de supervivencia de los pinos en presencia de hongos micorrízicos, comparativamente con los que no fueron inoculados. En sitios degradados, es imprescindible elaborar y ejecutar un programa para el establecimiento de vegetación que pueda madurar en el sitio, reintroduciendo especies clave de los diferentes estadios sucesionales (Bradshaw 1997, Hobbs y Harris 2001), que puedan promover a su vez, la colonización natural de otras especies vegetales y animales, que permitan en conjunto, reconstruir un ecosistema parecido al que existió antes del disturbio. Sin embargo, nada se puede llevar a cabo si el disturbio es de tal magnitud que se hayan alterado las propiedades físicas, químicas y biológicas de suelo, debido a que este es un factor crítico para el desarrollo de las plantas y el funcionamiento del ecosistema en general (Bradshaw 1997, Haselwandter 1997, Ghose y Nand 2004). Cuando el daño se extiende a la microbiota edáfica, que incluye los hongos micorrízicos, cualquier esfuerzo para recuperar la vegetación de este sistema, será inútil si no se recupera la comunidad de organismos edáficos antes o a la par de la regeneración vegetal (Haselwandter 1997, Rillig 2004, Sánchez-Gallen *et al.* 2009).

Con la utilización de hongos micorrízicos, el establecimiento de los pinos se incrementa de manera significativa como lo muestra el presente estudio a los tres años posteriores. Esto puede representar el futuro establecimiento de muchas otra especies al crear condiciones microambientales propicias, ya que se ha demostrado que la supervivencia de muchas especies de plantas está asociada a las variables ambientales del micrositio, entre las que destacan la temperatura, luz disponible, humedad y nutrientes (Price *et al.* 2001). Por lo que la utilización de fertilizantes químicos, puede utilizarse sólo durante los primeros años del

trasplante para el establecimiento de los pinos y no prolongar los tiempos de adición, para evitar daños mayores.

Se ha documentado que *P. pseudostrobus*, es poco resistente al estrés por sequía pero en sitios apropiados presenta elevadas tasas de crecimiento (López-Upton 2002) y es la especie más deseada por las comunidades locales. Sin embargo, en una plantación convencional (sin el conjunto de estrategias mencionadas de germinación, propagación y plantación) resultaría prácticamente imposible el establecimiento de esta especie en condiciones de fertilidad tan limitantes como es el caso del sitio de estudio. Por lo cual se plantea la implementación de estrategias que pudieran incrementar la supervivencia y el desempeño de esta especie como es la utilización de *Pisolithus tinctorius*. La falta de nutrientes en estos suelos, también podría superarse mediante la adición de fósforo en forma de fosfato de potasio, lo que tiene el efecto de incrementar el crecimiento de los pinos, sobre todo en las primeras etapas de su establecimiento, sin embargo, la adición constante de fertilizante podría traer consecuencias a los cuerpos de agua a donde llegan los escurrimientos como se ha mencionado, por lo que la inoculación con hongos micorrízicos puede utilizarse para que la adición de fertilizante sea menor.

Conclusiones

La deforestación así como las técnicas de cultivo inadecuadas en México han dado como consecuencia la erosión de las capas superficiales del suelo resultando de ello la formación de cárcavas, afectando así el 80% del territorio nacional. Como consecuencia, la fertilidad de los suelos es baja. En concentraciones tan bajas de fertilidad y sobre todo en lo que se refiere a fósforo, que en este caso se encuentra solo en trazas en el sitio de estudio, se hace necesario un suministro que le permita a los pinos incrementar la supervivencia y mejorar su desempeño. La adición de fósforo es una alternativa que puede reducir el problema de inicio, sin embargo, la utilización de hongos micorrízicos aunado a la forma de germinación, propagación y plantación mencionadas, podría representar una mejor estrategia para la restauración de este sitio; se sugiere que para mejorar los resultados se puede utilizar la fertilización solo los dos o tres primeros años de la plantación en presencia de *Pisolithus*

tinctorius para facilitar el establecimiento de *Pinus pseudostrabus* en sitios altamente degradados, ya que con esta estrategia podría mejorarse la supervivencia en un 23%, lo que es de enorme importancia para la restauración ecológica de sitios con estas características.

Referencias

- Acevedo-Sandoval, O., L. Ortiz-Hernández, D. Flores-Román, A. Velásquez-Rodríguez, y K. Flores-Castro. 2003. Caracterización física y química de los horizontes endurecidos (tepetates) en suelos de origen volcánico del Estado de México. *Agrociencia* 37(5): 435-449.
- Agerer, R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae: A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza* 11:107-114.
- Álvarez-Sánchez, F. J. 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Edit. Las prensas de ciencias, México. 360p.
- Ambríz, E., A. Báez-Pérez, J.M. Sánchez-Yañez, P. Moutoglis y J. Villegas. 2010. *Fraxinus–Glomus–Pisolithus* symbiosis: Plant growth and soil aggregation effects. *Pedobiologia* 53: 369–373.
- Betancourt-Yáñez, P., J. L. Oropeza Mota, B. Figueroa Sandoval, V. Ordaz Chaparro, C. Ortiz Solorio y A. Hernández Garay. 2000. Pérdida de suelo y potencial hidrológico en parcelas con coberturas vegetativas de especies forrajeras. *Terra* 18(3): 263-265.
- Bradshaw, A.D. 1997. The importance of soil ecology in restoration science *In*. Urbanska KM, N.R. Webb y P.J. Edwards (Eds.) *Restoration ecology and sustainable development*. Cambridge University Press, Reino Unido. p. 33-64.
- Corona-Mora, A. 2010. Estudio del fósforo en presencia/ausencia de *Lupinus mexicanus*. Tesis Biólogo. Michoacán, México. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 47 p.

- Covaleda, O. S. 2008. Influencia de diferentes impactos antrópicos en la dinámica del carbono y la fertilidad de suelos volcánicos mexicanos, implicaciones sobre el secuestro de carbono. Tesis doctoral. Palencia, España. Escuela técnica superior de ingenierías agrarias departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Valladolid. 367 p.
- FAO-ISRIC. 2006. World reference base for soil resources. A framework for international classification correlation and communication. 125p.
- García-Oliva, F. 2005. Algunas bases del enfoque ecosistémico para la restauración. En Sánchez, O, E Peters, R Márquez-Huitzil, E Vega, G Portales, M Valdés y D Azuara (eds). Temas sobre restauración ecológica. Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto de Ecología, U.S. Fish and Wildlife Service, Unidos para la conservación A. C. México. p. 101-111.
- García-Rodríguez, J., L. Pérez-Moreno, J. Aldrete, A. Cetina-Alcalá y H. Vaquera-Huerta. 2009. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia*. 40:665-676.
- Gelbrecht, J., H. Lengsfeld, R. Pothig y D. Opitz. 2005. Temporal and spatial variation of phosphorus input, retention and loss in a small catchment of NE Germany. *Journal of Hydrology* 304:151–165.
- Ghose, M. K. y S. Nand. 2004. Rehabilitation and revegetation strategies for mine closure. In Sinha MK, Ghose y G Singh (Eds.) Proceeding of the National Seminar on Environmental Engineering with special emphasis on Mining Environment. Indian School of Mines y Institution of public health engineers, India. p. 1-13.
- Haselwandter, K. 1997. Soil micro-organisms, mycorrhiza and restoration ecology. In Urbanska KM, NR Webb y PJ Edwards (Eds.) *Restoration ecology and sustainable development*. Cambridge University Press, Reino Unido. p. 65-80.

- Hobbs, R. J. y J. A. Harris. 2001. Restoration Ecology: Repairing the earth's ecosystems in the New Millennium. *Restoration Ecology*. 9(2):239-246.
- López-Upton, J. 2002. *Pinus pseudostrobus* Lindl. In: Tropical Tree Seed Manual. J A Vozzo (ed). USDA *Forest Service*. 636-638 p.
- McGrath, D., M.L. Duryea y W.P. Cropper. 2001. Soil phosphorus availability and fine root proliferation in Amazonian agroforests 6 years following forest conversion. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83:271-284.
- Oliet, A. J., R. Planelles, F. Artero y D. F. Jacobs. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. Planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management* 215: 339-351.
- Pérez-Moreno, J, y D. J. Read. 2000. Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedlings via the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. *New Phytologist*. 145:301-309.
- Pérez-Moreno, J. y D. Read. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*. 29:239-247.
- Price, T. D, N. E. Zimmermann, P. Van Der, M. J. Lexer Meer, P. Leadley, I. T. Jorrietsma, J. Schaber, D.F. Clark, P. Lasch, S. McNulty, J. Wu y B. Smith. 2001. Regeneration in gap models: Priority issues for studying forest responses to climate change. *Climatic Change* 3-4(51):475-508.
- Quoreshi, A. M. y V. R. Timmer. 2000. Early outplanting performance of nutrient-loaded containerized black spruce seedlings inoculated with *Loccaria bicolor* a bioassay study. *Canadian Journal Forest Restoration*. 30:744-752.
- R Development Core Team, 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.

