

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS



EFFECTO ECTOMICORRIZICO DE *Astraeus hygrometricus* (Morgan,
1889) EN *Pinus engelmannii* (Carriere, 1854) CON FINES DE
REFORESTACIÓN

POR

CRYSTAL QUIROZ CARVAJAL

TESIS

LICENCIATURA EN BIOLOGIA.

CIUDAD JUÁREZ CHIH.

MAYO, 2023

EFFECTO ECTOMICORRIZICO DE *Astraeus hygrometricus* EN
Pinus engelmannii CON FINES DE REFORESTACIÓN.

POR

CRYSTAL QUIROZ CARVAJAL

TESIS

Mirslava Quiñonez Martínez

DRA. MIROSLAVA QUIÑÓNEZ MARTÍNEZ
DIRECTORA DE LA INVESTIGACIÓN

Mirslava Quiñonez Martínez

M. EN C. ABRAHAM AQUINO CARREÑO
COORDINADOR(A) DEL PROGRAMA

Abraham Aquino Carreño

DR. JOSE ALBERTO LÓPEZ DÍAZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO

Jose Alberto Lopez Diaz

C.D. SALVADOR D. NAVA MARTÍNEZ
DIRECTOR DEL INSTITUTO

MAYO, 2023.

DEDICATORIA

A mi tito; por influir en mí de manera positiva, alentarme a ser siempre la mejor versión de mí, amar la vida y enseñarme a nunca darme por vencida; nos abrazaremos de nuevo en otra vida.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a la Dra. Miroslava Quiñónez por permitirme formar parte de un proyecto tan bonito, guiarme y darme las herramientas adecuadas para concluir esta etapa de mi vida y al Maestro Alejandro Nájera por apoyarme durante todo el proceso. A mi madre Ivette y a mi padre Sergio, por darlo todo por mí; permitirme elegir el camino que más me hace feliz, guiarme cuando lo necesitaba y no dejar que me rindiera nunca; sin ellos, este logro personal no sería posible, también a mi hermano por darme una razón para ser un buen ejemplo, a mis abuelitos por su amor y cariño que me levantaba cada vez que me sentía triste, así mismo a mis tíos Gerardo y Luis, que siempre me dieron ánimos para seguir adelante. Sin olvidar hacer mención, a mis amigos de la carrera por formar parte de una de las etapas más bonitas de mi vida, en especial a Leonel, Hugo, Corina, Naomi y Lizbeth. Ustedes muchas veces fueron la razón por la cual seguía adelante. Al igual que Evelyn y Adrián por hacer este camino más ameno. Del mismo modo a Jesús Meraz, por estar a mi lado incondicionalmente y por darme un propósito más para mejorar como persona en todos los aspectos. Por añadidura a Pituca por despedirme y recibirme todos los días con una colita feliz.

RESUMEN

Se evaluaron medidas morfométricas de parámetros establecidos para plántulas de *Pinus engelmannii* inoculadas con diferentes tratamientos; maíz, melin, positivo y el grupo control, a diferentes dosis (5, 15, 30 y 45 ml) de la ectomicorriza *Astraeus hygrometricus* con fines de aportar a proyectos de reforestación, utilizando una técnica de inoculación directa cada tres meses por un periodo de nueve meses, realizando las mediciones predeterminadas cada mes, las cuales se mantuvieron registradas para eventualmente poder obtener un análisis estadístico que ayudo a entender mejor la relación de la dosis y los tratamientos con las medidas obtenidas cada mes, en cual se finalizó tomando en cuenta variables como el porcentaje de supervivencia, micorrización y caracterización de la raíz y las micorrizas obtenidas. Los resultados mostraron como la inoculación de los tratamientos si sirve como ayuda en sobrevivir condiciones adversas, y se manifiesto en las mediciones morfométricas realizadas aunado de las observaciones de las raíces micorrizadas de cada tratamiento con su respectiva dosis por otro lado factores como el agua y la temperatura pueden tener un efecto en cuanto a la supervivencia y cambios morfológicos de la plántula como manera de sobrevivir al estrés hídrico y son factores que deben ser tomados en cuenta para futuros trabajos similares a este.

ABSTRACT

Morphometric measurements of established parameters for *Pinus engelmannii* seedlings inoculated with different treatments were evaluated; corn, melin, positive and the control group, at different doses (5, 15, 30 and 45 ml) of the ectomycorrhiza *Astraeus hygrometricus* with the purpose of contributing to

reforestation projects, using a direct inoculation technique every 3 months for a period of 9 months, making the predetermined measurements each month, which were kept registered to eventually be able to obtain a statistical analysis that helped to better understand the relationship of the dose and the treatments with the measurements obtained each month, in which it was finalized taking into account variables such as the percentage of survival, mycorrhization and characterization of the root and mycorrhizae obtained. The results showed how the inoculation of the treatments does help to survive adverse conditions, and it is manifested in the morphometric measurements made together with the observations of the mycorrhized roots of each treatment with their respective dose, on the other hand, factors such as water and temperature can have an effect in terms of survival and morphological changes of the seedling as a way to survive water stress and are factors that must be taken into account for future works similar to this.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	iv
Índice de contenido.....	vii
Índice de figuras.....	viii
Índice de cuadros.....	x
Índice de ecuaciones.....	xi
Introducción.....	1
1. Antecedentes	2
1.1 Micorrizas.....	2
1.1.1 Tipos de micorrizas	2
1.2 Hongos formadores de micorrizas	3
1.3 Produccion forestal de hongos formadores de micorrizas.....	3
1.4 Tecnicas de inoculación.....	4
1.5 Micorrizacion en la conservacion de los bosques	5
1.6 Estudios de micorrizas con pinos.....	5
1.7 Caracteristicas ecológicas y morfológicas de <i>Astraeus hygrometricus</i>	10
1.8 <i>Pinus engelmannii</i> (Carrière,1854) (características,ecologia, distribución, e importancia forestal)	12
1.11 Hipótesis y pregunta de investigación.....	14
1.11.1 Hipotesis	14
1.12.2 Pregunta de investigacion.....	14
1.12 Objetivos	144
1.12.1 Objetivo general.....	Error! Bookmark not defined. 4

1.12.2 Objetivos específico	Error! Bookmark not defined.	4
2. Materiales y metodos		15
2.1. Colecta de carpóforos.....		15
2.2. Trabajo de invernadero.....		15
2.2.1 Obtención de plántulas.....		15
2.3 Medios utilizados.....		15
2.3.1 Obtención de cultivo micelial.....		15
2.3.2 Obtención de caldos nutritivos.....		16
2.3.3 Componente y preparación de caldo nutritivo maíz.....		16
2.3.4 Componente y preparación de caldo nutritivo melin.....		16
2.3.5 Componente y preparación del tratamiento positivo.....		16
2.4 Inoculante en plántulas de <i>Pinus engelmanni</i>		17
2.5 Caracterización, micorrización y supervivencia.....		18
2.5.1 Caracterización.....		18
2.5.2 Micorrización.....		18
2.6 Análisis estadístico.....		19
3 Resultados y discusión.....		20
Conclusión.....		64
Literatura citada.....		66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pagina
1 Hongo Estrellita <i>Astraeus hygrometricus</i> (Rockefeller A. 2023).....	11
2 <i>Pinus engelmannii</i> (Ávila-González, 2023).....	13
3 Medición de parámetros predeterminadas.....	17
4 Tendencia de crecimiento del tallo la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo maíz.....	21
5 Tendencia de crecimiento del follaje de la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo maíz.....	22
6 Tendencia de crecimiento de la altura total de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo maíz...	21
7 Tendencia de crecimiento anchor del follaje en la parte baja de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo maíz.....	24
8 Tendencia de crecimiento anchor del follaje en la parte alta de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo maíz.	25
9 Tendencia de crecimiento del tallo la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus Hygrometricus</i> en el caldo nutritivo melin.	27
10 Tendencia de crecimiento del follaje de la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus Hygrometricus</i> en el caldo nutritivo melin.	28
11 Tendencia de crecimiento de la altura total de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo melin.....	29

12	Tendencia de crecimiento anchor del follaje en la parte baja de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo melin.	30
13	. Tendencia de crecimiento anchor del follaje en la parte alta de la plántula en centímetros durante seis meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de <i>Astraeus hygrometricus</i> en el caldo nutritivo melin.	31
14	Tendencia de crecimiento del tallo en tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.....	33
15	Tendencia de crecimiento del follaje en tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.	34
16	Tendencia de crecimiento de la altura total en el tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.....	35
17	Tendencia de crecimiento del ancho de follaje parte baja para tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.....	36
18	Tendencia de crecimiento del ancho de follaje parte alta para tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.....	37
19	Tendencia de crecimiento del tallo para tratamiento negativo durante nueve meses.	39
20	Tendencia de crecimiento de la altura del follaje para tratamiento negativo durante nueve meses.	40
21	Tendencia de crecimiento del ancho follaje parte baja para tratamiento negativo durante nueve meses.	41
22	Tendencia de crecimiento del ancho follaje parte alta para tratamiento negativo durante nueve meses.	42
23	Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 30 ml de <i>Astraeus hygrometricus</i> en tratamiento maíz	51
24	Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 45 ml de <i>Astraeus hygrometricus</i> en tratamiento Melin.	52
25	Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 30 ml del tratamiento positivo.....	52
26	Presencia de micorriza en la raíz de la plántula del tratamiento negativo.....	53.
27	Altura del tallo de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	57

28	Altura del follaje de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	58.
29	Gráfica de la altura total de la planta de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	58
30	Cuadros de análisis de la varianza, medias ajustadas y error estándar.....	59
31	Gráfica de la altura total de la planta de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	60
32	Cuadro de análisis de la varianza y pruebas de tukey.....	60
33	Ancho parte alta de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	61
34	Ancho parte baja de <i>Pinus engelmannii</i> en relación con el medio de cultivo y dosis de <i>Astraeus hygrometricus</i> en condiciones de invernadero.....	62
35	Cuadro de análisis de varianza y test de tukey para todos los tratamientos.....	63

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pagina
1 Cuadro comparativo de estudios de varios tipos de micorrizas con especies de pinos diferentes realizados por autores distintos.....	8
2 Caracterización de las plántulas y sus raíces para cada tratamiento con su respectiva dosis.....	45
3 Porcentaje de supervivencia para las plántulas de cada tratamiento y respectiva dosis.....	48
4 Porcentaje de micorrización de los tratamientos utilizados con su respectiva dosis.....	49

INDICE DE ECUACIONES

Ecuacion	Pagina
1 Porcentaje de supervivencia.....	18
2 Porcentaje de micorrizacion.....	19

Introducción

Los bosques tienen un papel importante ya que controlan las emisiones de gases de efecto invernadero. La tala sin control, el uso del suelo de los bosques para la agricultura y pastoreo ha traído consecuencias tales como la producción de metano que contribuye a los gases de efecto invernadero (Lejía, 2016). México se ubica en entre los 10 países con mayor índice de deforestación en el mundo (Régules-Reyes. 2019). Los invernaderos y los viveros forestales son una manera eficiente de producir especies de pinos, controladas y de mayor calidad, con fines de reforestación. Los hongos ectomicorrízico y su inoculación en plántulas bajo condiciones de invernadero son una excelente alternativa para propagar y reforestar el bosque. Existen diferentes estudios que logran profundizar el conocimiento sobre la utilización de estos recursos naturales aplicando diferentes técnicas que eventualmente pueden ser aplicadas en diferentes áreas forestales. (Oconor et al., 2013). Por ejemplo, el hongo *Astraeus hygrometricus* establece una asociación de tipo ectomicorriza porque cuenta con un valor nutricional elevado la cual actúa de manera positiva en la nutrición, crecimiento y fotosíntesis de diferentes especies forestales al mismo tiempo, es considerada como una buena fuente económica y comercial. (Cabrera et al., 2022) Una de las plantas con las que *Astraeus hygrometricus* se asocia es *Pinus engelmannii*, este pino es importante porque tiene una amplia distribución y tiene propiedades maderables, se encuentra en estados como Chihuahua a lo largo de lo que es la sierra madre occidental. (Morales-Nieto et al., 2020) Por ello, el objetivo principal de este trabajo es obtener información sobre cual sería la técnica más óptima y concentración de inóculo de *A. hygrometricus* que genere un mejor crecimiento y desarrollo de *P. engelmannii* en fase de plántula.

1. Antecedentes

1.1 Micorrizas.

Existe un estimado de que aproximadamente un 80% de plantas están asociadas con micorrizas, así sea durante toda su vida o en solo algunas fases. Las micorrizas son un tipo de hongo que tienen efectos fisiológicos positivos a las plantas, la cual ofrece una nutrición mejorada, absorción de agua es más eficiente, tolerancia más alta a estrés, defensa herbívora, y resistencia a enfermedades; Incluso sirve como red de comunicación entre plantas. (Jayne et al., 2014) también le ayuda a incrementar la protección contra patógenos, minerales considerados como tóxicos y a sobrevivir sequias, a cambio la planta le provee carbón al hongo micorrizogeno que está en simbiosis con la planta. (Correa et al., 2015) La micorriza penetra la raíz de la planta en estado joven y así es modificada por el hongo, de esta manera es como nace una simbiosis entre ambas. La ausencia o la presencia de dicha asociación hace una inmensa diferencia en el tamaño y desarrollo de sus plántulas y el proveniente desarrollo hacia la adultez de dicha especie, ya sea planta, flor, árbol entre otros. (Rohit et al., 2021)

1.1.1 Tipos de micorrizas

Existen dos categorías de micorrizas; ectomicorrizas y endomicorrizas, cada una constituida por subtipos. La ectomicorriza está compuesta de micorriza arbutoide y de igual importancia, la endomicorriza la compone la micorriza arbuscular, micorriza ericoide, micorriza en orquídeas y micorriza monotrofoide. (Rohit et al., 2021) Las ectomicorrizas se dan principalmente en plantas leñosas, perennes, herbáceas y gramíneas. Se caracteriza por su manto entrelazado de hifas alrededor de las raíces de las plantas. Hifas penetran el espacio intracelular de la raíz de la corteza para formar la red del micelio fúngico denominada, red de Hartig la cual rodea las células de la corteza de la planta. La red de hartig es intercelular, es decir, no penetra las células del huésped. Las endomicorrizas forman sus estructuras adentro de las células corticales y crecen intercelularmente. Durante la interfase, el hongo y la planta están en contacto directo. En general así es como funciona el grupo de las ectomicorrizas. (Marschner, 2012)

1.2 Hongos formadores de micorrizas

Los hongos micorrizogenos se clasifican de acuerdo con la forma en la que penetran la raíz de la planta, que características tienen las estructuras que desarrollan y cuales especies, ya sea de los hongos o de las plantas están

involucradas. Las micorrizas se dividen en dos, las que tienen manto fúngico y las que no lo tienen. Los hongos micorrizogénicos asociados dependiendo del tamaño son clasificados como micromicetos o macromicetos, estos pueden pertenecer a la fila Glomeromycota, algunas de las especies que la componen son, Glomus, Gigaspora, y Acaulospora. Otra fila es Ascomycota compuesta por especies como Peziza y Tuber. Por último, Basidiomycota las cuales sus especies más representativas son Amanita y Cantharellus. (Camargo-Ricalde, 2012)

1.3 Producción forestal de hongos formadores de micorrizas

Los hongos silvestres son considerados como productos forestales no maderables de suma importancia en ecosistemas montañosos. (Bonet et al., 2014) Una de las actividades más importantes de los hongos micorrizogénicos es que absorben una cantidad considerable de carbón en los ecosistemas donde se encuentran. Este carbón es utilizado para construir las redes miceliales en el suelo y para su actividad metabólica relacionada a la absorción de nutrientes y todos los beneficios que le ofrece a la planta con la que realiza simbiosis.

