

Selección de hongos ectomicorrícicos de  
*Pinus pinaster* Ait. para su aplicación  
en reforestación

Joan Pera Alvarez

Tesis Doctoral

---

Desarrollo de técnicas para estimar la infectividad de distintos suelos forestales y su receptividad a la introducción de hongos ectomicorrícicos seleccionados.

---

### Introducción

La necesidad de reforestar con plantones micorrizados en vivero debe ser evaluada en la zona de plantación, determinando la presencia o ausencia de hongos ectomicorrícicos capaces de infectar a la especie forestal con la que se va a repoblar (Kendrick, 1988). En general, aquellos suelos forestales que mantengan una elevada población de hongos simbioses no requerirán, necesariamente, la utilización de plantas inoculadas en vivero (Mikola, 1973).

Sin embargo, los estudios ecológicos realizados revelan la disminución o modificación de las poblaciones nativas de hongos simbioses en aquellos suelos que, por acción del fuego o tras una tala generalizada, se vieron desprovistos temporalmente de una cobertura arbórea adecuada (Harvey *et al.*, 1980; Persson, 1982; Parke *et al.*, 1984; Perry *et al.*, 1987). Se ha propuesto que las poblaciones fúngicas evolucionan a lo largo de la sucesión del bosque, sucediéndose unas a otras en la colonización micorrícica de las raíces de los árboles (Mason *et al.*, 1982, 1983, 1985; Dighton y Mason, 1985; Dighton, 1987). Las especies ectomicorrícicas que se encuentran en las etapas maduras de la sucesión presentarían una reducida capacidad para colonizar las raíces de las plantas jóvenes (Danielson, 1988; Marx y Cordell, 1988). Por lo tanto, la micorrización controlada de las plantas en vivero no solo puede facilitar la revegetación en condiciones difíciles (Marx y Artman, 1979; Grossnickle y Reid, 1982) o en suelos carentes de inóculo natural (Mikola, 1970; Marx, 1980), sino que la introducción de una cepa ectomicorrícica seleccionada también puede proporcionar grandes beneficios en los procesos normales de reforestación (Chalot *et al.*, 1988; Le Tacon *et al.*, 1988; Castellano, 1990; Le Tacon y Garbaye, 1990).

Uno de los parámetros más importantes durante la selección de un hongo ectomicorrícico es su nivel de adaptación ecológica a la zona de reforestación (Mikola, 1973; Trappe, 1977; Marx, 1980; Perry *et al.*, 1987; Chu-Chou y Grace,

1990; Kropp y Langlois, 1990). El potencial efecto beneficioso de las inoculaciones realizadas en vivero estará modulado y condicionado por las características edafoclimáticas de la zona de plantación, pero solo podrá manifestarse si el hongo ectomicorrícico inoculado persiste en el sistema radical de la planta una vez seã trasplantada a campo. Dicha persistencia requiere que el hongo sea capaz de extenderse rápidamente en el suelo y colonizar el nuevo sistema radical producido durante el período de establecimiento inicial de la planta. Esta capacidad, definida como 'competitividad' del hongo ectomicorrícico (Marx, 1980; Garbaye, 1983) o 'receptividad' del suelo (Duvert, 1987; Perrin *et al.*, 1988), dependerá del grado de acoplamiento entre los mecanismos fisiológicos y metabólicos del hongo y los factores característicos del clima y del suelo (Slankis, 1974), así como de su habilidad para resistir los fenómenos de interacción y competencia ejercidos por la microflora del suelo y la rizosfera (Garbaye, 1983; McAffe y Fortin, 1986; Linderman, 1988; Ingham y Molina, 1991).

En la rizosfera de la planta huésped, se establece una compleja comunidad microbiana que puede estimular o inhibir la formación de la simbiosis ectomicorrícica (Slankis, 1974; Bowen y Theodorou, 1979; Chakraborty *et al.*, 1985; Garbaye y Bowen, 1987; Oliveira y Garbaye, 1989; Duponnois y Garbaye, 1991). Para el hongo introducido en las plantas inoculadas, la competencia más directa estará constituida por los hongos ectomicorrícicos nativos del suelo de la plantación, ya que deberán compartir el mismo nicho ecológico. Esta presión competitiva estará determinada por la 'infectividad' del suelo, es decir, su capacidad para inducir la micorrización en una población de plantas hospedadoras (Perrin *et al.*, 1988), y dependerá de la densidad y la capacidad colonizadora de los propágulos ectomicorrícicos presentes en el suelo.

El objetivo principal de los experimentos presentados en este capítulo es desarrollar una serie de técnicas que permitan determinar la capacidad de persistencia de distintos hongos ectomicorrícicos, presentes en el sistema radical de plantas inoculadas, una vez trasplantadas a suelos forestales con distinto historial. La infectividad ectomicorrícica de dichos suelos ha sido uno de los principales factores tenidos en cuenta. Los resultados obtenidos se discutirán en función de su aplicación al estudio de la evolución de la micorrización en condiciones de campo y a la selección de cepas ectomicorrícicas.

## Materiales y Métodos

### *Suelos : recogida y características.*

Los suelos utilizados en este estudio se recogieron en seis localidades de Cataluña (Fig 4.1) y representaban: bosques mixtos, plantaciones forestales de *P. pinaster* de distintas edades, parcelas de reciente repoblación o suelo desprovisto de vegetación arbórea durante 3 años (Tabla 4.1).

Tabla 4.1

Localidad geográfica, tipo de textura y uso forestal de los suelos utilizados.

Suelo	Localidad de recolección	Clase textural	Historia y vegetación actual
Sta. Pellaia	Les Gabarres Baix Empordà, Girona	franco	Bosque espontáneo mixto de <i>P. pinaster</i> y <i>Q. suber</i>
Farners	Sta. Coloma de Farners La Selva, Girona	franco-arcillo-arenoso	Bosque espontáneo mixto de <i>P. pinaster</i> y <i>Quercus suber</i>
Fitor	Les Gabarres Baix Empordà, Girona	franco-arcillo-arenoso	Plantación forestal de <i>P. pinaster</i> de 25 años
Gualba	Vallés Oriental Barcelona	franco-arcillo-arenoso	Plantación forestal de <i>P. pinaster</i> de 15 años
Montseny	Macizo del Montseny La Selva, Girona	franco-arenoso	Plantación forestal de <i>Pseudotsuga menziesii</i> establecida en 1989
Mas Plaja	Les Gabarres Baix Empordà, Girona	arcillo-arenoso	Suelo desprovisto de cubierta arbórea durante 3 años

Las muestras de suelo se recogieron entre finales de Septiembre y principios de Octubre de 1991. En todos los casos se tomaban muestras de cuatro puntos distintos dentro de la misma parcela, recogiendo la fracción correspondiente a los 20-25 primeros centímetros de suelo, hasta obtener un volumen total de 150 l. Las muestras de cada uno de los suelos se tamizaban a un tamaño máximo de partícula de 5 mm y se conservaban en bolsas de

plástico a 4 °C hasta su utilización (en ningún caso el período de conservación fue superior a 7 días). De cada suelo se tomaba una muestra para realizar el análisis de sus características fisicoquímicas (Tabla 4.2).

***Potencial infectivo ectomicorrícico de los distintos suelos forestales.***

Las semillas de *P. pinaster* (origen Aquitania, CEMAGREF, nº de lote: 81245. Centre National de Recherches Forestieres. Laboratoire d'Amélioration des arbres forestiers. Francia) se lavaban durante 12 horas en agua corriente en circulación, y se desinfectaban por inmersión en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 33% durante 30 min y en agitación. Una vez desinfectadas, se lavaban con un volumen suficiente de agua destilada estéril, se distribuían en placas Petri selladas con Parafilm<sup>R</sup> y se estratificaban durante 30-40 días a 4 °C. Una vez estratificadas, se hacían germinar en perlita (Europerl<sup>R</sup>) estéril (120 °C, 30 min) y se dejaban crecer en invernadero durante 30 días antes de ser transferidas a los suelos.

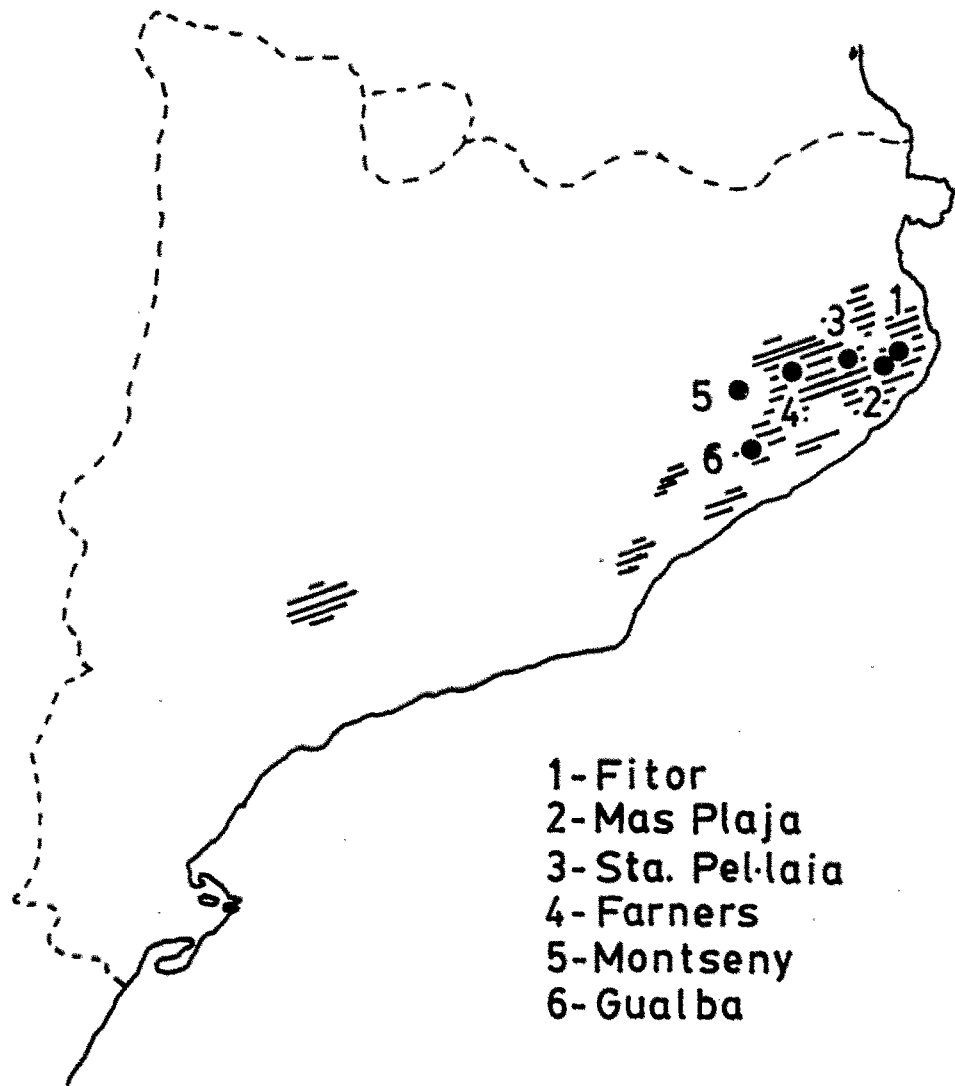
La infectividad de los distintos suelos se estimaba mediante la relación dosis - respuesta entre una escala de concentraciones del suelo a estudiar y la micorrización de las plantas en condiciones controladas (Perrin *et al.*, 1988). Para ello, se tomaban 5 l de cada suelo y se esterilizaban en un autoclave (120 °C, 60 min). Para cada uno de los suelos, se preparaba un rango de diluciones del suelo original en el mismo suelo esterilizado, estableciendo las proporciones: 1/0, 1/1, 1/3, 1/7, 1/15, 1/31, 1/63 y 1/127 (suelo original/suelo estéril, v/v), con lo que se obtenían las diluciones: 10<sup>0</sup>, 5x10<sup>-1</sup>, 2.5x10<sup>-1</sup>, 1.3x10<sup>-1</sup>, 6.3x10<sup>-2</sup>, 3.1x10<sup>-2</sup>, 1.6x10<sup>-2</sup> y 7.8x10<sup>-3</sup>. Se llenaban cuatro contenedores Sherwood de 175 cm<sup>3</sup> de capacidad (Rootainers<sup>R</sup>, Spencer-Lemaire Ind.; Edmonton, Alberta, Canadá) para cada uno de los suelos y diluciones a probar, y se transfería una plántula de *P. pinaster*, germinada en perlita estéril, a cada uno de los contenedores. Las plantas se distribuían totalmente al azar en un invernadero sombreado con una malla blanca del 40 %. Durante el crecimiento de las plantas se estableció una temperatura máxima de 25-27 °C, mantenida por un sistema automático de refrigeración en circuito cerrado, y una temperatura mínima de 18-20 °C, asegurada por un sistema de calefacción. La humedad relativa ambiental se mantenía por encima del 50 % mediante un sistema automático de pulverización de agua (Defensor<sup>R</sup>) alimentado por un destilador (Köttermann<sup>R</sup> 1032).

Tabla 4.2

Características fisicoquímicas de los suelos utilizados en los experimentos de infectividad y receptividad

Suelo	pH		C <sub>(org)</sub> %	Mat. Org. %	N <sub>t</sub> %	C/N	NO <sub>3</sub> mg/kg	P asimil. mg/kg	Bases de cambio meq / 100 g			
	H <sub>2</sub> O (1:2)	HCl (1:2)							Na	K	Mg	Ca
Sta. Pellala	5.65	4.32	2.01	3.45	0.10	20.0	1.6	0.7	0.15	0.17	1.39	4.22
Farners	5.39	4.16	2.93	5.05	0.11	26.6	2.5	0.3	0.11	0.06	1.09	5.01
Fitor	5.64	4.59	3.32	5.72	0.14	23.7	6.2	1.1	0.19	0.33	1.76	7.54
Gualba	7.46	6.35	1.46	2.52	0.14	10.4	72.8	3.5	0.36	0.24	2.19	44.12
Montseny	4.93	3.83	4.02	6.93	0.30	13.4	83.2	41.7	0.05	0.04	0.28	1.85
Mas Plaja	7.34	6.25	0.88	1.52	0.09	9.8	7.2	8.5	0.36	0.16	1.12	35.28

Los análisis de suelos se realizaron en el "Servei d'Anàlisi de sòls de la Universitat Autònoma de Barcelona".



**Fig 4.1**

Localización geográfica de las zonas donde se recogieron los suelos utilizados. La zona sombreada corresponde al área ocupada por *Pinus pinaster* en Cataluña (Bolos y Vigo, 1984).

Se aseguraba un fotoperíodo de 16 horas/día mediante lámparas de sodio de alta presión, que proporcionaban una intensidad lumínica mínima de  $200 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  en los rangos de las longitudes de onda entre 400 y 700 nm. Las plantas se regaban tres veces por semana y se retiraban manualmente las hierbas que aparecían esporádicamente en los distintos suelos. Después de 3 meses de crecimiento, se recogían las plantas y se limpiaban sus sistemas radicales. Los tipos de micorrizas formados y los porcentajes de micorrización se determinaban por recuento directo, a la lupa binocular, de tres muestras tomadas al azar del sistema radical de cada planta. En cada muestra se contaban un total de 100 a 200 raíces cortas. El nivel de infectividad, o unidades de potencial infectivo (UPI) de cada uno de los suelos, se determinaba mediante el cálculo del volumen de suelo necesario para establecer un 10 % ( $\text{UPI}_{10}$ ) y un 50 % ( $\text{UPI}_{50}$ ) de infección (Bouhot, 1975). Estos valores se calculaban utilizando la ecuación de regresión lineal entre los porcentajes de micorrización transformados [ $\log(\ln(1/(1-(\%/100))))$ ], y el logaritmo del porcentaje de suelo original en cada nivel de dilución [ $\log(\%/100)$ ] (Baker *et al.*, 1967; Baker, 1971; Gilligan, 1979). Adicionalmente, mediante el método del número más probable (MPN) (Porter, 1979; Powel, 1980) y utilizando las tablas de Stevens (Fisher y Yates, 1963), se establecía la concentración de propágulos ectomicorrícicos infectivos en cada suelo.

#### ***Receptividad de distintos suelos forestales a las especies de hongos ectomicorrícicos seleccionadas para P. pinaster.***

Se preparaban 4 l de inóculo micelilar en turba-vermiculita de *Laccaria bicolor* S-238 y *Pisolithus tinctorius* A-93 <sup>1</sup>. Cada uno de los inóculos se mezclaba con un substrato compuesto por turba de Sphagnum tamizada (Floratorf <sup>R</sup> 300) y vermiculita (Termita <sup>R</sup>, grado 2) (1:1, v:v), previamente esterilizado (120 °C, 60 min). El volumen de inóculo se ajustaba para obtener las dosis de inoculación: 1:8 (inóculo:substrato, v:v) para *L. bicolor* S-238, y 1:4 y 1:32 (inóculo:substrato, v:v) para *P. tinctorius* A-93. Se llenaban 64 contenedores Sherwood por tratamiento y se sembraban tres semillas de *P.*

<sup>1</sup>

La metodología seguida para la preparación del inóculo micelilar fue idéntica a la descrita en el capítulo: "Selección de hongos y evaluación de técnicas de micorrización controlada de *P. pinaster* en contenedor".



*pinaster*, desinfectadas y estratificadas, pertenecientes al mismo origen y lote que en el experimento anterior. Paralelamente, se preparaban 384 contenedores con substrato desinfectado y sin inocular, en los que se sembraban también tres semillas por contenedor, para su posterior inoculación con suspensiones de esporas. Los contenedores se distribuían totalmente al azar en un invernadero climatizado y se sometían a las condiciones de crecimiento especificadas en el experimento anterior. Una vez germinadas, se dejaba una sola planta por contenedor y se regaban en función de las necesidades. Las plantas se fertilizaban cada tres semanas dispensando 10 ml por contenedor de una disolución en agua de: 2.15 g/l de Kristalon <sup>R</sup>, 0.24 g/l de Hortrilon <sup>R</sup> y 0.18 g/l de Fetrilon <sup>R</sup>, acidificada a pH 5.5 con una disolución al 10 % de HNO<sub>3</sub>.

Se preparaban suspensiones acuosas de basidiosporas de *Melanogaster ambiguus*, *Rhizopogon roseolus* y *Scleroderma citrinum*<sup>1</sup> y se ajustaban a las concentraciones necesarias para conseguir las dosis de inoculación: 10<sup>3</sup> y 10<sup>7</sup> esporas/planta para *M. ambiguus* y *R. roseolus*, y 10<sup>5</sup> esporas/planta para *S. citrinum*. Seis semanas después de la siembra de las semillas, se inocularon 64 plantas por dosis y especie fúngica, dejando 64 plantas más como controles sin inocular.

Después de 5 meses de crecimiento (de Mayo a Octubre), se recogían 10 plantas al azar de cada una de las dosis de inoculación y 10 plantas control no inoculadas. Se limpiaba el sistema radical para liberarlo del substrato de cultivo y se procedía a determinar los porcentajes de micorrización mediante el recuento directo, a la lupa binocular, de tres muestras tomadas al azar del sistema radical de cada planta. En cada muestra se contaban un total de 100 a 200 raíces cortas.

Las plantas restantes se distribuyeron en nueve lotes según los porcentajes de micorrización obtenidos en cada uno de los tratamientos:

- (i) no inoculadas y sin micorrizas;
- (ii) micorrizadas con *L. bicolor* (42 ± 13 % de micorrización);
- (iii) micorrizadas [ <50% ] con *M. ambiguus* (36 ± 12 %);

---

<sup>1</sup>

La metodología seguida para la preparación de las suspensiones de esporas fue idéntica a la descrita en el capítulo "Selección de hongos y evaluación de técnicas de inoculación para la micorrización controlada de *P. pinaster* en contenedor"

- (iv) micorrizadas [ $>50\%$ ] con *M. ambiguus* ( $87 \pm 3 \%$ );
- (v) micorrizadas [ $<50\%$ ] con *P. tinctorius* ( $30 \pm 16 \%$ );
- (vi) micorrizadas [ $>50\%$ ] con *P. tinctorius* ( $82 \pm 5 \%$ );
- (vii) micorrizadas [ $<50\%$ ] con *R. roseolus* ( $21 \pm 10 \%$ );
- (viii) micorrizadas [ $>50\%$ ] con *R. roseolus* ( $65 \pm 11 \%$ );
- y (ix) micorrizadas con *S. citrinum* ( $90 \pm 3 \%$ ).

Se limpiaban los sistemas radicales de todas las plantas para liberarlos del sustrato de cultivo y se trasplantaban a los suelos de las distintas zonas forestales en contenedores Fleet de  $300 \text{ cm}^3$  de capacidad (Rootainers<sup>R</sup>, Spencer-Lemaire Ind.; Edmonton, Alberta, Canadá) (Tabla 4.1). Se preparaban ocho repeticiones de cada lote de plantas en cada uno de los suelos y se distribuían totalmente al azar en el invernadero, manteniéndose en las mismas condiciones de humedad ambiental y temperatura. Se suspendía totalmente la fertilización y se regaban según las necesidades, asegurando un fotoperíodo de 16 horas/día mediante lámparas de sodio de alta presión que proporcionaban una intensidad lumínica de  $200 \mu\text{mol s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ .

Después de 14 semanas de crecimiento (de Octubre a Febrero), se recogían todas las plantas y se limpiaban los sistemas radicales para eliminar el suelo adherido. De cada una de las plantas, se recogían las raíces de nueva formación y se establecían los porcentajes de micorrización correspondientes: (i) al hongo introducido y (ii) a los hongos nativos de cada suelo, mediante su recuento directo a la lupa binocular. La significación de las diferencias entre tratamientos se determinaba por análisis de la varianza y se utilizaba el test de clasificación múltiple de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) para la comparación de las medias. Los valores de los porcentajes de micorrización se transformaban ( $\text{sen}^{-1} (\%/100)^{-2}$ ) para homogeneizar las varianzas del error antes de someterlos al análisis estadístico (Little y Hills, 1978; Snedecor y Cochran, 1980; Steel y Torrei, 1980).

## Resultados

### *Potencial infectivo ectomicorrícico de los distintos suelos forestales.*

La evolución de los porcentajes de infección ectomicorrícica de *P. pinaster* en función de la dilución de suelo utilizada, mostraba diferencias según el

suelo de trasplante (Fig 4.2). Exceptuando el suelo de Mas Plaja, en el que solo se micorrizaron las plantas sembradas en el suelo original sin diluir, se podía establecer una correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros, y la linealización de las curvas permitió la comparación del potencial infectivo de los distintos suelos (Tabla 4.3).

Tabla 4.3

Unidades de potencial infectivo, número de propágulos y diversidad de los tipos de ectomicorrizas nativas detectados en los distintos suelos forestales

Suelo	$r^2$	Potencial infectivo <sup>1</sup>		MPN <sup>2</sup>	Diversidad <sup>3</sup>
		UPI <sub>10</sub>	UPI <sub>50</sub>		
Sta. Pellaia	0.93 ***	0.27	6	871	4
Farners	0.75 **	0.49	89	684	3
Fitor	0.94 ***	0.28	31	686	5
Gualba	0.99 ***	2.00	38	229	2
Montseny	0.88 ***	5.00	79	22	1
Mas Plaja	0.33 ns	--	--	3	1

<sup>1</sup> -Porcentaje de suelo sin esterilizar necesario para inducir un 10% (UPI<sub>10</sub>) y un 50% (UPI<sub>50</sub>) de micorrización en las plantas.

<sup>2</sup> -Número total de propágulos ectomicorrícicos en 1 litro de suelo, estimado mediante el método del número más probable y contando los distintos tipos morfológicos presentes en cada suelo.

<sup>3</sup> -Número de tipos distintos de ectomicorrizas detectados en cada suelo.

\*\*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*  $P \leq 0.05$ ; ns = no significativo.

Los valores de potencial infectivo para el suelo de Mas Plaja no se han tabulado por falta de significación estadística en el análisis de la regresión lineal.