- Rillig, M. C. 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*. 7:750-754.
- Rillig, M. C. 2005. A connection between fungal hydrophobins and soil water repellency? *Pedobiologia* 49:395–399.
- Rillig, M. C. y D. L. Mummey. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* 171: 41-53.
- Rubio, G. 2002. Conectando el fósforo del suelo con la planta. Facultad de Agronomía. Simposio: Enfoque sistemático de la fertilización fosfórica. p.19-24.
- Saénez-Romero, C. y R. Lindig-Cisneros. 2004. Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán. *Ciencia Nicolaita* 37: 107-122.
- Sánchez-Gallen, I., J. Álvarez Sánchez y P. Guadarrama 2009. Restauración y uso de hongos micorrizógenos arbusculares: un análisis de parámetros foliares. In Álvarez-Sánchez FJ.2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Edit. Las prensas de ciencias, México. p. 237-257.
- Serrano, G. E. 2002. Contribución al conocimiento del México forestal. *Revista de Información y Análisis*. 22:7-14.
- Sivakumar, M. V. K. 2007. Interactions between climate and desertification. *Agricultural and Forest Meteorology*. 142:143-155.
- Six, J., R. Merckx, R. Kimpe, K. Paustian y E. T. Elliott. 2000. A re-evaluation of the enriched labile soil organic matter fraction. *European Journal of Soil Science*. 51:283-293.
- Six, J., H. Bossuyt, S. Degryze y K. Denef. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Till. Res.* 79:7–31.
- Smith, S. E. y D. J. Read. 2000. Mycorrhizal symbiosis, 2nd edition, Academic Press, London, UK. 505 p.

- Sylvia, D. M., A. K. Alagely, M. E. Kane y N. L. Philman. 2003. Compatible host/mycorrhizal fungus combinations for micropagated sea oats. *Mycorrhiza* 13:177-183.
- Tisdall, J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation of soil. *Plant Soil* 159:115–121.
- Wallander, H. 2002. Utilization of organic nitrogen at two different substrate pH by different ectomycorrhizal fungi growing in symbiosis with *Pinus sylvestris* seedlings. *Plant and Soil*. 243:23-30.
- Will, R. E., D. Markewitz, R. L. Hendrick, D. F. Meason, T. R. Crocker y B. E. Borders. 2006. Nitrogen and phosphorous dynamics for 13-year-old loblolly pine stands receiving complete competition control and annual N fertilizer. *Forest Ecology and Management*. 227:155–168.
- Warner, G., M. Bravo, J. Frchevers, J. F. Gallrdo, M. Haulon, M. Mazzoncaini, L. Padilla, C. Prat, J. Queitsch, A. Vera Vidal y E. Zapata. 2007. Alternative Agriculture for sustainable rehabilitation of deteriorated volcanic soils in México and Chile (REVOLSO) 2002-2006; INCO-DEV (International Cooperation with Developing Countries 1998-2002). Final report. Univ. Giessen Giessen, (Alemania). p. 123-128.

Capítulo V.

ESTABLECIMIENTO DE *Pinus pseudostrabus* Lindl. EN DOS CONDICIONES DE REFORESTACIÓN EN CÁRCAVAS

Resumen

Se evaluó el establecimiento de *Pinus pseudostrabus* Lindl. en tres condiciones de propagación y trasplante en cárcavas desprovistas de vegetación en la localidad de Atécuaro, Municipio de Morelia, Michoacán. La primera condición corresponde a plantas de procedencia conocida, germinadas y propagadas en condiciones controladas, para contar con un lote de plantas sin inóculo conocido y con el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch. Como una segunda condición, ambos lotes trasplantados a los 15 meses de edad con adición de sustrato fértil en las cepas. En otro sitio muy cercano, una tercera condición, fue una reforestación convencional con plantas de la misma especie pero sin controlar las variables antes descritas. Los resultados muestran que los pinos que fueron plantados bajo las primeras condiciones presentaron un mejor desempeño y supervivencia que los pinos de la segunda reforestación (tercera condición) ($P < 000.1$). La supervivencia de los pinos inoculados fue de 86%, los de la misma plantación sin inóculo conocido de 62% y los de la segunda reforestación de 30%. Lo que corrobora que el esfuerzo adicional al momento de plantar y controlar las condiciones previas (procedencia, germinación y propagación) son de vital importancia para el establecimiento de *P. pseudostrabus* en sitios severamente degradados.

Palabras clave: *Pinus pseudostrabus*, *Pisolithus tinctorius*, erosión, propagación, sustrato, restauración ecológica.

Summary

The establishment of *Pinus pseudostrobus* Lindl. was evaluated in three conditions of propagation and transplantation in gullies devoid of vegetation in the locality of Atécuaro, Municipality of Morelia, Michoacán. The first condition correspond to plants of known provenance, germinated and propagated under controlled conditions, with the aim of having plants without mycorrhizae and with the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker *et* Couch. A second condition, both groups were transplanted at 15 months of age with the addition of a fertile substrate. In another site, a third condition was a reforestation with plants of the same species but without controlling the aforementioned variables. The results show that the pine trees that were planted in the first condition performed better and had a higher survival than plants in the second reforestation (third condition) ($P < 0.001$). The survival of inoculated pines was 86%, in the absence of the fungus was 62% and 30% in the second reforestation. This confirms that the additional planting effort and controlling the preconditions (origin, germination and propagation), are of vital importance for the establishment of *P. Pseudostrobus* in severely degraded sites.

Key Words: *Pinus pseudostrobus*, *Pisolithus tinctorius*, erosion, propagation, substrate, ecological restoration.

Introducción

Por el creciente deterioro de los recursos forestales en México, existe la necesidad de reforestar y restaurar eficientemente, tanto con fines comerciales como para recuperación de suelos (Cetina-Alcalá *et al.*, 1999). El Estado de Michoacán posee importantes recursos forestales por su cantidad, diversidad e importancia económica. Ocupa el tercer lugar nacional en producción de madera (aproximadamente 1 millón m³ /año, después de Chihuahua y Durango) y el primer lugar nacional en producción de resina (35 mil ton/año), no obstante que ocupa el sexto lugar nacional en existencias maderables (COFOM, 2001). En cuanto a riqueza de especies, Michoacán tiene el quinto lugar nacional en biodiversidad (COFOM, 2001). Destaca entre otros el género *Pinus*. Se ha reportado que *Pinus pseudostrobus* Lindl., es una

de las especies forestales de mayor importancia en México. Sin embargo, en el estado existe serios problemas de deforestación, se calcula que se pierden entre 30,000 y 40,000 ha/año. Las principales causas de la deforestación son: cambio de uso del suelo, incendios forestales y tala ilegal (COFOM, 2001). En un estudio realizado (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros, 2004), se menciona que existen serios problemas en cuanto al proceso de plantación y mantenimiento de las reforestaciones (Lindig-Cisneros *et al.*, 2004), disminuyendo significativamente la supervivencia de las plantas. Entre los principales problemas detectados se encuentran la técnica de plantación (falta de capacitación del personal de campo, falta de herramientas adecuadas y falta de preparación del terreno previo a la plantación), fecha inadecuada de plantación (temporada de lluvias avanzada, limitando a las plantas para establecer un sistema radical suficiente, antes del inicio de la temporada de sequía) y a la pobre calidad de la planta, que representa hasta el 15% de la mortalidad (Nienstaedt, 1994, Sáenz-Romero y Martínez-Palacios, 2000).