Recientemente se han desarrollado métodos de producción de hongos micorrizogénicos. (Wallander et al., 2013) Una de las maneras más comunes de producción y propagación de los hongos, es utilizando unidades de suelo esterilizado para inocular el hongo, puede ser de maneras distintas y siempre van en compañía de “plantas trampa”, el funcionamiento de estas plantas es ayudar a la propagación del hongo ectomicorrízico, ya que las micorrizas requieren de una planta para poder desarrollarse. Este tipo de trabajos evalúa resultados de los hongos micorrizogénicos ante diferentes factores de suelo que sirven como una guía para llevarlo a cabo con fines de reforestación o agricultura y así realizar la propagación de hongos micorrizogénicos en ambientes naturales. Los resultados se pueden evaluar tomando en cuenta número de esporas, porcentaje de colonización, el peso seco, y parámetros de longitud. (Esquivel-Quispe, 2020)

1.4 Técnicas de inoculación.

El inóculo es el producto biológico que posibilita la introducción de microorganismos y que beneficia el crecimiento y desarrollo de las plántulas. Para la obtención del inóculo se requiere una parte del hongo la cual formara una relación de simbiosis con las raíces de las plantas una vez que crezca y se desarrolle. Las esporas, micelio, cuerpos fructíferos, y raíces son tipos de inoculantes micorrizogenos. La forma de aplicación y el hongo que será utilizado se da dependiendo del tipo de experimento. Los inoculantes se presentan en diferentes formas, pueden ser líquidos o sólidos. Hay una variedad de formas de poner en contacto al hongo con la planta y así pueda desarrollarse la micorrización. Se hace con el uso del micelio o esporas dependiendo del objetivo, costos, recursos entre otras cosas. La micorrización utilizando esporas se usa con hongos que suelen producir grandes cantidades de esporas por ende permite que una mayor cantidad de plántulas puedan ser inoculadas. La inoculación se puede realizar directamente en el sistema de irrigación del invernadero, soluciones acuosas, o mezclándolas con las semillas antes de ser sembradas. El sistema de riego es otra manera de inocular las esporas, donde el sustrato es humedecido y después se le aplica las esporas y se vuelve a humedecer para garantizar una distribución más homogénea en el sustrato. La inoculación mediante micelio puede ser producida en medio líquido o sólido. La obtención del micelio del hongo requerido puede ser cultivando el hongo o colectándolo. También existe la incubación donde los inóculos se producen en contenedores con sustrato luego de que el micelio invade dicho sustrato, puede ser utilizado. Por último, otra forma de inocular es con utilización de agar con micelio en recipientes con soluciones nutritivas que luego puede ser inoculado mediante el riego o directamente (Quiroz et al., 2009)

1.5 Micorrización en la conservación de los bosques

Los bosques componen una gran parte de del mundo y han sido deteriorados por tala, agricultura y ganadería. Esto genera cambios en los suelos, entre estos cambios esta la afectación de la comunidad de hongos que se encuentran en ellos, la cual incluye los hongos ectomicorrizogeno. Las afectaciones a estos hongos generan un efecto negativo directo a plantas y pinos, ya que estos hongos tienen una asociación indispensable con este tipo de especies. Estudios demuestran la importancia de los hongos ectomicorrizogeno porque, como fue mencionado previamente, asisten en la absorción de nutrientes y agua, protegen a las plantas de enfermedades, microorganismos patógenos, y metales pesados. La disminución y afectaciones negativas a este tipo de hongos causan disminución en esas otras especies. La conservación de los bosques requiere planes y alternativas sustentables. Una manera de restaurar los bosques es colectando especies de hongos ectomicorrizicos nativos para luego propagarlas en condiciones de invernadero junto con plántulas de plantas de esa misma región. Es una aplicación biotecnológica para restaurar el bosque en áreas afectadas y ayudar a si conservación. (Quiñónez-Martínez et al., 2013)

1.6 Estudios de micorrizas con pinos

Actualmente se cuentan con estudios previos de micorrizas con pinos. En el 2016 Martínez-Nevarés realizo el trabajo llamado “Respuesta a la inoculación inducida de *Russula delica* Fr. en plantas de *Pinus engelmannii* Carr. en vivero”. En donde se colectaron esporas de *R. delica* y fueron transportadas a un vivero, posteriormente se limpiaron y se trozaron en pedazos de tamaños similares para luego deshidratarlas y moleras. El sustrato utilizado al que previamente se le agrego fertilizante fue colocado en charolas en donde se realizó la siembra de semillas que ya habían germinado. Para la inoculación se utilizaron dos métodos de aplicación, por sustrato y por riego en cuatro dosis distintas. Luego de 12 meses se procedió a hacer el muestreo en donde cuatro plantas fueron extraídas aleatoriamente en cada repetición, se procedió a evaluar variables

morfológicas y obtuvo el porcentaje de micorrización y los datos los sometieron a un análisis de varianza en donde se evidencio las diferencias morfológicas y el porcentaje de micorrización. Se obtuvo el porcentaje más alto de micorrización y se relacionó con la dosis que fue utilizada, método de inoculación y los resultados de las medidas obtenidas de la morfología. Demostrando que el efecto de la dosis depende de cómo se suministra. Los resultados también mostraron que la calidad de la planta disminuye con mayor dosis de inoculante y la biomasa de la raíz incrementa en dosis más baja por la razón de que la micorriza modifica la raíz y el peso muerto es incrementado. En las dosis medias y altas casi no hubo diferencias. Con este estudio se dio entender que las dosis y las técnicas de inoculación hacen la diferencia y no necesariamente mayor dosis de inoculación significa mejor calidad de la planta porque la disponibilidad de los nutrientes es mayor. Para finalizar, la mejor técnica en base a los estudios realizados es inoculando en dosis bajas en el sustrato tomando en cuenta el tipo de hongo utilizado y especie de pino. Otros trabajos con otras especies pueden presentar resultados distintos. (Martínez Nevárez, 2016)

Valdés Ramírez (2010) realizo un estudio llamado “inoculación de plántulas de pinos con diferentes hongos e identificación visual de la ectomicorriza” que involucro la inoculación de plántulas de pinos y evaluación ectomicorrizica. El trabajo se realizó con dos especies de pinos, *Pinus devoniana* y *P. pseudostrobu*. Los hongos micorrizogenos utilizados en el estudio fueron *Pisolithus tinctorius*, *P.* y *Scleroderma texense*. Las micorrizas fueron identificadas gracias al color que presentaron cada una después de seis meses de haber sido inoculadas en las dos especies de pino. Todos los hongos utilizados presentaron compatibilidad con los pinos elegidos. Se revelo también la formación del micelio. Para el inoculo de *S. texense* se observó un comportamiento muy agresivo y más dominante de todos. El color de su micelio observado fue de color blanco y logro abarcar las raíces de plántulas que ni

siquiera fueron inoculadas con esta especie. Las asociaciones que revelaron una mayor biomasa fueron *P. devoniana* y *P. pseudostrobus*. Las plantas de *P. tinctorius* inoculadas con *S. texense* no presentaron observaciones significativas. Después de un año la dominancia de *S. texense* cambia y *Pinus tinctorius* junto con *P. devoniana* alcanzan un mayor volumen y una mayor biomasa con *S. texense*. En cuanto a *P. pseudostrobus* el mayor éxito fue su inoculación con *P. tinctorius*. (Aldés-Ramírez, 2010)

Salcido Ruiz (2021) Se hizo evaluación de la supervivencia y crecimiento de altura y diámetro de *Pinus engelmannii* en una zona de reforestación después de haber sido incorporado con inoculantes micorrícicos de origen comercial y fertilizante de liberación lenta mientras la planta se encontraba en una etapa de precondicionamiento en un vivero. Los tratamientos para evaluar fueron; inoculante endomicorrícico con esporas de *Glomus*, inoculante ectomicorrícico con esporas de *Amanita rubescens*, *Amanita sp.*, *Lactarius indigo*, *Ramaria sp.* Y *Boletus sp.*, e inoculante ectomicorrícico con esporas de *Pisolithus tinctorius* y *Scleroderma citrinum*, los tratamientos estuvieron combinados con y sin fertilizante granulado Multicote 8® de lenta liberación. En donde las variables analizadas fueron supervivencia y causa de mortalidad, diámetro del tallo y altura. Y se concluyó que la inoculación controlada repercutió en la supervivencia, y la fertilización tuvo efecto sobre el crecimiento en campo de *Pinus engelmannii*. (Salcido Ruiz et al., 2021)

Aguirre Zamora (2021). Realizo un trabajo en el cual se estimó el efecto de la colonización del hongo ectomicorrícico *Laccaria laccata* sobre el crecimiento de *Pinus greggii*, así como la abundancia de microorganismos en sus raíces, en condiciones de invernadero. Se realizó el diseño experimental de dos tratamientos, el tratamiento con inóculo y el tratamiento testigo utilizando un diseño experimental totalmente al azar. Se evaluaron distintos factores como la actividad metabólica microbiana, diversidad metabólica, microbiana, altura,

peso seco, abundancia de bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. (Aguirre Zamora et al., 2021) ver el Cuadro X.

Cuadro 1. Cuadro comparativo de estudios de varios tipos de micorrizas con especies de pinos diferentes realizados por autores distintos.

Se compararon diferentes trabajos realizados por distintos autores comparando una variedad de especies de hongos y su relación con arboles

<i>Año y autor</i>	<i>Especies de hongos utilizadas</i>	<i>Especies de árboles utilizadas</i>	<i>Estudios realizados</i>
2016, Martínez Nevería	<i>Russula delica</i>	<i>Pinus engelmannii</i>	Evaluación morfológica y cálculo de porcentaje de micorrización. Comparación de métodos de inculcación y dosis.
2010, Valdes Ramirez	<i>Pisolithus tinctorius</i> , <i>P. tinctorius</i> y <i>Scleroderma texense</i> .	<i>Pinus devoniana</i> y <i>P. pseudostrobu</i>	Comparación de volumen, biomasa y observación de micorrización.

<p>2021, Salcido Ruiz</p>	<p>Inoculantes micorrícicos comerciales en la etapa de preacondicionamiento</p>	<p><i>Pinus engelmannii</i></p>	<p>Evaluar la supervivencia y crecimiento en diámetro y altura de <i>Pinus engelmannii</i> en una reforestación, con base en la incorporación de inoculantes micorrícicos comerciales en la etapa de preacondicionamiento en vivero, y de fertilizante de lenta liberación al momento de plantar.</p>
<p>2020, Aguirre Zamora</p>	<p><i>Laccaria laccata</i></p>	<p><i>Pinus greggii</i></p>	<p>El objetivo de este trabajo fue estimar el efecto de la colonización del hongo ectomicorrícico <i>Laccaria laccata</i> sobre el crecimiento de <i>Pinus greggii</i>, así como la abundancia de microorganismos en sus raíces, en</p>

condiciones de
invernadero.

1.7 Características morfológicas y ecológicas de *Astraeus hygrometricus*.

Astraeus hygrometricus es un hongo ectomicorrízico que se asocia con diferentes especies de árboles en hábitats forestales (Verma et al., 2017). Es mutualista, su papel ecológico es el formar asociaciones con plantas colonizando la raíz de las plántulas formando un micelio filamentososo que ayuda a las plantas a obtener todos los nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo, como nitrógeno y fósforo, una mayor absorción y retención del agua gracias a las hifas. A cambio la planta le provee azúcares y almidones que son recibidos gracias a la fotosíntesis de la planta. (SEMARNAT, 2007)



Figura 1. Hongo Estrellita *Astraeus hygrometricus* (Rockefeller A. 2023)

Su distribución es cosmopolita pero usualmente se presenta en regiones húmedas o tropicales. Es conocida comúnmente como la estrella de tierra, es una especie de hongo de la familia *Diplocystidiaceae*. En su estado juvenil tiene una forma globular esponjosa blanca sin abrir, cubierta por un micelio delgado con apariencia rizomórfica, pero una vez que llega a la adultez, esta gleba llamada endoperidio cambia de color a café y mide desde 1 a 8 centímetros, en diámetro, el endoperidio tiene un orificio, el cual se abre para liberar esporas y se conoce como peristoma, y también comienzan a presentarse unas lacinias carnosas, que es causa del tejido del fruto abriéndose, pueden ser de 4 a 20, y son areoladas de colores oscuros como grises o negras. Estas son las que le dan su nombre de estrella de tierra por la apariencia parecida. El tejido que las compone se llama exoperidio y contiene cuatro capas de tejido; la capa micelial que contiene hifas ramificadas de 4 a 6 μm de diámetro, las hifas de la capa fibrosa de 6 a 8 μm y son ramificadas, la capa de la colénquima que contiene

hifas ramificadas de 3 a 4 μm de diámetro, y por último la capa blanda que contiene hifas de 3 a 6 μm de diámetro. Reaccionan dependiendo de la cantidad de agua que se encuentra en el ambiente, cuando detecta cambios en el ambiente como sequedad se “enrollan” de manera que protege el fruto y no es hasta que el clima se humedece o se presenta la lluvia que vuelve a exponer el endoperidio para así poder absorber el agua, muchas veces la fuerza de las gotas de lluvia al entrar en contacto con el fruto y libera sus esporas, las lacinicas carnosas se estiran de manera en que levantan el hongo un par de centímetros para que así las esporas tengan más probabilidades de ser esparcidas por el aire. El persitoma puede llegar a medir de 1 a 3 centímetros. El color de las esporas que libera es rojizo, miden de 7.5 a 11 μm y contiene paredes verrugosas de 1 μm y espinas de 0.90 a 1.45 μm . Contiene capillitas ramificadas de 3.5 a 6.5 μm y son translucidas. Su componente, las basidiosporas usualmente están compuestas de 4 a 8 esporas con esterigmas cortos y miden 11–15 por 18–24 μm . (Yawar-Hayat, 2017)

1.8 *Pinus engelmannii* (características, ecología, distribución, e importancia forestal)

A la especie *Pinus engelmannii* se le conoce comúnmente como pino real o pino rojo. Se encuentran en laderas o mesetas montañosas abiertas secas o en laderas de cañones húmedos y valles. Usualmente se ubican a una altura de 1250 a 3000 metros, Son pinos que pueden crecer hasta 35 metros de altura con un diámetro en su tronco que va desde 25 a 100 centímetros. El tronco es de un color rojizo y se torna café oscuro conforme el pino madura, sus ramas se van formando de manera que la copa es semi redonda con ramas esparcidas. Las yemas que contiene suelen ser de textura resinosa y llegan a medir hasta 2 centímetros. Algo que distingue a este pino es que las hojas son más largas que otros pinos, vienen abultadas de 3 a 5 de los extremos y su longitud puede ser de 20 a 43 centímetros, 4 a 2 milímetros de anchura y un milímetro de espesor. Los colores que presentan son verdosos opacos. Los conos del polen

tienen una longitud de 25 milímetros con colores verdes, amarillos y cafés. Los conos de las semillas para su maduración deben pasar dos años, antes de madurar son lanceolados y sin abrir, pero una vez abiertos alcanzan una longitud de 8 a 16 centímetros y anchura de 6 a 12 centímetros, antes de madurar son verdes o purpuras, pero al alcanzar la madurez se tornan café, de forma oblicua que presentan escamas espinosas. La apófisis revela una forma romboide, alargada, con una leve elevación hacia el cono. Sus semillas son de forma ovoide con medias de 5 a 9 milímetros y contiene alas que llegan hasta los 15 milímetros de largo. Su distribución va desde Chihuahua, Durango, Sinaloa, Sonora y Zacatecas. También se presenta en algunas áreas limitadas en las montañas de Arizona y Nuevo México. (Ávila Flores, 2016)



Figura 2. *Pinus engelmannii* (Ávila-González, 2023)

1.11 Hipótesis y pregunta de investigación

1.11.1 Hipótesis

La dosis y técnicas de inóculo de *Astraeus hygrometricus* producen diferencias significativas en el porcentaje de micorrización y sus variables morfométricas de crecimiento de las plántulas de *Pinus engelmannii*.

1.11.2 Pregunta de investigación

¿Qué diferencias significativas produce la dosis de inóculo de *Astraeus hygrometricus* en el porcentaje de micorrización y cuáles son las variables morfométricas que presentan el mejor crecimiento de las plantas estudiada?

1.12 Objetivos

1.12.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de tres técnicas de inoculación de *Astraeus hygrometricus* en el crecimiento de plántulas de *Pinus engelmannii* bajo condiciones de invernadero.

1.12.2 Objetivos específicos

Seleccionar la técnica y dosis más eficiente de inoculación de *Astraeus hygrometricus* a través de sus variables morfométricas de respuesta en la planta de *Pinus engelmannii*

Evaluar el porcentaje de micorrización en la raíz de *Pinus engelmannii* y determinar la presencia de la ectomicorriza.

2. Materiales y Métodos

2.1 Trabajo de campo

2.1.2 Colecta de carpóforo del hongo

Se realizó la colecta de carpóforos de *Astraeus hygrometricus* durante épocas de lluvia en los meses julio, agosto y septiembre del año 2021, entre los municipios de Bocoyna y Urique. Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio de Biodiversidad del Instituto de Ciencias Biomédicas (ICB) de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ), dispuestos en hieleras para su conservación y envueltos papel encerado para evitar la mezcla de esporas, una vez en el laboratorio algunos ejemplares se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su uso.

2.2 Trabajo de invernadero.

2.2.1 Obtención de plántulas

Las semillas de *Pinus engelmannii* fueron donadas por la Unidad de Manejo Forestal de San Juanito, Chihuahua. Las semillas se colocaron en un vaso de precipitado con agua destilada por 20 minutos, pasando este tiempo se descartaron las semillas que flotaron (no viables). Posteriormente se colocaron en papel secante dentro de una bolsa plástica hasta que las semillas germinaran adentro de un cajón fuera de la exposición de luz por aproximadamente tres semanas. Se utilizaron 65 vasos de unicel, con peatmoss previamente esterilizado. Una vez las semillas germinadas, se trasplantaron a los vasos. Las plántulas se estuvieron regando cada tercer día

2.3 Medios de cultivos utilizados

2.3.1 Obtención de cultivo micelial

Fueron utilizados medios de cultivo solidos de agar papa dextrosa para el aislamiento y obtención de la colonia micelial de *Astraeus hygrometricus*. Se tomo el carpóforo para la obtención de la colonia con un asa estéril y se inoculo en cada uno de los medios, se incubaron a 25 grados centígrados hasta la formación de la colonia. Este medio contiene la infusión de papa como fuente de almidones y dextrosa que sirven como base para un efectivo crecimiento de hongos, pero al contar con un pH bajo se evita el crecimiento de bacterias

2.3.2 Obtención de caldos nutritivos

Se prepararon dos diferentes medios a base de caldos nutritivos, para la eventual inoculación a la plántula de *Pinus engelmannii* al cual se le añadió por cada 200 ml de caldo, aproximadamente 10 cubos de 1 cm², obtenido de los medios previamente realizados con PDA que fueron dejados en a la incubadora a 25 grados centígrados por aproximadamente un mes.