El suelo de Sta. Pellaia presentaba el potencial infectivo más alto. Las plantas sembradas en este suelo alcanzaban un porcentaje de micorrización superior al 80 % y se mantenía un nivel de micorrización del 50 % incluso al diluir el suelo hasta 16 veces. En este suelo, con un alto número de propágulos, se detectaron hasta cuatro tipos distintos de ectomicorrizas, diferenciables por sus características morfológicas. Las ectomicorrizas más frecuentes, dicótomas o varias veces bifurcadas hasta formar estructuras

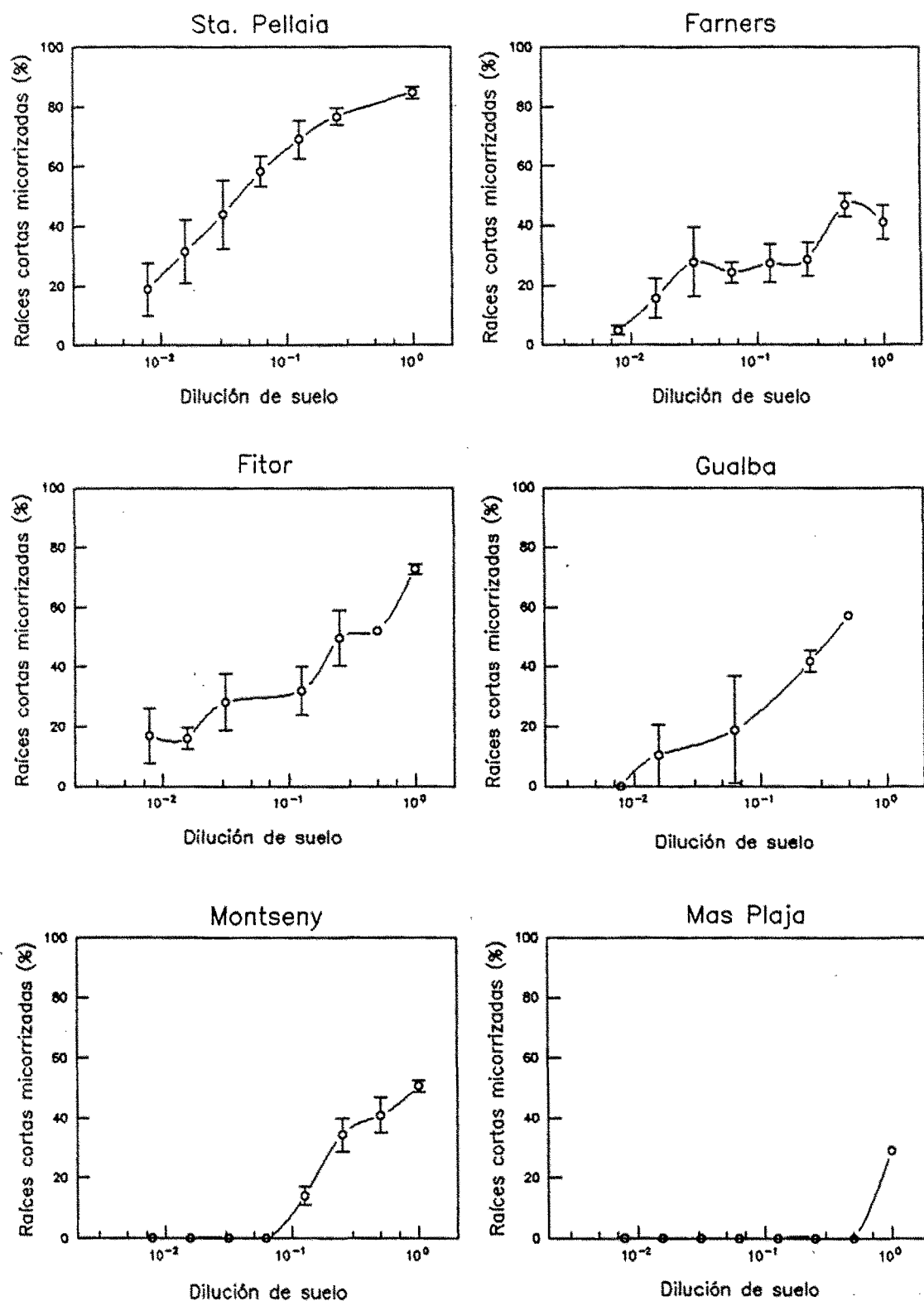


Fig 4.2. Efecto de las distintas diluciones de los suelos de origen natural en la evolución de los porcentajes totales de micorrización en plántulas de *P. pinaster*. Las barras verticales representan el error estándar interno de cada media.

coraloides muy ramificadas, se caracterizaban por un manto fúngico de poco espesor, de aspecto liso y quebradizo, y de color negro, a veces marrón oscuro. No presentaban ni micelio extramatricial ni cordones miceliares (SP1). El segundo tipo en abundancia se caracterizaba por un manto liso y de color beige, en algunos casos recubierto por un micelio blanco y algodonoso. Producían gran cantidad de micelio externo fibulado, con abundantes rizomorfos de color blanco amarillento. Más esporádicamente, se observaban: (i) ectomicorrizas de *Cenococcum geophilum*, simples o dicótomas, caracterizadas por un manto de color negro del que irradiaban abundantes hifas, negras, cortas y rígidas, que le conferían un aspecto hirsuto, y (ii) ectomicorrizas dicótomas o doblemente bifurcadas, con un manto fúngico de aspecto liso, de color entre beige y miel, y un escaso desarrollo de micelio externo (SP2). Este último tipo podría asemejarse a las ectomicorrizas descritas para géneros como *Lactarius* y *Russula*.

Los suelos de Fitor y Farners presentaban una densidad de propágulos ectomicorrícicos (MPN) comparable entre sí e inferior a la del suelo de Sta. Pellaia. No obstante, el primero mostraba un potencial infectivo superior y una mayor diversidad en los tipos de ectomicorrizas detectados (Tabla 4.3). En el suelo de Fitor, las ectomicorrizas predominantes se caracterizaban por un manto fúngico de aspecto liso refringente, a veces con zonas de micelio blanco, algodonoso y disperso en la superficie. En general, eran muy similares a las micorrizas descritas para el género *Laccaria*. Con menor frecuencia, se presentaban ectomicorrizas de manto blanco y algodonoso que formaban abundantes rizomorfos de color blanco o beige. Por sus características macroscópicas, estas micorrizas tenían un aspecto muy semejante a las descritas para géneros como *Suillus* o *Rhizopogon*. Finalmente y de forma mucho más esporádica, se observaban ectomicorrizas de *Cenococcum geophilum* y otras de morfología idéntica a algunas de las descritas en el suelo de Sta. Pellaia (SP1 y SP2). Las ectomicorrizas observadas en el suelo de Farners pertenecían, casi exclusivamente, a un solo tipo. Estas micorrizas, cortas, de estructura simple, dicótoma o doblemente bifurcada, se caracterizaban por un manto fúngico de aspecto algodonoso y color blanco. Formaban una gran cantidad de micelio externo blanco-rosado y abundantes rizomorfos del mismo color. Su apariencia era muy similar a la de las micorrizas descritas en géneros como *Suillus* y *Rhizopogon*. Los otros dos

tipos, muy poco representados, se caracterizaban por mantos fúngicos lisos y de color beige más o menos claro, aunque uno se diferenciaba del otro por la presencia de numerosas espículas que le conferían un aspecto hirsuto.

Las plantas crecidas en el suelo de Gualba sin diluir presentaban graves problemas de necrosis radical que habían afectado al desarrollo vegetativo y, muy probablemente, a la formación de ectomicorrizas. Por tanto, los valores de micorrización de la dilución  $10^0$  (1/0, suelo no estéril/suelo estéril, v/v) no se incluyeron en el proceso de los datos. No obstante, se pudo estimar que el potencial infectivo de este suelo era sensiblemente inferior al de los anteriores, y que la densidad de propágulos (MPN) era cuatro veces inferior a la del suelo de Sta. Pellaia y tres veces inferior a la de los suelos de Fitor y Farners (Tabla 4.3). Los dos tipos de micorrizas detectados se presentaban en proporciones muy similares. El primero se caracterizaba por la formación de estructuras dicótomas o varias veces bifurcadas, con un manto de color beige brillante y aspecto liso o ligeramente aterciopelado. El segundo tipo se caracterizaba por un manto ectomicorrícico de color blanco y aspecto algodonoso, en ocasiones con abundante micelio externo. Presentaban numerosas rizomorfias de color blanco a beige. La morfología externa recordaba las descripciones de las ectomicorrizas formadas por géneros como *Suillus*, *Rhizopogon* o *Xerocomus*.

El suelo de Montseny presentaba un potencial infectivo ( $UPI_{10}$ ) menor que los anteriores y la densidad de propágulos (MPN) era 10 veces inferior a la del suelo de Gualba, 30 veces inferior a la de los suelos de Farners o Fitor y 40 veces inferior a la del suelo de Sta. Pellaia (Tabla 4.3). Las ectomicorrizas detectadas en este suelo se caracterizaban por la formación de estructuras entre dicótomas y coraloides, recubiertas por un manto ectomicorrícico de poco espesor, color beige y aspecto liso o ligeramente aterciopelado con zonas dispersas de micelio blanco. Su aspecto externo las hacía semejantes a las micorrizas formadas por algunas especies del género *Laccaria*.

El suelo de Mas Plaja presentaba la menor concentración de propágulos ectomicorrícicos infectivos (Tabla 4.3). La falta de significación estadística en el análisis de la regresión entre la micorrización y la dilución de suelo, no permitía un cálculo fiable de los valores  $UPI_{10}$  y  $UPI_{50}$ . No obstante, la dilución al 50 % en suelo esterilizado ( $10^{-1}$ ) eliminaba totalmente la formación

de ectomicorrizas en el sistema radical de las plántulas de *P. pinaster* (Fig 4.2) y por tanto, se puede estimar que este suelo presentaba el potencial infectivo más bajo de todos los estudiados. En el suelo sin diluir se detectaba un solo tipo de ectomicorrizas, caracterizado por la formación de estructuras dicótomas a coraloides de longitud variable. El manto fúngico presentaba un aspecto algodonoso de color blanco, a veces beige oscuro, con abundante formación de micelio externo y rizomorfias del mismo color. Las características macroscópicas las asemejaban, en ocasiones, a las micorrizas formadas por *Scleroderma* o *Paxillus*.

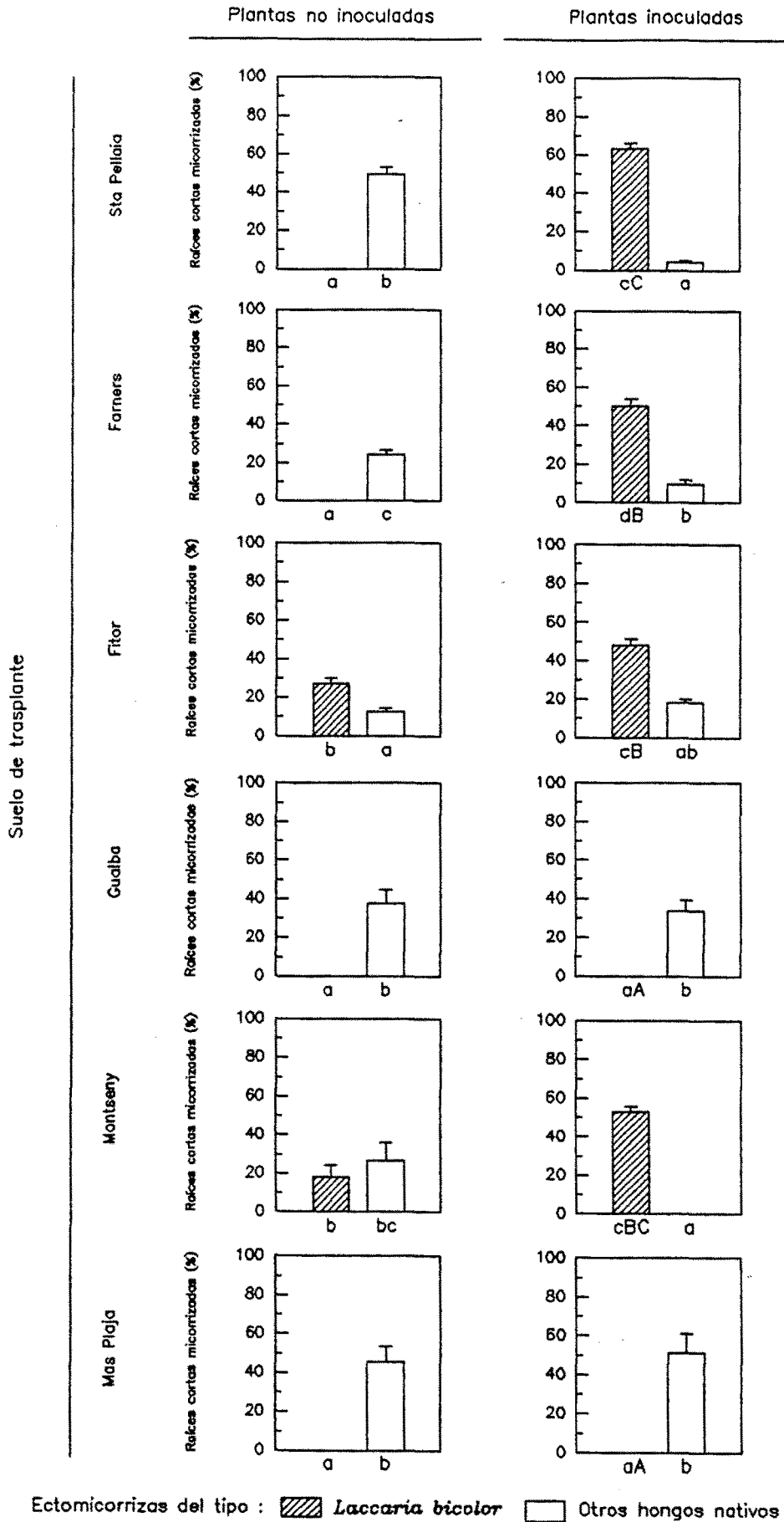
***Receptividad de los distintos suelos forestales a las especies de hongos ectomicorrícicos seleccionadas para P. pinaster.***

La evolución de la micorrización en las plantas inoculadas con *L. bicolor* S-238 presentaba claras diferencias en función del suelo de trasplante (Fig 4.3). En los suelos de Sta. Pellaia, Farners, Fitor y Montseny, de pH igual o inferior a 5.6 (Tabla 4.2), el hongo se estableció en las nuevas raíces formadas llegando a porcentajes de micorrización que oscilaban entre el 48 y el 63 %. En las plantas inoculadas y trasplantadas en los suelos de Gualba y Mas Plaja, con valores de pH 7.3 y 7.4, no se detectaron micorrizas atribuibles a *L. bicolor* después de 3.5 meses de crecimiento. Se podía establecer una alta correlación ( $r = -0.95^{**}$ ) entre el pH del suelo y el porcentaje final de nuevas raíces micorrizadas por *L. bicolor*. Las microfloras naturales de los suelos de Fitor y Montseny presentaban poblaciones de hongos capaces de formar ectomicorrizas que, por sus características morfológicas, resultaban indistinguibles de las formadas por *L. bicolor*. Estos hongos, que ya habían sido detectados en los bioensayos de infectividad, formaron las micorrizas 'tipo *Laccaria*' detectadas en las plantas control no inoculadas.

---

**Fig. 4.3.** Porcentajes de raíces cortas micorrizadas por *L. bicolor* y distintos hongos nativos en plantas de *P. pinaster*, no inoculadas o previamente inoculadas con *L. bicolor* S-238, trasplantadas a distintos suelos forestales. Las líneas verticales representan el error estándar interno. No se presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las barras que comparten una misma letra minúscula dentro de un mismo suelo (horizontal), ni entre las barras que comparten una misma letra mayúscula para un mismo tratamiento de inoculación (vertical). Aunque en las gráficas se representan las medias reales, el análisis estadístico se realizó con la transformación angular de los datos.

-->





*Laccaria bicolor* fue capaz de extenderse a las nuevas raíces incluso en suelos como Sta. Pellaia, Farners y Fitor, con una gran concentración de propágulos ectomicorrícicos y un alto potencial infectivo (Tabla 4.3). Excepto en el suelo de Fitor, la presencia de *L. bicolor* S-238 desplazaba a la micoflora nativa, afectando significativamente la formación de ectomicorrizas por parte de otros hongos.

Las inoculaciones con *M. ambiguus*, *P. tinctorius* y *R. roseolus*, permitieron establecer tres niveles iniciales de micorrización: (a) plantas no micorrizadas, (b) plantas con menos de un 50 % de las raíces micorrizadas y (c) plantas con más de un 50 % de las raíces micorrizadas. No obstante, el número total de plantas obtenidas con un nivel de infección inferior al 50 % (b) no permitía trasplantar este tratamiento a todos los suelos.

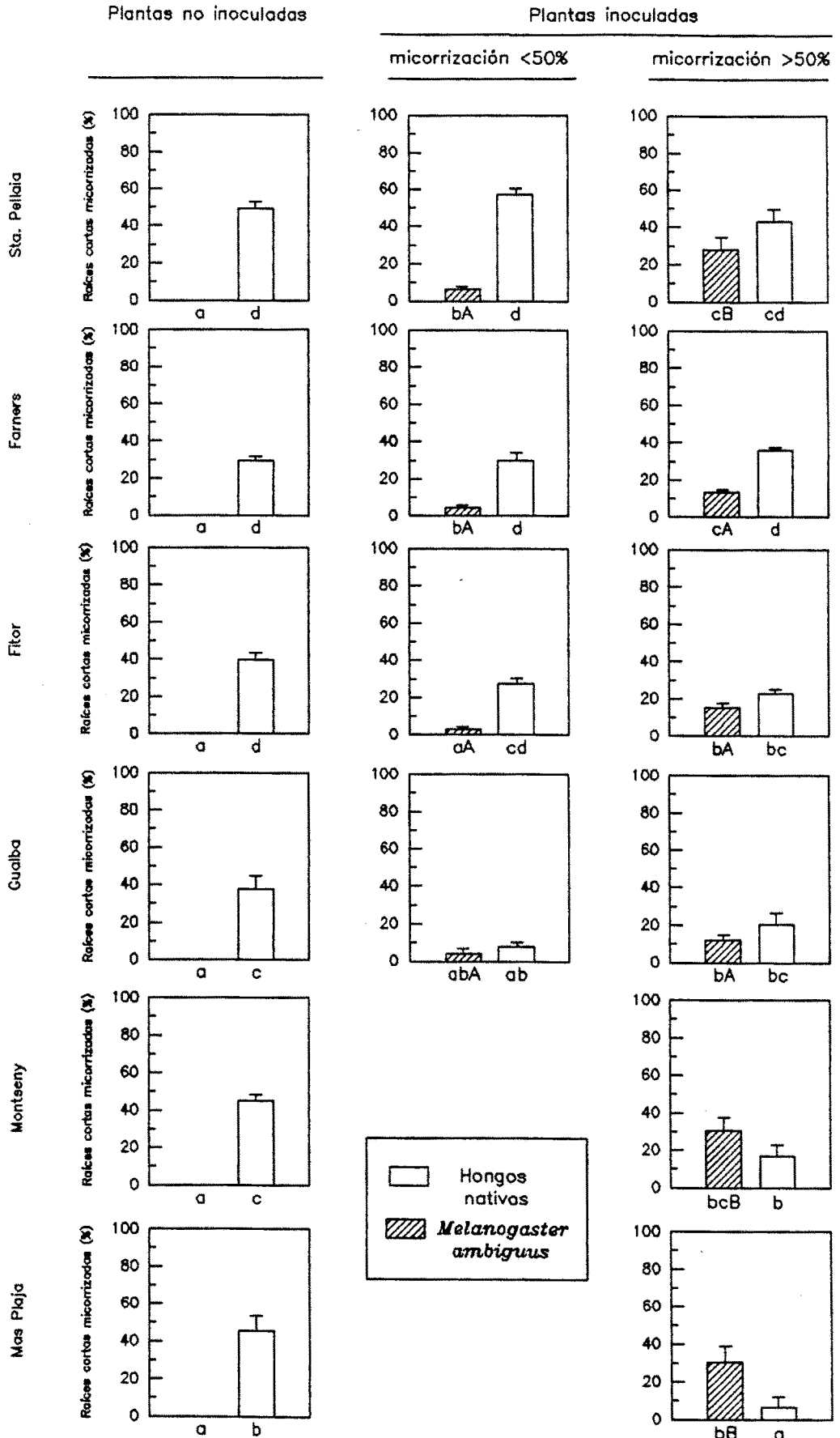
El porcentaje final de raíces cortas micorrizadas por *M. ambiguus* era mayor en las plantas que habían sido trasplantadas con una micorrización inicial superior al 50 % (Fig 4.4). Dentro de estas plantas, el porcentaje de raíces cortas micorrizadas con *M. ambiguus* era mayor en las nuevas raíces formadas por las plantas trasplantadas a los suelos de Sta. Pellaia, Montseny y Mas Plaja; pero solo lograba superar el nivel de colonización radical de los hongos nativos en los suelos con un menor potencial infectivo (Mas Plaja y Montseny). No obstante, no fue posible establecer ninguna correlación significativa entre la micorrización final por *M. ambiguus* y el nivel de inóculo natural del suelo o alguno de los parámetros fisicoquímicos.

La extensión de la colonización ectomicorrícica por *P. tinctorius* mostraba diferencias significativas según el nivel de micorrización inicial de las plantas y el suelo de trasplante (Fig 4.5). Como cabía esperar, las plantas con una micorrización inicial superior al 50 % mostraban un porcentaje final de raíces infectadas por *P. tinctorius* más alto que las plantas trasplantadas con menos de un 50 % de micorrización inicial. No obstante, estas diferencias sólo eran significativas en los suelos de Sta. Pellaia y Fitor.

---

**Fig. 4.4.** Porcentajes de raíces cortas micorrizadas por *M. ambiguus* y distintos hongos nativos en plantas de *P. pinaster*, no inoculadas o previamente inoculadas con *M. ambiguus*, trasplantadas a distintos suelos forestales. Las líneas verticales representan el error estándar interno. No se presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las barras que comparten una misma letra minúscula dentro de un mismo suelo (horizontal), ni entre las barras que comparten una misma letra mayúscula para un mismo tratamiento de inoculación (vertical). Aunque en las gráficas se representan las medias reales, el análisis estadístico se realizó con la transformación angular de los datos.

Suelo de trasplante



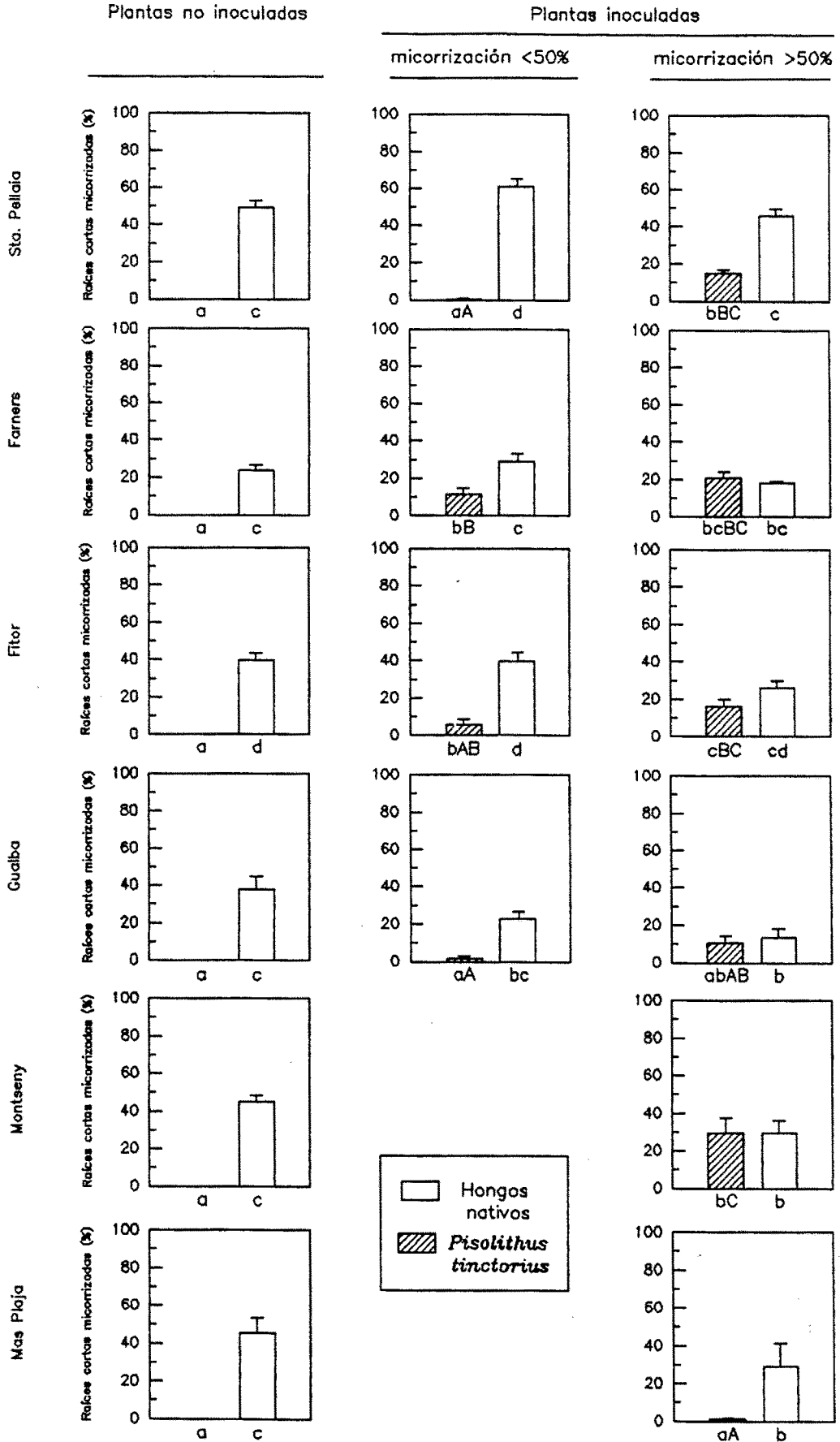
En los suelos más ácidos (Sta. Pellaia, Farners, Fitor y Montseny) los porcentajes de nuevas raíces cortas micorrizadas por *P. tinctorius* oscilaban entre un 15 y un 30 %, siendo significativamente mayores que en el suelo de Mas Plaja, con un pH superior a 7. El nivel de colonización radical debida a los hongos nativos era, en todos los casos, igual o superior al nivel de colonización de *P. tinctorius*. En las plantas trasplantadas con un nivel de micorrización inicial superior al 50 %, se podía establecer una alta correlación entre el porcentaje final de raíces micorrizadas por *P. tinctorius* y el contenido en materia orgánica ( $r = 0.92^{***}$ ) o el pH del suelo ( $r = -0.89^{**}$ ). La importancia de las características del suelo, sobre el establecimiento de *P. tinctorius* en las nuevas raíces formadas, se detectaba también en las plantas trasplantadas con un nivel inicial de micorrización inferior al 50 %. Así, las micorrizas formadas por *P. tinctorius* eran prácticamente nulas en el suelo de Gualba ( $\text{pH} > 7$ ) y en el suelo de Sta. Pellaia, con el potencial infectivo más alto (Tabla 4.3, Fig 4.2). La presencia de *P. tinctorius*, en el sistema radical de las plantas inoculadas, no tuvo un efecto significativo sobre la colonización de las nuevas raíces por parte de los hongos ectomicorrícicos nativos en los suelos con un potencial de inóculo alto (Sta. Pellaia, Farners y Fitor), y solo se detectaron diferencias, respecto a las plantas control no inoculadas, en aquellos suelos con una baja diversidad de hongos ectomicorrícicos autóctonos (Gualba, Montseny y Mas Plaja).