Por otro lado, se ha documentado que en la restauración ecológica se debe dirigir al ecosistema a través de una serie de fases hasta recuperar su estructura, la composición de especies y su función (Martínez, 1996). En las estrategias de restauración de suelos degradados, es determinante el uso de la microbiota del suelo (Haselwandter, 1997; Requena *et al.*, 2001; Álvarez, 2009), en especial de hongos formadores de micorrizas, ya que previenen la erosión del suelo al ser un factor en la formación de agregados y en la acumulación de materia orgánica. De esta manera le dan estructura al suelo y reducen o evitan el efecto de la erosión tanto hídrica o eólica con la consecuente pérdida de nutrientes. Además, la asociación micorrízica otorga ventajas para el establecimiento de las plantas ante condiciones estresantes, como la habilidad de la planta hospedera para resistir a las condiciones de sequía (Haselwandter, 1997; Álvarez 2009). Los hongos ectomicorrízicos pueden proporcionar estos beneficios y dentro de este grupo se encuentra *Pisolithus tinctorius*. El interés en utilizar esta especie se deriva de su éxito en la inoculación de plantas forestales en países de los cinco continentes. Las plantas con las que *P. tinctorius* establece simbiosis ectomicorrízica incluyen más de veinte géneros de gimnospermas y angiospermas con distribución mundial; incluyendo especies forestales de las familias Casuarinaceae, Dipterocarpaceae, Pinaceae, Myrtaceae y Oleaceae (Pérez-Moreno y Read, 2004; Ambriz *et*

al., 2010). El cuerpo fructífero suele medir entre 5 y 20 cm de altura y hasta 10 cm de diámetro, fibroso de color pardo amarillento, esporas son de color marrón canela, globosas de 7 a 12 μ y espinas de hasta 2 μ de largo. Fructifica al comienzo del otoño. Un aspecto muy importante es que puede sobrevivir en suelos empobrecidos o terrenos perturbados, así como en suelos de alta acidez, o con altas concentraciones de metales pesados y resiste periodos de estrés por sequia (García-Rodríguez *et al.*, 2009). Por otro lado, *Pinus pseudostrobus* Lindl. es un árbol de 15 a 25 m, se encuentra en laderas con elevaciones de 1 600 a 3 200 msnm con temperatura de 9 a 40 °C con media de 14 °C, con precipitaciones de 500 a 2000 mm con media de 1000 mm (Cruz de León, 1991). Se utiliza para la restauración de suelos degradado (CONAFOR, 2006). Es buen productor de resina, ampliamente aprovechada en los estados del centro y sur del país. La madera es de buena calidad. Es una especie recomendable para plantaciones comerciales, también para su uso ornamental (Eguiluz, 1978).

Objetivos

Evaluar las plantas de *Pinus pseudostrobus* en un experimento en condiciones de restauración ecológica en presencia/ausencia de inoculación con *Pisolithus tinctorius*. Comparar las plantas producidas bajo condiciones controladas y plantadas en una reforestación en donde se aplicaron medidas adicionales con plantas de una reforestación convencional, con la finalidad de identificar las estrategias que mejoren la supervivencia y desempeño de las plantas para su establecimiento en un sitio severamente degradado.

Metodología

El área de estudio se ubica en el paraje conocido como Huertitas, Ejido de Atécuaro, municipio de Morelia en Michoacán, lugar en donde se dan altas tasas de erosión en acrisoles (acrisol ócrico), y existen numerosas cárcavas. La zona presenta un clima subhúmedo, con lluvias en verano, temperatura media anual de 13.8°C y precipitación media anual de 1000 mm, y una altitud de 2275 msnm.

Condiciones de restauración ecológica (plantación sitio A)

En el año 2009 se estableció un experimento con fines de restauración con *Pinus pseudostrabus*. Las semillas procedentes de la región (Nuevo San Juan Parangaricutiro) se estratificaron en condiciones controladas, fueron esterilizadas previamente con hipoclorito de sodio al 20% (NaClO 1:5 H₂O), y posteriormente se colocaron en cajas de Petri con papel filtro como sustrato humedecido con 2ml de agua destilada. Las cajas fueron selladas con parafilm (R) y permanecieron durante 15 días a una temperatura de 4°C. Una vez transcurrido este tiempo, se trasladaron a una cámara de crecimiento a una temperatura constante de 25°C con 12 horas luz, manteniendo la humedad constante durante el proceso de germinación que fue de 21 días. Después de este período de tiempo, se realizó el trasplante una vez que la radícula ya estaba emergida. Las plántulas fueron propagadas en una casa de sombra en contenedores rígidos de plástico medianos (350 cm³), como sustrato se utilizó un sustrato comercial a base de fibra de coco, corteza de árbol y agrolita mezclado con arena en combinación 1:1 y esterilizado. A las cuatro semanas de edad, la mitad de las plantas de pinos fueron inoculadas con 500,000 esporas del hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* por cada planta. Formando dos tratamientos, uno de plantas inoculadas y otro de plantas sin inoculación, se consideraron 90 plantas por cada tratamiento. Posteriormente a los tres meses de edad, se realizó un trasplante a bolsa de vivero de 600 cm³ con mayor cantidad de sustrato y se mantuvieron en casa de sombra durante once meses más con riego constante cada tercer día. Posteriormente las plantas se sacaron de la casa de sombra para su endurecimiento durante quince días antes de ser llevadas a campo.

Una vez que inició la época de lluvias, las plantas fueron transportadas a campo en cajas perforadas de plástico para facilitar el traslado hasta el sitio de estudio, donde permanecieron durante un día antes de ser trasplantadas. En la cepa se adicionó ½ litro del medio de cultivo antes descrito y se realizó el trasplante a los 15 meses de edad de las plantas con el cuidado suficiente para que las raíces no quedaran dobladas o expuestas y se cubrió bien la cepa con sustrato del sitio.

Condiciones de la reforestación de comparación (sitio B)

En el mismo año, se localizó otra plantación en una cárcava aledaña muy cercana (177 m) con condiciones muy similares de pendientes y en el mismo tipo de sustrato (Figura 1). La plantación con *Pinus pseudostrobus* se trataba de una reforestación convencional, de las que se hacen anualmente en la región. Sin embargo, la edad de las plantas al tiempo del trasplante es desconocida, así como las condiciones de almacenamiento, germinación, propagación o endurecimiento a previas a la reforestación, incluso, la procedencia de las semillas (mismas condiciones de los programas de reforestación anuales). Se evaluaron también 90 plantas para que fueran comparables con las del experimento de restauración. Se sabe que, dadas las condiciones de las plantaciones en dos sitios diferentes, ocurre que si se consideraran todos los datos como un sólo experimento, un tratamiento completo (Sitio B) se encuentra en un sitio diferente, lo que corresponde a una pseudoréplica *sensu* Hurlbert (1984). A pesar de lo anterior se incluyeron los datos del sitio B por ser una comparación útil, pero se debe reconocer que las diferencias pueden deberse a factores inherentes a los dos sitios y no a otras diferencias.



Figura 1. Sitios de estudio en la localidad de Atécuaro, Mich. Mpio. Morelia. A) Sitio donde se encuentran los experimentos de restauración. B) Sitio a 177 m de distancia donde se encuentra la reforestación convencional.

Evaluaciones

Se realizaron evaluaciones de altura, diámetro a la altura de la base (DAB), cobertura, número de ramas y supervivencia durante el tercer año de edad de las plantaciones tanto a las plantas del experimento de restauración en presencia/ausencia de inoculación con *Pisolithus tinctorius* (sitio A), y a las plantas de la reforestación convencional (sitio B). Los datos fueron

analizados mediante Análisis de Varianza (ANOVA) en el paquete estadístico R (R Development Core Team 2011) para las variables mencionadas. El análisis se realizó tomando en cuenta inicialmente sólo los datos del experimento del sitio A, al ser este un diseño estadísticamente robusto, y de manera adicional, en un segundo análisis, se incluyeron los datos de la reforestación convencional. Para analizar la supervivencia se siguió la misma estrategia pero a través de análisis de modelos lineales generalizados (GLM) para datos con distribución binomial.

Resultados

Las plantas se desempeñaron de manera diferente dependiendo de la forma en que fueron propagadas y trasplantadas en el sitio. Al comparar las plantas de la reforestación en el sitio A en función de la presencia/ausencia de inoculación con el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*, no se obtuvieron diferencias significativas para variables de crecimiento (altura, DAB, cobertura y ramas). Sin embargo, para la supervivencia sí se presenta un incremento significativo en las plantas inoculadas (86% contra 62%). Por otro lado, tomando con reservas la comparación con las plantas que se encuentran en el sitio B, sabiendo que pudiera tener algunas diferencias por efecto del sitio, en todas las variables de crecimiento se presentaron diferencias estadísticamente significativas. Al analizar la supervivencia, también son significativas las diferencias entre los diferentes tratamientos.