2.3.3 Componente y preparación de caldo nutritivo maíz

La preparación del caldo nutritivo de maíz consistió en agregar 0.4 gr de harina de maíz comercial a 200 ml de agua destilada. El medio preparado con harina de maíz por su composición simple es óptimo para utilizarlo en el crecimiento y mantenimiento de cepas fúngicas ya que crea un ambiente hostil que inhibe la multiplicación celular exagerada y estimula el crecimiento de hifas (lifeder, 2019)

2.3.4 Componente y preparación de caldo nutritivo melin

La preparación del caldo nutritivo melin consistió en agregar 2.7 gr de Melin-Norkrans a 200 ml de agua destilada. El medio melin Norkrans se utiliza mayormente para hacer crecer cultivos de hongos micorrízicos, por sus componentes que incluyen fosfato de amonio monobásico, cloruro de calcio, ácido etilendiaminotetraacético, sulfato de magnesio, fosfato de potasio monobásico, cloruro de sodio, agar, extracto de malta, sacarosa, tiamina

2.3.5 Componente y preparación del tratamiento positivo

Se utilizó el producto comercial EctoRize, se agregaron 21 gramos por cada 100 ml para su preparación la cual es óptimo para aumentar el establecimiento de la planta y ayuda incrementar los nutrientes.

2.4 Inoculación en plántulas de *Pinus engelmannii*

Con una jeringa de 5 ml se inyectó alrededor de la raíz la cantidad correspondiente del determinado tratamiento, maíz (24) y de melin (24). Para los tratamientos negativos (4) no se le aplicó nada y para los tratamientos positivos (6) se le aplicó EctoRize a diferentes volúmenes (5, 15 y 30). Por último, cada 15 días se le agregó fertilizante 20-20-20 a todos los tratamientos.

Este proceso se repitió cada 3 meses por 9 meses. Tomando las medidas predeterminadas una vez al mes para observar el desarrollo y crecimiento.



Figura 3. Medición de parámetros predeterminadas

2.5 Caracterización, micorrización y supervivencia.

2.5.1 Caracterización

Se realizó la caracterización de la micorriza en tres plántulas y su raíz completa para cada tratamiento y dosis, se registró el peso fresco de la parte aérea y el peso fresco de la parte radicular, se observó y midió el ancho completo de la raíz, altura completa, luego se tomó en cuenta la longitud de la raíz más larga y la más corta para obtener un promedio de las raíces de cada plántula, también se midió el grosor de la parte superior y la parte inferior de las raíces primarias y secundarias. Todos los datos fueron registrados en una base de datos en Excel. Después de obtener los datos necesarios para la micorrización se secaron a 68 grados centígrados hasta deshidratar la plántula y posteriormente obtener el registro del peso seco.

2.5.2 Micorrización

Se realizó la determinación del porcentaje de supervivencia utilizando la siguiente fórmula:

Ecuación 1.

$$\% \text{ supervivencia: } \frac{P_v}{(p_v + p_m)} * 100$$

Donde:

Pv: plantas vivas

Pm: plantas muertas.

Se obtuvo la micorrización de 3 plántulas de cada tratamiento y dosis. Se contaron las raíces ectomicorrizadas y no ectomicorrizadas de las raíces

principales y secundarias. La fórmula utilizada para obtener el porcentaje de micorrización fue la siguiente obtenida de Chávez Chávez et al. (2009):

Ecuación 2

$$\% \text{ micorrización} = \frac{\text{total de raíces micorrizadas}}{\text{total de raíces observadas}} \times 100$$

2.6 Análisis estadístico.

Primeramente, se tomaron los datos de los parámetros predeterminados al inicio de la plántula, por 9 meses, y se organizaron en una tabla de Excel para mantener un registro del cual se elaboraron tablas de dispersión, en las que se obtuvo el coeficiente de determinación (R^2), el cual mide la intensidad de la relación de las variables morfométricas a través del tiempo en base a los tratamientos usados. Eventualmente se manejó el programa infostat para realizar una prueba de Shapiro-Wilk para comprobar si los datos siguen una distribución normal, cuando el valor arrojado es mayor a 0.05.

(Vivaelsoftwarelibre, 2019) Después se tomaron esos mismos datos y se realizó una prueba de Levene la cual evalúa la igualdad de las varianzas para una variable calculada para dos o más grupos, al igual que Shapiro-Wilk un valor superior a 0.05 cumple el supuesto de homogeneidad de la varianza. (Datatab, 2023). Estas pruebas son condiciones para poder llevar a cabo el ANOVA (Análisis de Varianza) y Prueba múltiple de medias, que tienen como función probar si hay diferencias significativas entre los tratamientos y en base a las medias comprobar que tratamiento tiene los valores diferentes o iguales entre ellos.

3. Resultados y discusión

3.1 Crecimiento de la plántula de *Pinus engelmannii* con tratamientos distintos a diferentes a diferentes dosis

Se generaron gráficas de dispersión para las diferentes variables, tratamiento y dosis. Se registró la tendencia de crecimiento de cada una de ellas y se hizo una comparación indefinida sobre cual tratamiento y que dosis es la más viable para el crecimiento de la plántula.

3.2 Comparación de mediciones de las diferentes dosis del tratamiento de maíz.

3.2.1 Altura del tallo en el tratamiento de maíz.

Para la dosis de 5 ml se observó un incremento de la altura del tallo de uno a casi dos centímetros, luego al quinto mes disminuyó esta altura. Esto se debe a que, en los primeros meses del crecimiento de la plántula, las acículas del pino comenzaron a brotar desde la parte superior del tallo de manera en que el tallo

estaba más expuesto por ende dando una altura de tallo más alta durante los meses iniciales, la cual fue disminuyendo conforme pasaron los meses, ya que el crecimiento de las acículas del pino comienza de arriba hacia abajo, es por eso por lo que la altura del tallo disminuye. En los meses seis y siete hay un cambio muy abrupto en la altura del tallo de la plántula para las dosis de 45 ml, esto se debe por la pérdida de acículas que se iban formando, por lo contrario, para las dosis de 5 ml y 15 ml la altura disminuyó. No es hasta el mes ocho y nueve que se logran estabilizar las plántulas de las tres dosis, siendo la dosis de 45 ml la que se mantuvo con mayor altura. Un factor importante que debe tomarse en cuenta para la diferencia de mediciones de este parámetro es el sustrato que en ocasiones subía o bajaba dependiendo de la humedad causando cambios en las medidas muy notables

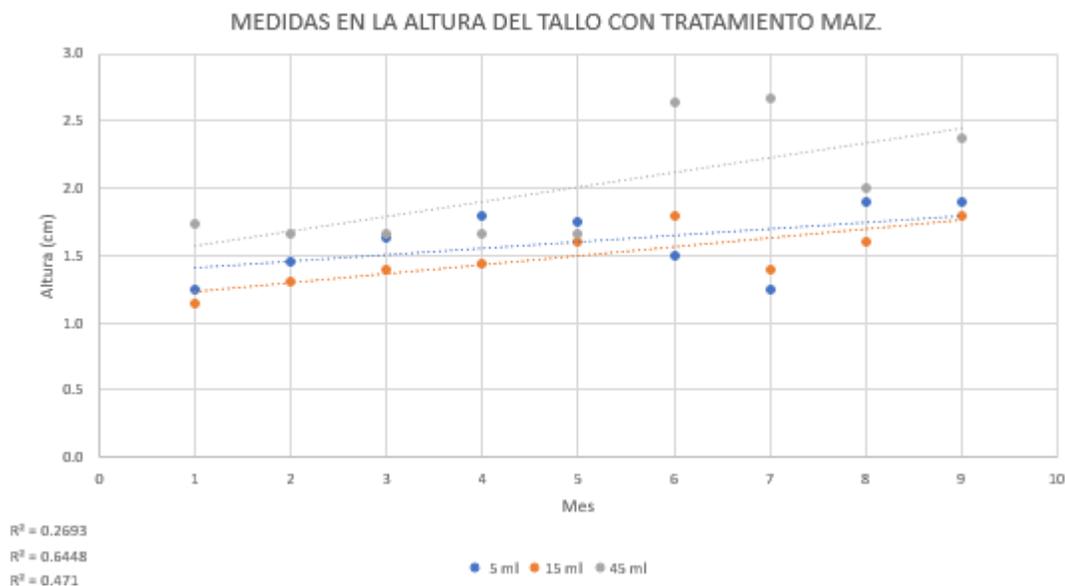


Figura 4. Tendencia de crecimiento del tallo la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo maíz.

3.2.3 Longitud del follaje en el tratamiento de maíz

Se puede observar un crecimiento continuo para las tres dosis, siendo la de 15 ml la que alcanzo menos longitud en los meses cuatro y cinco y alcanzando más altura entre los meses seis y ocho. para las dosis de 5 ml y 45 ml se percibe un crecimiento muy similar. Para las tres dosis en los meses seis y ocho hubo una pequeña declinación en la altura, para luego lograr alcanzar estabilidad en el crecimiento de nuevo manteniéndose en una altura similar en los meses ocho y nueve.

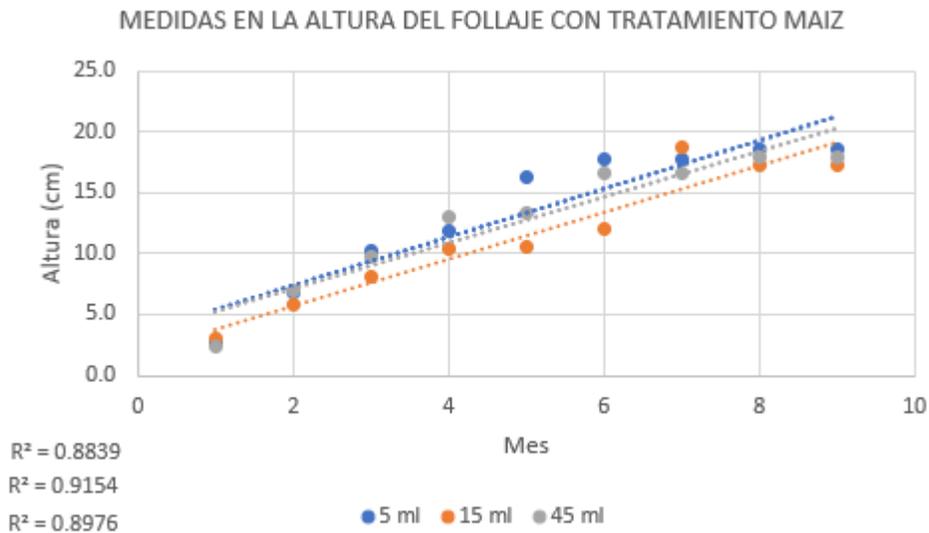


Figura 5. Tendencia de crecimiento del follaje de la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo maíz.

3.2.4 Altura total en el tratamiento de maíz

En todos los tratamientos se observa una tendencia que va creciendo hasta el mes cinco, a partir de este mes la plántula con el tratamiento de 30 ml comienza a reducirse y sigue ese mismo patrón hasta el mes siete, y no es hasta el mes

ocho y nueve que se observa nuevamente como se retoma el crecimiento. Para las dosis de 5 ml y de 15 ml no hubo cambios tan abruptos, se mantuvieron lineales, siendo la dosis de 15 ml la que alcanzo la mayor altura de todas las dosis en el mes nueve.

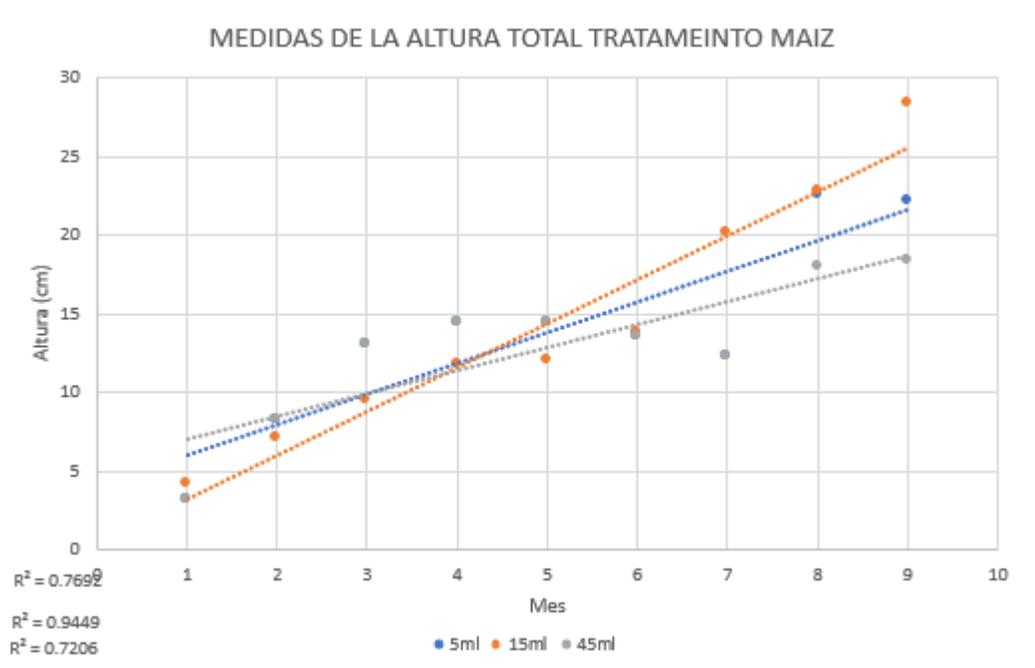


Figura 6. Tendencia de crecimiento de la altura total de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo maíz.

3.2.5 Ancho del follaje parta baja en el tratamiento de maíz

Existen diferencias notables en los valores del ancho del follaje por la parte baja de las plántulas obtenidas. En la dosis de 5 ml se puede distinguir los registros

más bajos respecto al resto de los tratamientos utilizados mostrando el menor tamaño desde el primer mes hasta el mes siete, manteniéndose casi igual para los últimos dos meses. Por otro lado, en las dosis de 15 ml y de 30 ml si existen diferencias entre las dos conforme al crecimiento, pero la tendencia se presentó bastante normal y en crecimiento constante, mayormente en la dosis de 15 ml.

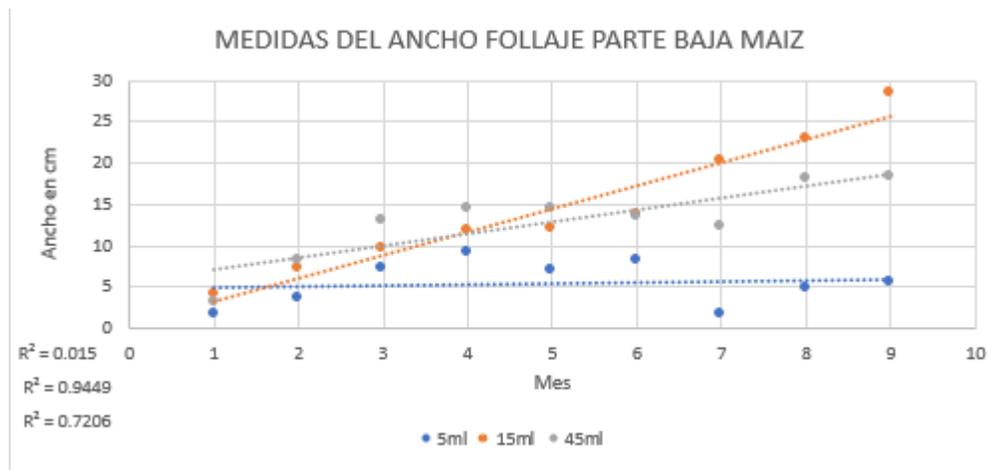


Figura 7. Tendencia de crecimiento ancho del follaje en la parte baja de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo maíz.

3.2.6 Ancho del follaje parte alta en el tratamiento de maíz

Existen diferencias notables en las medidas de crecimiento de las tres dosis durante los nueve meses. Comenzando por la dosis de 5 ml la cual siguió una tendencia normal hasta el mes cinco, bajando en los meses seis y siete donde posteriormente se ve como el tamaño comienza a incrementar nuevamente para el mes ocho y nueve. El tratamiento de 15 ml siguió un patrón normal en cuanto al crecimiento durante todos los meses perdiendo un poco de ancho en el mes 5 cinco, pero no tan notable como en la dosis de 5 ml. En cuanto a la

dosis de 30 ml, pierde anchura en el mes ocho, siguiendo un patrón muy similar al de la dosis más baja en este tratamiento.