El seguimiento de la micorrización con *R. roseolus* se vio dificultada por la presencia, en casi todos los suelos, de poblaciones de hongos nativos capaces de formar ectomicorrizas que, desde un punto de vista morfológico, no se podían distinguir de las formadas por *R. roseolus*. Las plantas con un nivel de micorrización inicial superior al 50 % y trasplantadas a suelos ácidos (Sta. Pellaia, Farners, Fitor y Montseny) presentaban un porcentaje de micorrizas del tipo *R. roseolus* superior al de las plantas control no inoculadas o al de las plantas trasplantadas con un porcentaje de micorrización inicial

---

**Fig. 4.5.** Porcentajes de raíces cortas micorrizadas por *P. tinctorius* y distintos hongos nativos en plantas de *P. pinaster*, no inoculadas o previamente inoculadas con *P. tinctorius*, trasplantadas a distintos suelos forestales. Las líneas verticales representan el error estándar interno. No se presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las barras que comparten una misma letra minúscula dentro de un mismo suelo (horizontal), ni entre las barras que comparten una misma letra mayúscula para un mismo tratamiento de inoculación (vertical). Aunque en las gráficas se representan las medias reales, el análisis estadístico se realizó con la transformación angular de los datos.

Suelo de trasplante



inferior al 50 % (Fig 4.6). En los suelos de pH superior a 7, los niveles de raíces infectadas por *R. roseolus* eran muy bajos o nulos. Para las plantas trasplantadas con un nivel inicial de micorrización superior al 50 %, se podía establecer una correlación entre: el porcentaje final de micorrizas del tipo *Rhizopogon* y el pH del suelo ( $r = -0.95^{***}$ ). Al mismo tiempo, entre los suelos de pH ácido, los niveles más altos de micorrización con *R. roseolus* tendían a establecerse en aquellos con una menor diversidad en la micoflora nativa (Farners y Montseny). La formación de otras ectomicorrizas nativas no se vio afectada por la presencia de *R. roseolus* en el sistema radical de las plantas trasplantadas.

Las plantas inoculadas con *S. citrinum* partían con un elevado nivel de micorrización inicial ( $90 \pm 3$  %). En la mayoría de los suelos probados (Sta. Pellaia, Farners y Fitor), *S. citrinum* colonizó las nuevas raíces formadas por las plantas inoculadas; impidiendo, casi totalmente, la formación de otros tipos de ectomicorrizas (Fig 4.7). Solo en el suelo de Sta. Pellaia, con un alto potencial infectivo y una elevada diversidad en la micoflora nativa, se detectaban ectomicorrizas distintas de las formadas por *S. citrinum*.

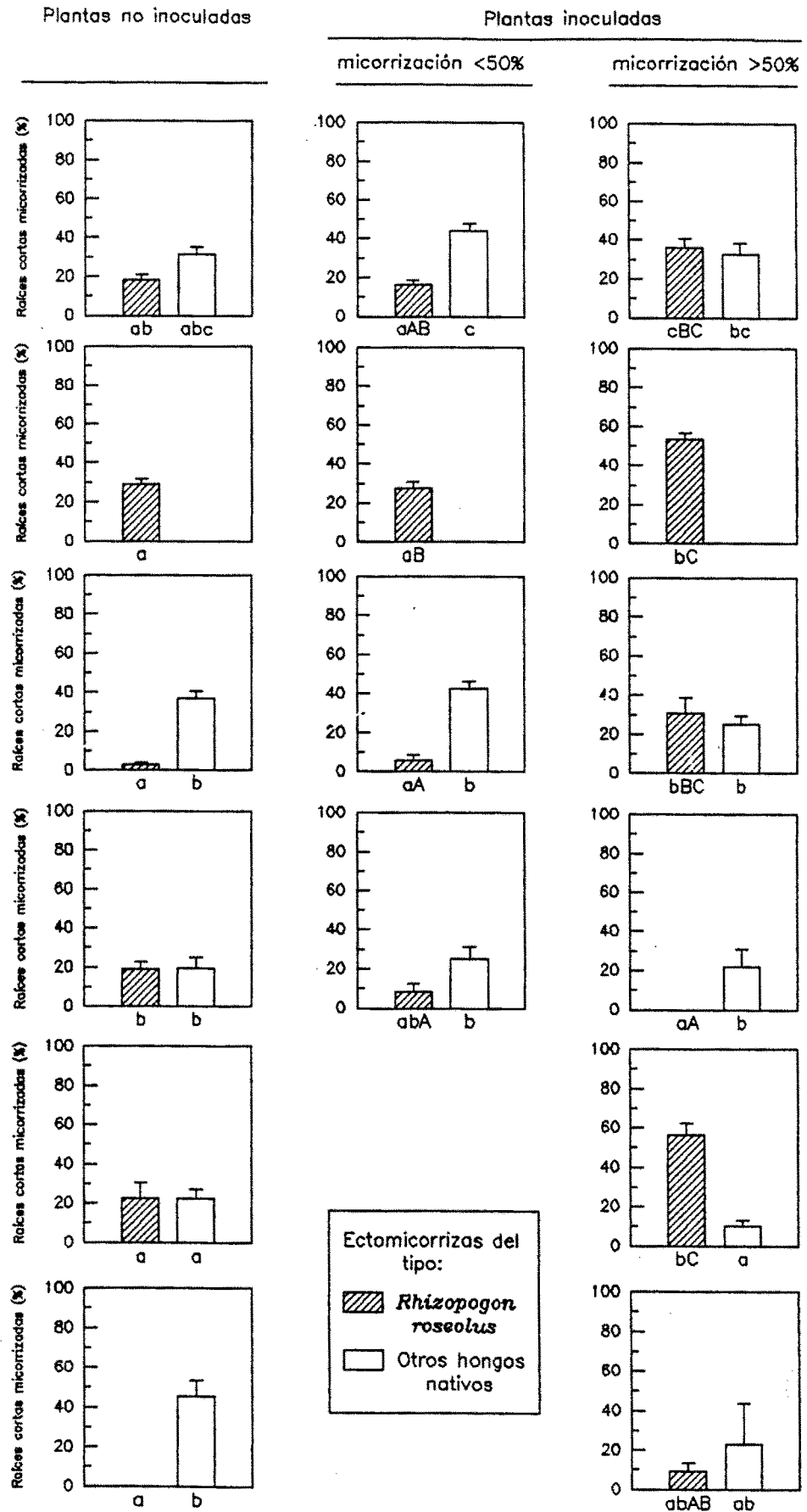
## Discusión

Las técnicas de dilución de suelo y el trasplante de plantas micorrizadas en condiciones de contenedor e invernadero, utilizadas en los bioensayos bajo condiciones controladas presentados en este capítulo, resultaron efectivas para determinar: (i) el potencial de Inóculo y la abundancia relativa de propágulos ectomicorrícicos nativos en distintos suelos y (ii) la competitividad de los hongos seleccionados una vez introducidos en diferentes suelos de origen natural.

---

**Fig. 4.6.** Porcentajes de raíces cortas micorrizadas por *R. roseolus* y distintos hongos nativos en plantas de *P. pinaster*, no inoculadas o previamente inoculadas con *R. roseolus*, trasplantadas a distintos suelos forestales. Las líneas verticales representan el error estándar interno. No se presentaban diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre las barras que comparten una misma letra minúscula dentro de un mismo suelo (horizontal), ni entre las barras que comparten una misma letra mayúscula para un mismo tratamiento de inoculación (vertical). Aunque en las gráficas se representan las medias reales, el análisis estadístico se realizó con la transformación angular de los datos.

Suelo de trasplante





La realización de bioensayos en condiciones de invernadero ha sido un método ampliamente utilizado para determinar la diversidad y el potencial de inóculo ectomicorrícico en distintos suelos de reforestación (Perry *et al.*, 1982; Schoeneberger y Perry, 1982; Parke *et al.*, 1984; Massicotte *et al.*, 1990). No obstante, hay que tener en cuenta que algunos de los hongos micorrícicos detectados en las condiciones del ensayo pueden no ser efectivos, o incluso viables, en su propio entorno natural; pero, en estas condiciones artificiales, pueden ejercer una fuerte competencia sobre las especies más adaptadas, produciendo diferencias con respecto a los resultados que se habrían obtenido en campo. La formación de ectomicorrizas depende directamente de la existencia de una fuente de inóculo apropiada para la especie arbórea, pero estará influenciada por una serie de variables ambientales y por las propiedades del suelo, como: la aireación (Read y Armstrong, 1972; Meyer, 1974; Mosse *et al.*, 1981), la humedad del suelo (Worley y Hacksaylo, 1959; Gadgil, 1972; Theodorou, 1978; Lodge, 1989; Bougher y Malajczuk, 1990), la temperatura (Marx *et al.*, 1970; Theodorou y Bowen, 1971), el pH (Marx y Zak, 1965; Theodorou y Bowen, 1969; Slankis, 1974; Erland *et al.*, 1990; Marx, 1990), los nutrientes (Slankis, 1974; Marx *et al.*, 1977b; Danielson *et al.*, 1984a; Castellano *et al.*, 1985) y la materia orgánica (Alvarez *et al.*, 1979; Harvey *et al.*, 1979, 1987; Kropp, 1982b; Schoeneberger y Perry, 1982; Parke *et al.*, 1983b; Rose *et al.*, 1983; McAffe y Fortin, 1989). Muchos de estos parámetros son extremadamente variables de un suelo a otro, y para una misma zona pueden presentarse también diferencias notables a lo largo del año. El diseño de bioensayos en condiciones controladas es un método utilizado para poder establecer comparaciones entre suelos, sin que la variación incontrolada de parámetros como la temperatura y la disponibilidad de agua afecten la interpretación de los resultados. En la realización de los ensayos se han mantenido niveles de riego y temperatura adecuados para el desarrollo de la planta y los hongos ectomicorrícicos, evitando situaciones extremas que pudieran interferir en el establecimiento de la simbiosis (Lodge, 1989; Bougher y Malajczuk, 1990). No obstante, se ha demostrado que las variaciones de temperatura no afectan significativamente la composición relativa de las especies ectomicorrícicas detectables (Parke *et al.*, 1983a, c).

La manipulación del suelo, implícita en estos bioensayos, provoca un cambio estructural y afecta no solo a los hongos ectomicorrícicos, sino también a



otros microorganismos que puedan interaccionar en el establecimiento de micorrizas (Ridge y Theodorou, 1972; Bowen y Theodorou, 1979; Perry y Rose, 1983; Garbaye y Bowen, 1987) o el crecimiento de la planta (Chanway y Holl, 1991). Con la prudencia aconsejable en la interpretación de los datos obtenidos por bioensayo, se puede considerar que los resultados obtenidos son válidos para establecer comparaciones entre el potencial infectivo y la composición de especies ectomicorrícicas de distintos suelos forestales, así como para evaluar la capacidad competitiva de distintos hongos seleccionados sometidos a la presión de las características fisicoquímicas y la microflora autóctona de diferentes suelos de origen natural. No obstante, utilizarlos para establecer predicciones requiere investigaciones posteriores a largo plazo, con el seguimiento de plantaciones experimentales diseñadas para determinar el paralelismo existente entre las observaciones en condiciones controladas y la respuesta real en campo.

La relación entre la micorrización de las plantas y la variación de la concentración de inóculo natural, provocada mediante la dilución del suelo, ha permitido establecer diferencias entre el potencial infectivo de distintos suelos. Los suelos sin cobertura arbórea o de reciente reforestación (Mas Plaja o Montseny) presentan un potencial infectivo, y una densidad y diversidad de inóculo ectomicorrícico, mucho menor que los suelos de plantaciones forestales (Fitor y Gualba) o pinares espontáneos (Sta. Pellaia y Farners). Esta misma situación se ha descrito con suelos, forestados y no forestados, procedentes de distintas condiciones ecológicas y para diferentes especies forestales (Harvey *et al.*, 1980; Schoeneberger y Perry, 1982; Parke *et al.*, 1984; Amaranthus y Perry, 1987). La supervivencia y distribución de los propágulos de los hongos ectomicorrícicos, en ausencia de una planta hospedadora viva, es poco conocida. Se ha sugerido que los hongos ectomicorrícicos no sobreviven durante mucho tiempo sin los nutrientes suministrados por el fitosimbionte (HacsKaylo, 1973), produciéndose una rápida disminución o una total desaparición de las ectomicorrizas activas poco tiempo después de la eliminación de los árboles (Harvey *et al.*, 1980). Varias Cistaceas y Ericaceas forman micorrizas con algunos de los hongos ectomicorrícicos de las coníferas (Largent *et al.*, 1980; Molina y Trappe, 1982*b*; Malloch y Thorn, 1985), por lo que estas poblaciones de hongos micorrícicos pueden mantenerse viables en ausencia de sus hospedadores arbóreos. En

otros casos, la materia orgánica del suelo forestal o los restos de madera pueden actuar como reservorios de inóculo ectomicorrícico (Harvey *et al.*, 1978, 1979; Kropp, 1982a; Parke *et al.*, 1983b). La recolonización a partir de las micorrizas de bosques o plantaciones vecinas está limitada a unos pocos metros en las zonas adyacentes (Harvey *et al.*, 1980) y, por tanto, dependerá básicamente del aporte de inóculo externo (Maser *et al.*, 1978; Kotter y Farentinos, 1984a).

La formación de micorrizas tiene un importante papel en la captación de agua y la tolerancia al estrés hídrico (Reid, 1979; Parke *et al.*, 1983a). La rapidez con que se formen tendrá una importancia especial para la supervivencia y el crecimiento de los plantones en zonas con períodos de sequía (Mikola, 1970; Slankis, 1974) como los que suelen darse en el área mediterránea. Al mismo tiempo, los climas secos pueden limitar la actividad de los hongos ectomicorrícicos y reducir el período de tiempo en el que se conjugan las condiciones óptimas para permitir la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio, disminuyendo las posibilidades de que las plantas trasplantadas se micorricen rápidamente (Slankis, 1974). La menor presencia de inóculo ectomicorrícico en los suelos carentes de una comunidad arbórea bien desarrollada, no implica una deficiencia real de inóculo micorrícico. Las plantas de *P. pinaster* no micorrizadas que eran trasplantadas a estos suelos (Mas Plaja y Montseny) mostraban niveles de infección moderados (30-50 %) a los tres meses de crecimiento en condiciones óptimas. No obstante, en condiciones de campo y a causa de las variaciones estacionales, puede existir un período adverso al establecimiento de ectomicorrizas, y las plantas trasplantadas podrían afrontar el comienzo de algún estrés ambiental sin la ventaja de haber alcanzado un adecuado estado simbiótico. Aunque el nivel de eficiencia del simbionte fúngico en la captación de nutrientes y el transporte de agua puede ser más importante que el porcentaje de raíces micorrizadas, se ha demostrado una relación positiva entre la abundancia de micorrizas y el crecimiento de la planta (Ruehle *et al.*, 1981b; Last *et al.*, 1990). Por tanto, la utilización de plantas micorrizadas en vivero, para la reforestación de zonas que han permanecido desprovistas de cubierta arbórea durante un período más o menos prolongado de tiempo, será mucho más efectiva que cuando se trate de reforestar zonas recientemente taladas y que

habían estado ocupadas por la misma especie vegetal o una especie forestal micorrícicamente compatible.

La reforestación con plantas micorrizadas en vivero presentará mayores ventajas que la utilización de plantas no micorrizadas o espontáneamente micorrizadas si la inoculación se realiza con una cepa fúngica seleccionada por su capacidad de incrementar la supervivencia y el crecimiento de la planta (Trappe, 1977; Kropp y Langlois, 1990; Marx *et al.*, 1991). La expresión de esta capacidad dependerá de la permanencia del hongo inoculado en el sistema radical de la planta una vez trasplantada a campo, y por tanto, dependerá de la adaptación del hongo a las condiciones ecológicas de la zona y de su capacidad competitiva frente a la flora ectomicorrícica autóctona presente en el momento en que se realice la plantación (Garbaye, 1983).

En los experimentos realizados, *L. bicolor* S-238 y *S. citrinum* han demostrado ser hongos ectomicorrícicos con un alto potencial colonizador, capaces de desarrollarse a partir de las micorrizas formadas durante la fase de inoculación e infectar la mayor parte de las raíces producidas después del trasplante. El establecimiento de *L. bicolor* en el nuevo sistema radical esta fuertemente condicionado por el pH del suelo. Así, en condiciones de pH ácido, es capaz de permanecer y extenderse incluso en suelos con un alto potencial de inóculo (Sta. Pellaia, Farners, Fitor y Montseny), pero en cambio, desaparece totalmente en suelos de pH ligeramente básico (Gualba y Mas Plaja). *L. bicolor*<sup>1</sup> es una especie ampliamente distribuida en todo el mundo, presente tanto en viveros como en plantaciones de distintas especies forestales, incluido *P. pinaster*, y que se ha utilizado con éxito para la micorrización controlada en vivero (Molina y Chamard, 1983; Hung y Molina, 1986*b*; Le Tacon y Garbaye, 1990). Se ha demostrado que, en determinadas condiciones, es capaz de mantenerse en el sistema radical de las plantas inoculadas y mejorar su crecimiento, mostrándose muy competitiva frente a la flora ectomicorrícica nativa (McAfee y Fortin, 1986; Hung y Trappe, 1987; Villeneuve *et al.*, 1991). En otros casos, se ha considerado un débil competidor (Chu-Chou y Grace, 1985) y ha sido desplazada por la flora nativa en determinadas condiciones de campo (Bledsoe *et al.*, 1982; Danielson, 1988).

---

<sup>1</sup>

La cepa S-238, utilizada en los experimentos de trasplante a suelo, había sido identificada como *L. taccata* Cooke *sensu lato* antes de ser reclasificada por Armstrong *et al.*, 1989.

*Scleroderma citrinum* es una especie ectomicorrícica bien conocida (Trappe, 1962; Malajczuk *et al.*, 1982; Richter y Bruhn, 1986, 1990; Kannan y Natarajan, 1987), comúnmente asociada a distintas especies arbóreas, tanto en viveros como en bosques y plantaciones (Schramm, 1966; Garrido, 1984, 1986; Ingleby *et al.*, 1985), pero poco estudiada desde el punto de vista de su aplicación en la micorrización de plantas para reforestación (Azevedo, 1982; Beckjord y McIntosh, 1984; Ford *et al.*, 1985; Richter y Bruhn, 1987). En los experimentos realizados, se ha demostrado que *S. citrinum* es una especie altamente infectiva, capaz de colonizar totalmente el sistema radical de las plantas de *P. pinaster* durante la fase de inoculación y de extenderse rápidamente a las nuevas raíces producidas tras el trasplante a suelos de origen natural. En la mayoría de los suelos compete eficazmente con las poblaciones nativas, impidiendo, casi totalmente, la formación de micorrizas por parte de otras especies fúngicas. Es capaz de adaptarse a distintas condiciones de pH y su permanencia en el sistema radical de la planta solo se ve disminuida en suelos con un alto potencial de inóculo y una gran diversidad de especies ectomicorrícicas nativas.

*Melanogaster* es un género ectomicorrícico poco estudiado desde el punto de vista de su aplicación práctica (Molina y Trappe, 1982a; Parladé, 1992). Los resultados obtenidos, indican que la capacidad competitiva de *M. ambiguus* debe considerarse muy reducida. Sólo mantenía una presencia preponderante en aquellos suelos con un bajo potencial de inóculo y una mínima diversidad en la composición de especies ectomicorrícicas nativas, aunque era capaz de adaptarse tanto a suelos ácidos como básicos.

*P. tinctorius* es una especie ectomicorrícica que ha sido ampliamente utilizada para la inoculación de viveros, tanto en zonas tropicales como templadas (Marx *et al.*, 1982, 1984a). No obstante, se ha demostrado que la viabilidad del inóculo de *P. tinctorius* y su capacidad para la formación de ectomicorrizas se ve muy reducida en suelos de pH cercanos a 7 (Marx, 1990). La reforestación con plantas micorrizadas con *P. tinctorius* ha dado buenos resultados en la introducción de especies exóticas y la recuperación de zonas degradadas de diverso origen (Marx, 1980; Marx y Ruehle, 1989; Marx *et al.*, 1991), aunque se ha mostrado inefectiva en otros casos (Molina y Trappe, 1984), demostrándose incluso la desaparición del hongo en el sistema radical de las plantas trasplantadas (Riffle y Tinus, 1982; Grossnickle y Reid, 1983;

Hung y Trappe, 1987). Los resultados obtenidos en los bioensayos de trasplante a suelos, en coincidencia con los descritos con otras especies arbóreas y en distintas condiciones experimentales (Mousain *et al.*, 1977; McAffe y Fortin, 1986), han demostrado una reducida capacidad competitiva. La permanencia de la cepa A-93 de *P. tinctorius*, en el sistema radical de las plantas, estaba muy condicionada por las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los suelos de trasplante, y solo se mantenía en un nivel de micorrización comparable al de la micoflora nativa en suelos de pH ácido, de textura arenosa y con una población ectomicorrícica nativa poco diversificada.

Algunas especies del género *Rhizopogon* han sido utilizadas con éxito para la micorrización controlada en vivero de distintas especies forestales (Theodorou, 1971; Theodorou y Bowen, 1973; Azevedo, 1982; Castellano y Trappe, 1985; Castellano *et al.*, 1985; Chu-Chou y Grace, 1985). Los resultados obtenidos demuestran que *R. roseolus* puede ser un buen colonizador y extenderse a las nuevas raíces producidas en los suelos de pH ácido. En dichos suelos, *R. roseolus* es capaz mantener niveles de micorrización comparables a los formados por el total de los hongos nativos existentes, demostrando una alta capacidad competitiva en aquellos suelos que, además, presentan una baja diversidad en la micoflora ectomicorrícica nativa. McAffe y Fortin (1986) y Chu-Chou y Grace (1990) han descrito resultados similares para *R. rubescens*<sup>1</sup> asociado a otras especies forestales y en distintas condiciones experimentales.

Para que la micorrización con *P. tinctorius* resulte efectiva en campo, es necesario que las plantas del vivero presentasen al menos un 50 % de las raíces cortas infectadas por el hongo (Marx, 1980; Rühle *et al.*, 1981b). Aunque no se dispone de estudios realizados para otras especies ectomicorrícicas, el nivel de un 50 % de micorrización se ha tomado, en general, como un buen indicador para asegurar la efectividad de la inoculación realizada en vivero (Last *et al.*, 1990; Trofymov, 1990). Los resultados obtenidos con especies como *M. ambiguus*, *P. tinctorius* y *R. roseolus*, indican que si la micorrización obtenida mediante la inoculación en vivero es inferior al 50 %, es muy poco probable que el hongo introducido se

---

<sup>1</sup>

Según J.M. Trappe (no publicado) *R. rubescens* debe considerarse como un sinónimo de *R. roseolus*.

mantenga presente en el sistema radical de las plantas de *P. pinaster* una vez sean trasplantadas a suelo. Sin embargo, *L. bicolor* S-238, con un alto potencial infectivo y una gran capacidad competitiva en suelos de pH ácido, es capaz de colonizar las nuevas raíces y mantenerse como simbionte ectomicorrícico dominante partiendo de porcentajes de infección inferiores al 50%.

Comparando el comportamiento de los distintos hongos utilizados en este estudio, *L. bicolor* y *S. citrinum* aparecen como los micobiontes más prometedores dada su alta capacidad colonizadora y su elevado potencial competitivo en la mayoría de suelos testados. *R. roseolus*, aunque con una capacidad competitiva menor que los anteriores, es capaz de mantener una importante presencia simbiótica cuando la presión de inóculo natural del suelo de trasplante es baja. Al género *Rhizopogon* se le atribuye la capacidad de conferir a las plantas una mayor resistencia a las condiciones de estrés hídrico (Parke *et al.*, 1983a), generalmente limitantes del crecimiento vegetal en nuestra zona ecológica. Por tanto, no hay que desestimar a esta especie en un programa de micorrización controlada para mejorar la calidad de las plantas utilizadas a la reforestación con *P. pinaster*. Por último, la micorrización con *M. ambiguus* y *P. tintorius* A-93 presenta unas posibilidades potenciales de éxito muy restringidas y limitadas a suelos con un potencial de inóculo nativo muy bajo. No obstante, se ha demostrado una gran variabilidad intraespecífica en los hongos ectomicorrícicos (Lalho, 1970; Molina, 1979b) y por tanto, no hay que descartar la posibilidad de obtener otras cepas con características ecotípicas y comportamientos distintos.

Los resultados obtenidos en los bioensayos bajo condiciones controladas no deben extrapolarse directamente para predecir el comportamiento de estas plantas en campo. Las investigaciones tienen que proseguir con el establecimiento de parcelas experimentales que permitan evaluar, de una forma global, la evolución de la micorrización y el efecto sobre el crecimiento de las planta en condiciones de campo. No obstante, los resultados obtenidos aportan una serie de evidencias que ayudarán a determinar las especies fúngicas que requieren una mayor dedicación investigadora y los parámetros que se deben estudiar con mayor atención en futuras investigaciones. Esta información será de gran utilidad para el establecimiento de prioridades de investigación en experimentos de campo, generalmente de costo elevado y con

resultados a largo plazo. Si llegara a establecerse un paralelismo significativo entre los resultados obtenidos en los bioensayos y el comportamiento en campo, las técnicas desarrolladas en este trabajo serían de gran utilidad para la selección de hongos ectomicorrícicos aplicables a la mejora de la calidad de las plantas destinadas a reforestación.

---

Estado micorrícico de *Pinus pinaster* en cinco viveros de Cataluña.

---

Introducción

En todo programa de repoblación forestal, la calidad de la planta que se utilizará es de capital importancia. Esta calidad vendrá determinada por el origen del material vegetal utilizado y por el manejo a que se someta durante la fase de producción viverística (Duryea, 1984; Duryea y Brown, 1984).

