



## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

## Contenido de nutrientes e inoculación con hongos ectomicorrízicos comestibles en dos pinos neotropicales

## Nutrient contents and inoculation with edible ectomycorrhizal fungi on two neotropical pines

VIOLETA CARRASCO-HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, JESÚS PÉREZ-MORENO<sup>1, \*</sup>, VICENTE ESPINOSA-HERNÁNDEZ<sup>2</sup>, JUAN J. ALMARAZ-SUÁREZ<sup>1</sup>, ROBERTO QUINTERO-LIZAOLA<sup>1</sup> & MARGARITA TORRES-AQUINO<sup>3</sup><sup>1</sup> Microbiología, Edafología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP 56230<sup>2</sup> Ecofisiología de la raíz, Edafología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP 56230<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, Agustín de Iturbide N° 73, Salinas de Hidalgo, Salinas, S.L.P., México, CP 78600

\*Autor correspondiente: jperezm@colpos.mx

## RESUMEN

Un alto porcentaje de mortalidad se presenta en plántulas de pinos que son trasplantados de vivero a campo, debido a que no poseen hongos ectomicorrízicos los cuales forman simbiosis obligada con las plantas de forma natural en los bosques. Estos hongos facilitan la absorción de nutrientes y agua, además de estimular su crecimiento. Debido a la importancia ecológica y fisiológica de los hongos ectomicorrízicos, el presente trabajo evaluó el efecto en crecimiento, peso seco, porcentaje de colonización y contenido de nutrientes de la inoculación de seis especies ectomicorrízicas comestibles de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma* en *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. y *P. pseudostrobus* Lindl., en condiciones de invernadero. Después de 397 días de la siembra se observó un efecto benéfico en el crecimiento de ambos pinos como resultado de la inoculación en términos de peso seco en parte aérea y radical, así como un mayor contenido de N, P y K. El porcentaje de micorrización en plantas inoculadas con las especies fúngicas varió de 57 % a 90 %. Cuando se efectuó inoculación combinada de especies ectomicorrízicas, se registró dominancia de una de las especies inoculadas, en términos de colonización radical. En estos tratamientos con inoculación simultánea, los efectos benéficos registrados en los hospederos fueron comparables a los observados cuando se inoculó de manera individual a las especies fúngicas dominantes. En función de los resultados encontrados se recomienda en el establecimiento de plantaciones forestales la inoculación de ambas especies de pinos con especies de hongos de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*.

**Palabras clave:** ectomicorriza, inóculo, N, P, *Pinus*.

## ABSTRACT

A high percentage of mortality appears in pine seedlings transplanted from nursery to field, due to the fact that they lack ectomycorrhizal fungi which form obligated symbiosis with plants in natural conditions in the forests. These fungi facilitate the absorption of nutrients and water, and therefore stimulate their growth. Due to the ecological and physiological importance of the ectomycorrhizal fungi, this work evaluated the effect in terms of growth, dry weight, percentage of colonization and nutrient content as a result of the inoculation with six edible ectomycorrhizal fungi within the genera *Laccaria* and *Hebeloma* on *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. and *P. pseudostrobus* Lindl. under greenhouse conditions. 397 days after sowing, it was observed a beneficial effect in terms of growth and dry weight of aerial and radical parts, as well as a higher contents of N, P and K of both pines as a result of the inoculation. The percentage of mycorrhization in plants inoculated with the fungi species ranged from 57 % to 90 %. When combined inoculation of ectomycorrhizal species was carried out, dominance of one of the inoculated species, in terms of root colonization, was observed. In these treatments with simultaneous inoculation, the beneficial effects reported in the hosts were comparable with those observed in plants inoculated exclusively with the dominant fungal species. According to the results, the inoculation of *P. patula* and *P. pseudostrobus* with fungal species of the genera *Laccaria* and *Hebeloma* is recommended in the establishment of forest plantations.

**Key words:** ectomycorrhiza, inoculum, N, P, *Pinus*.

## INTRODUCCIÓN

La ectomicorriza es una simbiosis que se establece entre hongos, principalmente Basidiomycetes y Ascomycetes y especies de árboles y arbustos, que incluyen tanto Gimnospermas como Angiospermas. Esta simbiosis tiene una enorme relevancia ecológica debido a su importancia en la estructura y funcionamiento de ecosistemas boreales, templados y tropicales (Pérez-Moreno & Read 2004, Smith & Read 2008), consecuencia de la ancestral coevolución entre los hongos y las plantas involucradas (Arnold et al. 2010, Peay et al. 2010). A través de su micelio externo, los hongos ectomicorrízicos son capaces de movilizar y transportar agua y nutrientes minerales como N, P, K, así como nutrientes poco accesibles tales como formas orgánicas de N y P. Diversas investigaciones han demostrado que, una parte importante de dichos nutrientes son movilizados del suelo o de sustratos orgánicos naturales a las plantas hospederas asociadas (Read & Pérez-Moreno 2003). Como intercambio en esta relación mutualista, las plantas proporcionan carbono fijado fotosintéticamente a sus hongos ectomicorrízicos asociados (Leake et al. 2004). Por esta razón la aplicación biotecnológica de los hongos ectomicorrízicos en los viveros forestales ha cobrado una gran importancia en la actualidad. En el caso específico del género *Pinus* se han encontrado efectos positivos, en términos de crecimiento y contenido de nutrientes, principalmente en diversas especies boreales, templadas o del mediterráneo como *Pinus sylvestris* L. (Jonsson et al. 2001), *P. pinaster* Aiton (Pera y Parladé 2005) y *Pinus pinea* L. (Rincón et al. 2001) consecuencia de la inoculación con especies ectomicorrízicas de dichas regiones incluidas en los géneros: *Suillus*, *Thelephora*, *Lactarius*, *Laccaria*, *Hebeloma*, *Paxillus* y *Xerocomus*.

Dentro de los hongos ectomicorrízicos con potencial para la colonización en viveros en los primeros estadios ontogénicos de plantas de importancia económica forestal, se encuentran especies de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*. Esto se debe a que ambos géneros poseen especies pioneras, que prosperan en condiciones de baja fertilidad y se asocian con una amplia variedad de hospederos (Cairney & Chambers 1999, Trocha et al. 2007, Obase et

al. 2009). Adicionalmente, en ambos géneros se incluyen hongos comestibles, el cual actualmente constituye uno de los criterios de selección multipropósito de los hongos ectomicorrízicos a ser utilizados en programas de inoculación forestal (Yun y Hall 2004). Sin embargo, a pesar de su gran interés por la variación inter (Guidot et al. 2005) e intraespecífica registrada, existen aspectos básicos que han recibido escasa atención tales como el efecto de la inoculación simple, y primordialmente combinada, con especies de dichos hongos ectomicorrízicos principalmente con árboles neotropicales. Esto a pesar de la gran importancia que tiene la aplicación de inóculos combinados, debido a la potencial diversidad funcional implícita, que poseen dichos inóculos.