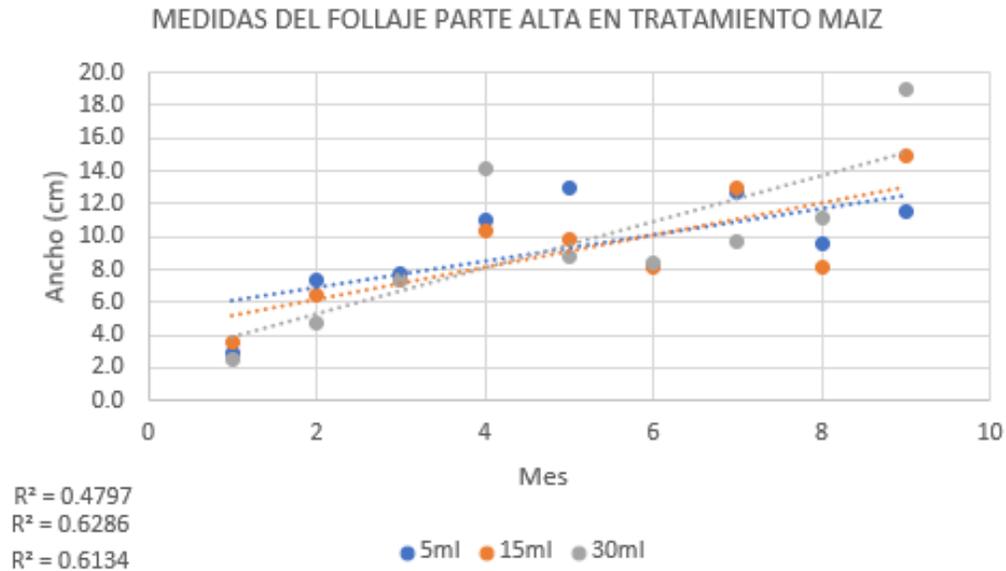


Figura 8. Tendencia de crecimiento ancho del follaje en la parte alta de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo maíz.

3.2.7 Eficacia en la inoculación del tratamiento de maíz durante nueve meses.

En general si existe una relación positiva entre la variable del tiempo y las medidas de los parámetros en el tratamiento de maíz para *Pinus engelmannii* durante los nueve meses, para las mediciones del tallo fue notable como en el mes siete si hubo disminución en la medida del tallo, siendo la dosis de 45 ml la que mostro más variaciones en la altura del tallo y la dosis de 15 ml la más estable en este parámetro, mientras que para la altura del follaje y total, siendo

este parámetro una suma del alto del tallo y del follaje, presentan una tendencia lineal positiva en relación con el tiempo. Por otro lado, se observaron inconsistencias notables para el ancho del follaje por la parte baja y alta, por ejemplo en la dosis de 5 ml, entre los meses cuatro y ocho, el ancho es cambiante de manera que aumenta y disminuye, lo mismo sucede en el tratamiento de 30 ml aunque este mantiene una altura más elevada, esto sucedió ya que se hicieron presente factores externos que causaron las variaciones en medidas especialmente en los meses seis, siete y ocho, como mencionado anteriormente. Al igual que en la medida del tallo la dosis de 15 ml fue la dosis visiblemente más estable.

3.3 Comparación de mediciones de las diferentes dosis del tratamiento de Melin.

3.3.1 Altura del tallo con el tratamiento de Melin

Los patrones observables en la gráfica para la altura del tallo con el tratamiento de Melin varían por el hecho de que en los primeros meses del crecimiento de la plántula las acículas del pino comenzaban a brotar en la parte superior del tallo dejando una altura de tallo más alta al inicio, la cual fue disminuyendo conforme pasaron los meses ya que la plántula presenta un crecimiento de acículas de manera que comienza de la parte superior de la plántula hacia abajo, de tal manera que comienza a tomar forma el follaje disminuyendo la altura del tallo. Conforme pasaron los meses el tallo comenzó a disminuir, y no es hasta el mes cinco vuelve a incrementar la altura del tallo, tal como se pudo observar en el tratamiento de maíz, se debe a la pérdida de acículas que se habían formado en el tallo dejándolo expuesto una vez más haciendo que las medidas sean mayores. En el mes ocho la dosis que alcanzo una mayor altura fue la de 5 ml. Como se mencionó en el tratamiento de maíz, un factor importante que debe tomarse en cuenta para la diferencia de mediciones de

este parámetro es el sustrato que en ocasiones subía o bajaba dependiendo de la humedad causando cambios en las medidas muy notables.

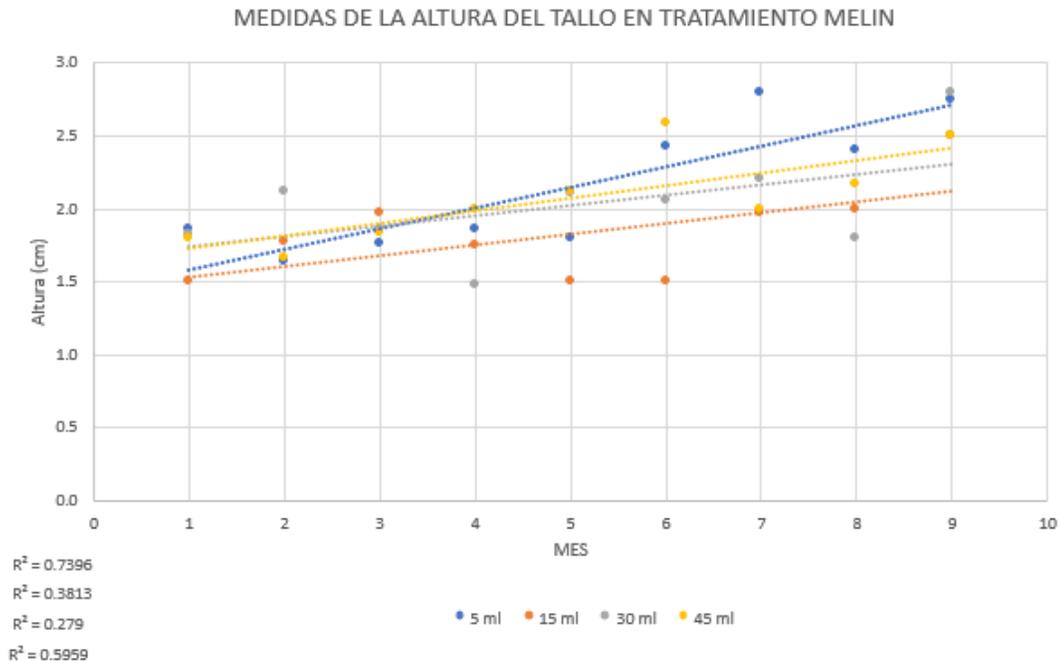


Figura 9. Tendencia de crecimiento del tallo la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus Hygrometricus* en el caldo nutritivo melin.

3.3.2 Altura del follaje en el tratamiento del Melin

En este parámetro el crecimiento se mantuvo lineal y estable para todas las dosis del tratamiento de Melin. La dosis que presento más crecimiento durante los nueve meses fue la dosis de 5 ml y la que menos presento crecimiento fue la dosis de 30 ml siendo los meses cinco y seis y aunque no hubo una disminución, a comparación de las demás dosis creció menos. En el mes ocho

las cuatro dosis se mostraron con una altura muy similar. Eventualmente en el mes nueve, siendo este el último mes de medición, la dosis de 45 ml bajo en altura abruptamente mientras las dosis de 5 ml, 15 ml y 30 ml mantuvieron una tendencia normal.

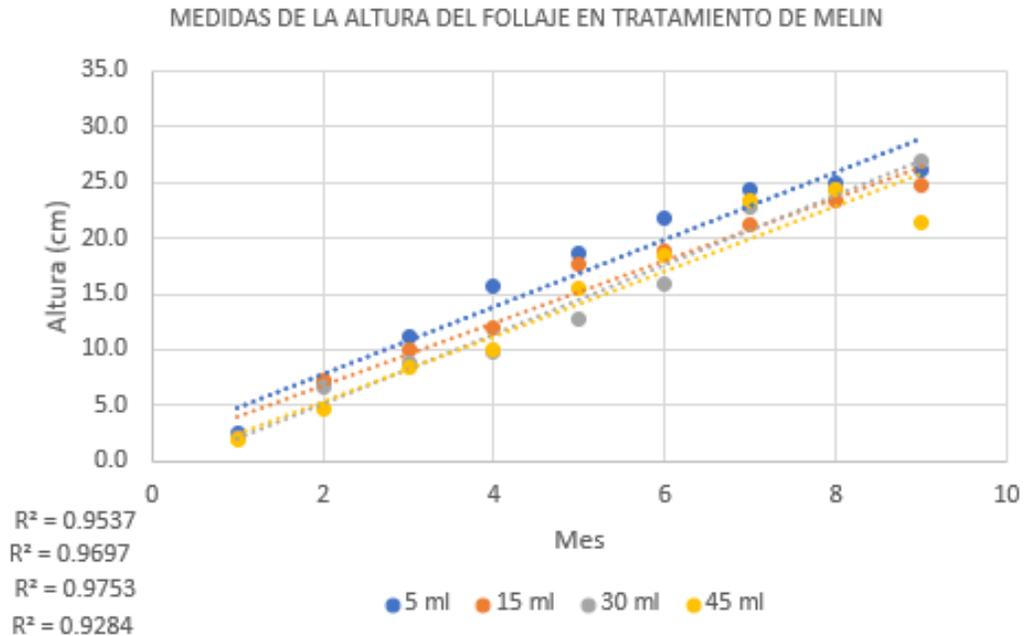


Figura 10. Tendencia de crecimiento del follaje de la plántula durante nueve meses de experimento tomando en cuenta la variable de la altura de plántula en centímetros inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus Hygrometricus* en el caldo nutritivo melin.

3.3.3 Altura total en el tratamiento de melin

En esta variable, en todas las dosis se observa una tendencia de crecimiento normal. Siendo la dosis de 5 ml la que alcanzo más altura de las cuatro, y la de 30 ml con la menor altura. En general no hubo cambios o disminuciones

abruptas de altura en ninguno de los nueve meses de tratamiento de melin para las cuatro dosis.

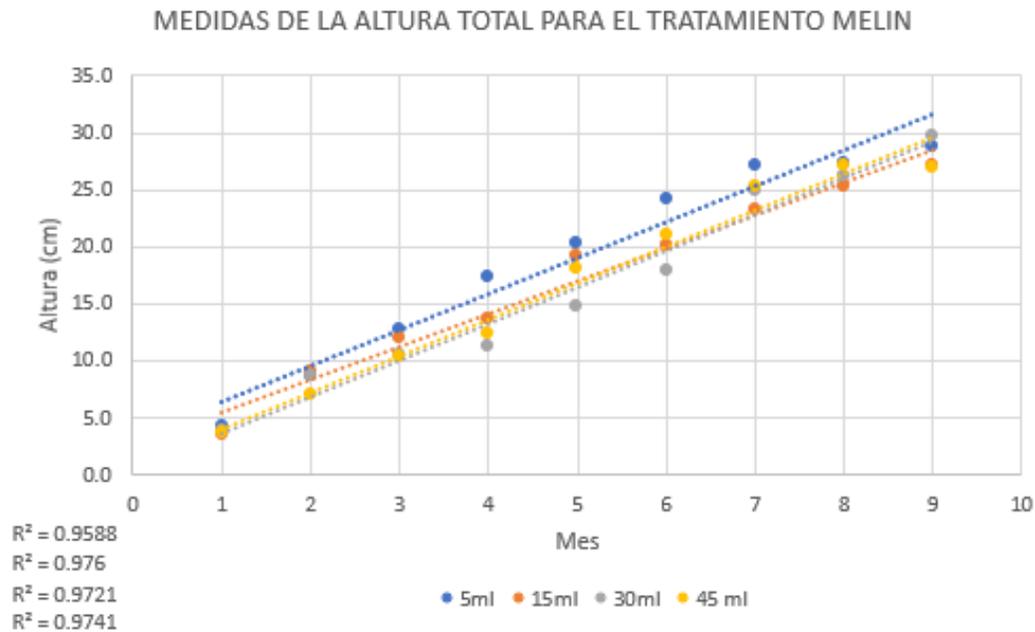


Figura 11. Tendencia de crecimiento de la altura total de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo melin.

3.3.4 Ancho de follaje parta baja en el tratamiento de melin

Como primera observación, para las cuatro dosis se presentaron cambios muy abruptos a través de los meses en cuanto a este parámetro. Para los primeros tres meses se puede ver una tendencia bastante normal que va incrementando, logrando el mayor tamaño en los meses cuatro, cinco y seis, siendo la dosis de 15 ml la que alcanzo mayor anchor de las cuatro, durante estos meses y la de 45 ml la que obtuvo menores medidas. A partir del mes siete las cuatro dosis comienzan a disminuir de manera muy similar, aunque no en las mismas

medidas, el patrón es visiblemente muy similar, presentándose la dosis de 45 ml como la de mayor ancho y la de 15 ml de menor ancho quedándose fijo para los últimos dos meses de mediciones

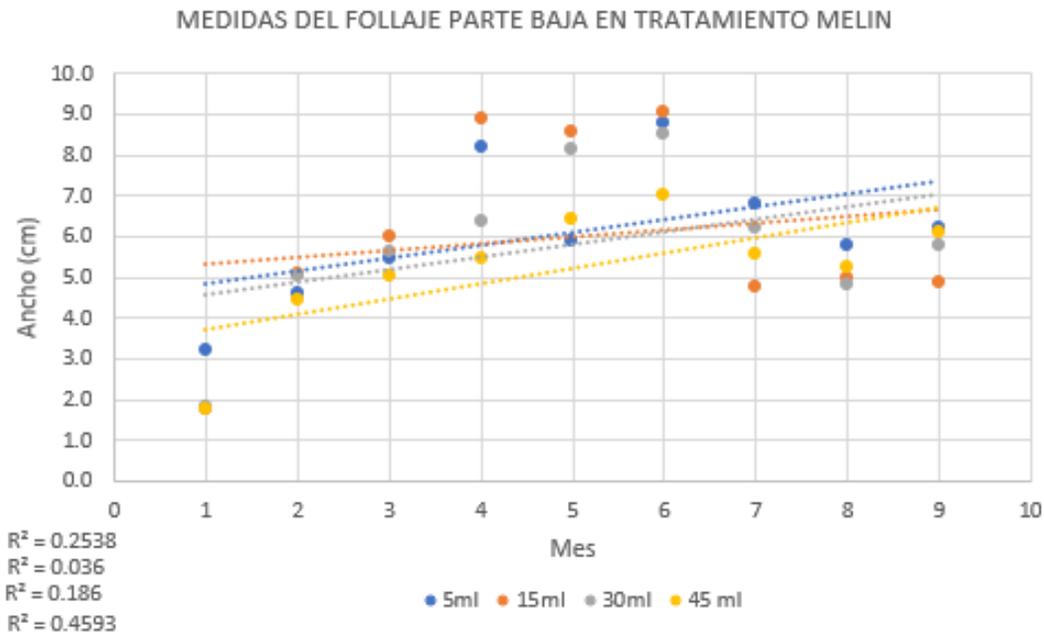


Figura 12. Tendencia de crecimiento ancho del follaje en la parte baja de la plántula en centímetros durante nueve meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo melin.

3.3.5 Ancho del follaje parte alta en el tratamiento de melin

Se percibe una tendencia normal positiva para las cuatro dosis hasta el mes tres, en el mes cuatro hay un crecimiento muy notable siendo este uno de los meses donde la dosis alcanzó una de las medidas más altas para las cuatro dosis, disminuyendo nuevamente a partir del mes cinco. Seguidamente en el mes seis se retoma la tendencia de crecimiento positiva, siendo la dosis de 5 ml

la que alcanzo la medición más alta para el mes nueve y la de 15 ml con la de menor medida.