En términos de la altura, cuando se analizan sólo los tratamientos del experimento de inoculación como ya se mencionó no hay diferencias significativas, pero cuando se incluyen los datos de las plantas de la reforestación convencional (sitio B), sí se presentan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.0001$) entre los tratamientos de restauración en presencia / ausencia de hongos micorrízicos con (80 cm), contrastantemente con las plantas de la reforestación convencional (40 cm) (Figura 2).

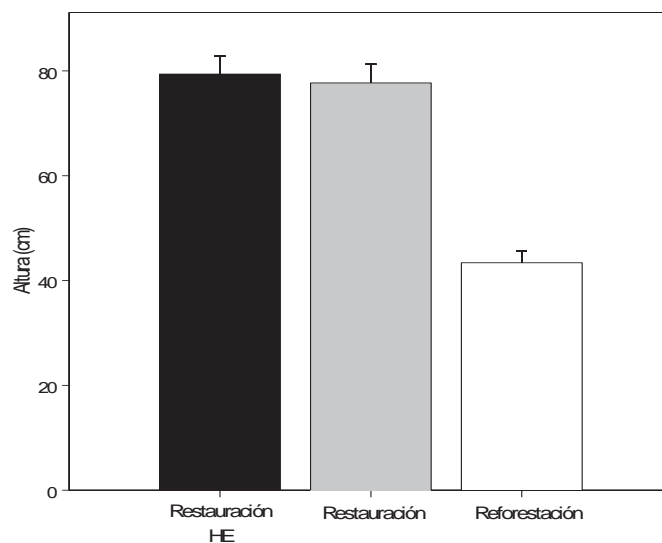


Figura 2. Altura de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.

Para el Diámetro a la Altura de la Base (DAB) se presentó un patrón similar, entre tratamientos de inoculación no se presentaron diferencias, pero sí entre las plantas del sitio A y las del sitio B ($P < 0.00001$). Los valores de las plantas de la restauración son de alrededor de 3 cm, mientras que para las de la reforestación es menor a 1 cm (Figura 3).

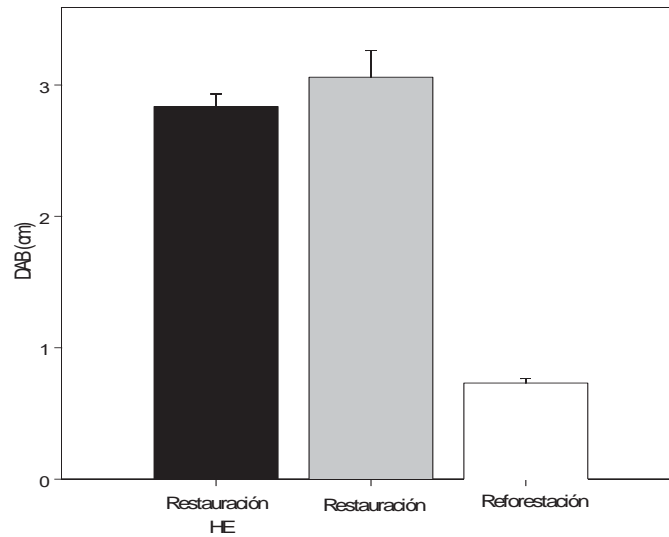


Figura 3. Diámetro de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.

Para la cobertura, se presentan diferencias altamente significativas entre los tratamientos del experimento de inoculación con los de la reforestación en el sitio B ($P < 0.0001$), con tendencias muy similares a las de la altura, con valores similares entre las plantas de los tratamientos de restauración (40 cm^2) pero muy diferentes a las plantas de la reforestación (10 cm^2) (Figura 4).

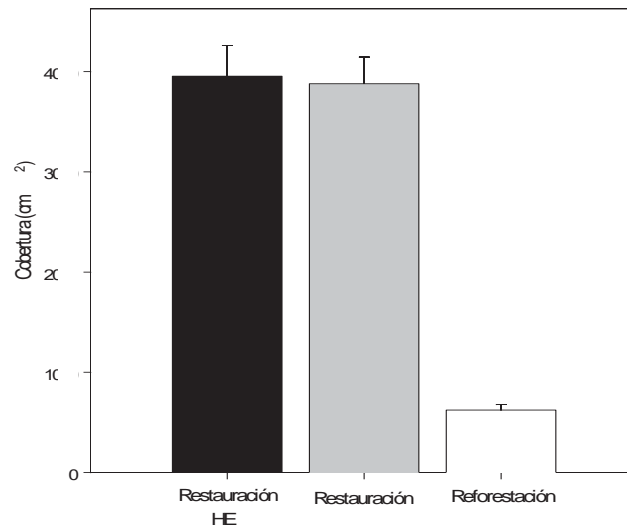


Figura 4. Cobertura de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.

Para el número de ramas, se presentan tendencias muy similares, presentando valores mayores las plantas del experimento en el sitio A en ausencia de hongos micorrízicos, no siendo diferente de los que se encuentran en presencia de hongos micorrízicos, pero sí estos dos de las plantas de la reforestación en el sitio B ($P < 0.0001$) (Figura 5).

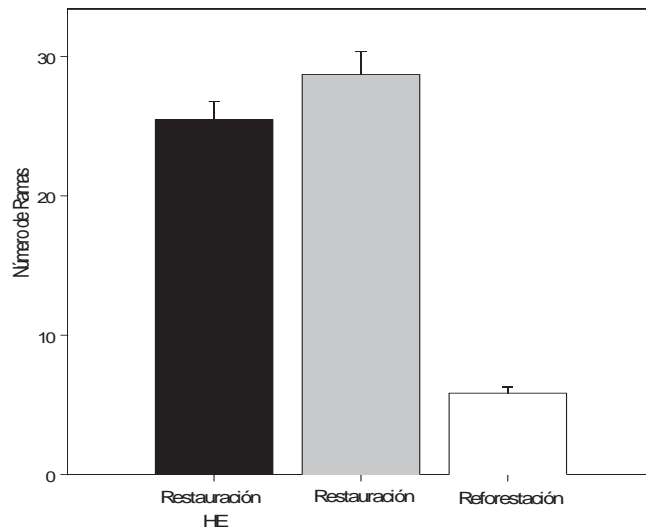


Figura 5. Número de ramas de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional. Las barras muestran el error estándar.

El resultado más interesante se da en términos de los porcentajes de supervivencia, para el experimento de inoculación, las plantas inoculadas presentaron un 86% de supervivencia, en ausencia de inóculo un 62%, siendo una diferencia en supervivencia estadísticamente significativa ($X^2=13.053$, $g.l.=1$; $P=0.0003$). Si incluimos en el análisis a las plantas presentes en el sitio B correspondientes a las de una reforestación convencional, éstas presentaron un 30% de supervivencia al tercer año del trasplante, al comparar con los tratamientos de inoculación, existe una diferencia altamente significativa entre los tres ($X^2=61.366$, $g.l.=2$; $P<0.0001$; Figura 6).

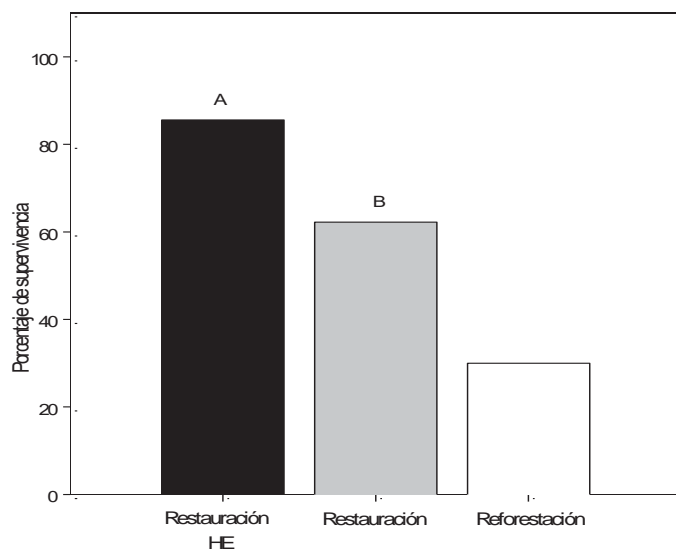


Figura 6. Supervivencia de *Pinus pseudostrobus* en condiciones de restauración ecológica con inoculación de hongos ectomicorrízicos (*Pisolithus tinctorius*), restauración y reforestación convencional.