Según datos oficiales, España cuenta con 163 viveros dedicados a la producción de planta para reforestación, con una producción total de 106 millones de plantones entre resinosas y frondosas (M.A.P.A., 1988).

Frecuentemente, los criterios para determinar la calidad de una planta se limitan a evaluar el estado y el tamaño de la parte aérea del plantón, sin prestar mucha atención a la calidad del sistema radical, aun conociendo su enorme importancia en la captación de agua y nutrientes. Por tanto, para evaluar de forma completa la calidad de un plantón y predecir su potencial de supervivencia, se debe profundizar en el conocimiento de su estado radical (Ritchie, 1984).

En condiciones naturales, todas las especies forestales forman micorrizas (Meyer, 1973; Newman y Reddell, 1987). Esta simbiosis, entre las raíces de la planta y hongos especializados del suelo, proporciona numerosas ventajas, aumentando la captación de agua y nutrientes (Bowen, 1973; Harley y Smith, 1983) y protegiendo a la planta frente a determinados tipos de patógenos (Marx, 1972; Schenck, 1981; Perrin, 1991).

Las plantas no micorrizadas pueden sufrir graves problemas de crecimiento durante la fase de vivero (Mitchell *et al.*, 1937; Pardos, 1962; Trappe y Strand, 1969) y una escasa o nula supervivencia en las reforestaciones realizadas en suelos no forestales (Mikola, 1970; Trappe, 1977). Por tanto, la presencia y abundancia de ectomicorrizas debe ser tomada en consideración al evaluar la



calidad de una planta y predecir cual será su comportamiento tras el trasplante a campo.

El objetivo principal del trabajo expuesto en este apéndice era determinar la calidad de las plantas de *Pinus pinaster* producidas en algunos de los viveros forestales de Cataluña, con especial atención al estado ectomicorrícico de su sistema radical.

## Materiales y Métodos

### *Localización de los viveros.*

Como representativos de la actual producción viverística, se eligieron cinco viveros que contaban con *P. pinaster* entre las especies producidas (Fig A.1):

1) El vivero de Besalú, en la comarca de la Garrotxa (Girona), se encuentra a una altura de 400 m sobre el nivel del mar. A 42° 11' de latitud N y 2° 30' de longitud E, se sitúa en una zona de clima Templado Cálido. La temperatura media anual es de 12.8 °C (33.7 °C de máxima y -9.5 °C de mínima) y la precipitación media anual de 1019 mm. Se dedica a la producción de *Populus* spp. y coníferas para repoblación: *Pinus mugo* Turra, *P. pinaster* Ait., *P. sylvestris* L. y *Picea abies* (L.) Karst principalmente.

2) El vivero de Breda está situado en la comarca de La Selva (Girona), a una altura de 90 m sobre el nivel del mar y a 41° 45' de latitud N y 2° 34' de longitud E. Se encuentra en una zona de clima Mediterráneo Templado, con una temperatura media anual de 15.3 °C (36.3 °C de máxima y -8.0 °C de mínima) y una pluviometría anual de 795 mm. Se dedica principalmente a la producción de *Populus* spp. y *Ulmus* sp., así como a coníferas para reforestación: *P. halepensis* Mill., *P. pinaster*, *P. pinea* L., *P. radiata* D. Don y algunas especies de interés ornamental (*Cupressus* sp., *Thuja* sp.).

3) El vivero del Llobregat, situado en La Pobla de Lillet, comarca del Bergadà (Barcelona), se encuentra a 900 m de altitud, 42° 11' de latitud N y 1° 50' de longitud E. Se sitúa en una zona de clima Templado Cálido, con

una temperatura media anual de 11.4 °C (33.6 °C de máxima y -9.2 °C de mínima) y una precipitación anual media de 851 mm. Se dedica a la producción de coníferas para repoblación, principalmente: *Pinus nigra* Arnold (subsp. *nigra* y subsp. *clusiana*) y *P. sylvestris*. En menor escala, produce también: *Larix decidua* Mill., *P. abies*, *P. mugo*, *P. pinaster*, *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws y *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco.

4) El vivero de La Conca de Tremp, localizado en Tremp, comarca del Pallars Jussà (Lleida), se encuentra a orillas del Noguera Pallaresa a 42° 11' de latitud N, 0° 54' de longitud E y 550 m sobre el nivel del mar. Está situado en una zona de clima Mediterráneo Templado, con una media anual de 13.7 °C (39 °C de máxima y -9.9 °C de mínima) y una pluviometría anual de 591 mm. Se dedica a la producción de *Populus* spp. y coníferas para repoblación: *P. abies*, *P. nigra* (subsp. *nigra* y subsp. *clusiana*) y *P. pinaster*, cultivadas en bolsa de plástico (15 cm x 5 cm de diámetro) y utilizando como substrato de cultivo el propio suelo aluvial del río.

y 5) El vivero de Sant Ramón, se encuentra en Constantí, comarca del Baix Camp (Tarragona), a 41° 12' de latitud N, 1° 10' de longitud E y a 117 m de altura. Se sitúa en una zona climática de tipo Mediterráneo Subtropical, con una temperatura media anual de 16 °C (32 °C de máxima y -2.4 °C de mínima) y 500 mm de precipitación anual media. Se dedica a la producción de coníferas para repoblación en bolsa de plástico (20 cm x 6 cm de diámetro) utilizando como substrato un suelo arenoso de la propia zona del vivero. Las principales especies producidas son: *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. pinea*.

### **Recogida de muestras.**

La recogida de muestras se realizó durante el mes de marzo de 1990. En los viveros de producción a raíz desnuda se recogieron cuatro muestras, tomadas al azar, dentro de cada parcela del vivero dedicada a la producción de *P. pinaster*. Cada una de las muestras estaba constituida por un grupo de 10 plantas y el bloque de suelo que rodeaba sus sistemas radicales hasta una profundidad de 25-30 cm. En los viveros de producción en contenedor, se

recogieron al azar 20 plantas de *P. pinaster* por vivero. Las muestras se transportaron al laboratorio dentro de sacos de plástico cerrados, para reducir las pérdidas de suelo y humedad, y se conservaron a 4 °C hasta su utilización.

Tabla A.1.  
Características fisicoquímicas de los suelos de los viveros.

	Vivero				
	Besaú	Breda	Conca de Tresp	Llobregat	Sant Ramón
pH					
agua	8.02	6.54	8.30	8.15	8.32
KCl	7.35	5.92	7.73	7.19	7.48
Materia orgánica (%)	2.18	1.04	0.90	1.66	0.40
Elementos gruesos (%)	6.90	16.53	11.07	18.33	11.69
Granulometría (%)					
arena gruesa	5.72	45.68	27.29	21.35	47.80
arena fina	46.09	26.83	49.94	23.78	30.40
liso grueso	25.27	12.57	11.42	28.55	10.20
arcilla	22.92	14.92	11.35	26.32	11.60
Clase textural	Franco-arcilloso	Franco-arcillo-arenoso	Franco-arenoso	Arcilloso grueso	Franco-arenoso
N t (%)	0.12	0.05	0.06	0.10	0.03
P ext. (mg/Kg)	22.8	44.1	30.6	31.5	34.6
K (meq/100g)	0.24	0.24	0.16	0.31	0.14

Los análisis de suelos se realizaron en el Servei d'Anàlisi de Sòls de la Universitat Autònoma de Barcelona.

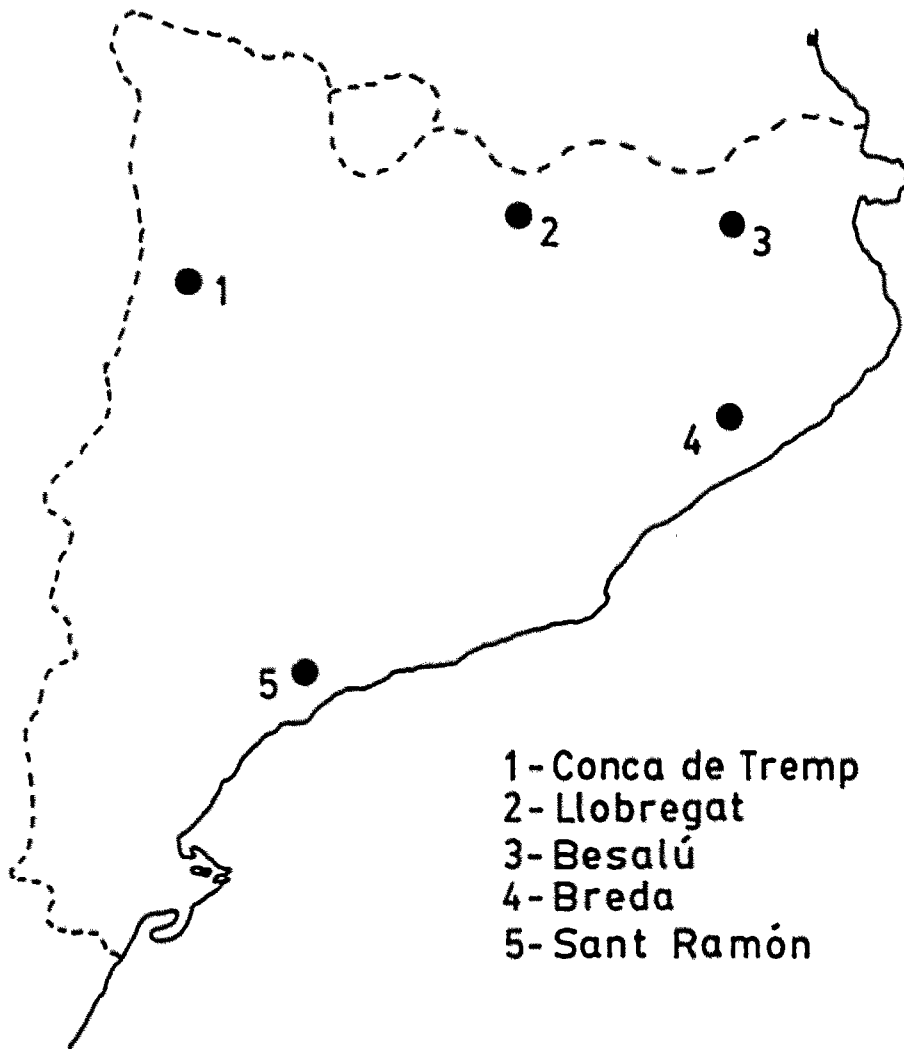


Fig A.1. - Localización geográfica de los cinco viveros sometidos a muestreo.

### *Procesado de las muestras.*

El suelo se separó de las raíces por agitación mecánica suave, evitando la rotura del sistema radical. El volumen de suelo recogido, para cada uno de los viveros, se conservó a 4 °C para su posterior utilización. Los análisis de suelos, para determinar sus características fisicoquímicas, se realizaron en el Servicio de Análisis de Suelos de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Del total de plantas recogidas se seleccionaron 20 plantones al azar por vivero. De estas plantas se obtuvieron los datos de crecimiento vegetativo: diámetro del tallo a nivel del suelo, altura del tallo desde la inserción de los cotiledones hasta la yema apical y el peso seco de la parte aérea de la planta. El sistema radical de cada planta se lavó con agua corriente para liberarlo de los restos de suelo adherido y se procedió a su observación microscópica para determinar la abundancia y diversidad de ectomicorrizas.

### *Aislamiento de hongos ectomicorrícicos en cultivo puro a partir de raíces micorrizadas.*

Las micorrizas se separaron y clasificaron en grupos según el vivero de procedencia y sus características morfológicas. Se tomaron entre 70 y 90 puntas radicales de cada tipo de ectomicorriza, se desinfectaron superficialmente por inmersión en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante 1-5 min, se lavaron con agua esterilizada y se sembraron en placas de medio Mellin-Norkrans modificado (MMN) (Marx, 1969) para proceder al aislamiento en cultivo puro de los hongos ectomicorrícicos. La capacidad simbiótica de los aislamientos obtenidos se comprobó por síntesis de ectomicorrizas en cultivo puro (Molina, 1979; Molina y Palmer, 1982) con *P. pinaster*. Las semillas utilizadas procedían del noroeste de la península Ibérica. Las plantas control se inocularon con hongos saprófitos obtenidos en los aislamientos realizados a partir de las muestras de raíces de los viveros. Transcurridos tres meses de incubación, se recogían las plantas, manteniendo intacto el sistema radical, y se limpiaban los restos de substrato adherido a las raíces. Se determinaban la longitud radical, el número de raíces cortas, el porcentaje de raíces micorrizadas y las características

macroscópicas de las ectomicorrizas formadas por cada uno de los aislamientos fúngicos.

***Crecimiento de las plántulas de P. pinaster en los suelos de los viveros.***

Dada la imposibilidad de establecer comparaciones fiables entre el crecimiento de las plantas en los distintos viveros, debido a la gran diversidad en las fechas de siembra y la edad de las plantas, se diseñó un bioensayo bajo condiciones controladas para determinar el efecto de los distintos suelos y sustratos en el crecimiento de *P. pinaster*.

Las muestras de suelo, recogidas en cada uno de los viveros y que habían sido conservadas a 4 °C, se tamizaron a un tamaño de partícula inferior a 3 mm. Con cada una de las muestras se llenaron cinco contenedores cónicos (7 x 30 cm de capacidad). En cada contenedor se sembraron nueve semillas de *P. pinaster* procedentes del noroeste de la península Ibérica, previamente desinfectadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% durante 60 min y estratificadas a 4 °C durante 28 días. Una vez germinadas, se procedió a la eliminación de plántulas sobrantes hasta dejar tres por contenedor y se hicieron crecer en un invernadero climatizado bajo condiciones controladas de humedad (humedad relativa mínima del 50%) y temperatura (máxima 26±2 °C y mínima 17±3 °C). Las plantas se regaron según las necesidades y se fertilizaron, una vez al mes, dispensando 10 ml por contenedor de una disolución en agua de: 2.15 g/l de Kristalon<sup>R</sup> (NPK : 17-6-18) (Shell), 0.24 g/l de Hortrilon<sup>R</sup> (BASF) y 0.18 g/l de Fetrilon<sup>R</sup> (BASF), pH 6.5. Después de siete meses, se recogieron las plantas y se tomaron los datos de crecimiento: altura y diámetro del tallo, peso seco de la parte aérea de la planta y peso seco de la raíz. Se limpiaron los sistemas radicales y se procedió a la cuantificación de la micorrización mediante su observación microscópica.

La significación de las diferencias entre tratamientos se determinó por Análisis de la Varianza y se utilizó el test de clasificación múltiple de Tukey ( $P = 0.05$ ) para la comparación de las medias. El análisis estadístico de los porcentajes de micorrización se realizó después de la transformación angular

de los datos ( $\text{sen}^{-1} (\%/100)^{-2}$ ) para homogeneizar la varianza del error (Little y Hills, 1978; Snedecor y Cochran, 1980; Steel y Torrel, 1980).

## Resultados

### *Estado de las plantas de P. pinaster en los viveros sometidos a muestreo.*

En la mayoría de los viveros (Besalú, Conca de Tremp y Llobregat) las plantas habían superado la edad idónea para su utilización como planta para reforestación. Los parámetros de crecimiento vegetativo de *P. pinaster* en el vivero de Breda eran aceptables para una planta de reforestación y presentaban una buena homogeneidad entre todas las plantas de la muestra (Tabla A.2). En el vivero del Llobregat las plantas manifestaban graves problemas de crecimiento (Tabla A.2). En el vivero de Besalú tampoco se conseguían buenos desarrollos vegetativos, pero el hecho más destacable era la gran variabilidad entre las plantas, atribuible probablemente a que la fuerte densidad de plantación no había permitido un crecimiento uniforme. Finalmente, las plantas de los viveros de Conca de Tremp y Sant Ramón evidenciaban los efectos negativos de la producción en bolsa de plástico. Los sistemas radicales de estas plantas presentaban crecimientos desiguales, con amplias zonas necrosadas, espiralización de las raíces y formación de excreciones resinosas.

### *Estado micorrícico de las plantas de P. pinaster en los viveros sometidos a muestreo.*

#### Vivero de Besalú

Todas las plantas observadas estaban micorrizadas. Muchas de ellas presentaban un porcentaje de micorrización superior al 75 %, siendo la media del 74.2 %. En la mayoría de las plantas aparecían tres tipos de ectomicorrizas:

A- Ectomicorrizas de manto blanco y aspecto entre aterciopelado y ligeramente algodonoso. Formaban abundantes cordones miceliares y

rizomorfos blancos. Sus características morfológicas eran similares a las de las micorrizas formadas por *Scleroderma*.

B- Ectomicorrizas de manto negro, cortas, doble o triplemente bifurcadas, y rodeadas por un micelio externo, más o menos abundante, de color negro. Formaban cordones miceliales también negros. A pesar del color, eran muy distintas a las formadas por *Cenococcum geophilum*.

y C- Micorrizas de color beige miel, cortas, bifurcadas o doblemente bifurcadas. Manto ectomicorrícico de aspecto superficial liso o hirsuto, con zonas de micelio blanco disperso. Sin cordones miceliales ni rizomorfos.

Tabla A.2

Crecimiento y estado micorrícico de las plantas de *P. pinaster* producidas en cinco viveros de Cataluña.

Vivero	edad de las plantas (años)	Diámetro del tallo (mm)	Altura del tallo (cm)	Peso seco de la parte aérea (g)	Micorrización		
					% plantas	Grado <sup>c</sup>	Diversidad <sup>d</sup>
Besalú <sup>a</sup>	3	3.4 ± 1.4	24.9 ± 9.5	3.0 ± 3.3	100	+++	3
Breda <sup>a</sup>	1	2.2 ± 0.6	11.8 ± 2.5	0.9 ± 0.6	100	++++	1
Conca de Tremp <sup>b</sup>	4	5.3 ± 1.9	33.8 ± 9.8	11.9 ± 14.7	100	++	3
Llobregat <sup>a</sup>	5	2.3 ± 0.5	15.0 ± 3.9	0.8 ± 0.4	80	+	1
Sant Ramon <sup>b</sup>	1	1.9 ± 0.4	16.6 ± 3.6	0.6 ± 0.3	62	+	2

Los datos representan la media de 20 plantas por vivero ± el error estándar.

a - plantas producidas a raíz desnuda.

b - plantas producidas en bolsa de plástico.

c - porcentaje de raíces infectadas: +=0-25%, ++=26-50%, +++=51-75%, ++++=76-100%.

d - la diversidad se expresa como el número de tipos de ectomicorrizas detectados utilizando los caracteres distintivos de su morfología externa (color, aspecto superficial del manto y presencia de cordones miceliales y rizomorfos).



Las ectomicorrizas del tipo A eran las más frecuentes y se presentaban en todas las plantas. Las menos frecuentes eran las micorrizas del tipo C, presentes solo en el 30% de las plantas. La relación de frecuencias relativas entre los tres tipos se podría establecer aproximadamente de: 13(A)/7(B)/4(C).

#### Vivero de Breda

Todas las plantas estaban micorrizadas y el nivel de micorrización por planta oscilaba entre el 90 y el 100 %. Todas las micorrizas presentaban las mismas características morfológicas y probablemente estaban formadas por una única especie fúngica. Las micorrizas, de estructura bifurcada a coraloide, se localizaban principalmente en las raíces laterales superiores del sistema radical. El manto ectomicorrícico era de color blanco brillante y aspecto aterciopelado. Formaban abundantes cordones micellares y rizomorfos también blancos. Dada la falta de fructificaciones fúngicas en el vivero durante la época en la que se recogieron las muestras, no puede asegurarse a que especie pertenecían, pero las características morfológicas sugieren que pueda tratarse de una *Scleroderma* sp.

#### Vivero de Conca de Tremp

Todas las plantas estaban micorrizadas y el porcentaje medio de micorrización se situaba entre el 50% y el 75%. Gran parte de los sistemas radicales presentaban zonas necrosadas y, en algunas plantas, excreciones resinosas que habían formado masas compactas blancas adheridas a las raíces. Se podían distinguir tres tipos de ectomicorrizas:

D- Micorrizas cortas y bifurcadas, formando un manto fúngico negro y algodonoso con abundante micelio externo y cordones micellares también negros. Las características externas las hacían similares a las del tipo B de Besalú. Eran las más abundantes y estaban presentes en todas las plantas.

E- Las segundas en abundancia, y también presentes en todas las plantas, se caracterizaban por un manto fúngico de color blanco-rosado, de aspecto algodonoso, y por la formación de cordones micellares y rizomorfos blancos con abundante micelio externo también blanco-rosado. Sus características

morfológicas las asemejaban a las micorrizas descritas para los géneros *Suillus* o *Rhizopogon*.

y F- Localizadas en el 80% de las plantas, presentaban un manto liso y de color beige claro. Formaban elementos cortos, de bifurcados a coraloides, y no presentaban cordones miceliarios ni rizomorfos. Su aspecto externo las hacía similares a las micorrizas formadas por *Thelephora*.

#### Vivero del Llobregat (La Pobla de Lillet).

El 80% de las plantas estaban micorrizadas, pero el porcentaje medio de raíces finas micorrizadas era muy bajo, entre un 10% y un 15%. Las ectomicorrizas observadas parecían pertenecer a un solo tipo, no identificado, con un manto fúngico de color blanco. Formaban elementos largos, simples o bifurcados, y estaban rodeadas por un micelio algodonoso de color beige con abundantes rizomorfos blancos. Muchas de ellas se presentaban en estado de senescencia o necrosadas.

#### Vivero de Sant Ramón (Constantí)

La mayor parte de las plantas presentaban síntomas de necrosis radical. No obstante, el 62 % estaban micorrizadas y el porcentaje medio de raíces cortas infectadas era del 14 %. Se detectaban dos tipos de ectomicorrizas:

G- Ectomicorrizas bifurcadas o coraloides de manto liso y color beige brillante, con zonas dispersas de micelio blanco. No presentaban cordones miceliarios ni rizomorfos. Eran las más abundantes y se localizaban en la parte alta y media del sistema radical. Sus características morfológicas las hacían similares a las ectomicorrizas formadas por *Thelephora*.

y H- Ectomicorrizas entre bifurcadas y coraloides, con un manto de aspecto algodonoso y color blanco-rosado. Formaban abundantes rizomorfos también blanco-rosados. Se presentaban en el 19% de las plantas observadas, mientras que solo lo hacían simultáneamente con las del tipo G en el 2% de las plantas. Se distribuían casi exclusivamente en la parte baja del sistema radical. Las características morfológicas externas eran muy similares a las de las micorrizas formadas por especies de los géneros *Suillus* y *Rhizopogon*.

***Capacidad ectomicorrícica de los hongos aislados.***

A partir de las muestras de raíces cortas micorrizadas, obtenidas en los distintos viveros y sembradas en placas de MMN, se obtuvieron un total de 20 aislamientos fúngicos, de los que cuatro demostraron ser capaces de formar ectomicorrizas en condiciones de síntesis en cultivo puro.

Las micorrizas formadas por el aislado BS1, obtenido de muestras del vivero de Besalú, se caracterizaban por un manto liso del mismo color que la raíz y con zonas refringentes cubiertas por un tenue micelio blanco. Eran cortas, simples o bifurcadas y sin cordones miceliares ni rizomorfias, muy similares al tipo C. Las formadas por el aislado BS5, obtenido de muestras del mismo vivero, eran cortas, bifurcadas o coraloides, y se caracterizaban por un manto blanco algodonoso y la formación de cordones miceliares cortos, muy similares al tipo A. Las ectomicorrizas formadas por el aislado BR1 presentaban todas las características de las micorrizas encontradas en las plantas del vivero de Breda. Largas (1-5 mm), simples, bifurcadas o doblemente bifurcadas, se caracterizaban por un manto blanco algodonoso y la formación de abundantes cordones y rizomorfias. El aislamiento TB2, obtenido del vivero de Conca de Tremp, producía ectomicorrizas cortas, simples o bifurcadas, lisas y con un micelio blanco disperso en la superficie del manto. No producían cordones miceliares ni rizomorfias y eran muy similares al tipo F.

Todos los aislamientos ectomicorrícicos produjeron un cierto estímulo del desarrollo radical de *P. pinaster* en condiciones de síntesis en cultivo puro (Tabla A.3).

***Crecimiento y estado micorrícico de P. pinaster producido en contenedor y usando como substrato los suelos de los distintos viveros.***

A los siete meses de crecimiento, las plantas de *P. pinaster* cultivadas en el suelo de Breda eran significativamente distintas, tanto en la altura como en el diámetro del tallo y la biomasa, a las de los suelos de Conca de Tremp y Llobregat (Tabla A.4). No se pueden dar resultados sobre el substrato utilizado en el vivero de Sant Ramón, ya que las plantas no sobrevivieron al periodo de crecimiento.

Tabla A.3.

Porcentajes de micorrización y efecto sobre el desarrollo radical de *P. pinaster*, en condiciones de síntesis de ectomicorrizas en cultivo puro, inoculados con los aislados obtenidos a partir de las muestras de los viveros.

Aislamiento	Vivero de origen	% de micorrización	Longitud radical (cm)	Número de raíces cortas
Control <sup>a</sup>	-	0.0	21.6	47
BS1	Besalú	33.2	41.0	103
BS5	Besalú	57.9	37.2	170
BR1	Breda	63.2	35.5	88
TB2	Conca de Tremp	20.8	36.5	77

a - Tubos de síntesis inoculados con hongos saprófitos obtenidos en los aislamientos realizados a partir de las muestras de los viveros. Los números representan la media de cinco repeticiones

Tabla A.4.

Crecimiento y porcentaje de micorrización de *P. pinaster* cultivados durante 7 meses en los suelos procedentes de los viveros.