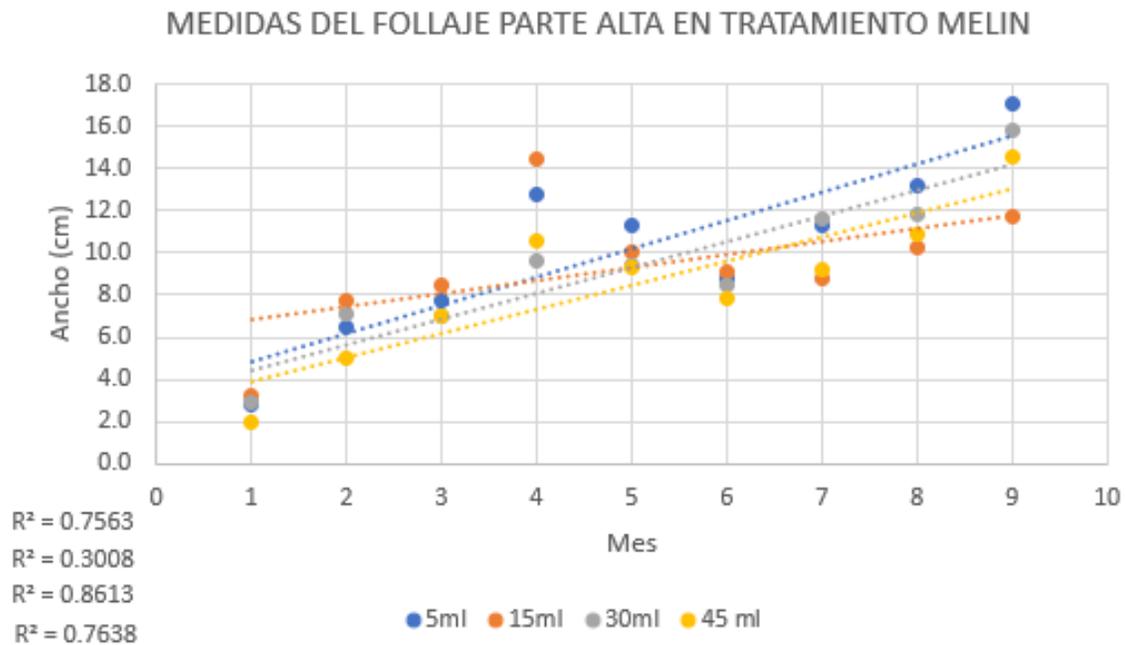


Figura 13. Tendencia de crecimiento ancho del follaje en la parte alta de la plántula en centímetros durante seis meses de experimento inoculada con 5 ml, 15 ml, y 45 ml del tratamiento de *Astraeus hygrometricus* en el caldo nutritivo melin.

3.3.6 Eficacia en la inoculación del tratamiento de melin durante nueve meses.

En general si existe una relación positiva entre la variable del tiempo y las medidas de los parámetros en el tratamiento de melin para *Pinus engelmannii* durante los nueve meses, para las mediciones del tallo fue visible el hecho de que en el mes siete si hubo disminución en la medida del tallo, siendo la dosis de 45 ml la que manifestó una tendencia positiva un poco más estable, por otro

lado la dosis de 5 ml iba en aumento hasta el mes siete que fue donde perdió un poco de su altura del tallo, mientras que en la dosis de 15 ml este mismo patrón se repitió pero en los meses cinco y seis, en cuanto a la dosis de 30 ml sucedió lo mismo pero en el mes cuatro. Por otra parte, la altura del follaje y total, siendo este parámetro una suma del alto del tallo y del follaje, mostro una tendencia lineal positiva en relación con el tiempo. Por otro lado, se observaron inconsistencias notables para el ancho del follaje por la parte baja y alta, ya que se factores externos pudieron ser la causa en variaciones de las medidas, para todas las dosis, a partir del mes seis se notó como el ancho iba disminuyendo en la parte baja del follaje y de la misma manera sucedió en la parte alta.

3.7 Comparación de mediciones de las diferentes dosis del tratamiento positivo.

3.7.1 Altura del tallo en el tratamiento positivo

Para las tres dosis se puede observar una tendencia normal hasta el mes seis, siendo la dosis de 30 ml la que alcanzo más altura, después para el mes siete disminuye la altura. Algunos factores importantes que se debe tomar en cuenta para este parámetro en cuanto a las medidas, es que en los primeros meses del crecimiento de la plántula, las acículas del pino comenzaron a brotar desde la parte superior del tallo de manera en que el tallo estaba más expuesto por ende dando una altura de tallo más alta durante los meses iniciales, la cual fue disminuyendo conforme pasaron los meses, ya que el crecimiento de las acículas del pino comienzan de arriba hacia abajo, es por eso que la altura del tallo disminuye. Otro factor es el sustrato en ocasiones subía o bajaba dependiendo de la humedad causando cambios en las medidas muy notables. Para los meses siete al diez

MEDIDAS DE LA ALTURA DEL TALLO EN TRATAMIENTO POSITIVO

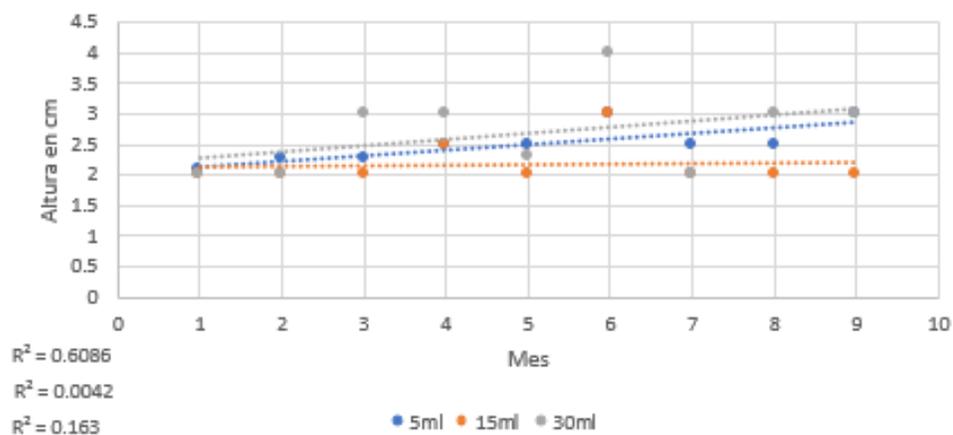


Figura 14. Tendencia de crecimiento del tallo en tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.

3.7.2 Altura del follaje en el tratamiento positivo

Es evidente la tendencia normal de las tres dosis, sin embargo, al mes seis hubo una pérdida de altura para la dosis de 30 ml, pero para el resto de las dosis siguió incrementando la altura, posteriormente en el mes nueve bajo un poco para las tres dosis siendo la de 15 ml la más afectada.



Figura 15. Tendencia de crecimiento del follaje en tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml.

3.7.3 Altura total en el tratamiento positivo

En este parámetro se observa una tendencia muy similar a la de la altura del tallo y la altura del follaje ya que es la suma de las dos. La altura total va en aumento hasta el mes ocho, sin embargo, en el mes nueve las tres dosis pierden altura, en donde la dosis de 30 ml permanece como la dosis que presenta más altura y la de 15 ml como la de menor altura.

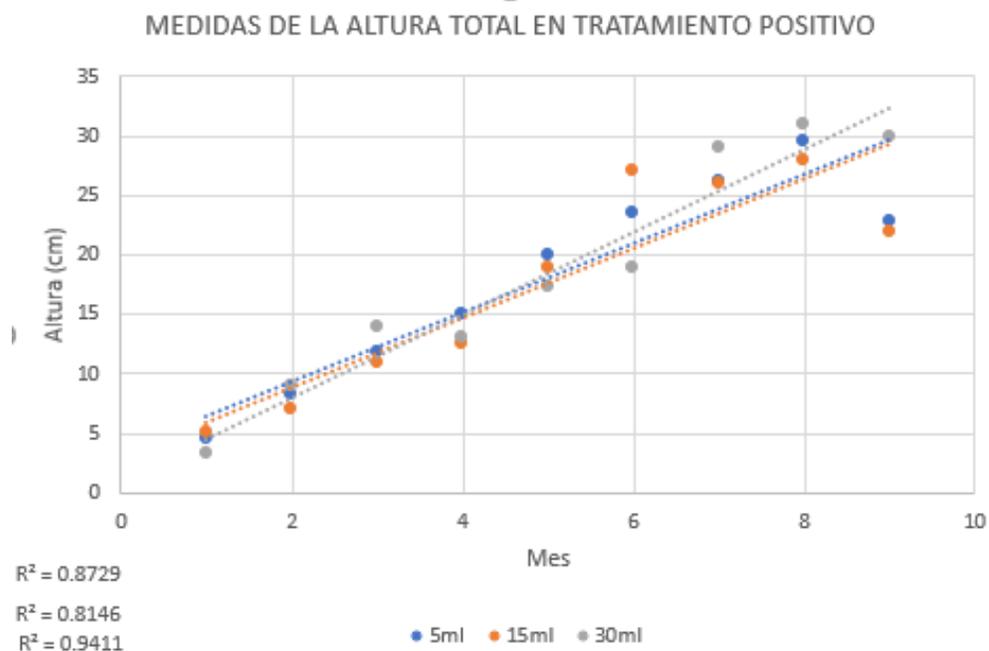


Figura 16. Tendencia de crecimiento de la altura total en el tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml

3.7.4 Ancho de follaje parta baja en el tratamiento positivo

Es notable la variabilidad de en el ancho de follaje por la parte baja conforme pasan los meses. Durante los primeros cuatro meses hubo una tendencia normal, posteriormente la dosis de 15 ml pierde anchor mientras la dosis de 5 ml y 30 ml se mantienen. Durante el mes seis se observó una gran incrementación en la dosis de 30 ml que perdió drásticamente en el mes siete, mientras las demás se mantenían similares. En el mes final la que más ancho obtuvo fue 15 ml y la de menor anchor fue 30 ml.

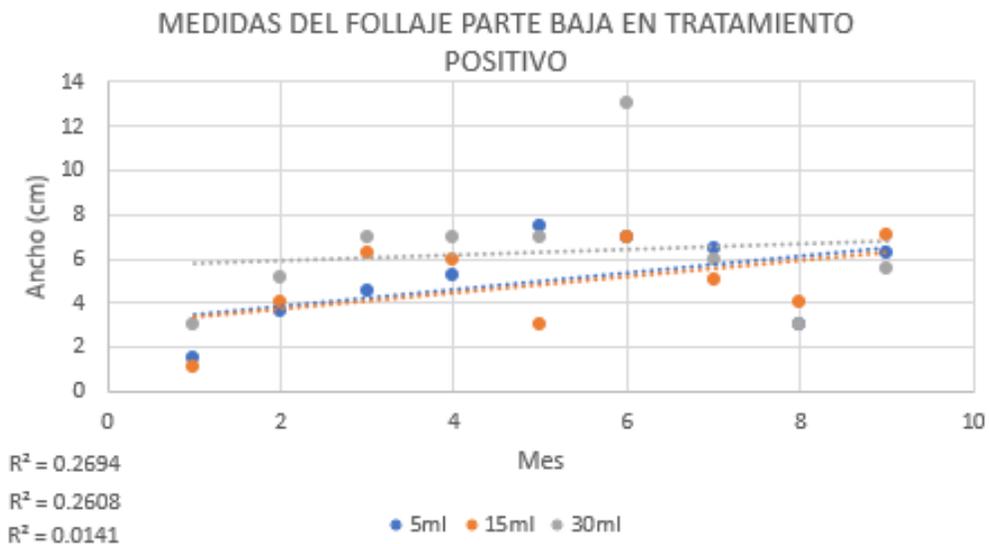


Figura 17. Tendencia de crecimiento del ancho de follaje parte baja para tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml

3.7.5 Ancho de follaje parte alta en el tratamiento positivo

Durante los primeros seis meses, las tres dosis muestran una tendencia normal positiva, sin embargo, en el mes siete y ocho hay una disminución en el ancho, siendo más notable para la dosis de 5 ml, al último mes de mediciones la dosis de 30 ml fue la finalizo con una mayor altura por otro lado en las dosis 5 ml y 30 ml obtuvieron medidas muy similares.

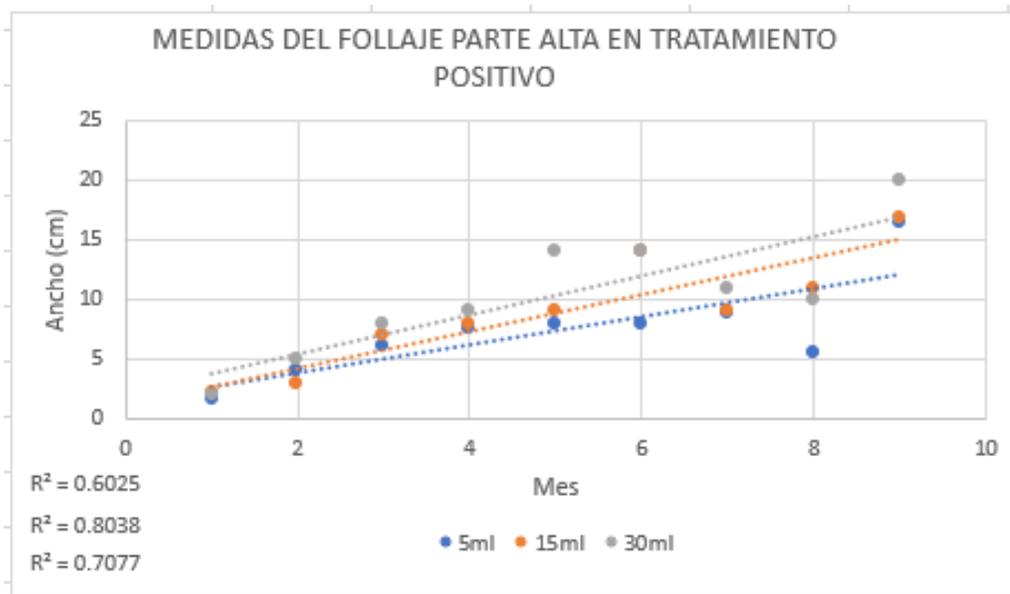


Figura 18. Tendencia de crecimiento del ancho de follaje parte alta para tratamiento positivo durante nueve meses inoculado con 5 ml, 15 ml y 30 ml

3.7.6 Eficacia en la inoculación del tratamiento positivo durante nueve meses.

En general si existe una relación positiva entre la variable del tiempo y las medidas de los parámetros en el tratamiento positivo para la plántula de *Pinus engelmannii* durante los nueve meses, para la tendencia del tallo hubo una notable variación en la dosis de 30 ml, fue la que más vario en altura incrementando y disminuyendo a través de los meses, por otro lado 5 ml y 30 ml se vieron más estables en cuanto a la tendencia. Con respecto a la altura del follaje y total, siendo este parámetro una suma del alto del tallo y del follaje, ocurrió una tendencia lineal positiva y más firme en relación con el tiempo. Por otro lado, se observaron inconsistencias considerables para el ancho del follaje por la parte baja y alta, ya que se hicieron presente factores externos que causaron las variaciones en medidas especialmente en los meses seis, siete y ocho.

3.8 Comparación en mediciones del tratamiento negativo

3.8.1 Altura del tallo en el tratamiento negativo

Es notable que la altura del tallo crece del mes uno al mes dos, disminuyendo un poco para el mes tres manteniéndose con esa altura por aproximadamente tres meses, posteriormente alcanza aproximadamente 3 cm, el cual baja en el mes siete para después retomar el crecimiento y seguir una tendencia lineal hasta el mes nueve. Como fue mencionado anteriormente en todos los parámetros del crecimiento del tallo para , dos factores importantes que se debe tomar en cuenta para este parámetro en cuanto a las medidas, es que en los primeros meses del crecimiento de la plántula, las acículas del pino comenzaron a brotar desde la parte superior del tallo de manera en que el tallo estaba más expuesto por ende dando una altura de tallo más alta durante los meses iniciales, la cual fue disminuyendo conforme pasaron los meses, ya que el crecimiento de las acículas del pino comienzan de arriba hacia abajo, es por eso que la altura del tallo disminuye. Otro factor es el sustrato en ocasiones subía o bajaba dependiendo de la humedad causando cambios en las medidas muy notables.

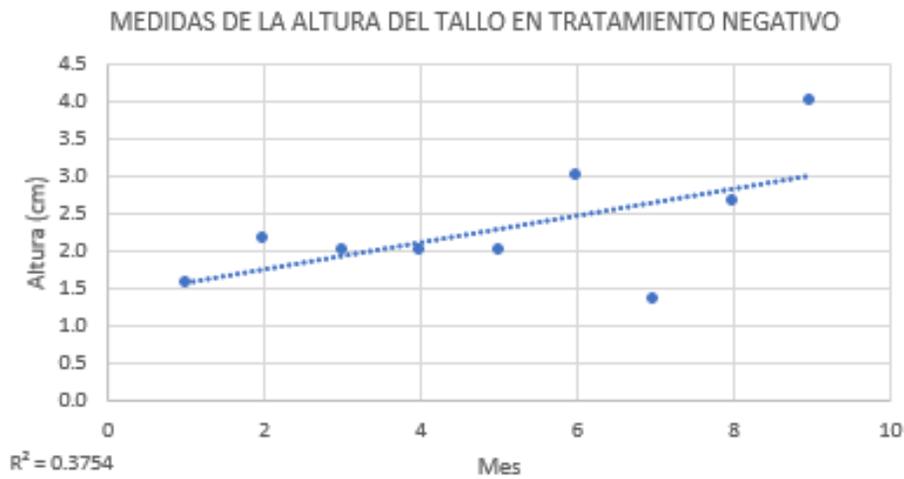


Figura 19. Tendencia de crecimiento del tallo para tratamiento negativo durante nueve meses.

3.8.2 Altura del follaje en el tratamiento negativo

El crecimiento del follaje fue normal y lineal, se mostraba una tendencia positiva y constante para este tratamiento a través de los nueve meses de medición.