La hipótesis planteada fue que la inoculación combinada con hongos ectomicorrízicos de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*, origina una competencia por colonización de las raíces de plantas del género *Pinus* y dominancia de una de las especies fúngicas inoculadas sobre las otras. Adicionalmente, se hipotetizó también que aún en este caso de inoculación múltiple es posible detectar también un efecto positivo, en términos de crecimiento y contenido de nutrientes en los hospederos, y que este efecto es originado por la especie ectomicorrízica dominante, dado que cuando esta se inocula individualmente produce un efecto benéfico equivalente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación simple y combinada de seis especies de hongos ectomicorrízicos comestibles de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma* en el crecimiento y contenido de nutrientes de dos especies de pinos neotropicales de gran importancia económica, *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. y *P. pseudostrobus* Lindl.

## MÉTODOS

*Preparación de inóculo e inoculación*

Las especies fúngicas fueron adquiridas en el mercado del poblado de Ozumba, Estado de México y se clasificaron de acuerdo a las principales características macro y microscópicas especificadas por Largent (1973), Largent et al. (1977) y Mueller (1992), como:

*Laccaria laccata*, *L. bicolor*, *L. proxima* (Boud.) Pat., *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Quel., *H. leucosarx* P. D. Orton y *H. alpinum* (J. Favre) Bruchet. El mercado de Ozumba es conocido en México, por ser una importante fuente de acopio y comercialización de hongos silvestres comestibles desde épocas prehispánicas (Pérez-Moreno et al. 2008). Debido a que la concentración de esporas se localiza en las láminas del píleo, se utilizaron exclusivamente los píleos, los cuales fueron deshidratados a una temperatura de 35 °C y posteriormente molidos. El inóculo fue conservado en viales con capacidad de 1.5 mL a una temperatura de 5 °C hasta su utilización.

Las semillas de *Pinus pseudostrubus* y *P. patula*, procedentes del cofre de Perote, Veracruz, fueron esterilizadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 30 %. Se utilizaron tubetes de plástico negro de 140 mL los cuales se lavaron y desinfectaron con alcohol previo a su llenado con el sustrato. El sustrato utilizado consistió en una mezcla de arena-corteza-suelo en proporción 2:2:1 el cual fue esterilizado con vapor de agua durante 24 h. Los tubetes se llenaron con el sustrato, dejando en la parte superior un espacio aproximadamente al 10 % del volumen para aplicar el inóculo y posteriormente se llenaron en su totalidad. Se colocaron cinco semillas de cada pino por tubete a una profundidad aproximada de 0.5 cm y se agregó una capa de granos finos de roca volcánica, conocida en México como "tezontle" (< a 0.5 cm de diámetro) en la superficie para cada tubete.

La germinación ocurrió tres semanas después de la siembra y se aplicó fungicida Captan en proporción de 2 g L<sup>-1</sup>, cada tercer día hasta que el tallo estuvo lignificado a fin de evitar el "damping off" (enfermedad comúnmente ocasionada por un complejo de hongos del suelo donde se encuentran *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. y *Fusarium* spp. según Lin et al. 2002). A cada planta se le inoculó con alrededor de 10<sup>6</sup> a 10<sup>8</sup> esporas, de acuerdo con las especies fúngicas consideradas para cada tratamiento. Las plantas permanecieron en condiciones de invernadero durante 397 días, regándose cada tercer día con agua purificada. Con el objetivo de controlar el esparcimiento de esporas entre los diferentes tratamientos se diseñaron prototipos "ex profeso" en los cuales los tubetes se colocaron en bandejas y se les acondicionó en la parte superior una estructura plástica, y en la parte inferior se colocó un recipiente para captación del agua de riego (Fig. 3A). Estos dispositivos experimentales controlaron de forma muy eficiente, la "contaminación cruzada" entre tratamientos.

#### Diseño experimental

El diseño experimental se ajustó a un modelo en bloques al azar, con diez tratamientos para cada especie de *Pinus*. Los tratamientos consistieron en inocular a *Pinus patula* y *P. pseudostrubus*, con diferentes especies de hongos por separado y en combinación (Tabla 1). Para cada tratamiento estudiado se inocularon diez pinos por especie, lo cual generó en total 200 unidades experimentales, incluyendo testigos sin inocular.

#### Cuantificación y caracterización de las raíces

Se efectuaron mediciones de altura y diámetro del cuello de la raíz (DCR) a los 397 días después de la siembra a diez pinos por especie. Al mismo tiempo se

realizó muestreo destructivo de tres pinos por tratamiento y especie, para su análisis del porcentaje de raíces cortas: vivas, micorrizadas vivas y muertas, posteriormente los pinos fueron secados para evaluar el peso seco de la parte aérea y radical. A dichas muestras se les determinó el contenido de N, P y K total en parte aérea y raíz, respectivamente. La evaluación de N, se realizó por el método semimicrokjeldahl (Bremner 1975) y P por colorimetría Olsen y K por fotometría de flama, según Chapman & Parker (1986).

TABLA 1

Combinaciones de especies fúngicas en los tratamientos evaluados para *Pinus patula* y *P. pseudostrubus*.

Combination of fungal species in the treatments evaluated in *Pinus patula* and *P. pseudostrubus*.

Número del tratamiento	Especie ectomicorrízica	Clave de referencia
1	Testigo (sin hongo)	T
2	<i>Laccaria laccata</i>	L1
3	<i>Laccaria bicolor</i>	Lb
4	<i>Laccaria proxima</i>	Lp
5	<i>Hebeloma mesophaeum</i>	Hm
6	<i>Hebeloma alpinum</i>	Ha
7	<i>Hebeloma leucosarx</i>	Hl
8	L1 + Lb + Lp §	3L
9	Hm + Ha + Hl §	3H
10	L1 + Lb + Lp + Hm + Ha + Hl §	3L + 3H

§ L1=*Laccaria laccata*; Lb=*Laccaria bicolor*; Lp = *Laccaria proxima*; Hm=*Hebeloma mesophaeum*; Ha=*Hebeloma alpinum*; Hl=*Hebeloma leucosarx*.

El sistema radical se remojó durante 24 h, posteriormente se retiró la parte aérea del pino y se enjuagó cuidadosamente la raíz, la cual fue dividida en tres áreas iguales: superior, media e inferior. Después se extendió la raíz de cada área y se cortaron segmentos de 5 cm, de estos se seleccionaron al azar algunos para su posterior observación en el estereoscopio. Por cada área se contaron 200 raíces cortas, por lo que en total se contabilizaron 600 raíces cortas por especie de *Pinus*. El procedimiento llevado a cabo fue una modificación de la metodología seguida por Guerin et al. (2003), cuya cuantificación se realizó 397 días después de la siembra.

Se analizaron las características morfológicas y anatómicas más comunes de las raíces cortas micorrizadas para cada especie tales como: longitud, diámetro, color, tipo de ramificación, forma de las puntas no ramificadas, textura y anatomía externa del manto de las micorrizas. El procedimiento se realizó de acuerdo al Sistema de información para caracterización y determinación de ectomicorrizas (Agerer & Rambold 2009). Se tomaron fotomicrografías en un estereoscopio Leica EZ4 a las raíces cortas micorrizadas en mejor estado y se observaron las características distintivas de cada especie (Fig. 3E).

## Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza en un diseño completamente aleatorio. Cuando existieron diferencias entre tratamientos para las variables respuestas analizadas, se realizaron las pruebas de comparación de medias, Tukey con un  $\alpha = 0.05$  con el programa Statistical Analysis System (SAS 1999). Las variables independientes en la presente investigación fueron las especies de pinos y las especies de hongos inoculados y las variables dependientes fueron peso seco de la parte aérea, radical y total, altura, diámetro del cuello de la raíz, porcentaje de colonización micorrízica y contenido de N, P y K en parte aérea, raíz y planta total.