Vivero de origen	Díámetro del tallo (mm)	Altura de la planta (cm)	Peso seco parte aérea (mg)	Peso seco de raíz (mg)	% de micorrización
Llobregat	1.4 a	7.2 a	247 a	121 a	72 b
C. de Tremp	1.4 a	8.6 a	361 a	190 a	21 a
Besalú	1.9 ab	11.4 ab	635 ab	262 ab	84 b
Breda	2.3 b	12.1 b	831 b	437 b	29 a

Cada número representa la media de cinco repeticiones. Dentro de una misma columna, las medias señaladas con una misma letra no difieren significativamente según el test de comparación múltiple de Tukey ( $P = 0.05$ ). El análisis estadístico de los porcentajes de micorrización se aplicó sobre los datos normalizados mediante su transformación angular ( $\text{sen}^{-1} (x/100)^{0.5}$ ).

Los suelos de los viveros de Besalú i Llobregat presentaban un alto potencial infectivo ectomicorrícico, mientras que en los suelos de Conca de Tremp y Breda no se alcanzaron porcentajes de micorrización elevados (Tabla A.4).

Las plantas crecidas en el suelo de Besalú presentaban, simultáneamente, los tipos B y C de micorrizas ya detectadas en las plantas recogidas en el propio vivero. Pero, en este caso, las de tipo C predominaban sobre las de tipo B (56.9% y 26.9% respectivamente). Las plantas cultivadas en el suelo del vivero del Llobregat presentaban solo ectomicorrizas de manto y rizomorfos negras, con abundante micelio externo fibulado. Este tipo de ectomicorrizas no se había detectado en las plantas recogidas directamente del vivero. En el suelo procedente del vivero de Conca de Tremp, todas las plantas desarrollaron ectomicorrizas del tipo F, detectado ya en las muestras del propio vivero. Finalmente, las plantas sembradas en el suelo del vivero de Breda presentaban principalmente ectomicorrizas lisas de manto beige claro y sin rizomorfos (tipo *Thelephora*), que no habían sido detectadas en los sistemas radicales de las plantas del vivero. Las ectomicorrizas típicas del vivero (tipo *Scleroderma*) aparecieron en una sola planta y se distribuían en la parte baja del sistema radical. No obstante, esta planta alcanzó un porcentaje de micorrización del 74.4% (69.7% para el tipo *Scleroderma* y 4.7% para el tipo *Thelephora*).

### Discusión

En los viveros estudiados no se realizaba un control riguroso de las prácticas viverísticas que repercuten en la calidad final de las plantas. La fumigación del suelo antes de la siembra, la aplicación de biocidas para el control de patógenos y malas hierbas, y el aporte programado de fertilizantes para suministrar a la planta los nutrientes necesarios en cada una de sus

fases fisiológicas, son prácticas habituales en un vivero tecnificado que aun no habían sido adoptadas.

Comparando las características fisicoquímicas de los suelos de los viveros estudiados (Tabla A.1) con los niveles de fertilidad recomendados para un vivero forestal (Youngberg, 1984), se observa que todos los viveros presentan algún factor limitante para el normal desarrollo de las plantas. Exceptuando el vivero de Breda, los suelos estudiados presentan un pH excesivamente básico. Además, el contenido en materia orgánica es bajo en todos los viveros exceptuando el de Besalú. En cuanto a los nutrientes principales, el contenido en potasio es bajo en todos los viveros excepto el de Besalú, el nitrógeno está por debajo de los límites recomendados en los viveros de Breda, Llobregat y Sant Ramón, y el fósforo es bajo en el vivero de Besalú.

Las plantas de *P. pinaster* recogidas en el vivero de Breda eran las que presentaban un mejor desarrollo vegetativo y un nivel adecuado de micorrización. Las muestras obtenidas en los restantes viveros presentaban problemas de crecimiento y, en algunos casos, un estado ectomicorrízico muy deficiente. Los resultados obtenidos en los bioensayos realizados bajo condiciones controladas confirmaron que el suelo del vivero de Breda era el que permitía un mejor crecimiento de *P. pinaster*.

Dadas sus características, muchos de estos suelos pueden destinarse a la producción a raíz desnuda de coníferas tolerantes a pH básico y suelos calcáreos (*P. halepensis*, *P. nigra*, *P. pinea* y *P. sylvestris*). No obstante, la mejora de la producción requerirá adaptar los conocimientos actuales a las condiciones de cada vivero, ajustando las densidades de siembra, incorporando enmiendas para elevar el contenido en materia orgánica, implementando programas de fertilización para corregir las carencias en nutrientes, y diseñando calendarios de desinfección de suelos y tratamientos fitosanitarios para el control de patógenos. La adopción de técnicas de producción más intensivas permitiría producir plantas de mayor calidad en un período menor de tiempo, pero sería necesario que cada vivero restringiera su producción a una o pocas especies vegetales, acordes a sus características edafoclimáticas y similares en cuanto a los requisitos de manejo.

La producción de otras especies de coníferas, y *P. pinaster* en concreto, quedaría restringida al vivero de Breda, corrigiendo los niveles de materia orgánica, nitrógeno y potasio, o tendría que abordarse desde la perspectiva de la producción de planta en contenedor. En este último caso habría que determinar el tipo de contenedor y el tipo de sustrato más adecuados a cada especie. Estos dos factores, contenedor y sustrato, son de capital importancia para no acumular problemas en la arquitectura del sistema radical y la nutrición de la planta, que afectarían tanto a su crecimiento en el vivero como a su comportamiento en campo (Ben Salem, 1971; Hiatt y Tinus, 1974; Tinus y McDonald, 1979).

En la mayoría de los casos, se presentaban, de una forma predominante, ectomicorrizas con características morfológicas similares a las de las especies habituales en un vivero: tipo *Thelephora* y tipo *Scleroderma* (Trappe y Strand, 1969; Croghan, 1984; Molina y Trappe, 1984; Garbaye *et al.*, 1986).

Las diferencias en el potencial infectivo de los suelos de los viveros estudiados podría guardar una cierta relación con el tiempo que estuvieron ocupados por los plantones de *P. pinaster*. Las plantas desarrolladas bajo condiciones controladas, en los suelos procedentes de Besalú y Llobregat, presentaban porcentajes de micorrización superiores a las de los suelos de Breda y Conca de Tremp. Está demostrado que la aplicación excesiva de fertilizantes afecta negativamente al estado micorrícico de las plantas producidas, favoreciendo el establecimiento de hongos muy infectivos pero poco efectivos, más adaptados a las condiciones del vivero que a las de la futura plantación. La baja presión de fertilizantes y fumigantes y los largos períodos de cultivo que se daban en muchos de los viveros estudiados, podrían haber favorecido la diversidad micorrícica de algunos suelos. A pesar de todo, como demuestran los experimentos realizados, la mayoría de estas especies micorrícicas son menos infectivas que las de tipo *Thelephora* o *Scleroderma* y las plantas que se siembren en el vivero terminarán, a corto plazo, micorrizadas por estas últimas. La introducción en el vivero de hongos ectomicorrícicos seleccionados, con el fin de dotar a las plantas con unos simbiontes que mejoren sus características fisiológicas e incrementen tanto la

supervivencia al trasplante como el crecimiento en campo, es una posibilidad a considerar seriamente en la futura actividad viverística (Molina y Trappe, 1984).

Si se adopta la producción en contenedor, la necesidad de inocular se hace más evidente. Una planta no micorrizada puede crecer bien en condiciones de contenedor si se le proporciona suficiente agua y nutrientes solubles. Pero esta misma planta, una vez trasplantada, no podrá captar niveles adecuados de agua y nutrientes hasta que haya establecido un grado suficiente de micorrización con los hongos nativos del suelo de plantación. Los substratos utilizados en la producción en contenedor (turba, vermiculita) carecen generalmente de propágulos ectomicorrícicos. Por tanto, la inoculación con hongos ectomicorrícicos seleccionados es indispensable si queremos que las plantas producidas en contenedor obtengan los beneficios aportados por esta simbiosis (Castellano y Molina, 1989).





---

## CONCLUSIONES GENERALES

---

Mediante la técnica de síntesis en cultivo puro, se ha demostrado la compatibilidad ectomicorrícica entre *Pinus pinaster* Ait. y 57 cepas fúngicas pertenecientes a 35 especies de los géneros: *Amanita*, *Cenococcum*, *Collybia*, *Cortinarius*, *Hebeloma*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Lyophyllum*, *Melanogaster*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon*, *Scleroderma*, *Suillus*, *Thelephora* y *Xerocomus*. La asociación simbiótica con *P. pinaster* no había sido demostrada anteriormente para 21 de las especies fúngicas, ampliándose así el número de hongos ectomicorrícicos conocidos para esta especie arbórea.

*Pinus pinaster* presenta un alto potencial ectomicorrícico y una baja especificidad por los simbiosistas, siendo capaz de asociarse a un gran número de hongos recolectados en asociación con un amplio rango de especies arbóreas.

Muchos de los hongos capaces de establecer un alto grado de micorrización con *P. pinaster* son especies de amplio espectro, sin una marcada especificidad por la planta hospedadora y con una alta variabilidad infraespecífica en su capacidad infectiva.

Los trabajos realizados han permitido establecer los métodos de inoculación para la micorrización de *P. pinaster* producido en contenedor con diez especies ectomicorrícicas. La efectividad de los métodos de obtención de inóculo y la dosis óptima de aplicación varían para las distintas especies fúngicas. Se ha desarrollado la tecnología necesaria para obtener, en condiciones prácticas de vivero, un nivel adecuado de micorrización con ocho de las anteriores especies ectomicorrícicas.

La utilización de inóculos miceliares producidos en turba-vermiculita ha permitido la micorrización de *P. pinaster* con los hongos: *Hebeloma crustuliniforme* S-66, *Laccaria bicolor* S-238, *L. laccata* A-127, *Lyophyllum decastes* A-71 y *Pisolithus tinctorius* A-93. Las cepas de *H. crustuliniforme* y

*P. tinctorius* son capaces de producir un alto porcentaje de micorrización si se utilizan a dosis relativamente elevadas (1:8, inóculo:substrato, v:v). *Laccaria bicolor*, *L. laccata* y *L. decastes* producen un grado de colonización radical intermedio, pero el inóculo se mantiene efectivo a bajas concentraciones y la dosis de aplicación se puede reducir hasta 1:16 (inóculo:substrato, v:v) para *L. decastes* o hasta 1:32 (inóculo:substrato, v:v) para *L. bicolor* y *L. laccata*.

La inclusión de micelio en alginato polimerizado ha resultado efectiva para la micorrización de *P. pinaster* con los hongos: *L. bicolor* S-238 y *L. decastes* A-71. La eficacia del inóculo depende directamente de la concentración de micelio incorporado por unidad de volumen de alginato. En el caso de *L. decastes*, la concentración óptima de micelio es de 0.5 g/l de alginato, mientras que para *L. bicolor* puede establecerse entre 1.00 y 0.12 g/l sin que varíe el nivel de infección radical obtenido. Para ambas especies fúngicas, se obtienen niveles de micorrización comparables mediante la utilización de inóculo miceliar incluido en alginato o producido en turba-vermiculita. No obstante, la inclusión en alginato permite una mayor estandarización en la dosificación del micelio y su aplicación en vivero. La utilización de este tipo de inóculo no ha dado buenos resultados con otras especies fúngicas (*P. tinctorius* y *Rhizopogon roseolus*). Será necesario proseguir las investigaciones para establecer las modificaciones a introducir en el proceso de producción de inóculo con vistas a aumentar su viabilidad.

Las técnicas de inoculación con esporas han permitido la micorrización de *P. pinaster* con: *Hymenogaster vulgaris*, *Melanogaster ambiguus*, *P. tinctorius*, *R. roseolus* y *Scleroderma citrinum*, ofreciendo la posibilidad de inocular con algunas especies fúngicas que no habían dado buenos resultados al ser aplicadas en forma de inóculo miceliar. La dosis óptima de inoculación oscila entre  $10^5$  esporas por planta, para *R. roseolus* y *S. citrinum*, y  $10^6$  esporas por planta para *M. ambiguus* y *P. tinctorius*. La elevada producción de esporas de estas cuatro especies fúngicas hace viable su utilización comercial en vivero. La inoculación con esporas de *P. tinctorius* produce porcentajes de micorrización inferiores a los obtenidos mediante la utilización de inóculo miceliar. No obstante, la facilidad de obtención de inóculo y su efectividad a

concentraciones relativamente bajas permiten la inoculación de un mayor número de plantas.

Los bioensayos realizados con distintos suelos forestales han permitido establecer diferencias entre su potencial infectivo ectomicorrícico. Los suelos sin cobertura arbórea o los de repoblaciones recientes presentan un bajo potencial infectivo, con una densidad y diversidad de inóculo ectomicorrícico menores que las de los suelos forestados.

Los experimentos de trasplante realizados con plantas micorrizadas en contenedor demuestran que *L. bicolor* S-238 y *S. citrinum* poseen un alto potencial de colonización radical. Ambos hongos son capaces de desarrollarse e infectar la mayor parte de las nuevas raíces formadas después del trasplante, compitiendo eficazmente con la micoflora ectomicorrícica nativa del suelo.

La supervivencia de *L. bicolor* S-238, *P. tinctorius* A-93 y *R. roseolus*, en el sistema radical de la planta, está condicionada por el pH del suelo de trasplante. En suelos ácidos *L. bicolor* S-238 puede establecerse como simbiote dominante aun partiendo de niveles de micorrización inicial relativamente bajos (alrededor del 40%). En estos mismos suelos, *P. tinctorius* A-93 y *R. roseolus* mantienen un nivel de micorrización comparable al de los hongos nativos.

Los resultados obtenidos con *M. ambiguus*, *P. tinctorius* A-93 y *R. roseolus* indican que si la micorrización obtenida mediante la inoculación en vivero es inferior al 50%, es muy poco probable que estos hongos se mantengan presentes en el sistema radical de las plantas trasplantadas, siendo desplazados por los hongos ectomicorrícicos nativos del suelo.



## BIBLIOGRAFIA

Abucinadah, R.A. y Read, D.J. 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. III. Protein utilization by *Betula*, *Picea* and *Pinus* in mycorrhizal association with *Hebeloma crustuliniforme*. *New Phytol.*, 103: 507-514.

Agerer, R. (ed.) 1987-1990. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. 1st-4th Delivery. Einhorn, Schwäbisch Gmünd.

Agostini, R. 1988. Revisione dell'areale italiano del pino maritimo (*Pinus pinaster* Ait.). *Arch. Bot. Biog. It.*, 44: 184-202.

Al Abras, K., Le Tacon, F. y Lapeyrie, F. 1991. Comparison of three cold storage methods for Norway spruce (*Picea abies* Karst) bare root seedlings: consequences on metabolic activity of ectomycorrhizae assessed by radiorespirometry. *Ann. Sci. For.*, 48: 489-495.

Alazard, P. 1983. état d'avancement de l'amélioration génétique du pin maritime. *Annales Afocel* 1982. pp: 103-137.

Alvarez, I.F. y Linderman, R.G. 1983. Effects of ethylene and fungicide dips during cold storage on root regeneration and survival of western conifers and their mycorrhizal fungi. *Can. J. For. Res.*, 13: 962-971.

Alvarez, I.F. y Trappe, J.M. 1983. Effects of application rate and cold soaking pretreatment of *Pisolithus* spores on effectiveness as nursery inoculum on western conifers. *Can. J. For. Res.*, 13: 533-537.

Alvarez, I.F., Rowsey, D.W. y Cobb, F.W., Jr. 1979. Mycorrhizae and growth of white fir seedlings in mineral soil with or without organic layers in a California forest. *Can. J. For. Res.*, 9: 311-315.

Amaranthus, M.P. y Perry, D.A. 1987. Effect of soil transfer on ectomycorrhiza formation and the survival and growth of conifer seedlings on old, nonreforested clear-cuts. *Can. J. For. Res.*, 17: 944-950.

Armstrong, J.L., Fowles, N.L. y Rygielwicz, P.T. 1989. Restriction fragment length polymorphism distinguish ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 116: 1-7.

Azevedo, N. 1982. Ectomicorrizas del *Pinus pinaster* Sol. ex Ait. *Boletín de la Estación Central de Ecología (ICONA)*, 11: 37-42.

Baker, R. 1971. Analyses involving inoculum density of soil borne pathogens in epidemiology. *Phytopathology*, 61: 1280-1292.

Baker, R., Malher, C.L. y Malher, R.A. 1967. Ecology of plant pathogens in soil. VIII. Mathematical models and inoculum density. *Phytopathology*, 57: 662-666.

Baradat, Ph. 1986. Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). *Rev. For. Fran.*, 38: 121-124.

Baradat, Ph. y Marpeau, A. 1988. Le Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). Biologie et génétique des terpènes pour la connaissance et l'amélioration de l'espèce. Thèse Doct., Univ. Bordeaux I.

Barnett, J.P. 1974. Growing containerized southern pines. En: *Proc. North Am. Containerized For. Tree seedlings Symp. Great Plains Agric. Council. Publ. n° 68: 124-128.*

Barnett, J.P. 1976. Sterilizing southern pine seeds with hydrogen peroxide. *Tree Plant. Notes*, 27: 17-19.

Barnett, J.P. 1980. Containerized pine seedlings for difficult sites. En: *Proc. Reforestation of disturbed sites, College Station, TX, June 9-11, 1980. Texas Agric. Extension Serv., Texas A&M Univ., pp: 51-58.*

- Barnett, J.P. 1984. Relating seedling physiology to survival and growth in container-grown southern pines. En: Duryea, M.L. and Brown, G.N. (eds.). Seedling physiology and reforestation success. Martinus Nijhoff/ Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, Boston, London. pp: 157-176.
- Barsali, E. 1922. Contribuzione allo studio dei rapporti delle micorize ectotrofiche di alcune essenze arboree. Atti Soc. Toscana Sci. Nat. Proc. Verb., 31: 16-20.
- Beckjord, P.R. y McIntosh, M.S. 1984. Growth and fungal persistence by *Quercus rubra* inoculated with ectomycorrhizal fungi and planted on a clear-cutting and strip mine. Can. J. Bot., 62: 1571-1574.
- Benecke, U. y Gölb, F. 1974. The influence of different mycorrhizae on growth, nutrition and gas-exchange of *Pinus mugo* seedlings. Plant Soil, 40: 21-32.
- Ben Salem, B. 1971. Root strangulation - A neglected factor in container grown nursery stock. M.S. Thesis, Univ. Calif., Berkeley. 50 pp.
- Berjand, C., Dumas, P., Coupé, M. y d'Auzac, J. 1987. Properties of soluble acid phosphatases in an ectomycorrhizal fungus and in host plants subjected or not to Pi starvation. Agronomie, 7: 95-99.
- Berry, C.R. y Marx, D.H. 1978. Effects of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on growth of loblolly and Virginia pines in the Tennessee Copper Basin. USDA For. Serv. Res. Note SE-284. 6 pp.
- Blaschke, H. y Bäuml, W. 1989. Mycophagy and spore dispersal by small mammals in Bavarian forests. For. Ecol. Manage., 26: 237-245.
- Blasius, D., Feil, W., Kottke, I. y Oberwinkler, F. 1986. Hartig net formation in fully ensheathed ectomycorrhizas. Nord. J. Bot., 6: 837-842.
- Bledsoe, C.S., Tennyson, K. y Lopushinsky, W. 1982. Survival and growth of outplanted Douglas-fir seedlings inoculated with mycorrhizal fungi. Can. J. For. Res., 12: 720-723.
- Boïès, O. de y Vigo, J. 1984. Flora dels Països Catalans. Volum I. Ed. Barcino. Barcelona. pp: 200-201.
- Bonneau, M., Gelpe, J. y Illy, G. 1973. Résultats d'essais de fertilization de peuplements adultes de pin maritime. Rev. For. Fran., 25: 539-543.
- Boudarga, K., Lapeyrie, F. y Dexheimer, J. 1990. A technique for dual vesicular-arbuscular endomycorrhizal/ectomycorrhizal infection of *Eucalyptus in vitro*. New Phytol., 114: 73-78.
- Bougher, N.L. y Malajczuk, M. 1990. Effects of high soil moisture on formation of ectomycorrhizas and growth of karri (*Eucalyptus diversicolor*) seedlings inoculated with *Descolea maculata*, *Pisolithus tinctorius* and *Laccaria laccata*. New Phytol., 114: 87-91.
- Bouhot, D. 1975. Technique selective et quantitative d'estimation du potentiel infectieux des sols terreaux et substrats infestés par *Pythium* sp. Mode d'emploi. Ann. Phytopathol., 7: 155-158.
- Bouvaré, P. 1960. Note sur la résistance au froid de quelques provenances de Pin maritime. Rev. For. Fran., 7: 495-508.
- Bowen, G.D. 1985. Mycorrhiza inoculation in forestry practice. Aust. For., 29: 231-237.
- Bowen, G.D. 1973. Mineral nutrition of ectomycorrhizae. En: Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (eds.). Ectomycorrhizae, their ecology and physiology. New York, Academic Press. pp: 151-205.
- Bowen, G.D. y Theodorou, C. 1979. Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem., 11: 119-126.
- Boyd, R., Furbank, R.T. y Read, D.J. 1985. Ectomycorrhiza and the water relations of trees. En: Physiological and Genetical Aspects of Micorrhizae. Proc. 1<sup>st</sup> Eur. Symp. on Mycorrhizae, Dijon, I.N.R.A. -Paris. pp: 689-693.

- Braganca, L. (de) y Havel, J.J. 1987. Potential of *Pinus pinaster*, *P. radiata* and *P. elliottii* to rehabilitate dieback sites. Department of Conservation and Land Management, Western Australia. Research Paper nº 2, 11 pp.
- Branzanti, B. y Zambonelli, A. 1987. Effetti della micorrizzazione sullo sviluppo di semenzali di *Pinus pinaster*. *Mic. Ital.*, 2: 53-57.
- Briscoe, C.B. 1959. Early results of mycorrhizal inoculation of pine in Puerto Rico. *Caribbean Forester*, 20: 73-77.
- Brix, H. y van den Driessche, R. 1974. Mineral nutrition of container-grown tree seedlings. *Proc. North Am. Containerized For. Tree Seedlings Symp., Great Plains Agric. Counc. Publ.* 68, pp: 77-84.
- Browning, M.H.R. y Whitney, R.D. 1991. Responses of jack pine and black spruce seedlings to inoculation with selected species of ectomycorrhizal fungi. *Can. J. For. Res.*, 21: 701-706.
- Brownlee, C., Duddridge, J.A., Malibari, A. y Read, D.J. 1983. The structure and function of mycelial system of ectomycorrhizal roots with special reference to their role in forming interplants connections and providing pathways for assimilate and water transport. *Plant Soil*, 71: 433-443.
- Brunner, I. 1991. Comparative studies on ectomycorrhizae synthesized with various *in vitro* techniques using *Picea abies* and two *Hebeloma* species. *Trees*, 5: 90-94.
- Brunner, I., Amiet, R. y Schneider, B. 1991. Characterization of naturally grown and *in vitro* synthesized ectomycorrhizas of *Hebeloma crustuliniforme* and *Picea abies*. *Mycol. Res.*, 95: 1407-1413.
- Burdett, A.N. y Simpson, D.G. 1984. Lifting, grading, packaging, and storing. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 227-234.
- Cailleau, X. 1984. Utilisation et débouchés du pin des Landes. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 70: 1189-1199.
- Cairney, J.W.G. 1992. Translocation of solutes in ectomycorrhizal and saprotrophic rhizomorphs. *Mycol. Res.*, 96: 135-141.
- Carrodus, B.B. 1966. Absorption of nitrogen by mycorrhizal roots of beech. I. Factors affecting assimilation of nitrogen. *New Phytol.*, 65: 358-371.
- Carrodus, B.B. 1967. Absorption of nitrogen by mycorrhizal roots of beech. II. Ammonium and nitrate as sources of nitrogen. *New Phytol.*, 66: 1-4.
- Castellano, M.A. 1990. Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedlings: a review. *Proc. 8th N.A.C.O.M.* pp: 49.
- Castellano, M.A. y Molina, R. 1989. Mycorrhizae. En: Landis, T.D., Tinus, R.W., McDonald, S.E. y Barnett, J.P. (eds.). *The container tree manual; Vol 5, The Biological component: nursery pests and mycorrhizae*. U. S. D. A., For. Serv., Agric. Handbk. 674. Washington, DC. pp: 101-187.
- Castellano, M.A. y Trappe, J.M. 1985. Ectomycorrhizal formation and plantation performance of Douglas-fir nursery stock inoculated with *Rhizopogon* spores. *Can. J. For. Res.*, 15: 613-617.
- Castellano, M.A., Trappe, J.M. y Molina, R. 1985. Inoculation of container-grown Douglas-fir seedlings with basidiospores of *Rhizopogon vinicolor* and *R. colossus*: effects of fertility and spore application rate. *Can. J. For. Res.*, 15: 10-13.
- Ceballos, L. 1933. Sobre la habitación caliza del *Pinus pinaster*. *Los pinares de Sierra Almajara. Bol. Soc. Esp. His. Nat.*, 33: 17-23.
- Ceballos, L., Lopez, M., Pardos, J.A. y Ubeda, J. 1966. *Mapa Forestal de España*. Ministerio de Agricultura. Madrid.