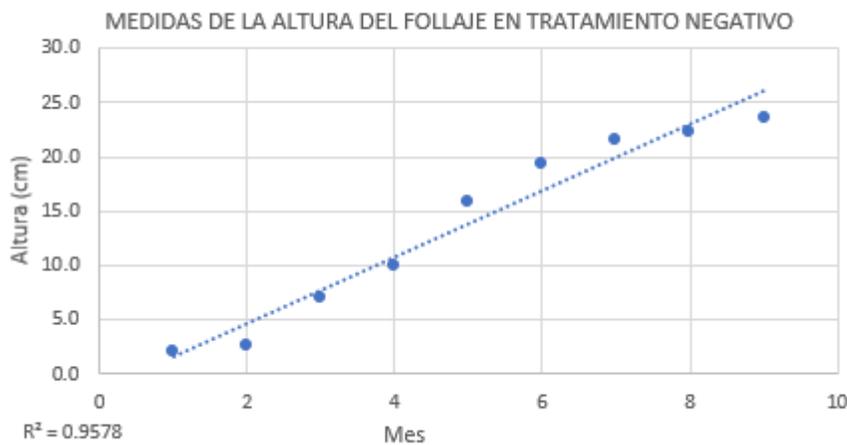


Figura 20. Tendencia de crecimiento de la altura del follaje para tratamiento negativo durante nueve meses.

3.8.3 Altura total en el tratamiento negativo

La tendencia de este parámetro es muy similar a la del tallo y la altura del follaje ya que es la totalidad de las dos. Se muestran una tendencia normal y positiva sin ningún cambio abrupto de altura.

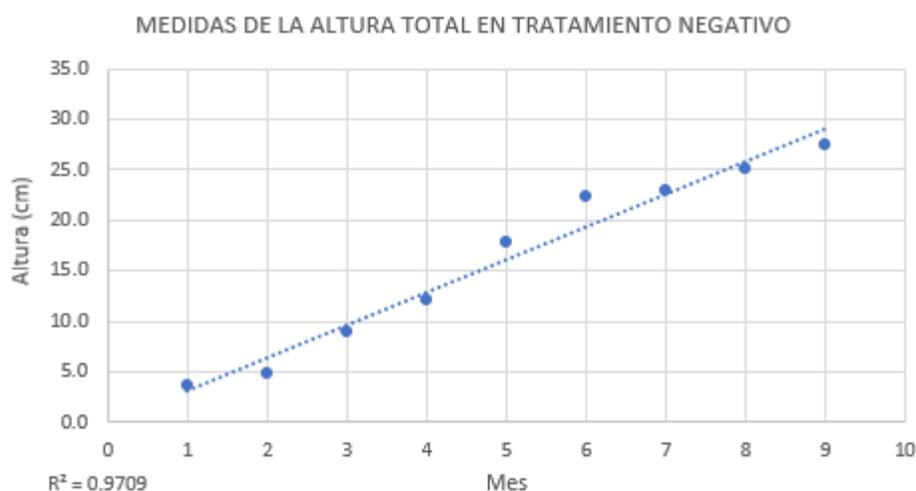


Figura 20. Tendencia de crecimiento de la altura total para tratamiento negativo durante nueve meses.

3.8.4 Ancho de follaje para baja en el tratamiento negativo

El follaje fue incrementando en su ancho hasta el mes cuatro, sin embargo, a partir del mes cinco y seis se pudo observar que la tendencia comienza a bajar y pierde anchura hasta el mes ocho recuperándose para el último mes de medición.

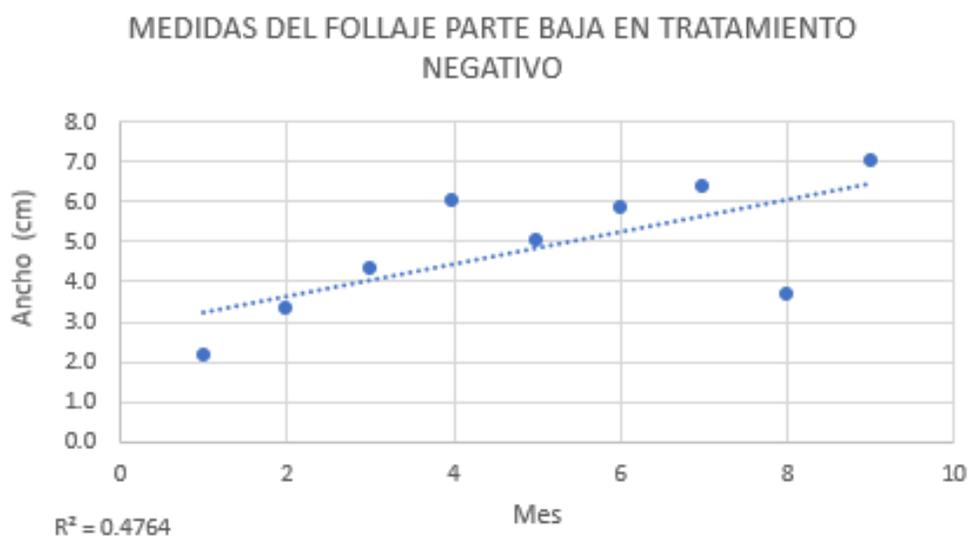


Figura 21. Tendencia de crecimiento del ancho follaje parte baja para tratamiento negativo durante nueve meses.

3.8.5 Anchor de follaje parte alta en el tratamiento negativo

Se puede observar cómo durante los primero tres meses la tendencia es lineal, alcanzando un gran ancho en el mes cuatro, pero perdiéndolo a partir del mes cinco, luego, durante los siguientes cuatro meses la tendencia se mantuvo sin mucho cambio hasta que volvió a alcanzar una altura similar a la del mes cuatro en el mes nueve

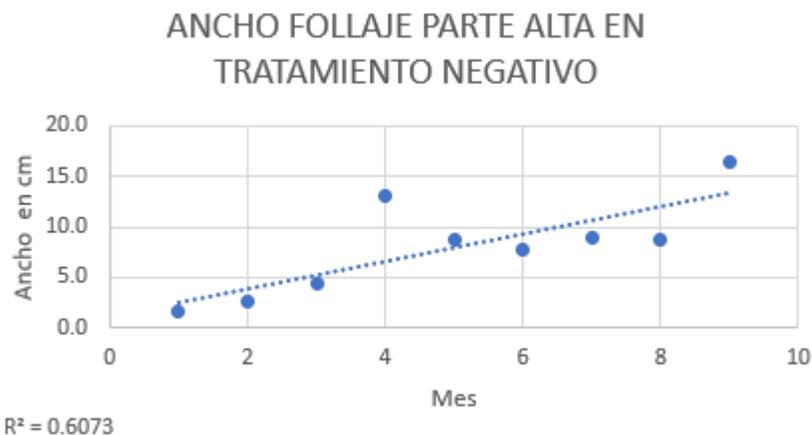


Figura 22. Tendencia de crecimiento del ancho follaje parte alta para tratamiento negativo durante nueve meses.

3.8.6 Eficacia en la inoculación del tratamiento negativo durante nueve meses.

Para este tratamiento el comportamiento de la tendencia del parámetro del tallo fue muy similar a los tratamientos mencionados previamente, mostrando variaciones en la altura, en este caso para el mes siete fue donde disminuyó más. En la altura del follaje la tendencia solo apareció de manera positiva, de la misma manera que se observa en la altura total ya que es la suma de las medidas del tallo y de la altura del follaje. En cuanto a lo ancho por la parte baja en los meses cinco y ocho disminuye el ancho y las mediciones en la parte alta disminuyeron en el mes seis. Sin embargo, vuelve a incrementar en el último mes para los dos parámetros.

3.10 Efectividad de crecimiento de la plántula de *Pinus engelmannii* con tratamientos distintos a diferentes a diferentes dosis

Se determinó la conducta de los parámetros predeterminados cada mes durante los nueve meses establecidos. A primera vista si existe una tendencia muy similar a través de los meses en cuanto a los parámetros, si se comparan las gráficas de los mismos parámetros con los diferentes tratamientos, se observa un comportamiento muy similar con tal vez algunas diferencias mínimas en altura o ancho del follaje. Aquí es donde se puede ver que para todos los tratamientos existe una tendencia que va creciendo en los primeros cinco meses después se manifiestan las inconsistencias en cuanto al crecimiento del tallo y el ancho del follaje por la parte baja en todos los tratamientos. En cuanto el tallo los cambios de altura, se debe a que, en los primeros meses del crecimiento de la plántula, las acículas del pino comenzaron a brotar desde la parte superior del tallo de manera en que el tallo estaba más expuesto por ende dando una altura de tallo más alta durante los meses iniciales, la cual fue disminuyendo conforme pasaron los meses, ya que el crecimiento de las acículas del pino comienza de arriba hacia abajo, es por eso que la altura del tallo disminuye. También la compactación del sustrato a consecuencia del riego es un factor importante que debe tomarse en cuenta para la diferencia de mediciones de este parámetro ya que en ocasiones subía o bajaba dependiendo de la humedad causando cambios en las medidas muy notables. Por otro lado, los cambios drásticos en el ancho del follaje de debe al mecanismo de defensa de las plántulas de pinos a las altas temperaturas o falta de agua, el cual es la muerte de las hojas inferiores para ahorrar agua y nutrientes para el resto de la plántula dejando cubierto el tallo una vez más (Birch Tree Care, 2021), y por ende los cambios de tamaño del ancho del follaje por la parte baja entre meses cuatro y seis para todos los tratamientos. Conforme pasan los meses de tratamiento es notable que la altura del follaje y altura total empiezan a permanecer del mismo tamaño entre los meses 8 y 9

esto se debe a que, de acuerdo con Chávez et al., (2009), el hecho de que el crecimiento sea más lento puede deberse a el hecho de que el lugar donde están colocadas las plántulas ya no da suficiente espacio para su crecimiento.

3.11 Caracterización, micorrización y supervivencia.

3.11.1 Caracterización de la raíz.

En cuanto a la caracterización de la raíz se tomaron en cuenta varios factores los cuales se pueden observar en el cuadro 1. Uno de los más importantes, el promedio de peso fresco total, para los tratamientos de maíz a 5, 15 y 30 ml fueron de 12.4, 10.7 y 10.23 gramos mientras que para Melin con dosis 5, 15, 30 y 45 ml el promedio del peso fresco total fue de 15.6, 9.3, 9.6 y 8.4 gramos y para el tratamiento positivo con dosis 5, 15 y 30 ml fue de 13.5, 12.6 y 13.1 gramos se puede inferir que los tratamientos que más peso fresco adquirieron fue el tratamiento positivo y también se comparó el promedio de crecimiento de raíz tomando en cuenta la más larga y la más corta para todos los tratamientos y dosis, por ejemplo, en el tratamiento de maíz a 5, 15, y 30 ml hubo un promedio del crecimiento en centímetros en la raíz de 37.4 47.5 y 49.7. En Melin para las dosis de 5, 15, 30 y 45 ml el promedio fue de 47.16, 44.1 46.6 y 42.25 cm, mientras que para el positivo en el cual se utilizaron dosis de 5, 15 y 30 ml el promedio es de 41.5 42.5 y 44.25 cm.

Cuadro 2. Caracterización de las plántulas y sus raíces para cada tratamiento con su respectiva dosis

<i>Repetición y tratamiento</i>	Peso fresco parte aérea (gramos)	Peso fresco parte radicular (gramos)	Peso fresco total(gramos)	Ancho completo raíz (cm)	Raíz más larga (cm)	Raíz más corta (cm)	Promedio de longitud de raíz (cm)	Peso seco parte aérea (gramos)	Peso seco parte radicular (gramos)	Total
<i>Tratamiento con maíz 5 ml.</i>	2.7	4.1	6.8	6.5	35.9	2.5	19.2	0.8	0.4	1.2
<i>Tratamiento con maíz 5 ml.</i>	5.6	9.6	15.2	8.5	63	19	41	3	1.4	4.4
<i>Tratamiento con maíz 5 ml.</i>	5.6	9.8	15.4	8	90	14	52	2.1	0.6	2.7
<i>Tratamiento con maíz 15 ml.</i>	2.6	8.2	10.8	9.5	84	6	45	1.1	1.3	2.4
<i>Tratamiento con maíz 15 ml.</i>	5.3	8.2	13.5	7	84	7	45.5	2.8	0.7	3.5
<i>Tratamiento con maíz 15 ml.</i>	2.7	5.3	8	11	88	16	52	0.9	0.9	1.8
<i>Tratamiento con maíz 45 ml.</i>	4.3	5.6	9.9	6	66	5	35.5	1.3	0.8	2.1
<i>Tratamiento con maíz 45 ml.</i>	3.4	9.1	12.5	9	109	4	56.5	1.9	1.5	3.4
<i>Tratamiento con maíz 45 ml.</i>	3.5	4.8	8.3	9.3	112	2.3	57.15	1.2	1.3	2.5

<i>Tratamiento con melin 5 ml</i>	4	9.3	13.3	16	56	23	39.5	2	1.7	3.7
<i>Tratamiento con melin 5 ml</i>	9.6	10.9	20.5	18	79	22	50.5	5.3	2.1	7.4
<i>Tratamiento con melin 5 ml</i>	4.8	8.4	13.2	18	82	21	51.5	1.2	1.5	2.7
<i>Tratamiento con melin 15 ml</i>	4.2	4.1	8.3	15	69	13	41	1	1	2
<i>Tratamiento con melin 15 ml</i>	5.1	6.9	12	18	72	18	45	1.1	0.9	2
<i>Tratamiento con melin 15 ml</i>	3.3	4.3	7.6	14	78	14	46	1.3	0.9	2.2
<i>Tratamiento con melin 30 ml</i>	1.7	4.5	6.2	17	74	16	45	1.6	1.1	2.7
<i>Tratamiento con melin 30 ml</i>	2.9	5.3	8.2	14	89	13	51	0.4	0.6	1
<i>Tratamiento con melin 30 ml</i>	5	7.8	12.8	16	79	9	44	1.1	1.3	2.4
<i>Tratamiento con melin 45 ml</i>	1.8	2.1	3.9	14	73	11	42	0.6	0.4	1
<i>Tratamiento con melin 45 ml</i>	5.6	5.6	11.2	12	62	12	37	1.1	1.3	2.4

Tratamiento con melin 45 ml	3.7	6.5	10.2	15	75	20.5	47.75	1.5	1.3	2.8
Tratamiento positivo de 5 ml	5.2	8.3	13.5	19	61	22	41.5	0.9	2.1	3
Tratamiento positivo de 15 ml	6.3	6.3	12.6	23.5	62	23.5	42.75	1.1	0.6	1.7
Tratamiento positivo de 30 ml	6.4	6.7	13.1	22	72	16.5	44.25	1.3	1.1	2.4
Tratamiento negativo	4.5	4	8.5	16	57	16	36.5	0.7	0.8	1.5
Tratamiento negativo	2.5	3.8	6.3	17	62	19	40.5	2.2	0.8	3
Tratamiento negativo	2	4.4	6.4	14	65	17	41	0.9	0.7	1.6

Este tipo de comparaciones morfométricas de la raíz micorrizada nos puede ayudar a darnos una idea de si existen diferencias estructurales en la raíz dependiendo del tratamiento y la dosis utilizada. Esta información es importante ya que se utiliza para entender más sobre la calidad de la planta (Orozco et al., 2010). El peso fresco puede servir para medir la capacidad de crecimiento de las plántulas en el espacio de desarrollo

3.12 Porcentaje de supervivencia y micorrización

3.12.1 Porcentaje de supervivencia.

Haciendo comparaciones en los tratamientos en donde realizo la aplicación de tratamiento a diferentes dosis se puede inferir que el tratamiento en el cual fue inoculado con *Astraeus hygrometricus* más eficiente es Melin, siendo más efectivo que el de maíz ya que presenta en total un 83% de supervivencia, y maíz presenta un 53% por otro lado el positivo un 15% (Cuadro 2).

Cuadro 3. Porcentaje de supervivencia para las plántulas de cada tratamiento y respectiva dosis

<i>Tratamientos utilizados</i>	<i>Dosis (ml)</i>	<i>% Supervivencia</i>
<i>Maíz</i>	5	83
<i>Maíz</i>	15	83
<i>Maíz</i>	30	0
<i>Maíz</i>	45	50
<i>Melin</i>	5	83
<i>Melin</i>	15	66
<i>Melin</i>	30	83
<i>Melin</i>	45	100
<i>Positivo</i>	5	50
<i>Positivo</i>	15	50
<i>Positivo</i>	30	50
<i>Negativo</i>	-	75

Las plantas no sobrevivientes presentaron diferentes factores los cuales pudieron ser los que influyeron en la muerte, por ejemplo, en el tratamiento en donde se utilizó maíz como caldo nutritivo a una dosis de 30 ml, ninguna sobrevivió. Se puede inferir que la muerte en este tratamiento se debió al debilitamiento de las acículas que se debe a cambios de temperatura, falta de oxigenación en el ambiente o ya sea consecuencia de sobre riego o un sustrato muy poroso. (Jardineria, 2017) La disponibilidad del agua, la temperatura y el estrés hídrico en la plántula son causantes de pérdida de follaje en las plantas e incluso la muerte de las plantas (Gómez-Romero, et al. 2023) la presencia de la micorriza puede ser de gran ayuda para la planta en ser más resistente ante

estos cambios, ayuda a incrementar la obtención de nutrientes, agua y con un sustrato en el estado adecuado ayuda a contribuir a un crecimiento óptimo que puede ser replicado en invernaderos para así aportar en planes de reforestación.