## RESULTADOS

En general, el peso seco aéreo, radical y total fue mayor en plantas inoculadas en comparación con plantas no inoculadas para ambas especies de *Pinus*, independientemente de la especie de hongo involucrado (Figs. 1,

3B, 3C, 3D y Tabla 9). En el caso de *P. patula* se observó el mayor peso seco de la parte aérea en las plantas inoculadas con *H. leucosarx* en comparación con las plantas inoculadas con las otras especies de hongos simbios (Fig. 1A). Una tendencia distinta se observó en el peso seco de la raíz y total de *P. patula*, en donde los mayores valores fueron registrados en plantas inoculadas en combinación con las tres especies de *Laccaria* y *Hebeloma*, simultáneamente (Figs. 1B y 1C).

A diferencia de lo observado en *P. patula*, en el caso de *P. pseudostrobus* no existieron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), tanto en parte aérea, radical y total entre las plantas inoculadas con las diferentes especies de hongo (Figs. 1D, 1E, 1F y Tabla 9).

La altura de *P. patula* inoculadas fue mayor, independiente de la especie de hongo ( $P \leq 0.05$ ) (Fig. 2 y Tabla 10). Una tendencia similar

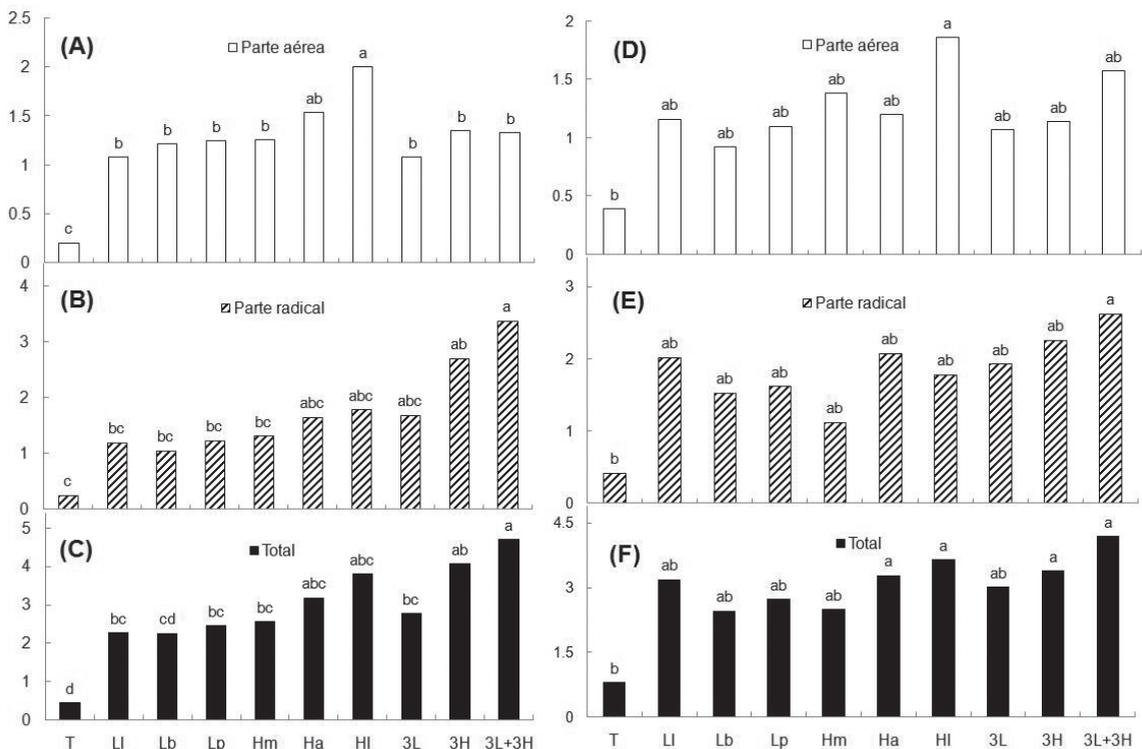


Fig. 1: Peso seco de *Pinus patula* (A, B, C) y *Pinus pseudostrobus* (D, E, F), 397 días después de la siembra inoculados con seis especies de hongos ectomicorrízicos de los géneros *Hebeloma* y *Laccaria*. Valores con la misma letra en la parte superior de las barras, para cada variable en cada pino, son iguales según Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Las abreviaturas corresponden a las señaladas en la Tabla 1.

Dry weight of *Pinus patula* (A, B, C) and *Pinus pseudostrobus* (D, E, F), 397 days after sowing inoculated with six species of ectomycorrhizal fungi of the genera *Hebeloma* and *Laccaria*. Values with the same letter above of the bars, for each variable in each pine, are equal according to Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). The abbreviations are those indicated in Table 1.

se observó en *P. pseudostrobus*, a excepción de las plantas inoculadas con *L. bicolor*. En ambas especies de pinos los valores máximos en alturas se registraron en plantas inoculadas con *H. leucosarx* (Fig. 2).

Ambas especies de *Pinus* tuvieron mayor ( $P \leq 0.05$ ) diámetro del cuello de la raíz (DCR) cuando fueron inoculadas en comparación con plantas no inoculadas, independientemente de la especie de hongo involucrado (datos no mostrados). Los valores del diámetro del cuello de la raíz variaron de 2.2 a 3.3 mm en plantas inoculadas y de 1.5 a 2.2 mm en plantas no inoculadas. Sin embargo, no existieron diferencias ( $P \leq 0.05$ ) entre pinos inoculados con las diferentes especies de hongos.

La colonización micorrízica solo se observó en plantas inoculadas con la especie de hongo respectivo. En términos generales, los valores de colonización micorrízica fueron superiores a 50 % para la mayoría de los tratamientos inoculados (Tabla 2 y 6). En *P. patula* el valor más alto en porcentaje de colonización (90.3 %), se encontró en pinos inoculados simultáneamente con las tres especies de *Laccaria* (Tabla 2). En el caso de *P. pseudostrobus*, el valor con el máximo porcentaje de colonización, se encontró en la inoculación de *L. proxima* (Tabla 2). Sin embargo, en *P. pseudostrobus* también se observaron valores muy altos de colonización

cuando se inoculó con *L. laccata* y en la inoculación simultánea con las tres especies de *Laccaria* (Tabla 2). Los valores de raíces muertas para ambas especies de *Pinus*, variaron de 2 a 19 %, dependiendo de las especies de hongos involucrados (Tabla 2).

En el caso de las plantas de *P. patula* que fueron inoculadas simultáneamente con las tres especies de *Hebeloma*, se observó que predominó la colonización por *H. leucosarx* y *H. alpinum*, sobre *H. mesophaeum*. En el caso de *P. pseudostrobus*, inoculados con las tres especies de *Hebeloma*, la colonización con *H. alpinum*, se encontró en mayor porcentaje ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a *H. leucosarx*, no encontrándose morfotipos de *H. mesophaeum* (Tabla 3 y 7).