Discusión

Los resultados del experimento de inoculación y de la comparación con una reforestación convencional sugieren que, como es sabido, aun cuando la asociación simbiótica puede representar un gasto energético para los pinos debido a que tienen que intercambiar hidratos de carbono (Choi *et al.*, 2005), la relación es positiva, ya que los hongos micorrízicos proveen de nutrientes y agua a la planta, además de que les ayudan a amortiguar cambios bruscos de temperatura (Smith y Read, 2000). La disponibilidad de agua tiene el efecto directo de disminuir la turgencia, e indirectamente limita el incremento de biomasa, por lo que una cantidad adecuada de agua disponible es esencial para mantener la productividad de las plantas (Montoya, 2000), de modo que la presencia de micorrizas puede influir de manera importante para tener disponibilidad de agua e incrementar la biomasa, sobre todo en la parte radical. El sustrato rico en materia orgánica que se adicionó a las plantas del experimento de inoculación, muy probablemente también contribuyó a generar los patrones observados, ya

que las plantas de la reforestación convencional no se les suministra ningún sustrato adicional, y la materia orgánica del suelo contribuye a un mejor desempeño de las micorrizas.

Por otro lado, no fue posible detectar diferencias entre las condiciones ambientales de los sitios tanto de los tratamientos de inoculación (sitio A), así como las plantas de la reforestación convencional (sitio B). Ambos sitios forman parte de la misma ladera y del mismo sistema de cárcavas, y se encuentran a una corta distancia (177m en línea recta). Lo anterior sugiere que las diferencias entre las plantas del sitio A, el experimento de inoculación, y del sitio B se deben, al menos en parte, a los tratamientos aplicados, aunque es posible que se deban a diferencias microambientales que no fue posible medir en el presente estudio como la temperatura, la luz disponible o la humedad (Price *et al.*, 2001).

Tomar en cuenta todos los aspectos que se mencionan tanto para la germinación como para la propagación, implica una inversión adicional de recursos económicos, que sin embargo se compensa por la mejor supervivencia y desempeño general de la plantación y que incluso puede ser calculado (García-Frapolli y Lindig-Cisneros, 2011). Si no se cuenta con recursos adicionales, se puede reducir el área reforestada y asignar los recursos ahorrados a estas medidas adicionales, esta estrategia incluso permitiría contar con una mayor área reforestada en el largo plazo (Sáenz-Romero y Lindig-Cisneros, 2004).

Árias (1992), menciona que *P. pseudostrobus* plantado bajo buenas condiciones presenta alta tasa de crecimiento, pero también se ha reportado que no puede prosperar en sitios con condiciones edáficas adversas (Domínguez, 2001). El presente estudio sugiere que implementando estrategias adecuadas, esta especie puede mostrar un buen desempeño temprano aun sobre cárcavas.

Conclusiones

El conjunto de condiciones a las que son sometidas las plantas durante la germinación (tratamientos pregerminativos), propagación (sustrato, endurecimiento) y trasplante (edad de las plantas, fecha y método de plantación) son de vital importancia para su establecimiento, supervivencia y crecimiento. El desempeño de las plantas (altura, diámetro, cobertura y

número de ramas) del ensayo de inoculación, independientemente de si las plantas fueron inoculadas o no, fue superior a las de la reforestación convencional. Lo más sobresaliente del presente ensayo fue que las plantas inoculadas con el hongo ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius*, presentaron un porcentaje de supervivencia mayor, seguidas de las plantas no inoculadas pero propagadas bajo las mismas condiciones que las primeras y muy por debajo los pinos de la reforestación convencional. *Pinus pseudostrobus* inoculado con *Pisolithus tinctorius* tiene potencial para reforestar sitios severamente degradados con problemas de erosión y formación de cárcavas como es el caso este sitio de estudio. Estas reforestaciones tienen el potencial de ser una herramienta de restauración ecológica y, si las tasas de crecimiento a mediano plazo fueran satisfactorias, para el establecimiento de plantaciones con fines de producción.

Referencias

- Álvarez, J. F. 2009. Ecología de micorrizas arbusculares y restauración de ecosistemas. Las prensas de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. Las prensas de ciencias. 360 p.
- Ambríz, E., A. Báez-Pérez, J. M. Sánchez-Yáñez, P. Moutoglis y J. Villegas. 2010. Fraxinus-Glomus-Pisolithus symbiosis: Plant growth and soil aggregation effects. *Pedobiologia*. 53: 369-373.
- Árias, H. 1992. Evaluación de la reforestación sobre tepetates en la zona oriente de la Cuenca de México. *Tierra*. Número especial: Suelos volcánicos endurecidos. México. 10:309-317.
- Cetina-Alcalá, V., V. González-Hernández y J. Vargas-Hernández. 1999. Manejo en vivero de *Pinus greggii* Engelm. y la calidad de planta. *Agrociencia* 33(4): 423-430.

- Choi, D. S., A. M. Qureshi, Y. Maruyama, H. O. Jin, y T. Koike. 2005. Effect of ectomycorrhizal infection on growth and photosynthetic characteristics of *Pinus densiflora* seedlings grown under elevated CO₂ concentrations. *Photosynthetica* 43 (2): 223-229.
- COFOM (Comisión Forestal del Estado de Michoacán). 2001. Atlas Forestal del Estado de Michoacán. Morelia, Michoacán, México, 97 p.
- CONAFOR (Comisión nacional forestal). 2006. *Pinus pseudostrobus* http://www.conafor.gob.mx/programas_nacionales_forestales/pronare/Fichas%20Tecnicas/Pinus%20pseudostrobus.pdf.
- Cruz de León, J. 1991. Untersuchung des technologischen Gebrauchswertes der mexikanischen Kiefernart *Pinus pseudostrobus* Lindley. Göttinger Beiträge Zur Land-und Forstwirtschaft in den Tropen und Subtropen, 66-185.
- Domínguez-Caballero, P. A., J. J. Návar-Chaidez y Loera-Ortiz, J. A. 2001. Comparación del rendimiento de pinos en la reforestación de sitios marginales en Nuevo León. *Madera y Bosques*. 7(1): 27-35.
- Eguiluz, T. 1978. Ensayo de integración de conocimientos sobre el género *Pinus* en México. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México.
- García-Frapolli, E. y R. Lindig-Cisneros, 2011. Barreras e incentivos económicos para la restauración de la biodiversidad. *Acta Biológica Colombiana*. 16: 269-280.
- García-Rodríguez, J. L., J. Pérez-Moreno, A. Aldrete, V. M. Cetina-Alcalá, y H. Vaquera-Huerta. 2009. Caracterización del hongo silvestre ectomicorrízico *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch en cultivo y en simbiosis con eucalipto y pino. *Agrociencia*. 40: 665-676.
- Haselwandter, K. 1997. Soil micro-organisms, mycorrhiza and restoration ecology. En: K.M. Urbanska, N.R. Webb, y P. J. Edwards (Eds.). *Restoration ecology and sustainable development*. Reino Unido. Cambridge University Press. p: 65-80.

- Hurlbert, S. H. 1984. Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecological Monographs*. 54 (2): 187-211.
- Lindig-Cisneros, R., Blanco-García, A. y Sáenz-Romero, C. 2005. Estrategias para la restauración ecológica de bosques. *Biológicas*. 7: 13-21.
- Martínez, R. E. 1996. La Restauración Ecológica. *Ciencias*. 43: 56-61.
- Montoya, F. 2000. Mejoramiento de la productividad de *Eucalyptus nitens* (Deane & Maiden) Maiden, al primer año de establecimiento a través del riego y fertilización en un suelo rojo arcilloso del valle central de la VIII región. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Ingeniero Forestal. Universidad Católica de Temuco. Escuela de Ciencias Forestales. Temuco, Chile. 60 p.
- Nienstaedt, H. 1994. Reforestación en México con semilla mejorada. *Boletín Mendel Sociedad Mexicana de Genética*. 3(1): 3-6.
- Pérez-Moreno, J. y D. Read. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*. 29: 239-247.
- Price, T. D., N. E. Zimmermann, P. Van Der, M. J. Lexermeer, P. Leadley, I. T. Jorristma, J. Schaber, D. F. Clark, P. Lasch, S. McNulty, J. Wu, y B. Smith. 2001. Regeneration in gap models: Priority issues for studying forest responses to climate change. *Climatic Change*. 3-4(51): 475-508.
- R Development Core Team. 2011. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.
- Requena, N., E. Pérez-Solís, C. Azcón-Aguilar, P. Jeffries y J. M. Barea. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 495-498.
- Sáenz-Romero, C. y A. Martínez-Palacios. 2000. Variación genética altitudinal de pinos. *Nuestro Bosque*. 1(2): 10-11.