3.12.2 Porcentaje de micorrización

Después de haber sido inoculadas las plántulas y haberse realizado el conteo y porcentaje de micorrización explicado previamente en la metodología, la determinación del nivel de micorrización se basó en el método de Grand & Harvey (1982) en donde mencionan que si existe un porcentaje de micorrización mayor del 50% se considera un porcentaje alto y si se llega a tener más del 75% ya se consideraría un porcentaje muy alto, por ende, cualquier resultado debajo del 50% ya es considerado bajo

Cuadro 4. Porcentaje de micorrización de los tratamientos utilizados con su respectiva dosis.

<i>Tratamientos utilizados</i>	<i>Dosis (ml)</i>	<i>% Micorrización</i>
<i>Maíz</i>	5	25
<i>Maíz</i>	5	54
<i>Maíz</i>	5	71
<i>Maíz</i>	15	87
<i>Maíz</i>	15	90
<i>Maíz</i>	15	87
<i>Maíz</i>	30	-
<i>Maíz</i>	30	-
<i>Maíz</i>	30	-

<i>Maíz</i>	45	92
<i>Maíz</i>	45	95
<i>Maíz</i>	45	99
<i>Melin</i>	5	69
<i>Melin</i>	5	59
<i>Melin</i>	5	75
<i>Melin</i>	15	81
<i>Melin</i>	15	78
<i>Melin</i>	15	79
<i>Melin</i>	30	86
<i>Melin</i>	30	88
<i>Melin</i>	30	87
<i>Melin</i>	45	61
<i>Melin</i>	45	56
<i>Melin</i>	45	53
<i>Positivo</i>	5	89
<i>Positivo</i>	15	89
<i>Positivo</i>	30	83
<i>Negativo</i>	-	11
<i>Negativo</i>	-	5
<i>Negativo</i>	-	8

El hecho de que se hayan observado puntas de la raíz micorrizadas significa que *P. engelmannii* es capaz de concretar una relación simbiótica con *Astraeus hygrometricus* a cualquier dosis. Si se pueden observar diferencias en cuanto al porcentaje de micorrización negativa con los tratamientos inoculados con *A. hygrometricus* y a pesar de que en el cuadro 4, el tratamiento positivo muestra un porcentaje más alto, este fue inoculado con Ectorize, el cual sirve de

comparación como un tratamiento que puede ser usado para el beneficio de la planta. En cuanto al porcentaje de micorrización con *A. hygrometricus* los resultados sugieren que, si tiene relación la dosis con el nivel de micorrización, siendo los tratamientos de dosis más altas las que mostraron un mayor porcentaje de micorrización. Con estos resultados se puede inferir que *A. hygrometricus* tiene una capacidad alta para formar simbiosis con *P. engelmannii* y las raíces se mostraron con un sistema micorrízico abundante. Las micorrizas observadas se pueden describir de un color blanquecino o transparente de ramificación simple. (Galindos Flores, et al. 2015)

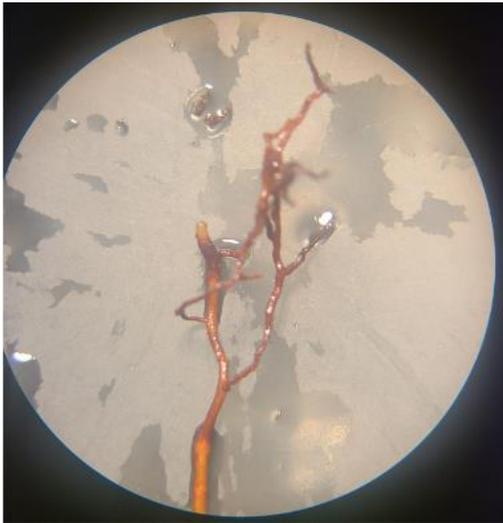


Figura 23. Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 30 ml de *Astraeus hygrometricus* en tratamiento maíz



Figura 24. Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 45 ml de *Astraeus hygrometricus* en tratamiento Melin.



Figura 25. Presencia de micorriza en la raíz de la plántula inoculada con 30 ml del tratamiento positivo.



Figura 26. Presencia de micorriza en la raíz de la plántula del tratamiento negativo.

3.13 Selección de la técnica y dosis más adecuada de inoculación de *Astraeus hygrometricus*.

La inoculación con *Astraeus hygrometricus* en *Pinus engelmannii* a diferentes dosis en dos tratamientos sugieren que, en condiciones de invernadero, tienen una respuesta diferente a las plántulas que no fueron inoculadas con ningún tratamiento, lo cual se podría tomar como ventaja, ya que, en las últimas observaciones, el porcentaje de micorrización fue mayor a mayor dosis y mucho menor en ausencia de tratamiento. Al ser la plántula inoculada se presentó también un mayor indicio de supervivencia ante las condiciones de estrés hídrico que se presentaron durante los meses de tratamiento que afectaron las plántulas. La relación se considera positiva ya que las relaciones ectomicorrizicas proveen mayor absorción de nutrientes y agua a la planta, además de que le ayudan a amortiguar cambios bruscos de temperatura. (Gómez-Romero, et al. 2023) También se debe tomar en cuenta que la disponibilidad del agua y una apta temperatura y estabilidad en la ubicación donde estén situadas las plántulas son factores importantes en el crecimiento y

mantener la productividad de las plántulas sin olvidar que un sustrato apto contribuyo también fue gran contribuyente en el desarrollo de las plántulas y es un factor muy importante en el desempeño de las micorrizas. Un ambiente con condiciones no adversas puede ser fatales para las plantas como se pudo observar en los tratamientos de maíz a 30 ml, cuya observación solo pudo ser esa ya que en este experimento no se midieron esas condiciones con exactitud. Es importante tomar en cuenta todos esos factores al realizar un experimento como este o repetirlo para tener con más exactitud los resultados que se establecieron como objetivo y así lograr mejor supervivencia y desempeño.

3.14 Resultados estadísticos

Para llevar a cabo los análisis estadísticos de diferencia entre medios y dosis para cada una de las variables, se llevó a cabo la prueba de distribución de la normalidad y homogeneidad de varianzas como supuestos condicionales para poder manejar los datos como paramétricos, los cuales se presentan en la siguiente tabla, donde se muestra que todas las variables se ajustan a la normalidad de los datos a excepción del medio Melin con una dosis de 5 ml.

Cuadro 2. Resultados de normalidad y homogeneidad de varianzas

VARIABLE	TRATAMIENTO	Shapiro ($p > 0.05$)	Levene
Altura del tallo	MAIZ 5 ML	0.2646	
	MAIZ 15 ML	0.8204	
	MAIZ 45 ML	0.1734	0.8265
	MELIN 5ML	0.039	
	MELIN 15 ML	0.7298	
	MELIN 30ML	0.313	
	MELIN 45 ML	0.0001	0.5668

	POSITIVO	0.163	
	NEGATIVO	0.999	
Altura del follaje	MAIZ 5 ML	0.1903	
	MAIZ 15 ML	0.8714	
	MAIZ 45 ML	0.8562	0.7377
	MELIN 5ML	0.5801	
	MELIN 15 ML	0.3332	
	MELIN 30ML	0.9598	
	MELIN 45 ML	0.2847	0.8998
	POSITIVO	0.1015	
	NEGATIVO	0.7106	
Altura total	MAIZ 5 ML	0.2167	
	MAIZ 15 ML	0.6363	
	MAIZ 45 ML	0.5704	0.9154
	MELIN 5ML	0.6485	
	MELIN 15 ML	0.1887	
	MELIN 30ML	0.9422	
	MELIN 45 ML	0.1104	0.6817
	POSITIVO	0.9002	
	NEGATIVO	0.0333	
Ancho follaje parte baja	MAIZ 5 ML	0.2036	0.2445
	MAIZ 15 ML	0.4286	
	MAIZ 45 ML	0.9999	

	MELIN 5ML	0.294	
	MELIN 15 ML	0.5392	
	MELIN 30ML	0.3647	
	MELIN 45 ML	0.3341	0.2857
	POSITIVO	0.2694	
	NEGATIVO	0.0999	
Ancho follaje parte alta	MAIZ 5 ML	0.1389	
	MAIZ 15 ML	0.3806	
	MAIZ 45 ML	0.9999	0.2306
	MELIN 5ML	0.7889	
	MELIN 15 ML	0.465	
	MELIN 30ML	0.5524	
	MELIN 45 ML	0.5795	0.5067
	POSITIVO	0.429	
	NEGATIVO	0.3614	

Los resultados del Análisis de Varianza y la prueba múltiple de medias muestran que no hay diferencia estadística significativa entre las variables de estudio en relación con los medios Melin y Maíz y sus respectivas dosis, sin embargo, las gráficas muestran que para todas las variables el medio Maíz a dosis de 45 ml tuvieron el mayor crecimiento. Sin embargo, el tratamiento control (negativo) también generó un crecimiento mayor al resto de los tratamientos a excepción de Maíz (45), lo que pudiera indicar que esta especie

de pino para estadios muy juveniles no requiere una simbiosis de tipo ectomicorrízica para sus primeros meses de crecimiento.

3.14.1 Altura del tallo

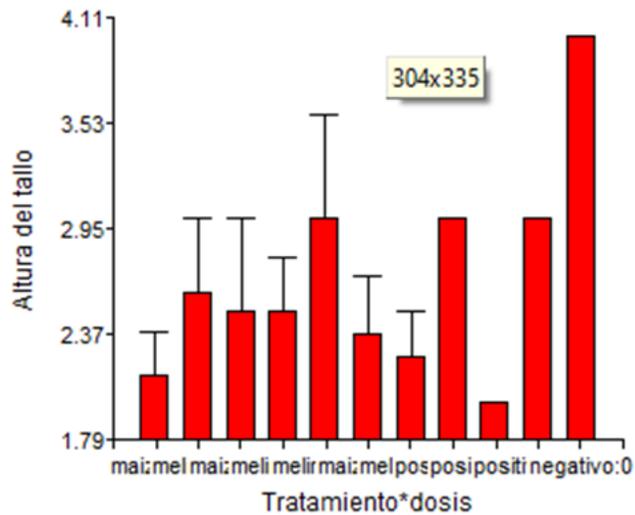


Figura 27. Altura del tallo de *Pinus engelmannii* en relación con el medio de cultivo y dosis de *Astraeus hygrometricus* en condiciones de invernadero.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura del tallo	33	0.49	0.26	24.62

Datos desbalanceados en celdas.
Para otra descomposición de la SC
especifique los contrastes apropiados.. !!

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.94	10	0.89	2.13	0.0668
Tratamiento	6.99	3	2.33	5.55	0.0054
dosis	0.87	3	0.29	0.69	0.5691
Tratamiento*dosis	1.09	4	0.27	0.65	0.6334
Error	9.23	22	0.42		
Total	18.17	32			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.09828
Error: 0.4195 gl: 22
Tratamiento Medias n E.E.

negativo	4.00	3	0.37	A
positivo	2.67	4	0.34	B
melin	2.59	16	0.16	B
maiz	2.34	10	0.22	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.18606
Error: 0.4195 gl: 22
dosis Medias n E.E.

0	4.00	3	0.37	A
30 ml	3.00	4	0.37	A B
5 ml	2.58	12	0.20	B
15 ml	2.33	7	0.29	B
45 ml	2.31	7	0.25	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Figura 28. Cuadro de variables, análisis de varianza y tukey

3.14.2 Altura del follaje

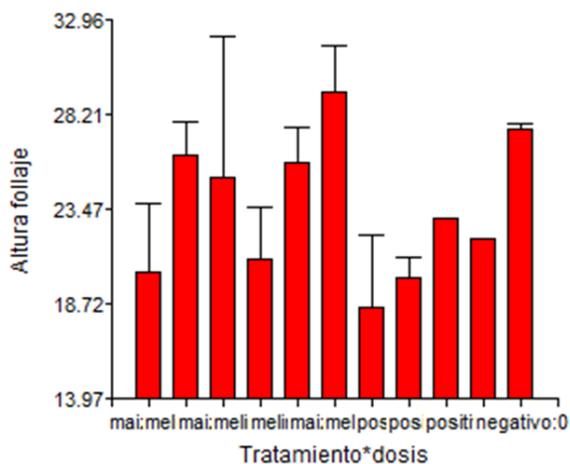


Figura 29. Altura del follaje de *Pinus engelmannii* en relación con el medio de cultivo y dosis de *Astraeus hygrometricus* en condiciones de invernadero.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Altura follaje	33	0.37	0.09	24.01

Datos desbalanceados en celdas.
Para otra descomposición de la SC
especifique los contrastes apropiados.. !!

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	411.23	10	41.12	1.30	0.2898
Tratamiento	76.45	3	25.48	0.81	0.5041
dosis	29.40	3	9.80	0.31	0.8180
Tratamiento*dosis	305.38	4	76.34	2.41	0.0796
Error	695.81	22	31.63		
Total	1107.04	32			

Medias ajustadas, error estándar y número de observaciones

Error: 31.6275 gl: 22

Tratamiento	Medias	n	E.E.
negativo	27.50	3	3.25
maiz	24.89	10	1.91
melin	22.85	16	1.43
positivo	21.67	4	2.96

Medias ajustadas, error estándar y número de observaciones

Error: 31.6275 gl: 22

dosis	Medias	n	E.E.
0	27.50	3	3.25
30 ml	23.92	4	3.25
45 ml	23.92	7	2.15
15 ml	22.99	7	2.48
5 ml	22.14	12	1.78

Figura 30. Cuadros de análisis de la varianza, medias ajustadas y error estándar

3.14.3 Altura total de la planta

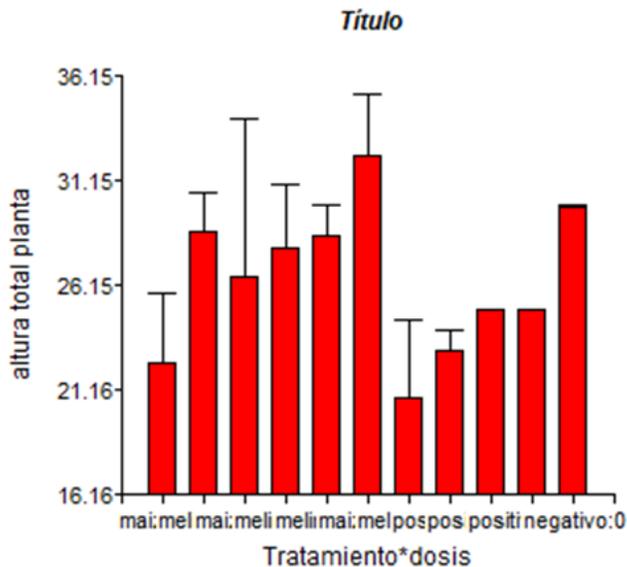


Figura 31. Gráfica de la altura total de la planta de *Pinus engelmannii* en relación con el medio de cultivo y dosis de *Astraeus hygrometricus* en condiciones de invernadero.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9.05	6	1.51	3.74	0.0062
Tratamiento	8.39	3	2.80	6.94	0.0010
dosis	0.66	3	0.22	0.55	0.6523
Error	12.90	32	0.40		
Total	21.95	38			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.02959

Error: 0.4030 gl: 32

Tratamiento Medias n E.E.

negativo	4.00	3	0.37	A
positivo	2.75	4	0.33	B
melin	2.59	20	0.15	B
maiz	2.15	12	0.19	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.04121

Error: 0.4030 gl: 32

dosis Medias n E.E.

0	4.00	3	0.37	A
30 ml	2.88	6	0.29	B
5 ml	2.53	12	0.20	B
45 ml	2.39	9	0.22	B
15 ml	2.30	9	0.23	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 32. Cuadro de análisis de la varianza y pruebas de tukey.

3.14.4 Ancho parte alta

La grafica muestra una diferencia del medio Maíz dosis 45 ml con mayor anchura en la parte alta, aunque estadísticamente no se muestra una diferencia significativa, existe una mayor diferencia de esta con respecto a las demás, al igual que en las otras variables.

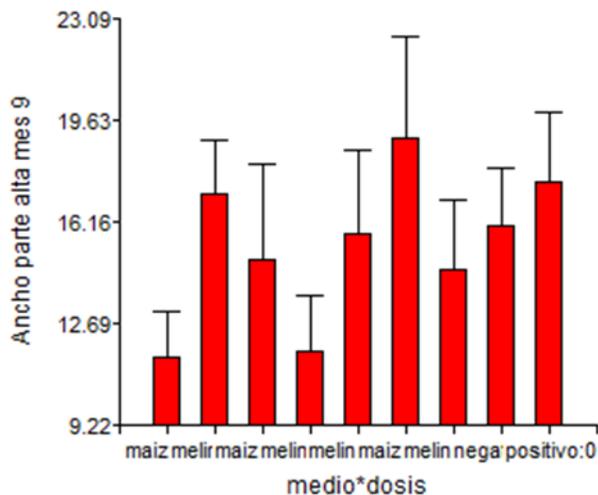


Figura 33. Ancho parte alta de *Pinus engelmannii* en relación con el medio de cultivo y dosis de *Astraeus hygrometricus* en condiciones de invernadero.