En el caso de la inoculación simultánea con las tres especies de *Laccaria*, en ambas especies de *Pinus* se observó en mayor porcentaje ( $P \leq 0.05$ ), la colonización por *L. proxima* seguida de *L. laccata* y *L. bicolor* en el caso de *P. patula*. En *P. pseudostrobus* no se encontró ningún morfotipo de *L. laccata* (Tabla 3 y 7). Finalmente en la inoculación simultánea con las tres especies de *Laccaria* y *Hebeloma*; las únicas especies que se encontraron fueron las del género *Hebeloma*. En *P. patula*, se observaron los valores mas altos para *H. leucosarx* y *H. alpinum* (Tabla 3). Una tendencia similar se observó en *P.*

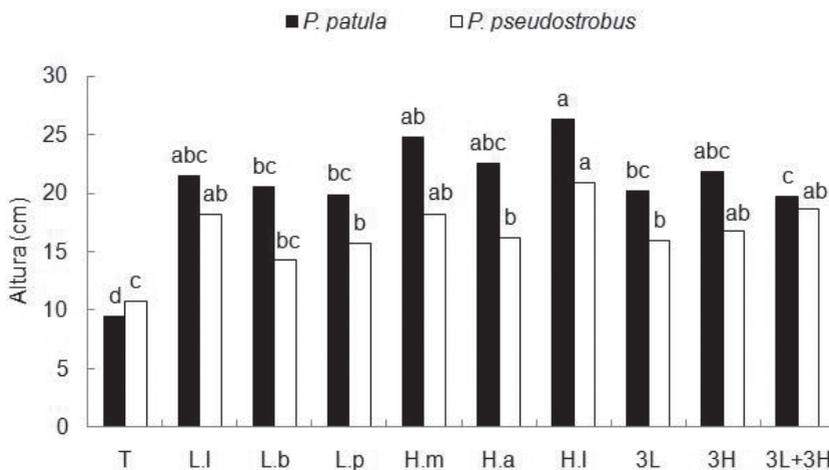


Fig. 2: Altura de *Pinus patula* y *P. pseudostrobus* 397 días después de la siembra. Valores con la misma letra no presenta diferencias significativas Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).  $n = 10$ . Las abreviaturas en el eje x corresponden a las señaladas en la Tabla 1.

Height of *Pinus patula* and *P. pseudostrobus* 397 days after sowing. Values with the same letter above of the bars for each pine, are equal according to Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).  $n = 10$ . The abbreviations in the x-axis correspond to those shown in Table 1.

*pseudostrobis*, a excepción de que en este pino no se encontraron morfotipos de *H. mesophaeum* (Tabla 3).

En *P. patula* se observó en términos generales una mayor concentración de N, P y K total en plantas inoculadas en comparación con las no inoculadas. Una tendencia diferente se encontró en *P. pseudostrobis*, debido a que en la mayoría de los tratamientos inoculados con alguna especie fúngica no existió diferencia ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a las plantas no inoculadas.

El contenido total de N, P y K en *P. patula* que fueron inoculados con al menos una especie fúngica fue generalmente superior en los tratamientos inoculados con especies fúngicas con respecto a las plantas no inoculadas (Tabla 4). El N total de *P. patula*,

en las plantas no inoculadas fue menor ( $P \leq 0.05$ ), con respecto a las plantas inoculadas con cualquier especie fúngica a excepción de *H. mesophaeum* (Tabla 4 y 8). Una tendencia similar se encontró en K, debido a que se encontró diferencia estadística entre las plantas no inoculadas y las inoculadas, independientemente de la especie fúngica. En cuanto al P total de *P. patula*, se observó que las plantas no inoculadas y la inoculación simultánea con las tres especies de *Laccaria* tuvieron diferente efecto ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los tratamientos restantes (Tabla 4 y 8). En el caso de *P. patula* los valores más altos en concentración de K se registraron en la parte aérea. En términos generales, los tratamientos con mayor valor de N, P y K total en *P. patula*, fueron las plantas inoculadas en

TABLA 2

Porcentaje de raíces cortas micorrizadas, no micorrizadas y muertas, 397 días después de la siembra en *Pinus patula* y *P. pseudostrobis* inoculados con seis hongos ectomicorrízicos de los géneros *Hebeloma* y *Laccaria*. Para cada especie de pino, no hay diferencias significativas por columna para letras iguales de acuerdo a Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Percentage of mycorrhizal, non-mycorrhizal and dead short roots, 397 days after sowing in *Pinus patula* and *P. pseudostrobis* inoculated with six ectomycorrhizal fungi of the genera *Hebeloma* and *Laccaria*. Different letters in columns, for each pine species, indicate significant differences (Tukey  $\alpha = 0.05$ )

Tratamientos	Vivas (%)		Muertas (%)
	Micorrizadas	No micorrizadas	
<i>Pinus patula</i>			
Sin hongo (Testigo)	0 d	97.7 a	2.3 b
<i>Laccaria laccata</i> (Ll)	71.8 ab	23.2 cd	5.0 ab
<i>Laccaria bicolor</i> (Lb)	84.9 ab	13.5 d	1.7 b
<i>Laccaria proxima</i> (Lp)	70.7 ab	26.1 cd	3.2 b
<i>Hebeloma mesophaeum</i> (Hm)	30.9 cd	65.8 b	3.3 b
<i>Hebeloma alpinum</i> (Ha)	52.7 bc	44.1 bc	3.1 b
<i>Hebeloma leucosarx</i> (Hl)	57.7 abc	22.8 cd	19.4 a
Ll + Lb + Lp (3L)	90.3 a	5.9 d	3.8 b
Hm + Ha + Hl (3H)	78.0 ab	14.7 cd	7.3 ab
3L + 3H	78.3 ab	10.7 d	11.0 ab
<i>Pinus pseudostrobis</i>			
Sin hongo (Testigo)	0 c	94.9 a	5.0 a
<i>Laccaria laccata</i> (Ll)	83.2 a	11.7 c	5.1 a
<i>Laccaria bicolor</i> (Lb)	61.4 ab	29.9 bc	8.7 a
<i>Laccaria proxima</i> (Lp)	89.6 a	6.7 c	3.6 a
<i>Hebeloma mesophaeum</i> (Hm)	40.4 b	46.8 b	12.8 a
<i>Hebeloma alpinum</i> (Ha)	51.7 b	36.2 bc	12.0 a
<i>Hebeloma leucosarx</i> (Hl)	63.6 ab	25.4 bc	11.0 a
Ll + Lb + Lp (3L)	88.8 a	8.0 c	3.2 a
Hm + Ha + Hl (3H)	85.5 a	10.7 c	3.9 a
3L + 3H	63.0 ab	33.5 bc	3.5 a

TABLA 3

Porcentajes de colonización micorrízica (total y por especie fúngica), según características morfoanatómicas en los tratamientos en los que se inoculó simultáneamente más de una especie fúngica en *Pinus patula* y *P. pseudostrobus*, 397 días después de la siembra. En cada columna no hay diferencias significativas para letras iguales de acuerdo a Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Percentage of mycorrhizal colonization (total and by fungal species), according to morphoanatomical characterization in treatments simultaneously inoculated with more than one fungal species in *Pinus patula* and *P. pseudostrobus*, 397 days after sowing. Different letters in columns indicate significant differences Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

Tratamiento*	Colonización micorrízica (%)					
	Total	<i>Pinus patula</i>		<i>Pinus pseudostrobus</i>		
		Por especie		Total	Por especie	
3H	78.0	50.1 a (Hl)		85.5	13.2 b (Hl)	
		4.8 b (Hm)				0 b (Hm)
		23.1 ab (Ha)				72.3 a (Ha)
3L	90.3	73.1 a (Lp)		88.8	88.3 a (Lp)	
		10.2 b (Ll)				0 b (Ll)
		7 b (Lb)				0.5 b (Lb)
3L + 3H	78.3	39.6 a (Hl)		63.0	28.9 a (Hl)	
		0.43 a (Hm)				0 b (Hm)
		38.3 a (Ha)				34.1 a (Ha)
		0a (Lp)				0 b (Lp)
		0a (Ll)				0 b (Ll)
		0a (Lb)				0 b (Lb)

\*= Para abreviaturas ver Tabla 1.