- Ceruti, A. 1965. La tartuficoltura in Italia. Ann. Accad. Agr. Torino, 107: 1-12.
- Chakraborty, S., Theodorou, C. y Bowen, G.D. 1985. The reduction of root colonization by mycorrhizal fungi by mycophagous amoebae. Can. J. Microbiol., 31: 295-297.
- Chalot, M., Battut, P.M., Botton, B., Le Tacon, F. y Garbaye, J. 1988. Recent advances in physiological and practical aspects of ectomycorrhizal effects on tree development. Acta Oecol. Oecol. Appl., 9: 333-351.
- Chanway, C.P. y Holl, F.B. 1991. Biomass increase and associative nitrogen fixation of mycorrhizal *Pinus contorta* seedlings inoculated with a plant growth promoting *Bacillus* strain. Can. J. Bot., 69: 507-511.
- Chaperon, H. 1980. Nouvelles perspectives d'amélioration génétique induites par le bouturage du pin maritime. Annales Afocel 1980. pp: 31-55.
- Chaperon, H. 1986. La culture du pin maritime en Aquitaine. Ed. AFOCEL (Association Forêt-Cellulose). 231 pp.
- Chaperon, H. y Cailmail, F. 1988. Régénération artificielle de la forêt littorale des dunes de Gascogne. Informations Forêt, 2: 89-99.
- Chilvers, G.A. y Harley, J.L. 1980. Visualization of phosphate accumulation in beech mycorrhizas. New Phytol., 84: 319-326.
- Chilvers, G.A., Douglass, P.A. y Lapeyrie, F.F. 1986. A paper-sandwich technique for rapid synthesis of ectomycorrhizas. New Phytol., 103: 397-402.
- Chu-Chou, M. 1979. Mycorrhizal fungi of *Pinus radiata* in New Zealand. Soil Biol. Biochem., 11: 557-562.
- Chu-Chou, M. y Grace, L.J. 1985. Comparative efficiency of the mycorrhizal fungi *Laccaria laccata*, *Hebeloma crustuliniforme* and *Rhizopogon* species on growth of radiata pine seedlings. New Zealand J. Bot., 23: 417-424.
- Chu-Chou, M. y Grace, L.J. 1990. Mycorrhizal fungi of radiata pine seedlings in nursery and trees in forests. Soil Biol. Biochem., 22: 959-966.
- Cordell, C.E., Marx, D.H., Maul, S.B. y Owen, J.H. 1987a. Production and utilization of ectomycorrhizal fungal inoculum in the eastern United States. En: Sylvia, D.M., Hung, L.L. y Graham, J.H. (eds.). Mycorrhizae in the next decade: practical applications and research priorities. 7th North Am. Conf. on Mycorrhizae. Univ. Florida, Gainesville.
- Cordell, C.E., Owen, J.H. y Marx, D.H. 1987b. Mycorrhizae nursery management for improved seedling quality and field performance. Gen. Tech. Report RM-151, Fort Collins, CO. pp: 105-115.
- Cordell, C.E., Owen, J.H., Marx, D.H. y Farley, M.E. 1987c. Ectomycorrhizal fungi beneficial for mined land reclamation. Proc. Nat. Symp. on mining, hidrology, sedimentology and reclamation. Lexington, Kentucky. pp: 321-326.
- Costantini, J. 1923. La vie mystérieuse des champignons. Mise au point du problème des mycorrhizes de conifères. Rev. Sci., 61: 733-737.
- Croghan, C.F. 1984. Survey for mycorrhizal fungi in lake states tree nurseries. Mycologia, 76: 951-953.
- Danielson, R.M. 1988. Mycorrhizae in forestry: the state of the art in land reclamation. En: Lalonde, M. y Piché, Y. (eds.). Proc. Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry. CRBF, Univ. Laval, Sainte-Foy (Québec). pp: 39-41.
- Danielson, R.M., Griffiths, C.L. y Parkinson, D. 1984a. Effects of fertilization on the growth and mycorrhizal development of container-grown jack pine seedlings. Forest Sci., 30: 828-835.
- Danielson, R.M., Visser, S. y Parkinson, D. 1984b. Production of ectomycorrhizae on container-grown jack pine seedlings. Can. J. For. Res., 14: 33-36.

- Davey, C.B. 1984. Nursery soil organic matter: management and importance. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 81-86.
- David, A., Faye, M. y Rancillac, M. 1983. Influence of auxin and mycorrhizal fungi on the *in vitro* formation and growth of *Pinus pinaster* roots. Plant Soil, 71: 501-505.
- Day, R.J. 1984. Water management. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 93-105.
- Deacon, J.W., Donaldson, S.J. y Last, F.T. 1983. Sequences and interactions of mycorrhizal fungi on birch. Plant Soil, 71: 257-262.
- Debaud, J.C. y Gay, G. 1987. In vitro fruiting under controlled conditions of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* associated with *Pinus pinaster*. New Phytol., 105: 429-435.
- Delmas, J. 1978. The potential cultivation of various edible fungi. En: Chang, S.T. y Hayes, W.A. (eds.). The biology and cultivation of edible mushrooms. Acad. Press, New York. pp: 699-724.
- Delmas, J., Mousain, D. y Poitou, N. 1978. La symbiose mycorrhizienne: résultats obtenus avec *Hebeloma cylindrosporum* et *Pisolithus tinctorius* et les perspectives d'application agronomique. Mushroom Science, part 1. pp: 949.
- Delvaulle, J.C., Diangana, D. y Garbaye, J. 1987. Augmentation de la production du pin des caraïbes dans la région côtière du Congo par introduction du champignon ectomycorhizien *Pisolithus tinctorius*. Rev. For. Fran., 39: 409-417.
- Desole, L. 1960. Ulteriore contributo alla conoscenza dell'areale Sardo del *Pinus pinaster* Sol. Arch. Bot. e Biogeogr. It., 40: 284-297.
- Destremau, D.X. 1974. Précisions sur les aires naturelles des principaux conifères marocains en vue de l'individualisation de provenances. Annales de la Recherche Forestière au Maroc, 14: 3-20.
- Destremau, D.X., Jolly, H. y Tahri, T. 1976. Contribution à la connaissance des provenances de *Pinus pinaster*. Annales de la Recherche Forestière au Maroc, 16: 101-153.
- Destremau, D.X., Alazard, P. y Chaperon, H. 1982. Monographie génétique de *Pinus pinaster*. Annales forestales. Zagreb, 9/4: 125-150.
- Dexheimer, J., Aubert-Dufresne, M-P., Gérard, J., Le Tacon, F. y Mousain, D. 1986. Étude de la localisation ultrastructurale des activités phosphatases acides dans deux types d'Ectomycorhizes: *Pinus nigra nigricans* / *Hebeloma crustuliniforme* et *Pinus pinaster* / *Pisolithus tinctorius*. Bull. Soc. bot. Fr. 133, Lettres bot., (4/5): 343-352.
- Dighton, J. 1987. Ecology and management of ectomycorrhizal fungi in UK. En: Sylvia, D.M., Hung, L.L. y Graham, J.M. (eds.). Mycorrhizae in the next decade: practical applications and research priorities. 7th N.A.C.O.M., Inst. of Food and Agric. Sci., Univ. of Florida, Gainesville. pp: 75-78.
- Dighton, J. y Mason, P.A. 1985. Mycorrhizal dynamics during forest tree development. En: Moore, D., Casselton, L.A., Woods, D.A. y Frankland, J.C. (eds.). Developmental Biology of Higher Fungi. British Mycol. Soc. Symp. 10. Cambridge University, Cambridge. pp: 117-139.
- Dixon, R.K., Wright, G.M., Garret, H.E., Cox, G.S., Johnson, P.J. y Sanders, I.L. 1981a. Container- and nursery-grown black oak seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius*: growth and ectomycorrhizal development during seedling production period. Can. J. For. Res., 11: 487-491.
- Dixon, R.K., Garrett, H.E., Cox, G.S., Johnson, P.S. y Sanders, I.L. 1981b. Container- and nursery-grown black oak seedlings inoculated with *Pisolithus tinctorius*: growth and ectomycorrhizal development following outplanting on an Ozark clear-cut. Can. J. For. Res., 11: 492-496.

- Dixon, R.K., Pallardy, S.G., Garret, H.E. y Cox, G.S. 1983. Comparative water relations of container-grown and bare-root ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Quercus velutina* seedlings. *Can. J. Bot.*, 61: 1559-1565.
- Dixon, R.K., Garret, H.E. Cox, G.S., Marx, D.H. y Sander, I.L. 1984. Inoculation of three *Quercus* species with eleven isolates of ectomycorrhizal fungi. I. Inoculation success and seedling growth relationships. *Forest Sci.*, 30: 364-372.
- Dominik, T. 1969. Key to ectotrophic mycorrhizae. *Folia Forest. Pol. Ser. A no. 15*, 309 pp.
- Donald, D.G.M. 1975. Mycorrhizal inoculation for pines. *S. Afr. For. J.*, 92: 27-29.
- Doumas, P., Berjaud, C., Calléja, M., Coupé, M., Espiau, C. y d'Auzac, J. 1986. Phosphatases extracellulaires et nutrition phosphatée chez les champignons ectomycorhiziens et les plantes hôtes. *Physiol. Vég.*, 24: 173-184.
- Driessche (van den), R. 1984. Soil fertility in forest nurseries. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 63-74.
- Duchesne, L.C., Peterson, R.L. y Ellis, B.E. 1989. The future of ectomycorrhizal fungi as biological control agents. *Phytoprotection*, 70: 51-57.
- Duddridge, J.A., Malbari, A. y Read, D.J. 1980. Structure and function of ectomycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature*, 287: 834-836.
- Duff, G.E. 1928. The varieties and geographical forms of *Pinus pinaster* Sol. in Europe and South Africa. Union of South Africa, British Empire Forester Conference. Pretoria.
- Duponnois, R. y Garbaye, J. 1991. Mycorrhization helper bacteria associated with the Douglas fir - *Laccaria laccata* symbiosis: effects in aseptic and in glasshouse conditions. *Ann. Sci. For.*, 48: 239-251.
- Duryea, M.L. 1984. Nursery cultural practices: impacts on seedling quality. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: Production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 143-164.
- Duryea, M.L. y Brown, G.N. (eds.). 1984. *Seedling physiology and reforestation success*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht/Boston/London. 326 pp.
- Duryea, M.L. y McClain, K.M. 1984. Altering seedling physiology to improve reforestation success. En: Duryea, M.L. y Brown, G.N. (eds.). *Seedling physiology and reforestation success*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht/Boston/London. pp: 77-114.
- Duvert, P. 1987. Réceptivité des sols aux associations mycorhiziennes et aptitude prophylactique des mycorhizes. Thèse de l'Université de Dijon. 195 pp.
- Eavis, B.W. 1972. Soil physical conditions affecting seedling root growth. *Plant Soil*, 36: 613-622.
- Erland, S., Söderström, B. y Andersson, S. 1990. Effects of timing on ectomycorrhizal fungi infecting *Pinus sylvestris* L. II. Growth rates in pure culture at different pH values compared to growth rates in symbiosis with the host plant. *New Phytol.*, 115: 683-688.
- Faye, M., Rancillac, M. y David, A. 1981. Determinism of the mycorrhizogenic root formation in *Pinus pinaster* Sol. *New Phytol.*, 87: 557-565.
- Fernandez de Ana, F.J., Rodriguez, A. y Rodriguez-Fernández, R.J. 1989. A influencia dos tratamentos silvícolas na micetacao dos macromicetos. III Congresso Luso-Galaico de Macromicologia. Vila Real, Portugal. pp: 1-20.
- Ferreira dos Santos, N. 1941. Elementos para o estudo das micorrizas ectendotróficas do *Pinus pinaster* Sol.. Publ. Serv. Florestais Agric. Portugal, 8: 65-95.
- Fieschi, V. 1932. Anatomie de la feuille chez les Pins maritimes. *Trav. Lab. forest. Toulouse*. Tome I. Vol. I. Art. 18.

- Fieschi, V. y Gausson, H. 1932. La classification des Pins maritimes. Trav. Lab. forest. Toulouse. Tome I. Vol. I. Art. 19.
- Finlay, R.D. y Read, D.J. 1986a. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. I. Translocation of  $^{14}\text{C}$ -labelled carbon between plants interconnected by a common mycelium. *New Phytol.*, 103: 143-156.
- Finlay, R.D. y Read, D.J. 1986b. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. II. The uptake and distribution of phosphorus by micelial strands interconnecting host plants. *New Phytol.*, 103: 157-165.
- Fisher, J.T. y Mexal, J.G. 1984. Nutrition management: a physiological basis for yield improvement. En: Duryea, M.L. y Brown, G.N. (eds.). *Seedling physiology and reforestation success*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht/Boston/London. pp: 271-299.
- Fisher, R.A. y Yates, F. 1963. *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. Ed. Oliver and Boyd, Edinburg. p. 146.
- Fleming, L.V., Deacon, J.W. y Last, F.T. 1986. Ectomycorrhizal succession in a Scottish birch wood. En: Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (eds.). *Mycorrhizae: physiology and genetics*. INRA Publ. (Paris). pp: 259-264.
- Fogel, R. y Hunt, G. 1979. Fungal and arboreal biomass in a western Oregon Douglas-fir ecosystem: distribution patterns and turnover. *Can. J. For. Res.*, 9: 245-256.
- Fogel, R. y Trappe, J.M. 1978. Fungus consumption (mycophagy) by small animals. *Northwest Sci.*, 52: 1-31.
- Ford, V.L., Torbert, J.L., Burger, J.A. y Miller, O.K. 1985. Comparative effects of four mycorrhizal fungi on loblolly pine seedlings growing in a greenhouse in a Piedmont soil. *Plant Soil*, 83: 215-221.
- Fortin, J.A., Piché, Y. y Lalonde, M. 1980. Technique for the observation of early morphological changes during ectomycorrhiza formation. *Can. J. Bot.*, 58: 361-365.
- Fortin, J.A., Piché, Y. y Godbout, C. 1983. Methods for synthesizing ectomycorrhizas and their effects on mycorrhizal development. *Plant Soil*, 71: 275-284.
- France, R.C. y Reid, C.P.P. 1983. Interactions of nitrogen and carbon in the physiology of ectomycorrhizae. *Can. J. Bot.*, 61: 964-984.
- Franco, J. 1986. Pinus. En: *Flora Ibérica*. Vol I. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid. pp: 168-174.
- Gadgil, P.D. 1972. Effects of waterlogging on mycorrhizas of radiata pine and Douglas fir. *New Zeal. J. For. Sci.*, 2: 222-226.
- Gambi, G. 1983. Le principali fustaie dell'Italia peninsulare e insulare. En: *L'Italia agricola - La gestione del bosco*, IV. pp: 45-63.
- Garbaye, J. 1983. Premiers résultats de recherches sur la compétitivité des champignons ectomycorhiziens. *Plant Soil*, 71: 303-308.
- Garbaye, J. 1990. Les problèmes posés par la mycorrhization contrôlée du chêne. *Rev. For. Fran.*, 42: 233-239.
- Garbaye, J. 1991. Utilisation des mycorrhizes en sylviculture. En: Strullu, D.G., Perrin, R., Planchette, C. y Garbaye, J. (eds.). *Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées*. Ed. Technique et Documentation - Lavoisier, Paris. pp: 197-242.
- Garbaye, J. y Bowen, G.D. 1987. Effect of different microflora on the succes of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata*. *Can. J. For. Res.*, 17: 941-943.
- Garbaye, J., Menez, J. y Wilhelm, M.E. 1986. Les mycorrhizes des jeunes chênes dans les pépinières et les régénérations naturelles du Nord-Est de la France. *Acta Oecol. Oecol. Plant.*, 7: 87-96.
- Garbaye, J., Delwaulle, J.C. y Diangana, D. 1988. Growth response of eucalypte in the Congo to ectomycorrhizal inoculation. *For. Ecol. Manage.*, 24: 151-157.

- Garrido, N. 1984. Notes on *Scleroderma citrinum* Pers. (Mycota-Gasteromycetes) in *Pinus radiata* forests in Chile. *Nova Hedwigia*, 40: 511-516.
- Garrido, N. 1986. Survey of ectomycorrhizal fungi associated with exotic forest trees in Chile. *Nova Hedwigia*, 43: 423-442.
- Gay, G., Rouillon, R. y Bruchet, G. 1982. Rôle des substances libérées par les champignons ectomycorhiziens dans la morphogenèse des systèmes racinaires. En: *Les Mycorhizes: biologie et utilisation*. Ed. I.N.R.A. Publ. (Les Colloques de l'INRA n° 13, Dijon), pp: 163-177.
- Gelpe, J. y Guinaudeau, J. 1974. Essai de fertilization minérale sur pins maritimes à Mimizan (Landes), résultats après la 16<sup>e</sup> année. *Rev. For. Fran.*, 26: 459-463.
- Gibson, F. y Deacon, J.W. 1990. Establishment of ectomycorrhizas in aseptic culture: effects of glucose, nitrogen and phosphorus in relation to successions. *Mycol. Res.*, 94: 166-172.
- Gil, L., Gordo, J., Alia, R., Catalán, G. y Pardos, J.A. 1990. *Pinus pinaster* Aiton en el paisaje vegetal de la Península Ibérica. *Ecología*, 1 (*Fuera de Serie*): 469-495.
- Gilligan, C.A. 1979. Modeling rhizosphere infection. *Phytopathology*, 69: 782-784.
- Gjerstad, D.H., Nelson, L.R., Dukes, J.H. y Retzlaff, W.A. 1984. Growth response and physiology of tree seedlings as affected by weed control. En: Duryea, M.L. y Brown, G.N. (eds.). *Seedling physiology and reforestation success*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht/Boston/London. pp: 247-270.
- Godbout, C. y Fortin, J.A. 1983. Morphological features of synthesized ectomycorrhizas of *Alnus crispa* and *A. rugosa*. *New Phytol.*, 94: 249-262.
- Gölb, F. 1975. Erfahrungen bei der anzucht von mykorrhiza impfmaterial. *Centralbl. Gesamte Forstwes.*, 92: 227-237.
- Gottlieb, D. 1978. *The germination of fungus spores*. Meadowfield Press Ltd. England. 116 pp.
- Graham, J.H. y Linderman, R.G. 1980. Ethylene production by ectomycorrhizal fungi, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pini*, and by aseptically synthesized ectomycorrhizae and *Fusarium*-infected Douglas-fir roots. *Can. J. Microbiol.*, 26: 1340-1347.
- Graham, J.H. y Linderman, R.G. 1981. Inoculation of containerized Douglas-fir with the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum*. *Forest Sci.*, 27: 27-31.
- Grand, L.E. 1988. Conifer associates and mycorrhizal synthesis of some Pacific Northwest *Suillus* species. *Forest Sci.*, 14: 304-312.
- Grand, L.E. 1969. A beaded endotrophic mycorrhiza of northern and southern red oak. *Mycologia*, 51: 408-409.
- Grossnickle, S.C. y Reid, C.P.P. 1982. The use of ectomycorrhizal conifer seedlings in the revegetation of a high elevation mine site. *Can. J. For. Res.*, 12: 354-361.
- Grossnickle, S.C. y Reid, C.P.P. 1983. Ectomycorrhiza formation and root development patterns of conifer seedlings on a high-elevation mine site. *Can. J. For. Res.*, 13: 1145-1158.
- Guinberteau, J., Ducamp, M., Poipou, N., Mamoun, M. y Olivier, J.M. 1990. Ecology of various competitors from an experimental plot of *Pinus pinaster* inoculated with *Suillus granulatus* and *Lactarius deliciosus*. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 28: 161-165.
- Guyon, J.P. y Kremer, A. 1982. Stabilité phénotypique de la croissance en hauteur et cinétique journalière de la pression de sève et de la transpiration chez le Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.). *Can. J. For. Res.*, 12: 936-946.
- Hacskeylo, E. 1953. Pure culture synthesis of pine mycorrhizae in Terra-Lite. *Mycologia*, 45: 971-975.

- Hacskeylo, E. 1973. Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae. En: Marks, G.C. y Kozłowski, T.T. (eds.). Ectomycorrhizae. Their ecology and physiology. Academic Press, London, New York. pp: 207-230.
- Hacskeylo, E. y Vozzo, J.A. 1967. Inoculation of *Pinus caribaea* with pure cultures of mycorrhizal fungi in Puerto Rico. Proc. 14th Int. Union Forest. Res. Organ. Munich. Vol 5, pp: 139-148.
- Harley, J.L. y McCready, 1952. The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of beech. II. Distribution of phosphorus between host and fungus. New Phytol., 51: 56-64.
- Harley, J.L. y Smith, S.E. 1983. Mycorrhizal symbiosis. New York, Academic Press. 483 pp.
- Harvey, L.M. 1991. Cultivation techniques for the production of ectomycorrhizal fungi. Biotech. Adv., 9: 13-29.
- Harvey, A.E., Jurgensen, M.F. y Larsen, M.J. 1978. Seasonal distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/larch forest soil in western Montana. Forest Sci., 24: 203-208.
- Harvey, A.E., Larsen, M.J. y Jurgensen, M.F. 1979. Comparative distribution of ectomycorrhizae in soils of three western Montana forest habitat types. Forest Sci., 25: 350-358.
- Harvey, A.E., Jurgensen, M.F. y Larsen, M.J. 1980. Clearcut harvesting and ectomycorrhizae: survival of activity on residual roots and influence on a bordering forest stand in western Montana. Can. J. For. Res., 10: 300-303.
- Harvey, A.E., Jurgensen, M.F., Larsen, M.J. y Graham, R.T. 1987. Relationships among soil microsite, ectomycorrhizae and natural conifer regeneration of old-growth forests in western Montana. Can. J. For. Res., 17: 58-62.
- Hatch, A.B. 1937. The physiological basis of mycotrophy in the genus *Pinus*. Black Rock for. Bull., 6, 168 pp.
- Heim, R. 1957. Les champignons d'Europe. Vol I. N. Boubée & Co., Paris. 327 pp.
- Hiatt, H.A. y Tinus, R.W. 1974. Container shape controls root system configuration of ponderosa pine. Proc. North Am. Containerized For. Tree Seedling Symp. Great Plains Agric. Council., Publ. 68, pp: 194-196.
- Ho, I. y Trappe, J.M. 1987. Enzyme and growth substances of *Rhizopogon* species in relation to mycorrhizal hosts and infrageneric taxonomy. Mycologia, 79: 553-558.
- Hughes del Villar, H. 1933. Sobre el hábitat calizo de *Pinus pinaster*. Boletín Soc. Española de Historia Natural, 33: 133-138.
- Hung, L.L. y Molina, R. 1986a. Temperature and time in storage influence the efficacy of selected isolates of fungi in commercially produced ectomycorrhizal inoculum. Forest Sci., 32: 534-545.
- Hung, L.L. y Molina, R. 1986b. Use of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria taccata* in forestry. III. Effects of commercially produced inoculum on container-grown Douglas-fir and ponderosa pine seedlings. Can. J. For. Res., 16: 802-806.
- Hung, L.L. y Trappe, J.M. 1987. Ectomycorrhizal inoculation of Douglas-fir transplanted container seedlings with commercially produced inoculum. New Forests, 1: 141-152.
- Hutchison, L.J. 1989. Absence of conidia as a morphological character in ectomycorrhizal fungi. Mycologia, 81: 587-594.
- Illy, G. 1966. Recherches sur l'amélioration génétique du Pin maritime. Ann. Sci. Forest., 23 (4): 765-948.
- Ingham, E.R. y Molina, R. 1991. Interactions among mycorrhizal fungi, rhizosphere organisms, and plants. En: Barbosa, P., Krischik, V.A. y Jones, C.G. (eds.). Microbial Mediation of Plant-Herbivore Interactions. John Wiley & Sons, Inc. pp: 169-197.

- Ingleby, K., Last, F.T. y Mason, P.A. 1985. Vertical distribution and temperature relations of sheathing mycorrhizas of *Betula* spp. growing on coal spoil. *For. Ecol. Managem.*, 12: 279-285.
- Ingleby, K., Mason, P.A., Last, F.T. y Fleming, L.V. 1990. Identification of ectomycorrhizas. *Institute of Terrestrial Ecology Res. Publ. N° 5*, 112 pp.
- Ivory, M.H. y Munga, F.M. 1983. Growth and survival of container-grown *Pinus caribaea* infected with various ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 71: 339-344.
- Kannan, K. y Natarajan, K. 1987. Pure culture synthesis of *Pinus patula* ectomycorrhizae with *Sclerotium citrinum*. *Curr. Sci.*, 56: 1066-1068.
- Kendrick, B. 1988. Recommendations of steering committee. En: Lalonde, M. y Piché, Y. (eds.). *Proc. of the Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry*. Univ. Laval, Sainte-Foy, Québec. pp: 1-5.
- Kotter, M.M. y Farentinos, R.C. 1984a. Formation of ponderosa pine ectomycorrhizae after inoculation with feces of tassel-eared squirrels. *Mycologia*, 76: 758-760.
- Kotter, M.M. y Farentinos, R.C. 1984b. Tassel-eared squirrels as spore dispersal agents of hipogeous mycorrhizal fungi. *J. Mamm.*, 65: 684-687.
- Kottke, I. 1986. Charakterisierung und identifizierung von mykorrhizen. En: Einsele, G. (ed.). *Das landschaftsökologische forschungsprojekt naturpark schönbuch*. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Forschungsbericht: Weinheim, F.R.G. pp: 463-485.
- Kottke, I. y Oberwinkler, F. 1986. Mycorrhiza of forest trees - structure and function. *Trees*, 1: 1-24.
- Kottke, I. y Oberwinkler, F. 1989. Amplification of root-fungus interface in ectomycorrhizae by Hartig net architecture. *Ann. Sci. For.*, 46 suppl.: 737e-740s.
- Kramer, P.J. y Kozlowski, T.T. 1979. Nitrogen metabolism and nutrition. En: *Physiology of woody plant*. Academic Press, New York, S. Francisco, London. pp: 302-333.
- Kramer, P.J. y Wilburg, K.M. 1949. Absorption of radioactive phosphorus by mycorrhizal roots of pine. *Science*, 110: 8-9.
- Kramer, A., y D.M. Lascoux. 1988. Genetic architecture of height growth in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Sylvae Genetica*, 37: 1-7.
- Kropp, B.R. 1982a. Fungi from decayed wood as mycorrhizal symbionts of western hemlock. *Can. J. For. Res.*, 12: 36-39.
- Kropp, B.R. 1982b. Formation of mycorrhizae on nonmycorrhizal western hemlock outplanted on rotten wood and mineral soil. *Forest Sci.*, 28: 706-710.
- Kropp, B.R. y Langlois, G-G. 1990. Ectomycorrhizae in reforestation. *Can. J. For. Res.*, 20: 438-451.
- Kropp, B.R. y Trappe, J.M. 1982. Ectomycorrhizal fungi of *Tsuga heterophylla*. *Mycologia*, 74: 479-488.
- Kuek, C., Tommerup, I.C. y Malajczuk, N. 1992. Hydrogel bead inocula for the production of ectomycorrhizal eucalypts for plantations. *Mycol. Res.*, 96: 273-277.
- Laiho, O. 1970. *Paxillus involutus* as a mycorrhizal symbiont of forest trees. *Acta for. Fenn.*, 106: 1-65.
- Lamb, R.J. y Richards, B.N. 1974a. Survival potential of sexual and asexual spores of ectomycorrhizal fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 62: 181-191.
- Lamb, R.J. y Richards, B.N. 1974b. Inoculation of pines with mycorrhizal fungi in natural soil. I. Effects of density and time of application of inoculum and phosphorus amendment on mycorrhizal infection. *Soil Biol. Biochem.*, 6: 167-171.
- Landis, T.D. 1982. Irrigation water quality in tree nurseries in the inland west. *Proc. Intermountain Nursery-men's Assoc. meeting*, Edmonton, Alberta, Can. pp: 60-67.