3.14.5 Ancho parte baja

La grafica muestra que el medio maíz primeramente y después Melin ambos en dosis de 45 ml tuvieron la mayor anchura en la parte baja del follaje de la plántula del pino, aunque no se muestra en la prueba estadística dado por la variabilidad en las repeticiones generando una alta desviación estándar en la variable para cada tratamiento..

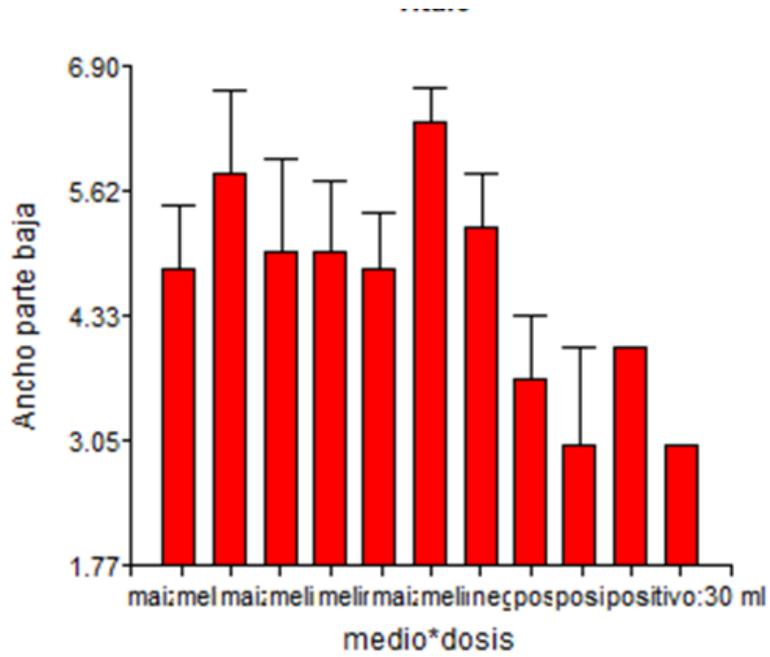


Figura 34. Ancho parte baja de *Pinus engelmannii* en relación con el medio de cultivo y dosis de *Astraeus hygrometricus* en condiciones de invernadero.

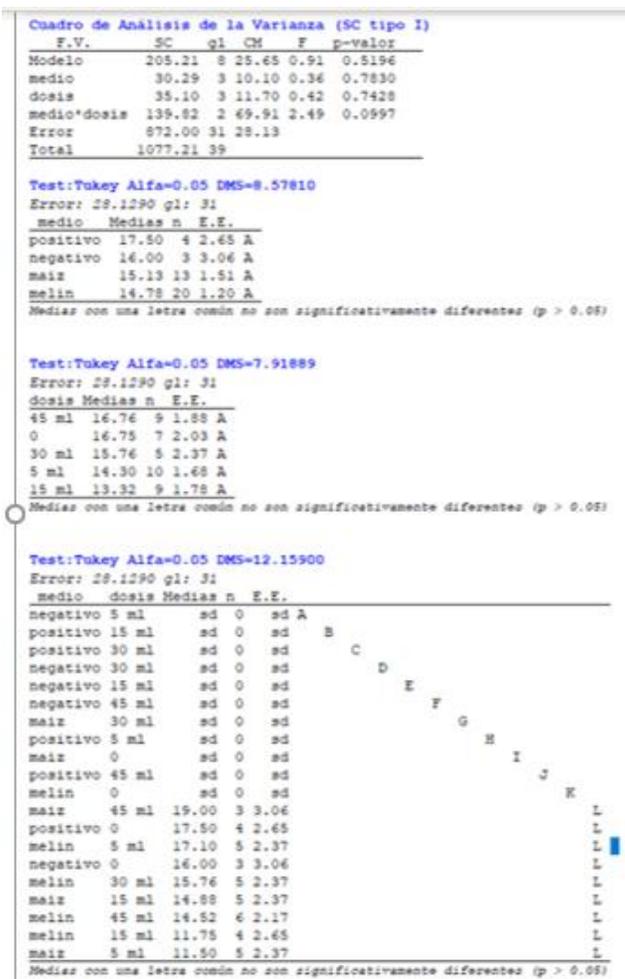


Figura 35. Cuadro de análisis de varianza y test de tukey para todos los tratamientos

La inoculación con *Astraeus hygrometricus* en *Pinus engelmannii* en tratamientos maíz y melin, el tratamiento positivo y negativo mostraron comportamientos similares en cuanto a los resultados observados en las gráficas de dispersión, como fue explicado previamente en la sección 3.10 sin embargo los resultados estadísticos nos pueden comprobar que el comportamiento fue distinto, como se puede observar para las pruebas del análisis de varianza y las pruebas múltiples de medias no muestral alguna diferencia significativa, ya que el error estándar es muy alto, esto se debe a que existe mucha variación entre las repeticiones en cada tratamiento, y esto es lo

que evito lo mencionado previamente, que no hay valores significativos. El tratamiento con mayor crecimiento para todas las variables fue el de maíz a una dosis de 45 ml.

Conclusión

Haciendo comparaciones en los tratamientos con inoculo de *Astraeus hygrometricus*, de acuerdo con los resultados estadísticos, micorrización y comportamiento el maíz es el más efectivo, se podría inferir que este hecho se debe a que el maíz tiene componentes que ayudan a crear un ambiente hostil para ciertos hongos (Gil M, 2019) en este caso *A. hygrometricus*, inhibiendo el crecimiento de hifas, también contiene glucosa la cual aumenta la capacidad de micorrización para ciertos hongos. Para la planta pudo ser beneficioso ya que contiene mucho almidón, es una fuente importante de material alimenticio que pudo haber sido consumido durante el metabolismo de la plántula. (Agama-Acevedo, et al. 2013) también hay estudios que señalan que el maíz para las plantas puede ser beneficioso porque es rico en fosforo (Universidad Nacional de San Martin, 2023). Por otro lado, los resultados en cuanto a el tratamiento negativo, indico que hubo crecimiento mayor a las plántulas tratadas con Melin y el tratamiento positivo, lo cual nos puede indicar que las plántulas de *P. engelmannii* en sus primeros meses no necesariamente requieren de una simbiosis ectomicorrizica, otros factores pueden ser considerados con mayor importancia para un crecimiento efectivo. *P. engelmannii* es una especie de pino que se encuentra en un clima limitado, existen variables ambientales que afectan fuertemente el desarrollo del pino más que otras, las cuales en su hábitat natural llegan hasta el punto de determina su distribución, una de las variables con más efecto es el suelo, particularmente los niveles de acidez y base en el suelo, un suelo adecuado debe comprender de proporciones iguales de compost de corteza y turba, o una base mezclada que consista de turba, vermiculita y perlita. Otra variable que es muy influyente en el desarrollo de la

plántula es la temperatura extrema, naturalmente crecen en climas templados, también les favorece abundante luz, de tal manera que a partir de los 3 meses exposición directa al sol aunado a un clima templado es lo más efectivo para un desarrollo adecuado (Prieto-Ruiz et al., 2013) Debido a los requerimientos ecológicos de esta especie, muy pocas áreas de reproducción controlada se han establecido. (Martínez-Salvador & Prieto-Ruiz, 2011). Estas condiciones ambientales deben ser consideradas al momento de realizar un experimento como este, el conocer más a profundidad la ecología de la especie para resultados más adecuados de tal manera que puedan ser repetidos en invernadero y se logre llevar a los bosques con fines de reforestación y asegurar su supervivencia.

LITERATURA CITADA

- Ávila-Flores, Israel & Hernández-Díaz, Jose & Gonzalez-Elizondo, M. Socorro & Prieto-Ruiz, José & Wehenkel, Christian. (2016). *Pinus engelmannii* Carr. in Northwestern Mexico: A review. *Pakistan Journal of Botany*. 48.
- Awan, Yawar., (2014). *Astraeus Hygrometricus* and its Various Aspects.
- Birch tree care (2016) Why Your Evergreen Is Dying from The Bottom Up.
<https://www.birchtreecare.com/blog/why-your-evergreen-is-dying-from-the-bottom-up>
- Bonet, J. A., Gonzalez-Olabarria, J. R., & Martínez De Aragón, J. (2014). Mushroom production as an alternative for rural development in a forested mountainous area. *Journal of Mountain Science*, 11(2), 535-543.
- Cabrera Alejandra, Pérez Jesús, Torres Aquino Margarita, Olmos Oropeza Genaro, Martínez-Montoya Juan, Palacio-Núñez Jorge, Cano Jorge. (2022). Ectomycorrhizal association of *Astraeus aff. hygrometricus* (Pers.) Morgan with an oak forest relict in the Altiplano Potosino, Mexico. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 28. 319-329.
- Camargo-Ricalde, Sara Lucia., Manuel Montado., Claudia Janette De la Rosa-Mera., Susana Adriana Montado Arias. (2012). "Micorrizas: una gran unión debajo del suelo" *Revista Digital Universitaria en línea*. 1 de julio de 2012, Vol. 13, No.7. *Ciencias Naturales Agropecuarias*. 159-164
- Chávez, D., Pereira, G., Machuca, A. (2009). Efecto de tipos de inóculos de tres especies fúngicas en la micorrización controlada de plántulas de *Pinus radiata*. *Lab. De Biotec. De Hongos. BOSQUE* 30(1). 4-9 pp.
- Corrêa, A., Cruz, C., & Ferrol, N. (2015). Nitrogen and carbon/nitrogen dynamics in arbuscular mycorrhiza: the great unknown. *Mycorrhiza*, 25(7), 499-515
- Cruz Uolla, Blanca S., Micorrización en la conservación de los bosques. *Cien*

- DATAtab: DATAtab Team (2023). DATAtab: Online Statistics Calculator.
DATAtab e.U. Graz, Austria.
- del Guadiana. INIFAP. Durango, Durango, México. 1 p
- Esquivel-Quispe, Roberta. (2020). Propagación de hongos micorrizogenos arbusculares nativos y su influencia en la producción de maíz Amiláceo en Paquecc-Ayacucho. Primera parte: Propagación en cultivos asociados en invernadero. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(1), 42-52
- Falcón Oconor, Emir, & Rodríguez Leyva, Orfelina, & Riera Nelson, Manuel C. (2013). Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos sobre la producción de posturas forestales en dos tipos de suelos. *Cultivos Tropicales*, 34(3),32-39.
- Galindo-Flores, G., Castillo-Guevara, C., Campos-López, A., & Lara, C. (2015). Caracterización de las ectomicorrizas formadas por *Laccaria trichodermophora* y *Suillus tomentosus* en *Pinus montezumae*. *Botanical Sciences*, 93(4), 855-863.
- Gil Marisela (2019) Lifeder. Agar harina de maíz: fundamento, preparación y uso.
- Gómez-Romero, Mariela, Villegas, Javier, Sáenz-Romero, Cuauhtémoc, & Lindig-Cisneros, Roberto. (2013). Efecto de la micorrización en el establecimiento de *Pinus pseudostrobus* en cárcavas. *Madera y bosques*, 19(3), 51-63.
- Ibarra Sarlat, R., (2019). Cambio climático y gobernanza. 1era ed. Mexico, pp.260,261.
- Jayne, B., & Quigley, M. (2014). Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 24(2), 109-119.

- Leija, Edgar., (2016). La deforestación en México: causas y efectos socioecológicos. 12. 6-7.
- Lifeder. (2019). Agar harina de maíz: fundamento, preparación y uso. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/agar-harina-de-maiz/>.
- M, Habte., A Silva, James., R, Uchida. (2014). Plant Nutrient Management in Hawaii's Soils, Approaches for Tropical and Subtropical Agriculture. Mycorrhizal Fungi and Plant Nutrition. 127-131.
- Marschner, P., & Rengel, Z. (2012). Nutrient availability in soils. In Marschner's mineral nutrition of higher plants (pp. 315-330). Academic Press.
- Martínez Nevárez, Laura Elena, Sarmiento López, Homero, Sigala Rodríguez, José Ángel, Rosales Mata, Sergio, & Montoya Ayón, José Bernardo. (2016). Respuesta a la inoculación inducida de *Russula delica* Fr. en plantas de *Pinus engelmannii* Carr. en vivero. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 7(33), 108-117
- Martínez-Salvador, M. and J.Á. Prieto-Ruíz. 2011. Determinación de áreas potenciales para el establecimiento de plantaciones comerciales forestales en la región norte de México. Folleto técnico núm. 47. Campo experimental Valle del Guadiana, CIRNOC.INIFAP. Durango, Dgo. 36 p.
- Monjardín-Armenta Sergio A., Pacheco-Angulo Carlos E., Wenseslao Plata-Rocha Wenseslao., Corrales-Barraza Gabriela. (2017). La deforestación y sus factores causales en el estado de Sinaloa, México. *Madera y Bosques*, 23, 7–22.
- Morales-Nieto, C. R., Siqueiros-Candia, M., Álvarez-Holguín, A., Corrales-Lerma, R., Alarcón-Bustamante, M., & Martínez-Salvador, M. (2020). Estructura y diversidad genética en poblaciones de *Pinus engelmannii* Carr. en Chihuahua, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 43(2), 197-204.
- Nadeem SM, Ahmad M, Zahir ZA, Javaid A, Ashraf M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop

productivity under stressful environments. *Biotechnol Adv.* 2014 Mar-Apr;32(2):429-48.

- Orozco, G., Muñoz, H., Rueda, A., Sígala, J., Prieto, J., García, J. (2010). Diagnóstico de la calidad de planta en los viveros forestales de Estado de Colima. *Rev. Mex. Cienc. For.* Vol. 1 Núm. 2.
- Pérez-Calderón, José Ricardo, Botello-Camacho, Alejandro, González-Fernández, Raquel, & Valero-Galván, José. (2015). Variación morfológica en el género *Astraeus* (Boletales, Basidiomycota) en relación con las condiciones climáticas y geográficas en las islas de montaña de Chihuahua y Sonora, México. *Acta universitaria*, 25(4), 03-10
- Prieto-Ruíz, J.A., S. Rosales-Mata, J.A. Sigala-Rodríguez and H. Sarmiento-López. (2013). Producción de planta forestal en vivero. Ficha técnica validada. Campo Experimental Valle
- Quiñónez Martínez, M., Lebgue Keleng, Toutcha., Lavin-Murcio, Pablo., Bernal Carillo, Susana. (2013). Influencia del disturbio en la riqueza de hongos ectomicorrizógenos en los bosques de Chihuahua. *Ciencia en la Frontera*. Vol. 11 Núm. 1.
- Quiroz Marchant, I., Chung Guin-po, P., García Rivas, E., et al *2009). Vivero forestal: producción de plantas nativas a raíz cubierta. 63-72
- Salcido Ruiz, Silvia, José Angel Prieto Ruíz, Enrique Santana Aispuro, Jorge Armando Chávez Simental, y Rosa Elvira Madrid Aispuro. 2021. «Supervivencia Y Crecimiento De *Pinus Engelmannii* Carr. En Una reforestación Por micorrización Y fertilización». *Revista Mexicana De Ciencias Forestales* 12 (64). México, ME.
- Salcido Ruiz, Silvia, Prieto Ruíz, José Ángel, Santana Aispuro, Enrique, Chávez Simental, Jorge Armando, & Madrid Aispuro, Rosa Elvira. (2021). Survival and growth of *Pinus engelmannii* Carr. in a reforestation from

- mycorrhization and fertilization. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 12(64), 45-65.
- Tedersoo, L., & Brundrett, M. C. (2017). Evolution of ectomycorrhizal symbiosis in plants. In *Biogeography of mycorrhizal symbiosis* (pp. 407-467). Springer, Cham.
- Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, (pp. 367).
- Universidad Nacional de San Martín. (2023) Agencia TSS. Fertilizante natural con desechos de maíz.
- Valdés Ramírez, María, Ambriz Parra, Enrique, Camacho Vera, Alejandro, & Fierros González, Aurelio M. (2010). Inoculación de plántulas de pinos con diferentes hongos e identificación visual de la ectomicorriza. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 1(2), 53-63.
- Verma, Ram, Rajput, Pramod, Pandro, Vimal. (2017). Diversity of Macro-fungi in central India-VIII: *Astraeus hygrometricus*, an ectomycorrhizal and nutraceutical mushroom from sal forests. *Van Sangyan*. 4. 18-29.
- Vivaelsoftwarelibre. (2019). Test de Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad en R Commander. *Viva el Software Libre*.
- Wallander, H., Ekblad, A., Godbold, D. L., Johnson, D., Bahr, A., Baldrian, P., ... & Rudawska, M. (2013). Evaluation of methods to estimate production, biomass, and turnover of ectomycorrhizal mycelium in forests soils—A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 1034-1047.