\*= Abbreviations are shown in Table 1.

TABLA 4

Contenido de nitrógeno, fósforo y potasio totales en *Pinus patula*, inoculados con seis especies de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*, 397 días después de la siembra.

Contents of total nitrogen, phosphorus and potassium in *Pinus patula*, inoculated with six species of *Laccaria* and *Hebeloma*, 397 days after sowing.

	N			P			K		
	P.a	P.r	Total	P.a	P.r	Total	P.a	P.r	Total
	mg								
Testigo	3.03 c	1.77 b	4.80 b	0 e	0.02 c	0.02 e	1.75 c	1.18 c	2.93 c
<i>L. laccata</i> (L.l)	8.39 ab	9.07 ab	17.47 a	0.76 bcd	0.48 bc	1.23 cd	4.85 bc	2.75 bc	7.60 b
<i>L. bicolor</i> (L.b)	7.75 ab	6.43 ab	14.17 a	1.21 a	0.83 b	2.04 ab	7.62 ab	6.12 a	13.74 a
<i>L. proxima</i> (L.p)	8.18 ab	7.73 ab	15.92 a	0.99 abc	0.62 bc	1.61 bc	8.18 ab	3.93 abc	12.11 a
<i>H. mesophaeum</i> (H.m)	6.36 bc	7.49 ab	13.84 ab	0.49 d	0.53 bc	1.02 cd	9.35 a	2.76 bc	12.10 a
<i>H. alpinum</i> (H.a)	10.19 a	9.68 ab	19.86 a	0.77 bcd	0.33 bc	1.10 cd	7.10 ab	2.63 bc	9.73 ab
<i>H. leucosarx</i> (H.l)	9.02 ab	8.74 ab	17.75 a	1 abc	0.72 bc	1.72 bc	7.41 ab	2.68 bc	10.09 ab
L.l + L.b + L.p (3L)	7.69 ab	9.05 ab	16.74 a	0.54 d	0.17 bc	0.71 de	6.07 ab	4.02 abc	10.09 ab
H.m + H.a + H.l (3H)	7.98 ab	14.09 a	22.07 a	1.08 ab	1.63 a	2.71 a	8.39 a	1.63 bc	10.02 ab
3L + 3H	6.9 ab	14.17 a	21.07 a	0.66 cd	1.69 a	2.35 ab	9.02 a	4.39 ab	13.40 a

En cada columna no hay diferencias significativas para letras iguales de acuerdo a Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). n = 3. P.a = parte aérea y P.r = parte radical.

combinación con las tres especies de *Hebeloma* y en 3L + 3H (Tabla 4).

En el caso de *P. pseudostrobus*, en términos generales existieron diferencias en el N, P y K total solo para algunos de los tratamientos de plantas inoculadas en relación a las no inoculadas. Tal fue el caso principalmente de las plantas inoculadas con *H. leucosarx* y con 3H o 3L + 3H (Tabla 5). La acumulación de N total en *P. pseudostrobus* fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) en *H. leucosarx*, *L. laccata* y en 3L + 3H, con respecto a las plantas no inoculadas (Tabla 5 y 8). En el caso del fósforo total en *P. pseudostrobus*, se observó una diferencia significativa entre las plantas no inoculadas con respecto a las plantas inoculadas con *H. leucosarx*, *H. alpinum* y en los tratamientos 3H y 3L + 3H. La mayor concentración de N se encontró en la parte radical, en comparación a la parte aérea, mientras que una tendencia contraria se observó en el caso de K (Tabla 5).

En el presente trabajo se observó la formación de esporomas de *Laccaria laccata* (Fig. 3F), un año y medio después de la

inoculación y adicionalmente, se observaron primordios de *Laccaria bicolor* en los tratamientos en los que se aplicó este hongo.

## DISCUSIÓN

Diversas investigaciones han demostrado un efecto benéfico, en términos de crecimiento y supervivencia, de la inoculación con hongos ectomicorrízicos individuales en plantas de vivero así como en el establecimiento de plantaciones experimentales (Smith & Read 2008). Dentro de las especies ectomicorrízicas evaluadas individualmente se encuentran miembros de los géneros *Hebeloma* y *Laccaria*, como por ejemplo la inoculación de *Pinus pinaster* Ait. con *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* (Pera & Parladé 2005) y *Laccaria bicolor* (Perrin et al. 1994, Parladé et al. 1997, 1999, Pera & Parladé 2005). También se ha probado la eficacia micorrízica de *Laccaria bicolor* en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Parladé & Álvarez 1993,