- Lapeyrie, F.F. y Chilvers, G.A. 1985. An endomycorrhiza - ectomycorrhiza succession associated with enhanced growth of *Eucalyptus dumosa* planted in a calcareous soil. *New Phytol.*, 100: 93-104.
- Lapeyrie, F.F., Chilvers, G.A. y Douglas, P.A. 1984. Formation of metachromatic granules following phosphate uptake by mycelial hyphae of an ectomycorrhizal fungus. *New Phytol.*, 98: 345-360.
- Largent, D.L., Sugihara, N. y Wishner, C. 1980. Occurrence of mycorrhizae on ericaceous and pyrolaceous plants in northern California. *Can. J. Bot.*, 58: 2274-2279.
- Last, F.T., Mason, P.A., Wilson, J. y Deacon, J.W. 1983. Fine roots and sheathing mycorrhizas: their formation, function and dynamics. *Plant Soil*, 71: 9-21.
- Last, F.T., Dighton, J. y Mason, P.A. 1987. Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trees*, 2: 157-161.
- Last, F.T., Wilson, J. y Mason, P.A. 1990. Numbers of mycorrhizas and the growth of *Picea sitchensis* - what is the relationship ?. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 28: 293-298.
- Le Tacon, F. 1985. Les mycorrhizes: une coopération entre plantes et champignons. *La Recherche*, 166: 624-632.
- Le Tacon, F. y Bouchard, D. 1986. Effect of different ectomycorrhizal fungi on growth of Larch, Douglas fir, Scots pine and Norway spruce seedlings in fumigated nursery soil. *Acta Oecol. Oecol. Appl.*, 7: 389-402.
- Le Tacon, F. y Garbaye, J. 1990. Current status of nursery and field application of specific ectomycorrhizae to forest tree status in France. *Proc. 8th N.A.C.O.M.* pp: 183.
- Le Tacon, F., Jung, G., Michelot, P. y Mugnier, M. 1983. Efficacité en pépinière forestière d'un inoculum de champignon ectomycorhizien produit en fermenteur et inclus dans una matrice de polymères. *Ann. Sci. For.*, 40: 165-176.
- Le Tacon, F., Lamoure, D., Guimberteau, J. y Fiket, C. 1984. Les symbiotes mycorrhiziens de l'épicéa commun et du Douglas dans la Limousin. *Rev. For. Fran.*, 36: 325-337.
- Le Tacon, F., Jung, G., Mugnier, P., Michelot, P. y Mauperin, C. 1985. Efficiency in a forest nursery of an ectomycorrhizal fungus inoculum produced in a fermentor and entrapped in polymeric gels. *Can. J. Bot.*, 63: 1684-1688.
- Le Tacon, F., Garbaye, J., Bouchard, D., Chevalier, G., Olivier, J.M., Guimberteau, J., Poitou, N. y Frochot, N. 1988. Field results from ectomycorrhizal inoculation in France. En: Lalonde, M. y Piché, Y. (eds.). *Proc. of the Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry*. CRBF, Univ. Laval, Sainte-Foy (Québec).
- Li, C.Y. y Hung, L.L. 1987. Nitrogen-fixing (acetylene-reducing) bacteria associated with ectomycorrhizae of Douglas-fir. *Plant Soil*, 98: 425-428.
- Lindersman, R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*, 78: 336-371.
- Linnean, G. 1971. Erfahrungen bei Synthese-Versuchen mit *Pseudotsuga menziesii* (Mirbel.) Franco II. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, 126: 229-241.
- Little, T.M. y Hills, F.J. 1978. *Agricultural Experimentation. Design and Analysis*. John Wiley & Sons, Inc., New York. 350 pp.
- Lodge, D.J. 1989. The influence of soil moisture and flooding on formation of VA-endo- and ectomycorrhizae in *Populus* and *Salix*. *Plant Soil*, 117: 243-253.
- Lopez, R. y Garbaye, J. 1990. Some aspects of a double symbiosis with ectomycorrhizal and VAM fungi. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 29: 263-266.
- Loustau, D. y El Hadj Mousse, F. 1989. Variability of stomatal conductance in the crown of a maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Ann. Sci. For.*, 46 (suppl.): 426s-428s.
- Malajczuk, N. y McComb, A.J. 1977. Root exudates from *Eucalyptus calophylla* R. Br. and *Eucalyptus marginata* Donn. ex Sm. and their effect on *Phytophthora cinnamomi*. *Rands. Aust. J. Bot.*, 25: 501-514.



- Malajczuk, N. y McComb, A.J. 1979. The microflora of unuberized roots of *Eucalyptus calophylla* R. Br. and *Eucalyptus marginata* Donn. ex Sm. seedlings grown in soils suppressive and conducive to *Phytophthora cinnamomi* Rands. I. Rhizoplane bacteria, actinomycetes and fungi. II. Mycorrhizal roots and associated microflora. *Aust. J. Bot.*, 27: 235-272.
- Malajczuk, N., Linderman, R.G., Kough, J. y Trappe, J.M. 1981. Presence of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Eucalyptus* spp. and *Acacia* sp., and their absence in *Banksia* sp. after inoculation with *Glomus fasciculatus*. *New Phytol.*, 87: 567-572.
- Malajczuk, N., Molina, R. y Trappe, J.M. 1982. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. I. Pure culture synthesis, host specificity and mycorrhizal compatibility with *Pinus radiata*. *New Phytol.*, 91: 467-482.
- Malajczuk, N., Trappe, J.M. y Molina, R. 1987. Interrelationships among some ectomycorrhizal trees, hypogeous fungi and small mammals: Western Australia and northwestern American parallels. *Aust. J. Ecol.*, 12: 53-55.
- Malajczuk, N., Lapeyrie, F. y Garbaya, J. 1990. Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on roots of *Eucalyptus urophylla* *in vitro*. I. Mycorrhizal formation in model systems. *New Phytol.*, 114: 627-631.
- Malloch, D. y Thorn, R.G. 1985. The occurrence of ectomycorrhizae in some species of *Cistaceae* in North America. *Can. J. Bot.*, 63: 872-875.
- Malloch, D.W., Pirozynski, K.A. y Raven, P.H. 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (a review). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 2113-2118.
- M.A.P.A. 1988. Anuario de Estadística Agraria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Secretaría General Técnica. Madrid. 660 pp.
- March, E.K. 1939. Review of Fieschi (1932) and Fieschi et Gausson (1932) above. *Jour. S. A. For. Assoc.*, 3.
- Marks, G.C. 1991. Causal morphology and evolution of mycorrhizas. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 35: 89-104.
- Marks, G.C. y Foster, R.C. 1967. Succession of mycorrhizal associations on individual roots of radiata pine. *Aust. Forest.*, 31: 193-201.
- Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. 1973. Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Academic Press, New York & London. 444 pp.
- Martin, F., Meatef, Y. y Botton, B. 1983. Nitrogen assimilation in mycorrhizas. I. Purification and properties of the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate specific glutamate dehydrogenase of the ectomycorrhizal fungus *Canococcum graniforme*. *New Phytol.*, 93: 415-422.
- Martin, F., Marchal, J.P., Timineka, A. y Canet, D. 1985. The metabolism and physical state of polyphosphates in ectomycorrhizal fungi. A  $^{32}\text{P}$  nuclear magnetic resonance study. *New Phytol.*, 101: 275-290.
- Martin, F., Stewart, G.R., Genetet, I. y Le Tacon, F. 1986. Assimilation of  $^{15}\text{NH}_4$  by beech (*Fagus sylvatica* L.) ectomycorrhizas. *New Phytol.*, 102: 85-94.
- Marx, D.H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59: 153-163.
- Marx, D.H. 1972. Ectomycorrhizae as biological deterrents to pathogenic root infections. *Phytopathology*, 10: 429-454.
- Marx, D.H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases. En: Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (eds.). Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Academic Press, New York. pp: 351-382.
- Marx, D.H. 1975. Mycorrhizae and establishment of trees on strip-mined land. *Ohio J. Sci.*, 75: 288-297.

- Marx, D.H. 1976. Synthesis of ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.*, 22: 13-20.
- Marx, D.H. 1977. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Microbiol.*, 23: 217-223.
- Marx, D.H. 1979. *Pisolithus* ectomycorrhizae survive cold storage on shortleaf pine seedlings. Res. Note SE-281. Asheville, NC: USDA Forest Service, Southeastern Forest Exp. Sta., 3 pp.
- Marx, D.H. 1980. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. En: Mikola, P. (ed.). *Tropical mycorrhiza research*. Oxford Univ. Press, New York. pp: 13-71.
- Marx, D.H. 1981. Variability in ectomycorrhiza development and growth among isolates of *Pisolithus tinctorius* as affected by source, age, and reisolation. *Can. J. For. Res.*, 11: 168-174.
- Marx, D.H. 1990. Soil pH and nitrogen influence *Pisolithus* ectomycorrhizal development and growth of loblolly pine seedlings. *Forest Sci.*, 36: 224-245.
- Marx, D.H. y Artman, J.D. 1979. *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae improve survival and growth of pine seedlings on acid coal spoil in Kentucky and Virginia. *Reclam. Rev.*, 2: 23-31.
- Marx, D.H. y Barnett, J.P. 1974. Mycorrhizae and containerized forest tree seedlings. En: Tinus, R.W., Stein, W.I. y Balmer, W.E. (eds.). *Proc. N. Amer. Containerized Forest Tree Seedling Symp. Great Plains Agric. Council Publ. N° 68*. Denver, CO. pp: 85-91.
- Marx, D.H. y Bell, W. 1985. Formation of *Pisolithus* ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings with spore pellet inoculum applied at different times. USDA Forest Service Res. Note, SE-249, 6 pp.
- Marx, D.H. y Bryan, W.C. 1970. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on different conifer hosts. *Can. J. Bot.*, 48: 639-643.
- Marx, D.H. y Bryan, W.C. 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *For. Sci.*, 21: 245-254.
- Marx, D.H. y Cordell, C.E. 1988. Specific ectomycorrhizae improve reforestation and reclamation in the eastern United States. En: Lalonde, M. y Piché, Y. (eds.). *Proc. of the Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry*. CRBF, Univ. Laval, Sainte-Foy (Québec).
- Marx, D.H. y Kenney, D.S. 1982. Production of ectomycorrhizal inoculum. En: Schenck, N.C. (ed.). *Methods and principles of mycorrhizal research*. Am. Phytopath. Soc., St. Paul, MN. pp: 131-146.
- Marx, D.H. y Krupa, S.V. 1978. Ectomycorrhizae. En: Dommergues, Y.R. y Krupa, S.V. (eds.). *Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants*. Elsevier Scientific Publishing Co., New York. pp: 373-400.
- Marx, D.H. y Ross, E.W. 1970. Aseptic synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus taeda* by basidiospores of *Thelephora terrestris*. *Can. J. Bot.*, 48: 197-198.
- Marx, D.H. y Rowan, S.J. 1981. Fungicides influence growth and development of specific ectomycorrhizae on loblolly pine seedlings. *Forest Sci.*, 27: 167-176.
- Marx, D.H. y Ruehle, J.L. 1989. Ectomycorrhizae as biological tools in reclamation and revegetation of waste lands. En: Mahadevan, A., Raman, N. y Natarajan, K. (eds.). *Mycorrhizae for Green Asia. Proc. 1st Asian Conf. on Mycorrhizae*. Univ. Madras, Madras, India. pp: 336-344.
- Marx, D.H. y Zak, B. 1965. Effect of pH on mycorrhizal formation of slash pine in aseptic conditions. *Forest Sci.*, 11: 66-75.

- Marx, D.H., Bryan, W.C. y Davey, C.B. 1970. Influence of temperature on aseptic synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pisolithus tinctorius* on loblolly pine. *Forest Sci.*, 16: 424-431.
- Marx, D.H., Bryan, W.C. y Cordell, C.E. 1976. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soils infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.*, 22: 91-100.
- Marx, D.H., Bryan, W.C. y Cordell, C.E. 1977a. Survival and growth of pine seedlings with *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. *Forest Sci.*, 23: 263-273.
- Marx, D.H., Hatch, A.B. y Mendicino, J.F. 1977b. High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Bot.*, 55: 1569-1574.
- Marx, D.H., Morris, W.G. y Mexal, J.G. 1978. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated and nonfumigated soil infested with different fungal symbionts. *Forest Sci.*, 24: 193-203.
- Marx, D.H., Mexal, J.G. y Morris, W.G. 1979. Inoculation of nursery seedbeds with *Pisolithus tinctorius* spores mixed with hydromulch increases ectomycorrhizae and growth of loblolly pines. *South. J. Appl. For.*, 3: 175-178.
- Marx, D.H., Ruehle, J.L., Kenney, D.S., Cordell, C.E., Riffle, J.W., Molina, R.J., Pawuk, W.H., Navratil, S., Tinus, R.W. y Goodwin, O.C. 1982. Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on container-grown tree seedlings. *Forest Sci.*, 28: 373-400.
- Marx, D.H., Cordell, C.E., Kenney, D.S., Mexal, J.G., Artman, J.D., Riffle, J.W. y Molina, R.J. 1984a. Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on bare-root tree seedlings. *Forest Sci.*, 30, Monograph 25, 101 pp.
- Marx, D.H., Jarl, K., Ruehle, J.L. y Bell, W. 1984b. Development of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on pine seedlings using basidiospore-encapsulated seeds. *Forest Sci.*, 30: 897-907.
- Marx, D.H., Hedin, A. y Toe IV, S.F.P. 1985. Field performance of *Pinus caribaea* var *hondurensis* seedlings with specific mycorrhizae and fertilizer after three years on a savanna site in Liberia. *For. Ecol. Manage.*, 13: 1-25.
- Marx, D.H., Cordell, C.E. y Clark, A. 1988. Eight-year performance of loblolly pine with *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on a good-quality forest site. *South. J. Appl. For.*, 12: 275-280.
- Marx, D.H., Ruehle, J.L. y Cordell, C.E. 1991. Methods for studying nursery and field response of trees to specific ectomycorrhiza. En: Norris, J.R., Read, D.J. y Varma, A.K. (eds.). *Methods in Microbiology*, Vol 23. Academic Press. London. pp: 384-411.
- Maser, C., Trappe, J.M. y Nussbaum, R.A. 1978. Fungal - small mammal interrelationships with emphasis on Oregon coniferous forests. *Ecology*, 59: 799-809.
- Maser, Z., Maser, C. y Trappe, J.M. 1985. Food habits of the northern flying squirrel (*Glaucomys sabrinus*) in Oregon. *Can. J. Zool.*, 63: 1085-1088.
- Mason, P.A., Last, F.T., Pelham, J. y Ingleby, K. 1982. Ecology of some fungi associated with an ageing stand of birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*). *For. Ecol. Manag.*, 4: 19-39.
- Mason, P.A., Wilson, J., Last, F.T. y Walker, C. 1983. The concept of succession in relation with the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soil. *Plant Soil*, 71: 247-256.
- Mason, P.A., Last, F.T. y Wilson, J. 1985. Effects of different soils on the establishment and influence of sheathing mycorrhizas. En: Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (eds.). *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Proc. 1st Europ. Symp. on Mycorrhizae. Dijon, INRA, Paris.

- Massicotte, H.B., Molina, R.J., Smith, J.E. y Amaranthus, M.P. 1990. Assessment of ectomycorrhizal fungus diversity and ecological specificity in association with four Pacific Northwest forest species using a soil greenhouse bio-assay. Proc. 8th N.A.C.O.M. pp: 202.
- Matziris, D.I. 1982. Variation in growth and quality characters in *Pinus pinaster* provenances grown at seven sites in Greece. *Silvae Genetica*, 31: 168-173.
- Maugè, J.P. 1973. Fertilization et croissance du pin maritime dans la région landaise. *Annales Afoce1* 1972, pp. 141-175.
- Maugè, J.P. 1974. Fertilization minérale et développement racinaire du pin maritime. *Annales Afoce1* 1973, pp. 57-87.
- Maugè, J.P. 1987. Le pin maritime. Ed. Institut pour le Développement Forestier (idf). 192 pp.
- Maupérin, C., Mortier, F., Garbays, J., Le Tacon, F. y Carr, G. 1987. Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. *Can. J. Bot.*, 65: 2326-2329.
- McAfee, B.J. y Fortin, J.A. 1986. Competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under field conditions. *Can. J. Bot.*, 64: 842-848.
- McAfee, B.J. y Fortin, J.A. 1989. Ectomycorrhizal colonization on black spruce and jack pine seedlings outplanted in reforestation sites. *Plant Soil*, 116: 9-17.
- McDonald, S.E. 1984. Irrigation in forest-tree nurseries: monitoring and effects on seedling growth. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 107-121.
- Mejstrik, V.K. y Krause, H.H. 1973. Uptake of <sup>32</sup>P by *Pinus radiata* inoculated with *Suillus luteus* and *Cenococcum graniforme* from different sources of available phosphate. *New Phytol.*, 72: 137-140.
- Melin, E. 1921. Über die mykorrhizenpilzen von *Pinus silvestris* L. and *Picea abies* (L.) Karst. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 15: 192-203.
- Melin, E. 1922. Untersuchungen über die *Larix*-mykorrhiza. I: synthese der mykorrhiza in reinkultur. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 16: 161-196.
- Melin, E. y Nilsson, H. 1953. Transfer of labelled nitrogen from glutamic acid to pine seedlings through the mycelium of *Boletus variegatus* (S.W.) Fr. *Nature*, 171: 134.
- Melin, E. y Nilsson, H. 1958. Translocation of nutritive elements through mycorrhizal mycelia to pine seedlings. *Bot. Notiser*, 111: 251-256.
- Mexal, J.G. 1980. Aspects of mycorrhizal inoculation in relation to reforestation. *New Zealand J. For. Sci.*, 10: 208-217.
- Meyer, F.H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. En: Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (eds.). *Ectomycorrhizae: their ecology and physiology*. Academic Press, New York & London. pp: 79-105.
- Meyer, F.H. 1974. Physiology of mycorrhiza. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25: 567-586.
- Mikola, P. 1970. Mycorrhizal inoculation in afforestation. En: Romberger, J.A. y Mikola, P. (eds.). *Internat. Rev. For. Res.*, 3: 123-196.
- Mikola, P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. En: Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (eds.). *Ectomycorrhizae, their ecology and physiology*. Academic Press, New York. pp: 383-406.
- Miller, O.K., Jr. 1982. Taxonomy of ecto- and ectendomycorrhizal fungi. En: Schenck, N.C. (ed.). *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Am. Phytopath. Soc., St. Paul, MN. pp: 91-101.
- Miller, O.K., Jr. 1983. Ectomycorrhizae in the Agaricales and Gasteromycetes. *Can. J. Bot.*, 61: 909-916.

- Mitchell, H.L., Finn, R.F. y Rosendahl, R.O. 1937. The relation between mycorrhizae and the growth and nutrient absorption of coniferous seedlings in nursery beds. Black Rock For. Pap., No 1: 57-73.
- Mitchell, R.J., Cox, G.S., Dixon, R.K., Garret, H.E. y Sanders, I.L. 1984. Inoculation of three *Quercus* species with eleven isolates of ectomycorrhizal fungi. II. Foliar nutrient content and isolate effectiveness. Forest Sci., 30: 563-572.
- Mirov, N.T. 1967. The genus *Pinus*. The Ronald Press Company. New York. 602 pp.
- Molina, R. 1979a. Pure culture synthesis and host specificity of red alder mycorrhizae. Can. J. Bot., 57: 1223-1228.
- Molina, R. 1979b. Ectomycorrhizal inoculation of containerized Douglas-fir and lodgepole seedlings with six isolates of *Pisolithus tinctorius*. Forest Sci., 25: 585-590.
- Molina, R. 1980. Ectomycorrhizal inoculation of containerized western conifer seedlings. USDA Forest Service Re. Note, PNW-357. 12 pp.
- Molina, R. 1981. Ectomycorrhizal specificity in the genus *Alnus*. Can. J. Bot., 59: 325-334.
- Molina, R. y Chamard, J. 1983. Use of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* in forestry: II. Effects of fertilizer forms and growth of container-grown Douglas-fir and ponderosa pine seedlings. Can. J. For. Res., 13: 89-95.
- Molina, R. y Palmer, J.G. 1982. Isolation, maintenance, and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. En: Schenck, N.C. (ed.). Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Am. Phytopath. Soc., St. Paul, MN. pp: 115-129.
- Molina, R. y Trappe, J.M. 1982a. Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential amongst Pacific Northwest conifers and fungi. Forest Sci., 28: 423-457.
- Molina, R. y Trappe, J.M. 1982b. Lack of mycorrhizal specificity by the ericaceous hosts *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi*. New Phytol., 90: 495-509.
- Molina, R. y Trappe, J.M. 1984. Mycorrhiza management in bareroot nurseries. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 211-223.
- Momoh, Z.O. y Gbadegesin, R.A. 1980. Field performance of *Pisolithus tinctorius* as a mycorrhizal fungus of pines in Nigeria. En: Mikola, P. (ed.). Tropical mycorrhiza research. Clarendon Press (Oxford). pp: 72-79.
- Moore, R. 1988. Aspects of agroforestry research in Western Australia. Proc. of the International Forestry Conference for the Australian Bicentenary. Australian Forest Develop. Inst., Albury-Wodonga. 9 pp.
- Morby, F.E. 1984. Nursery-site selection, layout, and development. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 9-15.
- Mortier, F., Le Tacon, F. y Garbaya, J. 1988. Effect of inoculum type and inoculation dose on ectomycorrhizal development, root necrosis and growth of Douglas-fir seedlings inoculated with *Laccaria laccata* in a nursery. Ann. Sci. For., 45: 301-310.
- Moser, M. 1958. Die kunstliche mykorrhizaimpfung an forstpflanzen. I. Erfahrungen bei der reinkultur von mykorrhizapilzen. Forstwiss. Centralbl., 77: 32-40.
- Moser, M. 1963. Die bedeutung der mykorrhiza bei aufforstungen unter besonderer berucksichtigung von hochlagen. En: Rawald, W. y Lyr, H. (eds.). Mykorrhiza. Fischer, Jena. pp: 407-424.
- Moser, M. 1980. Guida alla determinazione dei funghi (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). Ed. Saturnia, Trento. 525 pp.
- Mosse, B. y Hayman, D.S. 1980. Mycorrhiza in agricultural plants. En: Mikola, P. (ed.). Tropical Mycorrhiza Research. Clarendon Press, Oxford. pp: 213-230.

- Mosse, B., Stribley, D.P. y Le Tacon, F. 1981. Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. En: Alexander, M. (ed.). *Advances in Microbial Ecology*. Plenum Press, New York. pp: 137-210.
- Mousain, D., Couteaudier, Y. y Pierson, J. 1976. Synthèses de mycorhizes du *Lactarius deliciosus* chez le *Pinus pinaster*. *Ann. Phytopathol.*, 11: 130.
- Mousain, D., Delmas, J. y Poitou, N. 1977. Influences of the ectomycorrhizae of *Hebeloma cylindrosporum* and *Pisolithus tinctorius* on the growth of young cluster pine. *Proc. Third N.A.C.O.M.*, pp: 94.
- Mousain, D., Poitou, N. y Delmas, J. 1979. La symbiose mycorhizienne: résultats obtenus avec l'*Hebeloma cylindrosporum* et le *Pisolithus tinctorius*, et perspectives d'application agronomique. *Mushroom Sci.*, 10: 949-956.
- Neal, J.L., Lu, K.C., Bollen, W.B. y Trappe, J.M. 1968. Some ectomycorrhizae of *Alnus rubra*. En: Trappe, J.M., Franklin, J.L., Tanant, A.F. y Hanson G.M. (eds.). *Biology of Alder*. Pacific Northwest Range Exp. Sta. USDA. pp: 179-192.
- Newman, E.I. y Reddell, P. 1987. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. *New Phytol.*, 106: 745-751.
- Nguyen, A. 1986. Effets d'une contrainte hydrique racinaire sur de jeunes plants du Pin maritime. Thèse Doc. Univ. Bordeaux I. 149 pp.
- Nicholls, J.N.P., Dadswell, H.E. y Perry, P.H. 1963. Assessment of wood qualities for tree breeding II. In *Pinus pinaster* Ait. from Western Australia. *Silvae Genetica*, 12: 105-110.
- Nicolas, A. y Gandullo, J.M. 1967. Ecología de los pinares españoles. I *Pinus pinaster* Ait. I.F.I.E., Madrid. 310 pp.
- Nylund, J.E. y Wallander, H. 1989. Effects of ectomycorrhiza on host growth and carbon balance in a semihydroponic cultivation system. *New Phytol.*, 112: 389-398.
- Ofose-Asiedu, A. 1980. Field performance of *Pinus caribaea* inoculated with pure cultures of four mycorrhizal fungi. En: Mikola, P. (ed.). *Tropical mycorrhiza research*. Clarendon Press (Oxford). pp: 82-87.
- Oliveira, V.L. y Garbaya, J. 1989. Les microorganismes auxiliaires de l'établissement des symbioses mycorhiziennes. *Eur. J. For. Path.*, 19: 54-64.
- Olivier, J.M. y Delmas, J. 1987. Vers la maîtrise des champignons comestibles. *Biofutur*, 17: 23-29.
- Otha, S., Keller, R. y Janin, G. 1985. Effets de divers modes de fertilization (N.P.K.) sur certaines caractéristiques physiques, chimiques, mécaniques et propriétés papetières du pin maritime des Landes (*Pinus pinaster* Ait.). *Ann. Sci. Forest.*, 42: 69-96.
- Owston, P.W. 1972. Cultural techniques for growing containerized tree seedlings. En: Anderson, H.W., Bryan, S.A. y Eide, R.P. (eds.). *Proc. Western For. Nursery Council. and Internat. For. Nursery Assoc.* pp: 34-41.
- Owston, P.W. y Abrahamson, L.P. 1984. Weed management in forest nurseries. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 193-202.
- Pachlewski, R. y Pachlewska, J. 1974. Studies on symbiotic properties of mycorrhizal fungi of pine (*Pinus silvestris* L.) with the aid of the method of mycorrhizal synthesis in pure culture on agar. Forest Research Institute, Warsaw, Poland.
- Pardos, J.A. 1962. Estudio sobre micorrizas en pinos. *Ann. Inst. For. Inv. Exp.*, 7: 141-176.
- Pardos, J.A. y Gil, L. 1984. Los huertos semilleros. Estudio básico para su instalación en España. ICONA, Monografía 44. 128 pp.
- Parke, J.L., Linderman, R.G. y Black, C.H. 1983a. The role of ectomycorrhizas in drought tolerance of Douglas-fir seedlings. *New Phytol.*, 95: 83-95.