Sáenz-Romero, C. y R. Lindig-Cisneros. 2004. Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita*. 37: 107-122.

Smith, A. E. y D. J. Read. 2000. *Mycorrhizal Symbiosis*. (2nd edn). London, UK: Academic Press. 605 p.

VI. DISCUSIÓN GENERAL

A diferencia con el nitrógeno, los procesos que regulan el ciclo del fósforo (a excepción de la mineralización) son de naturaleza más bien química. En consecuencia, son especialmente importantes los mecanismos de adsorción y absorción de fósforo en la fase mineral sólida del suelo, en particular en óxidos de hierro y aluminio y en partículas de arcilla, ya que éstos regulan la disponibilidad de fósforo en la rizósfera como lo menciona Hekstra (1996). En pocas ocasiones, el fósforo representa una barrera a la restauración. En este sistema, se exploró el mecanismo para el establecimiento de especies de plantas nativas en un sitio severamente degradado, con problemas de erosión, presencia de cárcavas y un suelo extremadamente pobre en contenido de fósforo y secuestrado por las altas concentraciones de hierro.

Las raíces de algunas especies de plantas, tienen la capacidad de producir exudados de muy variada naturaleza química y biológica que contribuyen al proceso de solubilización del fósforo unido al hierro o al aluminio, aumentando la disponibilidad del fósforo que puede ser aprovechado por las plantas para su crecimiento (Bar-Josef, 1996). Se ha podido demostrar que algunas especies producen compuestos orgánicos específicos que pueden formar complejos químicos estables con estos cationes (quelatos) liberando el fósforo. El caso mejor estudiado es la producción de ácido p-hidroxibencil-tartárico (ácido piscídico) y su derivado p-o-metil por las raíces de *Cajanus cajan* (Ae et al., 1990; Ae et al., 1991). En el presente estudio no se exploró la formación de complejos químicos, más bien se enfocó a conocer la respuesta de las plantas en un sistema en tándem *Pinus pseudostrabus-Eysenhardia polystachya* con la inoculación del HMA *Glomus intraradices* y el HE *Pisolithus tinctorius* solos y en inoculación dual. La elección de la especie del pino, resultó del primer experimento en el que se estableció un ensayo de especies con *Pinus cembroides*, *P. greggii*, *P. devoniana* y *P. pseudostrabus*. Se incluyeron tres condiciones de pendiente y tres tratamientos de fertilización con fósforo y nitrógeno. En este experimento, se obtuvo que *P. pseudostrabus* es la especie más sensible, ya que presentó el segundo mayor crecimiento, pero la menor supervivencia y se concentró en sitios planos. Posteriormente se probó ya con esta especie la asociación con herbáceas pioneras del sotobosque *Lupinus mexicanus* y *Titonia tubiformis* y la

fertilización. Como resultados se obtuvo que fertilización no tuvo efecto en el crecimiento, ni tampoco en la supervivencia, pero la leguminosa (*L. mexicanus*) tuvo un efecto significativo. Pensando en que una leguminosa podría afectar positivamente el desarrollo de una planta, se decidió buscar una especie con las características observadas, pero que estructuralmente fuera de mayores dimensiones para que pudiera fungir como nodriza del pino con interés a establecer, es por ello que se eligió *E. polystachya* y se probó en el tándem en el experimento en tándem.

El mecanismo que probablemente se presentó en el experimento de mesocosmos, en parte puede deberse a que las raíces de especies de plantas que liberan ácidos orgánicos de bajo peso molecular pueden acidificar la rizósfera hasta valores tan bajos de pH como 4.8. Sin embargo, las condiciones del suelo ya presentan un pH moderadamente ácido (5.4). Sin embargo, se ha documentado que este podría ser un mecanismo muy importante para la adquisición de fósforo en condiciones de deficiencia en suelos calcáreos, al menos en algunos cultivos de dicotiledóneas, especialmente leguminosas, y a la vez, explicaría la tolerancia de algunas especies a ciertos tipos de suelo. El proceso de absorción de nutrimentos está directamente asociado con algunas características de la morfología radical como la longitud total y la superficie promedio, las cuales determinan en gran parte la eficiencia de las raíces para de explorar la masa de suelo en condiciones naturales. Dado que la capacidad de acidificación de la rizósfera mediante la excreción de protones y ácidos orgánicos de bajo peso molecular desde el citoplasma al apoplasto, tiene importantes implicaciones agronómicas pudiéndose obtener en la rizósfera valores de hasta tres unidades de pH por debajo de la masa del suelo adyacente (Junk *et al.*, 1993).

En el presente estudio, se confirma la importancia de los hongos micorrízicos, tanto HMA como los HE, ya que sugiere ser una estrategia importante para la recuperación de sitios severamente degradados donde el fósforo se encuentra como un elemento limitante para el establecimiento de las plantas y como resultado, el desarrollo de una cubierta vegetal. Se ha documentado que los hongos micorrízicos estimulan el crecimiento de la planta hospedera al obtener nutrientes del suelo, particularmente de fósforo, este efecto ha sido atribuido principalmente a: 1) un incremento en la superficie de absorción por explotación de un mayor volumen de suelo debido al micelio extrarradical; 2) las hifas de menor diámetro incrementan

la superficie y el área de absorción del fósforo comparativamente con las raíces no micorrizadas, tasas de flujo de fósforo mayores por unidad de área; 3) la formación de polifosfatos y 4) la producción de ácidos orgánicos y fosfatasas, las cuales catalizan la liberación del fósforo de los complejos orgánicos (Marschner y Dell, 1994; Bücking, 2004).

Los hongos micorrízicos arbusculares son componentes fundamentales de los ecosistemas terrestres (Schüssler *et al.*, 2001). El efecto a escala individual en las plantas puede influir en los procesos a escala de los ecosistemas y su habilidad de agregar suelos (Rillig, 2004). La agregación del suelo, es un proceso jerárquico complejo, mediado por factores tanto bióticos como abióticos (Tisdall y Oades, 1982). La agregación es esencial para mantener la porosidad del suelo, para la infiltración del agua, permitir el intercambio de gases y la facilitación de los ciclos biogeoquímicos (Diaz-Zorita *et al.*, 2002). La estructura del suelo es muy importante para la resistencia a la erosión. En este sentido, los hongos micorrízicos, también contribuyen con la estructura del suelo, ya que los resultados indican que los HMA contribuyen en la formación de microagregados y los HE con la formación de macroagregados estables al agua.

Adicionalmente, en un experimento de campo, se probó el efecto de la adición de fósforo, la inoculación con el HE *Pisolithus tinctorius* y la combinación de ambos factores. Los resultados mostraron que el desempeño de los árboles con presencia de inoculación y/o fertilización es significativamente mayor para la altura, el diámetro y longitud de las ramas con hojas. Las plantas inoculadas solas o fertilizadas, presentan mayor supervivencia que las plantas que fueron fertilizadas únicamente. La diferencia es de un 23 % de supervivencia entre las plantas que fueron inoculadas con *P. tinctorius*. Lo que sugiere que se necesita de un agente biológico que pueda ayudar a solubilizar el fósforo y éste pueda ser incorporado a los pinos. Por otro lado, se estudió también el establecimiento de *P. pseudostrobus* en tres condiciones de propagación y trasplante. La primera con plantas de procedencia conocida, germinadas y propagadas en condiciones controladas, factores que se toman en cuenta en la restauración ecológica, la segunda condición, similar a la primera pero con el HE *P. tinctorius*. Estos fueron comparados con, una tercera condición, representada por una reforestación convencional. Como resultado se obtuvo que la supervivencia de los pinos inoculados fue la

mejor, casi al triple que los de la reforestación convencional. Lo que corrobora que el esfuerzo adicional al momento de plantar y controlar las condiciones previas como son la procedencia, germinación y propagación, son muy importantes como lo mencionan Sáenz- Romero y Lindig-Cisneros (2004), en este sistema, para el establecimiento de *P. pseudostrobus* en sitios severamente degradados.