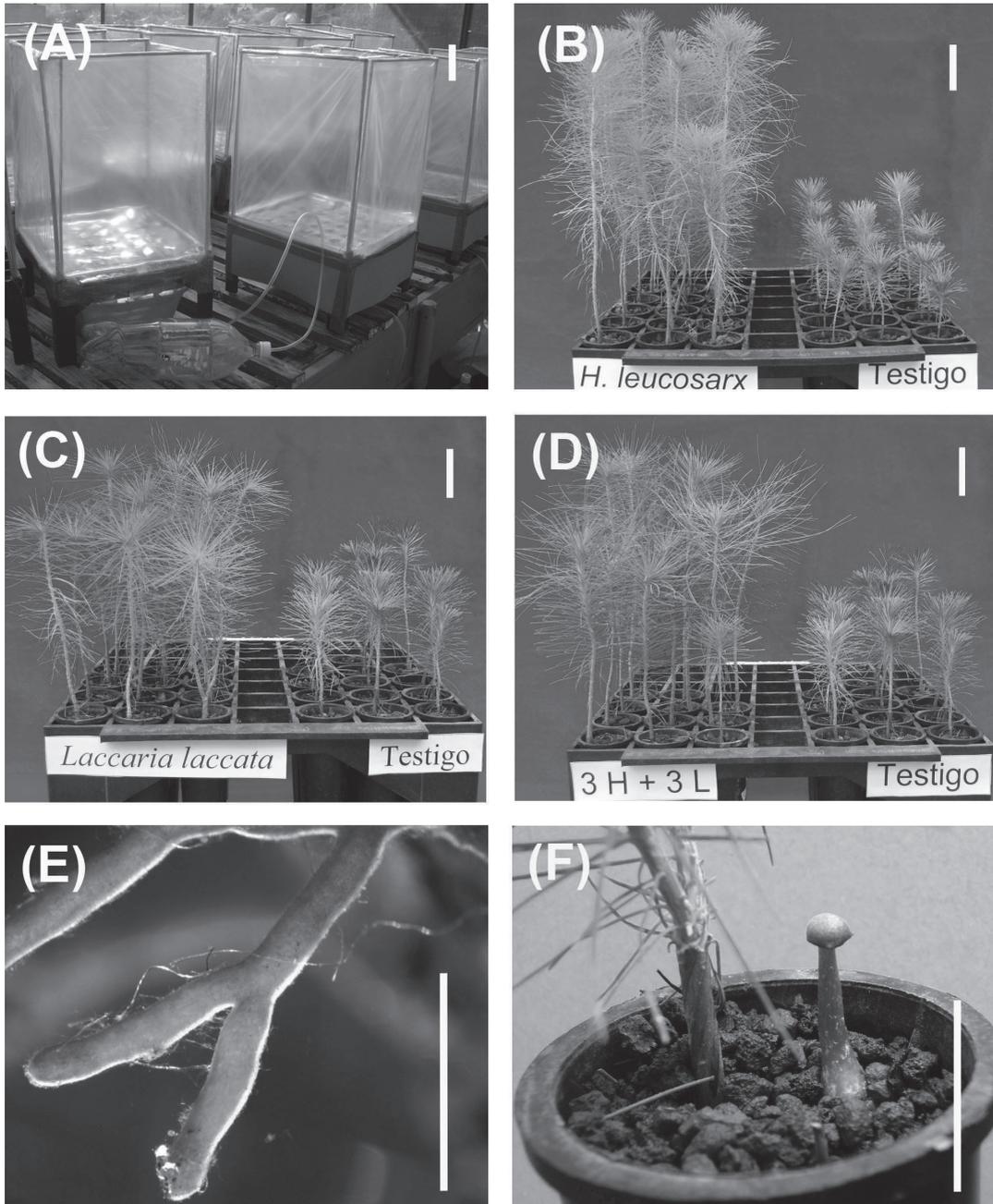
TABLA 5

Contenido de nitrógeno, fósforo y potasio totales en *Pinus pseudostrobus*, inoculados con seis especies de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma*, 397 días después de la siembra.

Contents of total nitrogen, phosphorus and potassium in *Pinus pseudostrobus*, inoculated with six species of *Laccaria* and *Hebeloma*, 397 days after sowing.

	N			P			K		
	P.a	P.r	Total	P.a	P.r	Total	P.a	P.r	Total
Testigo	3.13 b	2.86 b	5.99 b	0.15 c	0.04 c	0.19 c	2.43 b	1.30 b	3.74 b
<i>L. laccata</i> (L.l)	9.30 ab	13.96 a	23.24 a	0.58 bc	0.81 abc	1.39 abc	5.68 ab	2.23 ab	7.91 ab
<i>L. bicolor</i> (L.b)	6.93 ab	10.09 ab	17.02 ab	0.47 bc	0.46 bc	0.92 bc	5.63 ab	3.21 ab	8.85 ab
<i>L. proxima</i> (L.p)	8.60 ab	9.91 ab	18.51 ab	0.55 bc	0.82 abc	1.37 abc	7.28 ab	3.25 ab	10.53 ab
<i>H. mesophaeum</i> (H.m)	10.88 ab	10.62 ab	19.16 ab	0.55 bc	0.67 abc	1.22 bc	8.4 ab	3.13 ab	11.53 ab
<i>H. alpinum</i> (H.a)	7.32 ab	10.21 ab	17.53 ab	1.08 abc	1.05 ab	2.12 ab	6.36 ab	2.5 ab	8.86 ab
<i>H. leucosarx</i> (H.l)	15.99 a	11.41 ab	27.41 a	1.86 a	1.07 ab	2.93 a	12.27 a	2.49 ab	14.77 a
L.l + L.b + L.p (3L)	6.63 ab	12.18 ab	18.82 ab	0.43 bc	0.97 abc	1.39 abc	6.63 ab	5.03 a	11.66 ab
H.m + H.a + H.l (3H)	7.05 ab	10.62 ab	17.67 ab	1.36 ab	1.13 ab	2.49 ab	10.57 a	3.62 ab	14.19 a
3L + 3H	9.24 ab	14.17 a	23.41 a	0.79 abc	1.57 a	2.36 ab	7.68 ab	3.41 ab	11.09 ab

En cada columna no hay diferencias significativas para letras iguales de acuerdo a Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). n = 3. P.a = parte aérea y P.r = parte radical.



**Fig. 3:** Inoculación de *Pinus patula* y *P. pseudostrobus* con seis especies de *Hebeloma* y *Laccaria*. (A) Dispositivo experimental utilizado; (B) Efecto de *Hebeloma leucosarx* en *Pinus patula*; (C) Efecto de la inoculación de *Laccaria laccata* en *Pinus pseudostrobus*; (D) Efecto de la inoculación simultánea de tres especies de *Laccaria* y *Hebeloma* en *Pinus pseudostrobus*; (E) Micromorfología de la raíz corta ectomicorrizada con *Laccaria laccata* en *Pinus patula*; (F) Formación de esporomas de *Laccaria laccata* en *Pinus patula* año y medio después de la inoculación. Las barras blancas en la Fig. 3, corresponden a 2 mm (E), 2 cm (F), 4 cm (B, C y D) y 10 cm (A).

Inoculation of *Pinus patula* and *P. pseudostrobus* with six species of *Hebeloma* and *Laccaria* (A) Used experimental device; (B) Inoculation effect of *Hebeloma leucosarx* in *Pinus patula*; (C) Inoculation effect of *Laccaria laccata* in *Pinus pseudostrobus*; (D) Simultaneous inoculation effect of *Laccaria* and *Hebeloma* in *Pinus pseudostrobus*; (E) Micromorphology of ectomycorrhizal short roots with *Laccaria laccata* in *Pinus patula*; (F) Formation of sporangia of *Laccaria laccata* in *Pinus patula* one year and half after the inoculation. The white bars in Fig. 3, correspond to 2 mm (E), 2 cm (F), 4 cm (B, C and D) and 10 cm (A).



observaron efectos de competencia y dominancia de una de las especies inoculadas. Cuando se inocularon las tres especies de *Laccaria*, *L. proxima* fue la especie dominante. Cuando se inocularon las tres especies de *Hebeloma*, la especie dominante varió de acuerdo a la planta hospedera: *H. leucosarx* para *P. patula* y *H. alpinum* para *Pinus pseudostrobus*. Cuando se inocularon simultáneamente las seis especies de *Laccaria* y *Hebeloma*, las especies de *Hebeloma* suprimieron a las de *Laccaria*. En términos generales el efecto, en términos de crecimiento y de contenido nutrimental, originado en los pinos por las especies inoculadas fue similar al originado cuando estas especies fueron inoculadas de manera individual. Por esta razón, en términos generales la hipótesis planteada se aceptó y se consideró que el efecto benéfico originado en las plantas inoculadas simultáneamente con los hongos ectomicorrízicos evaluados puede atribuirse a las especies ectomicorrízicas dominantes. Sin embargo, existió una excepción en la que se observó un efecto sinérgico, ya que el contenido total de P de *Pinus patula* inoculado con las tres especies de *Hebeloma*, fue superior a cualquiera de los contenidos registrados en plantas inoculadas con las tres especies de *Hebeloma* individualmente.