- Parke, J.L., Linderman, R.G. y Trappe, J.M. 1983b. Effects of forest litter on mycorrhizae development and growth of Douglas-fir and western red cedar seedlings. *Can. J. For. Res.*, 13: 666-671.
- Parke, J.L., Linderman, R.G. y Trappe, J.M. 1983c. Effect of root zone temperature on VA and ectomycorrhiza formation in disturbed and undisturbed forest soils of southern Oregon. *Can. J. For. Res.*, 13: 657-665.
- Parke, J.L., Linderman, R.G. y Trappe, J.M. 1984. Inoculum potential of ectomycorrhizal fungi in forest soils of Southwest Oregon and Northern California. *Forest Sci.*, 30: 300-304.
- Parladé, J. 1992. Técnicas de inoculación de abeto de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) con hongos ectomicorrícicos y su aplicación en reforestación. Tesis Doctoral. Univ. Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona. 202 pp.
- Perrin, R. 1991. Mycorrhizes et protection phytosanitaire. En: Strullu, D.G., Perrin, R., Planchette, C. y Garbaye, J. (eds.). *Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées*. Ed. Technique et Documentation - Lavoisier. Paris. pp: 93-130.
- Perrin, R., Duvert, P. y Planchette, C. 1988. Substrate receptiveness to mycorrhizal association: concepts, methods and applications. *Acta Hortic.*, 221: 223-227.
- Perry, D.A. y Rose, S.L. 1983. Soil biology and forest productivity: opportunities and constraints. En: Ballard, R. y Gessel, S.P. (eds.). *IUFRO Symposium on Forest Site and Continuous Productivity*. U. S. Dep. Agric. For. Serv., Gen. Tech. Rep. PNW-163. pp: 229-238.
- Perry, D.A., Meyer, M.M., Egeland, D., Rose, S.L. y Pilz, D. 1982. Seedling growth and mycorrhizal formation in clear-cut and adjacent undisturbed soils in Montana: a greenhouse bioassay. *For. Ecol. Manage.*, 4: 261-273.
- Perry, D.A., Molina, R. y Amaranthus, M.P. 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs. *Can. J. For. Res.*, 17: 929-940.
- Perry, D.A., Margolis, H., Choquette, C., Molina, R. y Trappe, J.M. 1989. Ectomycorrhizal mediation of competition between coniferous trees species. *New Phytol.*, 112: 501-511.
- Persson, H. 1982. Changes in the tree and dwarf shrub fine roots after clearcutting in mature Scots pine stand. *Swed. Conif. For. Proj. Tech. Rep.*, N° 31.
- Petit, R. 1988. Ressources génétiques du Pin maritime: Apport des marqueurs enzymatiques. Diplôme d'études approfondies. Univ. de Paris Sud- Orsay. 106 pp.
- Phipps, H.M. 1974. Growing media affects size of container-grown red pine. *USDA For. Serv. Res. Note, NC-165*. Northcent. For. and Range Exp. Stn., St. Paul, Minn. 4 pp.
- Pinto da Silva, A.R. 1947. Sobre a sistemática dos pinheiros bravos portugueses. *Broteria, Ciências Naturais*, 16 (1-2): 60-75.
- Pirozynski, K.A. 1981. Interactions between fungi and plants through the ages. *Can. J. Bot.*, 59: 1824-1827.
- Pirozynski, K.A. y Malloch, D.W. 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism. *Biosystems*, 6: 153-164.
- Plassard, C., Mousain, D. y Salsac, L. 1983. Dosage de la chitine sur des ectomycorhizes de pin maritime (*Pinus pinaster*) à *Pisolithus tinctorius*: évaluation de la masse mycélienne et de la mycorrhization. *Can. J. Bot.*, 61: 692-699.
- Plassard, C., Martin, F., Mousain, D. y Salsac, L. 1985. Physiology of nitrogen assimilation by mycorrhiza. En: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. Proceedings of the first European Symposium on mycorrhizae, Dijon, I.N.R.A. -Paris, pp: 11-120.
- Plassard, C., Coll, A., Mousain, D. y Salsac, L. 1988. Estimation quantitative de l'infection ectomycorhizienne du Pin maritime (*Pinus pinaster* Aiton) en pépinière. *Acta Oecol. Oecol. Plant.*, 9: 381-391.

- Plassard, C., Scheromm, P., Tillard, P. y Salsac, L. 1990. Nitrogen nutrition of ectomycorrhizal symbionts. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 28: 389-397.
- Plassard, C., Scheromm, P., Mousain, D. y Salsac, L. 1991. Assimilation of mineral nitrogen and ion balance in the two partners of ectomycorrhizal symbiosis: date and hypothesis. *Experientia*, 47: 340-349.
- Poitou, N., Mamoun, M. y Delmas, J. 1982. Quelques résultats obtenus concernant la mycorhization de plantes-hôtes par les champignons mycorhiziens comestibles. En: Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. y Trouvelot, A. (eds.). *Les Mycorhizes: biologie et utilisation. Les Colloques de l'INRA*, n° 13: 295-301.
- Poitou, N., Mamoun, M., Ducamp, M. y Delmas, J. 1983. Premiers résultats de fructification *in situ* d'un bolet mycorhizien comestible en conditions contrôlées et espérance pour la culture des cépes nobles. *Revue Horticole*, 239: 45-47.
- Porter, W.M. 1979. The 'most probable number' method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Aust. J. Soil Res.*, 17: 515-519.
- Powell, C.L. 1980. Mycorrhizal infectivity of eroded soils. *Soil Biol. Biochem.*, 12: 247-250.
- Powell, C.L. y Bagyaraj, D.L. 1984. *VA Mycorrhiza*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. 234 pp.
- Ramos, J.L. 1981. *Re poblaciones*. ETSIN, Sección de Publicaciones, Madrid. 2ª Ed.
- Rancillac, M. 1981. Perspectives d'application des cultures d'organes *in vitro* a la multiplication vegetative du Pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.). *Ann. Sci. Forest.*, 38: 55-70.
- Rancillac, M. 1982. Multiplication vegetative *in vitro* et synthese mycorhizienne: pin maritime - hebelome, pisolithe. En: Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. y Trouvelot, A. (eds.). *Les Micorhizes: biologie et utilisation. Les Colloques de l'INRA*, n° 13: 351-357.
- Rayner, M.C. y Levisohn, I. 1941. The mycorrhizal habit in relation to forestry. IV. Studies on mycorrhizal response in *Pinus* and other conifers. *Forestry*, 15: 1-38.
- Read, D.J. 1984. The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots. En: *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*. Jennings, D.H. y Rainer, A.D. Symp. Br. Mycol. Soc. 1983. Cambridge Univ. Press., Cambridge. pp: 215-240.
- Read, D.J. y Armstrong, W. 1972. A relationship between oxygen transport and the formation of the ectotrophic mycorrhizal sheath in conifer seedlings. *New Phytol.*, 71: 49-53.
- Rehder, A. 1940. *Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America*. Second ed. The Macmillan Co., New York., 996 p.
- Reid, C.P.P. 1979. Mycorrhizae and water stress. En: Riedacker, A. y Gagnaire-Michard, M.J. (eds.). *Root physiology and symbiosis*. IUFRO Symposium, Nancy, France. pp: 392-408.
- Reid, C.P.P. y Woods, F.W. 1969. Translocation of <sup>14</sup>C labeled compounds in mycorrhizae and its implications in interplant nutrient cycling. *Ecology*, 50: 179-187.
- Richards, C. 1975. Quelques essais d'inoculation mycorhizienne. *For. Chron.*, 51: 188-194.
- Richards, B.N. 1987. Mycorrhizal symbioses. En: *The Microbiology of Terrestrial Ecosystems*. Longman Scientific & Technical. pp: 255-312.
- Richards, S.J., Warnke, J.E. y Aijibury, F.K. 1964. Physical properties of soil mixes used by nurseries. *Calif. Agric.*, 18: 12-13.
- Richter, D.L. y Bruhn, J.N. 1986. Pure culture synthesis of *Pinus resinosa* ectomycorrhizae with *Scleroderma aurantium*. *Mycologia*, 78: 139-142.



- Richter, D.L. y Bruhn, J.N. 1987. *Scleroderma* spp. ectomycorrhizae for use in greenhouse and nursery to increase *Pinus resinosa* outplanting success. Mycol. Soc. Am. Newsletter, 38: 45.
- Richter, D.L. y Bruhn, J.N. 1989. *Pinus resinosa* ectomycorrhizae: seven host-fungus combinations synthesized in pure culture. Symbiosis, 7: 211-228.
- Richter, D.L. y Bruhn, J.N. 1990. *Scleroderma citrinum* (Gasteromycetes, Sclerodermatales) and *Larix decidua* form ectomycorrhizae in pure culture. Nova Hedwigia, 50: 111-116.
- Ridge, E.H. y Theodorou, C. 1972. The effect of soil fumigation on microbial recolonization and mycorrhizal infection. Soil Biol. Biochem., 4: 295-305.
- Riffle, J.W. 1973. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae on *Pinus ponderosa* with species of *Amanita*, *Suillus* and *Lactarius*. Forest Sci., 19: 242-250.
- Riffle, J.W. y Tinus, R.W. 1982. Ectomycorrhizal characteristics, growth, and survival of artificially inoculated ponderosa and scots pine in a greenhouse and plantation. For. Sci., 28: 646-660.
- Ritchie, G.A. 1984. Assessing seedling quality. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp:243-259.
- Rose, S.L. 1980. Mycorrhizal associations of some actinomycete nodulated nitrogen-fixing plants. Can. J. Bot., 58: 1449-1454.
- Rose, S.L., Perry, D.A., Pilz, D. y Schoeneberger, M.M. 1983. Allelopathic effects of litter on the growth and colonization of mycorrhizal fungi. J. Chem. Ecol., 9: 1153-1162.
- Rothwell, F.M., Hacskeylo, E. y Fisher, D. 1983. Ecto- and endomycorrhizal fungi associations with *Quercus imbricaria*. Plant Soil, 71: 309-312.
- Ruehle, J.L. 1980. Inoculation of containerized loblolly pine seedlings with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*. USDA Forest Service Res. Note, SE-291. 5 pp.
- Ruehle, J.L. y Marx, D.H. 1977. Developing ectomycorrhizae on containerized pine seedlings. USDA Forest Service Res. Note, SE-242.
- Ruehle, J.L. y Marx, D.H. 1979. Fiber, food, fuel and fungal symbionts. Science, 206: 419-422.
- Ruehle, J.L., Marx, D.H. y Aborouh, M. 1981a. Development of *Pisolithus tinctorius* and *Thelephora terrestris* ectomycorrhizae on seedlings of coniferous trees important to Morocco. Ann. Resch. For. Maroc., 21: 283-296.
- Ruehle, J.L., Marx, D.H., Bunett, J.P. y Pawuk, W.H. 1981b. Survival and growth of container-grown and bare-root shortleaf pine seedlings with *Pisolithus tinctorius* and *Thelephora terrestris* ectomycorrhizae. South. J. Appl. For., 5: 20-24.
- Rycroft, H.B. y Wicht, C.L. 1947. Field trials of geographical races of *Pinus pinaster* in South Africa. Br. Emp. For. Conf. Great Britain. Pretoria, South Africa.
- Rygiewicz, P.T., Bledsoe, C.S. y Zasoski, R.J. 1984a. Effects of ectomycorrhizae and solution pH on [<sup>15</sup>N] ammonium uptake by coniferous seedlings. Can. J. For. Res., 14: 883-892.
- Rygiewicz, P.T., Bledsoe, C.S. y Zasoski, R.J. 1984b. Effects of ectomycorrhizae and solution pH on [<sup>15</sup>N] nitrate uptake by coniferous seedlings. Can. J. For. Res., 14: 893-899.
- Sampangi, R. y Perrin, R. 1985. Attempts to elucidate the mechanisms involved in the protective effect of *Laccaria laccata* against *Fusarium oxysporum*. En: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Proc. 1<sup>st</sup> Eur. Symp. on Mycorrhizae. Dijon, I.N.R.A. - Paris. pp: 807-810.
- Sanders, F.E., Mosse, B. y Tinker, P.B. 1975. Endomycorrhizas. Academic Press. 626 pp.

- Sarrauste, M. 1982. Photosynthèse, respiration et répartition de la matière sèche de jeunes plants de Pin maritime appartenant à 7 provenances et conduits selon 2 traitements hydriques. Mémoire de D.E.A. Univ. Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- Schafer, G.N. 1988. A site growth model for *Pinus pinaster* in the Southern Cape. South African Forestry Journal, 146: 18-22.
- Schenck, N.C. 1981. Can mycorrhizae control root disease?. Plant Disease, 65: 230-234.
- Scherrens, P., Plassard, C. y Salsac, L. 1990. Nitrate nutrition of maritime pine (*Pinus pinaster* Soland in Ait.) ectomycorrhizal with *Hebeloma cylindrosporium* Romagn. New Phytol., 114: 93-98.
- Schoeneberger, M.W. y Perry, D.A. 1982. The effect of soil disturbance on growth and ectomycorrhizae on Douglas-fir and western hemlock seedlings: a greenhouse bioassay. Can. J. For. Res., 12: 343-353.
- Schramm, J.R. 1968. Plant colonization studies on black wastes from anthracite mining in Pennsylvania. Trans. Amer. Phil. Soc., 56, Pt. 1: 1-184.
- Scott, C.W. 1982. A summary of information of *Pinus pinaster* Ait. For. Abs., 23 (1 & 2).
- Shaw, C.G., Molina, R. y Walden, J. 1982. Development of ectomycorrhizae following inoculation of containerized Sitka and white spruce seedlings. Can. J. For. Res., 12: 191-195.
- Sinclair, W.A., Sylvia, D.W. y Larsen, A.O. 1982. Disease suppression and growth promotion in Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. For. Sci., 28: 191-201.
- Singer, R. 1945. Notes on Farlow's Agaricales from Chocorua. Farlowia, 2: 39-51.
- Singer, R. 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. Ed. Koeltz Scientific Books. Koenigstein, Germany. 981 pp.
- Skinner, M.F. y Bowen, G.D. 1974a. The uptake and translocation of phosphate by mycelial strands of pine mycorrhizas. Soil Biol. Biochem., 6: 53-56.
- Skinner, M.F. y Bowen, G.D. 1974b. The penetration of soil by mycelial strands of ectomycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem., 6: 57-61.
- Slankis, V. 1973. Hormonal relationships in mycorrhiza. En: Marks, G.C. y Kozłowski, T.T. (eds.). Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Academic Press, New York. pp: 231-298.
- Slankis, V. 1974. Soil factors influencing formation of mycorrhizae. Ann. Rev. Phytopathol., 12: 437-457.
- Snedecor, G.W. y Cochran, W.G. 1980. Statistical Methods. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. (7th ed.). 507 pp.
- St. John, T.V. y Coleman, D.C. 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. Can. J. Bot., 61: 1005-1014.
- Stack, R.W., Sinclair, W.A. y Larsen, A.D. 1975. Preservation of basidiospores of *Laccaria laccata* for use as mycorrhizal inoculum. Mycologia, 67: 167-170.
- Steel, R.G.D. y Torrey, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. Mc Graw-Hill Inc. Book Co., (2nd ed.). 633 pp.
- Stein, W.J. 1974. Improving containerized reforestation systems. Proc. North Am. Containerized For. Tree Seedling Symp., Great Plains Agric. Council. Publ. 68, pp: 434-440.
- Stenström, E. 1991. The effect of flooding on the formation of ectomycorrhizae in *Pinus sylvestris* seedlings. Plant Soil, 131: 247-250.
- Stenström, E. y Ek, M. 1990. Field growth of *Pinus sylvestris* following nursery inoculation with mycorrhizal fungi. Can. J. For. Res., 20: 914-918.

- Stenström, E., Ek, M. y Unestam, T. 1985. Prolonged effects of initially introduced mycorrhizae of pine plants after outplanting. En: Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Proc. 1<sup>st</sup> Eur. Symp. on Mycorrhizae. Dijon, I.N.R.A. (Paris). pp: 503-506.
- Stenström, E., Ek, M. y Unestam, T. 1990. Variation in field response of *Pinus sylvestris* to nursery inoculation with four different ectomycorrhizal fungi. Can. J. For. Res., 20: 1796-1803.
- Stribley, D.P. y Read, D.J. 1980. The biology of mycorrhizae in the Ericaceae. VII. The relationship between mycorrhizal infection and the capacity to utilize simple and complex organic nitrogen sources. New Phytol., 86: 365-371.
- Strullu, D.G. 1985. Les mycorrhizes. Handbuch der Pflanzenanatomie. Vol. 13, 2. Bornträger, Berlin, Stuttgart.
- Strullu, D.G., Harley, J.M., Gourret, J.P. y Garrec, J.P. 1983. Ultrastructure and microanalysis of the polyphosphate granules of ectomycorrhizas of *Fagus sylvatica*. New Phytol., 92: 417-423.
- Sweet, G.B. y Thulin, I.J. 1982. Provenance of *Pinus pinaster* Ait. A five year progress report on a trial at Woodhill, New Zealand. New Zeal. J. Forestry, 8: 570-586.
- Takacs, E.A. 1981a. Algunas especies de hongos formadores de micorrizas en árboles forestales en la Argentina. Rev. Forest. Argentina, 5(3): 80-82.
- Takacs, E.A. 1981b. Inoculación de especies de pinos con hongos formadores de micorrizas. Silvicultura, 15: 5-17.
- Takacs, E.A. 1987. Producción de cultivos puros de hongos micorrizógenos en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Castelar. Idia, 4: 83-87.
- Theodorou, C. 1967. Inoculation with pure cultures of mycorrhizal fungi of radiata pine growing in partially sterilized soil. Aust. For. Sci., 31: 303-309.
- Theodorou, C. 1968. Inositol phosphate in needles of *Pinus radiata* D. Don and the phytase activity of mycorrhizal fungi. Proc. Congr. Soil Sci. Adelaide, 3: 483-493.
- Theodorou, C. 1971. Introduction of mycorrhizal fungi into soil by spore inoculation of seed. Aust. For. Sci., 35: 23-28.
- Theodorou, C. 1978. Soil moisture and the mycorrhizal association of *Pinus radiata* D. Don. Soil Biol. Biochem., 10: 33-37.
- Theodorou, C. y Bowen, G.D. 1969. The influence of pH and nitrate on mycorrhizal associations of *Pinus radiata* D. Don. Aust. J. Bot., 17: 59-67.
- Theodorou, C. y Bowen, G.D. 1970. Mycorrhizal response of radiata pine in experiments with different fungi. Aust. For. Sci., 34: 183-191.
- Theodorou, C. y Bowen, G.D. 1971. Influence of temperature on the mycorrhizal associations of *Pinus radiata* D. Don. Aust. J. Bot., 19: 13-20.
- Theodorou, C. y Bowen, G.D. 1973. Inoculation of seeds and soil with basidiospores of mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem., 5: 765-771.
- Thompson, B.E. 1984. Establishing a vigorous nursery crop: bed preparation, seed sowing, and early seedling growth. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/boston/lancaster. pp: 53-61.
- Tinus, R.W. 1974. Large trees for the Rockies and Plains. En: Proc. North Am. Containerized For. Tree seedlings Symp. Great Plains Agric. Counc. Publ. n<sup>o</sup> 68: 112-118.
- Tinus, R.W. y McDonald, S.E. 1979. How to grow tree seedlings in containers in greenhouses. General Technical Report RM-60. Rocky Mountain Forest and Range Exp. Sta. Forest Service. U.S. Department of Agriculture. 256 pp.

- Tinus, R.W. y Owston, P.W. 1984. Physiology research made forestation with container-grown seedlings successful. En: Duryea, M.L. y Brown, G.N. (eds.). Seedling physiology and reforestation success. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht/Boston/London. pp: 143-155.
- Trappe, J.M. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.*, 28: 538-606.
- Trappe, J.M. 1964. Mycorrhizal hosts and distribution of *Cenococcum graniforme*. *Lloydia*, 27: 100-106.
- Trappe, J.M. 1967. Pure culture synthesis of Douglas-fir mycorrhizae with species of *Hebeloma*, *Suillus*, *Rhizopogon*, and *Astraeus*. *Forest Sci.*, 13: 121-130.
- Trappe, J.M. 1969. Studies on *Cenococcum graniforme*. I. An efficient method for isolation from sclerotia. *Can. J. Bot.*, 47: 1389-1390.
- Trappe, J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 15: 203-222.
- Trappe, J.M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the Angiosperms from an evolutionary standpoint. En: Safir, G.R. (ed.). Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp: 5-25.
- Trappe, J.M. y Strand, R.F. 1969. Mycorrhizal deficiency in a Douglas-fir region nursery. *Forest Sci.*, 15: 381-389.
- Trofymov, J.A. 1990. A review of outplanting trials with ectomycorrhizal conifer seedlings. *Proc. 8th N.A.C.O.M.*, pp: 289.
- Tutin, T.G. y Heywood, H.H. 1964. *Flora europaea*. Cambridge University Press.
- Ulrich, J.M. 1960. Effects of mycorrhizal fungi and auxins on root development of sugar pine seedlings (*Pinus lambertiana* Dougl.). *Physiol. Plant.*, 13: 493-504.
- Verlhac, A. 1990. *La Truffe. Guide pratique*. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes (Ctifl). 108 pp.
- Villeneuve, N., Le Tacon, F. y Bouchard, D. 1991. Survival of inoculated *Laccaria bicolor* in competition with native ectomycorrhizal fungi and effects on the growth of outplanted Douglas-fir seedlings. *Plant & Soil*, 135: 95-107.
- Vogt, K.A., Grier, C.C., Meier, C.E. y Edmonds, R.L. 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington. *Ecology*, 63: 370-380.
- Vogt, K.A., Publicover, D.A. y Vogt, D.J. 1991. A critique of the role of ectomycorrhizas in forest ecology. *Agric. Ecosystems Environ.*, 35: 171-190.
- Vozzo, J.A. y Hacskaylo, E. 1971. Inoculations of *Pinus caribaea* with ectomycorrhizal fungi in Puerto Rico. *Forest Sci.*, 17: 239-245.
- Vozzo, J.A. y Hacskaylo, E. 1974. Endo- and ectomycorrhizal associations of five *Populus* species. *Bull. Torrey Bot. Club.*, 101: 182-186.
- Warkentin, B.P. 1984. Physical properties of forest - nursery soils: relation to seedling growth. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. pp: 53-81.
- Wilkins, D.A. 1991. The influence of sheathing (ecto-) mycorrhizas of trees on the uptake and toxicity of metals. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 35: 245-260.
- Williamson, B. y Alexander, I. 1975. Acid phosphatases localized in the sheath of beech mycorrhiza. *Soil Biol. Biochem.*, 7: 195-198.
- Wong, K.K.Y. y Fortin, J.A. 1989. A Petri dish technique for the aseptic synthesis of ectomycorrhizae. *Can. J. Bot.*, 67: 1713-1716.
- Worley, J.F. y Hacskaylo, E. 1959. Effect of available soil moisture on the mycorrhizal associations of Virginia pine. *Forest Sci.*, 5: 267-268.

- Youngberg, C.T. 1984. Soil and tissue analysis: tools for maintaining soil fertility. En: Duryea, M.L. y Landis, T.D. (eds.). Forest nursery manual: production of bareroot seedlings. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague/Boston/Lancaster. p: 77.
- Zak, B. 1964. Role of mycorrhizae in root disease. Ann. Rev. Phytopathol., 2: 377-392.
- Zak, B. 1971. Characterization and classification of mycorrhizae of Douglas fir. II. *Pseudotsuga menziesii* + *Rhizopogon vinicolor*. Can. J. Bot., 49: 1079-1084.
- Zak, B. 1973. Classification of ectomycorrhizae. En: Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (eds.). Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Academic Press. pp: 43-78.
- Zak, B. y Marx, D.H. 1964. Isolation of mycorrhizal fungi from roots of individual slash pines. Forest Sci., 10: 214-222.