Como se mostró con el presente estudio, si adicionalmente se incluye *Eysenhardtia polystachya* inoculada con el HMA *Glomus intraradices* en tándem con *Pinus pseudostrobus*. La absorción del fósforo podría incrementarse y de esta manera contribuir con la reactivación del ciclo biogeoquímico y sitios con altos niveles de degradación.

VII. CONCLUSIONES GENERALES

En sitios con problemas severos de erosión y presencia de cárcavas, es necesario implementar programas de restauración ecológica que garanticen el establecimiento de cobertura vegetal y protección de suelos, para lo cual, se requiere de la selección de especies tolerantes a condiciones extremas de sitios degradados mediante ensayos de especies que tengan la capacidad de crear condiciones microambientales que favorezcan la recuperación del sitio. Incluso, especies más susceptibles como *Pinus pseudostrabus* pueden ser útiles pues se puede mejorar su desempeño si se les acompaña de leguminosas como la ensayada en esta tesis. Es interesante que fertilizar no mostró un efecto considerable, lo que habla de la importancia de las interacciones bióticas para la restauración de sitios muy degradados. En el caso de la presente investigación lo que puede ocurrir es que las herbáceas pioneras del sotobosque, sean más eficientes para asimilar los macronutrientes y que lleguen al pino a través de procesos relacionados con los ciclos de nutrientes que son restablecidos, al menos parcialmente, por la presencia de varias especies vegetales que interactúan.

El experimento de mosocosmos en tándem *Pinus pseudostrabus-Eysenhardtia polystachya* muestra que hay un aporte de los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices* solos o en interacción en el desempeño de las variables evaluadas, y que cada tipo de hongo tiene efectos diferentes pero complementarios. Con este experimento, es posible entender la dinámica del sistema de manera realista.

Se presenta mayor desempeño en las plantas con la inoculación dual con los hongos micorrízicos *Pisolithus tinctorius* y *Glomus intraradices*, en la mayoría de las variables se observa esta tendencia. En otras variables la presencia de HMA se hace determinante; aquí radica la principal importancia de la presencia de *Eysenhardtia polystachya* en tándem con el pino, ya que el pino, no realiza asociación simbiótica con estos hongos, sin embargo, está recibiendo el aporte por parte de la leguminosa que es la que establece la relación simbiótica con *Glomus intraradices*.

Esto se explica en parte por las bajas condiciones de fertilidad del sustrato en el cual las plantas se encuentran creciendo. La asociación con hongos micorrízicos incrementa la

posibilidad de establecimiento. La mayor producción de biomasa de las plantas, representa un aporte importante de materia orgánica al suelo. La reactivación de los ciclos biogeoquímicos podría estar en mejores posibilidades.

El patrón que se muestra es que la presencia de HE promueve la formación de macroagregados y la presencia de HMA promueve la formación de microagregados en el tándem *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya*.

La mayor concentración de fósforo se presenta en los pinos asociados a la leguminosa con la presencia de HMA. Los pinos control presentan la menor concentración de fósforo. La presencia de *Eysenhardtia polystachya*, se hace indispensable en este sistema para contribuir con el restablecimiento del ciclo del fósforo ya que es la especie que realiza la asociación simbiótica con los HMA, que son los que están contribuyendo a solubilizar el fósforo e incorporarlo a la biomasa de la planta, lo que podría tener beneficios directos para contribuir a la restauración de sitios severamente degradados con problemas de erosión y baja fertilidad de fósforo.

Finalmente, se pudo identificar que el conjunto de condiciones a las que son sometidas las plantas durante la germinación, propagación y trasplante son de vital importancia para su establecimiento, supervivencia y crecimiento. El desempeño de las plantas en condiciones de restauración, fue superior a las de la reforestación convencional. *Pinus pseudostrobus* tiene potencial para reforestar sitios severamente degradados con problemas de erosión y formación de cárcavas como es el caso este sitio de estudio. Estas reforestaciones tienen el potencial de ser una herramienta de restauración ecológica.

El sistema en tándem *Pinus pseudostrobus-Eysenhardtia polystachya* en presencia del HE *Pisolithus tinctorius*, pero sobre todo del HMA *Glomus intraradices* representa una estrategia para mejorar las condiciones de suelos altamente degradados, contribuyendo a mejorar la estructura del suelo mediante la agregación y restablecimiento del ciclo del fósforo, como consecuencia, un incremento de la productividad forestal y la restauración de la biodiversidad al crear condiciones propicias para el establecimiento de especies.

VIII. LITERARURA CITADA

- Ae, N., J. Arihara, K. Okada, T. Yoshihara y C. Johansen. 1990. Phosphorus uptake by pigeonpea and its role in cropping systems of the indian sub-continent. *Science* 248:477-480.
- Ae, N., J. Arihara y K. Okada. 1991. Phos-phorus uptake mechanisms of pigeonpea grown in alfisols and vertisols. p. 91-98. En: Phosphorus nutrition of grain legumes in the semi-arid tropics. ICRISAT, India.
- Allen, M. F., W. Swenson, J. I. Querejeta, L. M. Egerton-Warburton y K. K. Treseder. 2003. Ecology of mycorrhizae: A conceptual framework from complex interactions among plant and fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41:271-303.
- Allen, E. B. y M. E. Allen. 1986. Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizae and competition. *Nex Phytologist* 104:559-71.
- Ambriz, J. E. 2007. Efecto de la interacción de hongos micorrícicos en el crecimiento de la planta y formación de agregados en el suelo. Tesis de doctorado. Instituto de Investigaciones Químico biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 103 pp.
- André, S., A. Galiana, C. Le Roux, Y. Prin . M. Neyra y R. Duponnois. 2005. Ectomycorrhizal symbiosis enhanced the efficiency of inoculation with two Bradyrhizobium strains and Acacia holosericea growth. *Mycorrhiza* 15: 357–364.
- Augé, R. M., A. J. W. Stodola, J. E. Tims y A. M. Saxton. 2001. Moisture retention properties of amycorrhizal soil. *Plant and Soil.* 230(1):87-97.
- Aureoles-Celso, E. 2006. Efecto de la riqueza de especies de leguminosas sobre la capacidad de retener el suelo, bajo condiciones de restauración ecológica. Tesis de maestría. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. México. 88 pp.

- Axelrod, D. I. (1986) Cenozoik history of some western American Pines. *Annals, of the Missouri Botanical garden* 73,565-641.
- Bar-Yosef, B. 1996. Root excretions and their environmental effects: influence on availability of phosphorus. p. 581-605. En: Y. Waisel, A. Eshel, y U. Kafkafi (Eds.): *Plant Roots: The Hidden Half*. 2da., Marcel Dekker, Nueva York.
- Bearden, B. N. 2001. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and soil water characteristics of vertisols. *Plant and Soil*. 229:245-258.
- Bidwell, R. G. S. 1990. *Fisiología vegetal*. 1ra ed. A.G.T. Editor, S.A. México D.F., 784 pp.
- Borbor-Cordova, M.J., E.W. Boyer, W. H. Mc Dowell y C. A. Hall. 2006. Nitrogen and phosphorous budgets for a tropical watershed impacted by agricultural land use: Guayanas, Ecuador. *Biogeochemistry* 79:135-161.
- Bradshaw, A. 2000. The use of natural processes in reclamation advantages and difficulties. *Landscape and Urban Planning* 51:89-100.
- Bücking, H. 2004. Phosphate absorption and efflux of three ectomycorrhizal fungi as affected by external phosphate, cation and carbohydrate concentrations. *Mycol.Res.*108 (6):599-609.
- Calderas, M.1998. Balance hidrológico y medición del gasto de manantiales en la microcuenca de Atécuaro municipio de Morelia Mich. México. Proyecto de tesis de licenciatura UMSNS. México. pp 23.
- Cejas, G. R. 1998. Diagnostico participativos para un plan de desarrollo integral de la microcuenca hidrográfica de Atécuaro, en el municipio de Morelia Michoacán. Tesis de licenciatura Facultad de Biología UMSNH. México. pp13- 14.
- Clark, R. B. y Zeto, S. K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition*. 23:867-902.
- Díaz-Zorrilla, M. E. y J. H. Perfect Grove. 2002. Disruptive methods for assessing soil structure. *Soil and Tillage Research* 64: 3-22.