La importancia de los hongos micorrízicos en la adquisición de N por las plantas ha sido demostrada claramente en el caso de los hongos ectomicorrízicos (Chalot et al. 2006) pero existe menos evidencia para otros tipos de micorriza como la arbuscular (Govindarajulu et al. 2005). Tradicionalmente, se ha considerado que la transferencia de N de células fúngicas a vegetales se efectúa en forma de glutamina en

el caso de la ectomicorriza (Chalot & Brun 1998) y como arginina, en el caso de micorriza arbuscular. Sin embargo, investigaciones recientes han indicado el potencial de una transferencia directa de amoníaco de células fúngicas a las células radicales de sus hospederos asociados (Chalot et al. 2006). Diversas investigaciones han reportado el incremento del contenido de N y P en plantas, debido a la inoculación con hongos ectomicorrízicos (Read & Pérez-Moreno 2003, Turjaman et al. 2006, Paul et al. 2007). Tibbet & Sanders (2002), registraron una concentración de 12 % de N y 8 % de P en plantas de *Salix* sp. micorrizadas con *Hebeloma* spp., comparadas con solo un 7 % de N y 1 % de P cuando las plantas no fueron inoculadas. Bandou et al. (2006) encontraron mayor concentración de K en plantas de *Coccoloba uvifera* L. inoculadas con *Scleroderma bermudense* Coker en comparación con las plantas no inoculadas. En el presente trabajo el contenido de N, P y K fue mucho mayor en plantas de *Pinus patula* inoculadas en comparación con las no inoculadas, independientemente de la especie de hongo empleado. En este sentido, se ha demostrado que los flujos de N, P y K dentro de las hifas fúngicas ectomicorrízicas, son interdependientes. Usualmente, cuando existe translocación de P, este se acumula en las vacuolas como polifosfatos, los cuales tienen cargas negativas. Como consecuencia se origina un desbalance electrónico, el cual facilita conspicuamente la transferencia de cationes como N (en forma de aminoácidos), K y Mg. De esta manera el flujo de cationes en el micelio de los hongos ectomicorrízicos está fuertemente ligado a la translocación de P (Jentschke et al. 2001). La mayor transferencia de N, P y K en plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos

TABLA 9

Cuadro resumido del ANDEVA para los datos de peso seco de la Fig. 1.

Summarized ANOVA results for dry weight data in Fig. 1.

	<i>Pinus patula</i>			<i>Pinus pseudostrobus</i>		
	P.a	P.r	P.t	P.a	P.r	P.t
P	< 0.0001	0.0004	< 0.0001	0.0368	0.0500	0.0104
F	15.03	6.12	10.73	2.59	2.39	3.43
g.l.	9	9	9	9	9	9

en comparación con plantas no inoculadas, encontradas en el presente trabajo, puede ser explicada en función de la habilidad de las hifas fúngicas para explotar parches de recursos, debido a su innata plasticidad fisiológica y morfológica, lo cual permite una exploración extensiva y una rápida colonización en el suelo (Pérez-Moreno & Read 2004, Read & Pérez-Moreno 2003). Por otra parte los hongos simbioses ectomicorrízicos de la planta, liberan cantidades significativas de enzimas como quitinasas, fosfatasas y proteasas (Tibbet & Sanders 2002). Esto permite que los residuos orgánicos sean aprovechados directamente para la obtención de N y P (Pérez-Moreno & Read 2001a, 2001b, 2004). Hasta donde conocemos el efecto de algunas de las especies estudiadas en el presente trabajo (específicamente *L. proxima*, *H. leucosarx* y *H. alpinum*), sobre el crecimiento y contenido de nutrientes de pinos no había sido estudiado. Sin embargo, se ha estudiado con profundidad los mecanismos de absorción y transporte de N, en otras especies de *Hebeloma*, principalmente *H. cylindrosporium* Romagn. (Marmeisse et al. 2004, Guidot et al. 2005, Müller et al. 2007).

En función de los resultados encontrados se considera de alto potencial la utilización de *Hebeloma leucosarx* y *Laccaria proxima* en programas de inoculación para *Pinus patula* y *P. pseudostrabus*, en vivero. Aunque en menor grado, las otras especies estudiadas también serían recomendables para inocular dichas especies de árboles. Sin embargo, es de fundamental importancia desarrollar investigación a futuro llevando a condiciones de campo las plantas inoculadas, para conocer cómo podrían afectar los factores edáficos bióticos y abióticos y las prácticas de manejo forestal a las especies de hongos y plantas estudiadas en el presente trabajo.

TABLA 10

Cuadro resumido del ANDEVA para los datos de altura de la Fig. 2.

Summarized ANOVA results for height data in Fig. 2.

	P	F	g.l.
<i>Pinus patula</i>	< 0.0001	16.19	9
<i>Pinus pseudostrabus</i>	< 0.0001	7.02	9

AGRADECIMIENTOS: El primer autor agradece el financiamiento del CONACyT por la beca otorgada. Se agradece el apoyo del proyecto FOMIX-VERACRUZ No. 108654 "Identificación, aislamiento y cultivo de hongos micorrízicos del Cofre de Perote, Veracruz, y pruebas de micorrización con plántulas de pino bajo condiciones controladas", por el financiamiento otorgado. Se agradece al Dr. Jorge Valdez Carrasco, por su amable asesoramiento en la toma de fotografías.

## LITERATURA CITADA

- AGERER R & G RAMBOLD (2009) DEEMY - An information system for characterization and determination of ectomycorrhizae. München, Germany (en línea) URL: <http://www.deemy.de/> (accedido Noviembre 10, 2009).
- ARNOLD AE, LJ LAMIT, MI BIDARTONDO, CA GEHRING & H CALLAHAN (2010) Interwoven branches of the plant and fungal trees of life. *New Phytologist* 185: 874-878.
- BANDOU E, F LEBAILLY, F MULLER, M DULORMNE, A TORIBIO et al. (2006) The ectomycorrhizal fungus *Scleroderma bermudense* alleviates salt in seagrape (*Coccoloba uvifera* L.) seedlings. *Mycorrhiza* 16: 559-565.
- BREMNER JM (1975) Total nitrogen. In: Black CA (ed) *Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy* 9: 1149-1178. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- CAIRNEY JW & SM CHAMBERS (eds) (1999) *Ectomycorrhizae fungi: Key genera in profile*. Ed. Springer, Berlin.
- CHAPMAN HD & FP PARKER (1986) *Métodos de análisis para suelos, plantas y agua*. Quinta reimpresión. Editorial Trillas, México, DF.
- CHALOT M & A BRUN (1998) Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas. *FEMS Microbiology Reviews* 22: 21-44.
- CHALOT M, D BLAUDEZ & A BRUN (2006) Ammonia: A candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends Plant Science* 11: 263-266.
- CHÁVEZ DM, CG PEREIRA & AH MACHUCA (2009) Efecto de tipos de inóculo de tres especies fúngicas en la micorrización controlada de plántulas de *Pinus radiata*. *Bosque* 30: 4-9.
- GOVINDARAJULU M, PE PFEFFER, H JIN, J ABUBAKER, DD DOUDS et al. (2005) Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435: 819-823.
- GUERIN LA, S CONVENTI, G RUIZ, C PLASSARD & D MOUSAIN (2003) The ectomycorrhizal symbiosis between *Lactarius deliciosus* and *Pinus sylvestris* in forest soil samples: Symbiotic efficiency and development on roots of a rDNA internal transcribed spacer-selected isolate of *L. deliciosus*. *Mycorrhiza* 13: 17-25.
- GUIDOT A, MC VERNER, JC DEBAUD & R MARMEISSE (2005) Intraspecific variation in use of different organic nitrogen sources by the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporium*. *Mycorrhiza* 15: 167-177.
- IWANSKI M, M RUDAWSKA & T LESKI (2006) Mycorrhizal associations of nursery grown Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings in Poland. *Annals of Forest Science* 63: 715-723.

- JENTSCHKE G, B BRANDES, AJ KUHN, WH SCHRÖDER & DL GODBOLD (2001) Interdependence of phosphorus, nitrogen, potassium and magnesium translocation by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *New Phytologist* 149: 327-337.
- JONSSON LM, DA NILSSON & O ZACHRISSON (2001) Context dependent effects of ectomycorrhizal species richness on tree seedling productivity. *Oikos* 93: 353-364.
- LARGENT DL (1973) How to identify mushrooms to genus I: Macroscopic features. Mad River Press Inc. Eureka, California.
- LARGENT DL, D JOHNSON & R WATLING (1977) How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features. Mad River Press Inc. Eureka, California.
- LEAKE J, D JOHNSON, D DONELLY, G MUCKLE, L BODDY & D READ (2004) Networks of power and influence: The role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* 82: 1016-1045.
- LIN TC, KT CHENG & JW HUANG (2002) Effect of clove and its major component on control of rhizoctonia damping-off of cabbage seedlings. *Plant Pathology Bull* 11: 189-198.
- MARMEISSE R, A GUIDOT, G GAY, R LAMBILLIOTTE, H SENTENAC et al. (2004) *Hebeloma cylindrosporium* - A model species to study ectomycorrhizal symbiosis from gene to ecosystem. *New Phytologist* 163: 481-498.
- MUELLER GM (1992) Systematics of *Laccaria* (Agaricales) in the continental United States and Canada, with discussions on extralimital taxa and descriptions of extant types. *Fieldiana: Botany* 30: 1-158. Field Museum of Natural History, Chicago. URL: [http://www.fieldmuseum.org/research\\_collections/botany/botany\\_sites/fungi/mushroom.html](http://www.fieldmuseum.org/research_collections/botany/botany_sites/fungi/mushroom.html) (accedido Diciembre 10, 2009).
- MÜELLER T, M AVOLIO, M OLIVI, M BENJIDIA, E RIKIRSCH et al. (2007) Nitrogen transport in the ectomycorrhiza association: The *Hebeloma cylindrosporium* - *Pinus pinaster* model. *Phytochemistry* 68: 41-51.
- OBASE K, Y TAMAI, T YAJIMA & T MIYAMOTO (2009) Mycorrhizal synthesis of four ectomycorrhizal fungi in potted *Populus maximowiczii* seedlings. *Mycoscience* 50: 143-145.
- PARLADE J & IF ÁLVAREZ (1993) Coinoculation of aseptically grown Douglas-fir with pairs of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 3: 93-96.
- PARLADE J, J PERA & IF ÁLVAREZ (1997) La mycorrhización controlada du Douglas dans le nord de l'Espagne: Premières résultats en plantation. *Revue Forestière Française* 49: 163-173.
- PARLADE J, IF ÁLVAREZ & J PERA (1999) Coinoculation of containerized Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) seedlings with the ectomycorrhizal fungi *Laccaria bicolor* and *Rhizopogon* spp. *Mycorrhiza* 8: 189-195.
- PAUL LR, BK CHAPMAN & CP CHANWAY (2007) Nitrogen fixation associated with *Suillus tomentosus* tuberculate ectomycorrhizae on *Pinus contorta* var. *latifolia*. *Annals of Botany* 99: 1101-1109.
- PEAY KG, MI BIDARTONDO & AE ARNOLD (2010) Not every fungus is everywhere: Scaling to the biogeography of fungal-plant interactions across roots, shoots and ecosystems. *New Phytologist* 185: 878-882.
- PERA J & J PARLADE (2005) Inoculación controlada con hongos ectomicorrízicos en la producción de planta destinada a repoblaciones forestales: Estado actual en España. *Investigación Agraria: Sistema y Recursos Forestales* 14: 419-433.
- PEREA-ESTRADA VM, J PÉREZ-MORENO, L VILLAREAL-RUIZ, A TRINIDAD-SANTOS, ML DE LA I DE BAUER, VM CETINA ALCALÁ & L TIJERINA-CHÁVEZ (2009) Humedad edáfica, nitrógeno y hongos ectomicorrízicos comestibles en el crecimiento de pino. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 93-102.
- PÉREZ-MORENO J & DJ READ (2001a) Exploitation of pollen by mycorrhizal mycelial systems with special reference to nutrient recycling in boreal forests. *Proceedings of the Royal Society of London* 268: 1329-1335.
- PÉREZ-MORENO J & DJ READ (2001b) Nutrient transfer from soil nematodes to plants: A direct pathway provided by the mycorrhizal mycelial network. *Plant Cell and Environment* 24: 1219-1226.
- PÉREZ-MORENO J & DJ READ (2004) Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia* 29: 239-247.
- PÉREZ-MORENO J, M MARTÍNEZ-REYES, A YESCAS-PÉREZ, A DELGADO-ALVARADO & B XOCONOSTLE-CÁZARES (2008) Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Botany* 62: 425-436.
- PERRIN R, J PERA & J PARLADE (1994) Réceptivité des sols forestiers à l'association ectomycorrhizienne. Application à la définition de la compétence écologique de souches sélectionnées. *Acta Botanica Gallica* 141: 541-545.
- READ DJ & J PEREZ-MORENO (2003) Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - A journey towards relevant? *New Phytologist* 157: 475-492.
- RINCON A, IF ÁLVAREZ & J PERA (2001) Inoculation of containerized *Pinus pinea* L. seedlings with seven ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 11: 265-271.
- SAS INSTITUTE (1999) SAS User's guide. Version 8e. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- SMITH SE & DJ READ (2008) Mycorrhizal symbiosis. Third edition. Academic Press, New York, USA.
- SUDHAKARA-REDDY M & K NATARAJAN (1997) Coinoculation efficacy of ectomycorrhizal fungi on *Pinus patula* seedlings in a nursery. *Mycorrhiza* 7: 133-138.
- TIBBETT M & FE SANDERS (2002) Ectomycorrhizal symbiosis can enhance plant nutrition through improved access to discrete organic nutrient patches of high resource quality. *Annals of Botany* 89: 783-789.
- TROCHA LK, J OLEKSYN, E TURZANSKA, M RUDAWSKA & PB REICH (2007) Living on the edge: Ecology of an incipient *Betula*-fungal community growing on brick walls. *Trees* 21: 239-247.
- TURJAMAN M, Y TAMAI, H SEGHAH, SH LIMIN, M OSAKI & K TAWARAYA (2006) Increase in early growth and nutrient uptake of *Shorea seminis*

seedlings inoculated with two ectomycorrhizal fungi. *Journal of Tropical Forest Science* 18: 243-249.

YUN W & IR HALL (2004) Edible ectomycorrhizal mushrooms: Challenges and achievements. *Canadian Journal of Botany* 82: 1063-1073.

*Editor Asociado: Javier Figueroa*

*Recibido el 9 de marzo de 2010; aceptado el 14 de enero de 2011*