- García, R. 1994. Diagnostico sobre el estado actual de la erosión en México. pp.19-14.
- García-Oliva, F. 2005. Algunas bases del enfoque ecosistémico para la restauración. En Sánchez, O, E. Peters, R. Márquez-Huitzil, E. Vega, G. Portales, M. Valdés y D. Azuara (eds). Temas sobre restauración ecológica. Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto de Ecología, U.S. Fish and Wildlife Service, Unidos para la conservación A. C. México. pp. 101-111.
- García-Oliva, F., R. L. Sanford Jr. y E. Kelly. 1999. Effects of Slash-and-burn Management on Soil Agrégate Organic C and N in a tropical Deciduos Forest. *Geoderma* 88:1-12.
- Gelbrecht J., H. Lengsfeld, R. Pothig y D. Opitz. 2005. Temporal and spatial variation of phosphorus input, retention and loss in a small catchment of NE Germany. *Journal of Hydrology* 304:151–165.
- Hardie, K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrizal plants. *New phytologist* 101:677-84.
- Hardwick, K., J. Hearley, S. Elliott, N. Garwood, y V. Anusarsunthorn. 1997. Understanding and assisting natural regeneration processes in degraded seasonal evergreen forest in northern Thailand. *Forest Ecology and Management* 99:203-214.
- Hekstra, A. 1996. Sustainable nutrient management in agriculture. ECOSCRIPT-57 Foundation for Ecodevelopment, Amsterdam. 43 p.
- Hobbs, R. J. y D. A. Norton, 1996. Towards a conceptual framework for restoration ecology. *Restoration Ecology* 4:93-110.
- INEGI, SEMARNAP. CP.1982.Mapa de suelo dominante FAO/UNESCO/ISRIC. 1998.
primera aproximación.
- Jama, B. C. A. Palm, R. J. Buresh, A. Niang, C. Gachengo, G. Nziguheba y B. Amadalo. 2001. *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya: A review. *Agroforestry Systems* 49: 201–221.

- Junk, A., B. Seeling y J. Gerke. 1993. Mobilization of different phosphate fractions in the rhizosphere. p. 95-98. En: N.J. Barrow (Ed.) Plant nutrition-from genetic engineering to field practice. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Lichtenthaler, H. K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. In: Packer, L. Douce, R. (Eds.), Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes, Vol. 148. Academic Press, San Diego, California, pp. 350-382.
- Lindig-Cisneros, R. A. Blanco-García y C. Sáenz. 2005. Estrategias para la restauración ecológica de bosques. Biológicas. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Num. 7 México. pp. 18-29.
- Lutgen, E. R. y Rillig, M. C. 2004. Influence of spotted knapweed (*Centaurea maculosa*) management treatments on arbuscular mycorrhizae and soil aggregation. *Weed Science*. 52:172-177.
- Marschner, H. y B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159:89-102.
- Mc Grath, D. A., M. L. Duryea y W. P. Cropper. 2001. Soil phosphorus availability and fine root proliferation in Amazonian agroforests 6 years following forest conversion. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83: 271–284.
- Molles Jr., M. C. *Ecología, Conceptos y aplicaciones*. 2005. 3° edición. Editorial Mc Graw-Hill. Interamericana. 674 pp.
- Nebel, B. J. y R. T. Wright. 1999. *Ciencias Ambientales*. 6° edición. Editorial Pearson. Educación Prentice Hill. México. 148 pp.
- Nobrega, J. C. A., J. M. de Lima, N. Curi, J. O. Siqueira y P. E. F. da Motta. 2001. Aggregate stability in two cropped and no-cropped Oxisols as affected by phosphate addition and mycorrhiza. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 36.

- Oberson, A, D. K. Friesen, I. M. Rao, S. Buehler y E. Frossard. (2001) Phosphorus transformations in an oxisol under contrasting land-use systems: the role of the soil microbial biomass. *Plant Soil* 237:197–210.
- Oliet, J. A., R. Planelles, F. A., Douglass y F. Jacobs. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management* 215: 339–351.
- Pancarte-Barrera, A. 1990. Manual para el establecimiento y evaluación de ensayos de especies y procedencias. Boletín Técnico 4. Chapingo, México, Centro de Genético Forestal. 36p.
- Piotrowski, J. S., T. Denich, J. N. Klironomos, J. M. Gram y M. C. Rilling. 2004. The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist*. 164: 365-373.
- Quoreshi, A. M. y V. R. Timmer. 2000. Early outplanting performance of nutrient-loaded containerized black spruce seedlings inoculated with *Loccacia bicolor* a bioassay study. *Can. J. For. Res.* 30: 744-752.
- Rillig, M. C., S. F. Writh y V. Eviner. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant soil*. 238:325-333.
- Sáenz-Romero, C. y J. C. Soto-Correa. 2008. Ensayos para la selección de especies arbóreas. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (IIAF-UMSNH).
- Sáenz-Romero, C. y R. Lindig-Cisneros. 2004. Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita*. 37: 107-122.
- Salisbury, F. B. y C. W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. 4º edición. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 654 pp.

- Schüssler, A., D. Schwarzott y C. Walker. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Smith, R. L. y T. M. Smith. 2000. Ecología. 4° edición. Editorial Addison Wesley. España. 458 pp.
- Smith A. E. y D. J. Read. 2000. Mycorrhizal Symbiosis. Second Edition. Academic Press. 605 p.p.
- Smith, S. E. y F. A. Smith. 1990. Tansley Review No. 20. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport. 1990. *New Phytologist*. 114:1-38.
- Six, J., H. Bossuyt, S. Degryze y K. Denef. 2004. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & Tillage Research*. 79:7-31.
- Suding, K., K. L. Gross y G. R. Houseman. 2004. Alternative states and positive feedbacks in restoration ecology. *TRENDS in Ecology and Evolution* Vol.19 No.1 46.
- Sylvia, D. M. 1989. Nursey inoculation of sea oats with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and outplanting performance of Florida beaches. *J. Coast Res* 5:747-754.
- Sylvia, D. M., A. K. Alagely, M. E. Kane y N. L. Philman. 2003. Compatible host/mycorrhizal fungus combinations for micopropagated sea oats. *Mycorrhiza* 13: 177-183.
- Tamm, C. O. 1991. Nitrogen in terrestrial ecosystem. *Ecological Studies* 81:1-15.
- Tisdall, J. M. 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil*.159:115-121 Thomson, B.D.; Grove, T.S.; Malajczuk, N.; Hardy, G.E.St.J. 1994. The effectiveness of ectomycorrhizal fungi in increasing the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. in relation to root colonization and hyphal development in soil. *New Phytologist*. 126:517-524.

- Tisdall, J. M. y J. M. Oades. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33: 141-163.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y reforestación. Reporte técnico del proyecto 1084 CONABIO. Instituto de Ecología UNAM. México. 38 pp.
- Vitousek, P. M. 2004. Nutrient Cycling and limitation. Princeton University press. Oxford and Princeton. E.U.A. pp.233.
- Vitousek, P. M., O. A. Chadwick, T. Crews, J. Fownes, D. Hendricks y D. Herbert. 1997. Soil and ecosystem development across the Hawaiian Islands. *GSA Today* 7(9):1-8.
- Vitousek, P. M. y Howarth. 1991. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? *Biogeochemistry* 13: 87-115.
- Wilson, C. L. y W. E. Loomis. 1980. Botánica. 4th ed. Editorial. Hispanoamérica. México. pp. 653.
- Will R. E., D. Markewitz, R. L. Hendrick, D. F. Meason, T. R. Crocker y B. E. Borders. 2006. Nitrogen and phosphorous dynamics for 13-year-old loblolly pine stands receiving complete competition control and annual N fertilizer. *Forest Ecology and Management*. 227 : 155-168.
- Wullschleger, S. D. y C. P. P. Reid. 1990. Implication of ectomycorrhizal fungi in the cytokinin relations of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *New Phytologist*. 116:681-688.