

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

AI SLAMI EN TO, IDENTIFICACION Y EVALUACION DE HONGOS
ECTOMICORRIZICOS DE *Pinus spp.* DE LA CUENCA DEL
RIO VILLALOBOS, DEPARTAMENTO DE GUATEMALA



TESIS
PRESENTADA A LA
HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
POR
JORGE ALFONSO TORRES HERRERA

PREVIO A OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Noviembre de 1989.

DL
01
T(1305)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

LIC. RODERICO SEGURA TRUJILLO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. Anibal E. Martínez M.
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. Gustavo Adolfo Méndez G.
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. Jorge Sandoval Illescas
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. Wotzbelí Méndez Estrada
VOCAL CUARTO	P. A. Hernán Perla González
VOCAL QUINTO	P. A. Julio López Maldonado
SECRETARIO	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio

Guatemala, 25 de Septiembre de 1989.

Ing. Agr. Hugo Tobías
Director del Instituto de
Investigaciones Agronómicas

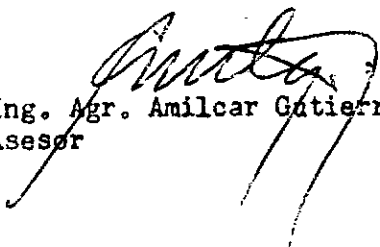
Señor Director:

Por este medio quiero informar a usted que he asesorado la Tesis de Grado del estudiante Jorge Alfonso Torres Herrera, identificado con el Carnet 79-10117 titulada: AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y EVALUACION DE HONGOS ECTOMICORRICICOS DE Pinus spp. EN LA CUENCA DEL RIO VILLALOBOS, DEPARTAMENTO DE GUATEMALA.

Dicho estudio se ajusta a las normas establecidas por la Facultad de Agronomía.

Me despido de usted, atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"



Ing. Agr. Amilcar Gutiérrez
Asesor

Guatemala, 25 de Septiembre de 1989.

Honorable Junta Directiva y
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía

De conformidad con lo que establece la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, me es grato someter a que ustedes consideren el trabajo de tesis titulado: "AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y EVALUACION DE HONGOS ECTOMICORRIZICOS DE Pinus spp. EN LA CUENCA DEL RIO VILLALOBOS, DEPARTAMENTO DE GUATEMALA", asesorada por el Ing. Agr. Amilcar Gutierrez, como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo, en el grado de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Atentamente,


P. C. Jorge Alfonso Torres Herrera

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Al conocerle mas a través de
la ciencia y su creación.

A MIS PADRES

Alfonso Torres Marroquín y
Victoria Herrera de Torres, agrade-
ciendoles todos sus esfuerzos y áni-
mos especialmente en la última eta-
pa del presente estudio

A MIS ABUELOS

Rafael Torres QEPD
Mercedes de Torres QEPD
Victor Herrera QEPD
Isabel Hidalgo de Herrera

A MIS HERMANOS

Brenda, Roberto, Lucky, Yani, Pablo
y en especial a Samuel.

A MIS TIOS

En especial a Rony y Kim Herrera y
Rafael Torres.

A MIS AMIGOS

Especialmente a Douglas y Donna Si-
ggelkow y Marco Aurelio Juárez.

A

Los Bosques de Guatemala, como una contribu-
ción a la conservación y desarrollo de esta
riqueza y su fauna.

A

La Facultad de Agronomía de la Universidad
de San Carlos de Guatemala.

INDICE

	Pag.
RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
IV. REVISION DE LITERATURA	5
V. METODOLOGIA	12
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	20
VII. CONCLUSIONES	38
VIII. RECOMENDACIONES	40
IX. BIBLIOGRAFIA	41

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y EVALUACION DE HONGOS
ECTOMICORRICICOS DE Pinus sp. DE LA CUENCA
DEL RIO VILLALOBOS, DEPARTAMENTO DE GUATEMALA

ISOLATION, IDENTIFICATION AND EVALUATION OF ECTO-
MYCORRHIZAE FUNGI Pinus sp. IN VILLALOBOS
BASIN, GUATEMALA

RESUMEN

Guatemala, cuenta con un 72.5% de su territorio con vocación forestal, donde se desarrollan especies coníferas y latifoliadas, así como muchas especies de hongos ectomicorrizicos asociadas a dichas especies forestales.

En este trabajo se evaluaron las especies Pinus ooluppa y Pinus maximinoi, inoculadas artificialmente con hongos micorrizicos colectados en la Cuenca del Rio Villalobos. Cada hongo se identificó, se aisló y se incrementó en cultivo puro.

Los hongos se sembraron en cajas de Petri junto con semillas de pino desinfestadas, lo que aseguró su inoculación; después de germinadas las plántulas se trasladaron a vivero evaluándolas a los 8 meses de edad.

Se identificaron las especies micorrizas siguientes: Amanita caesarea, Amanita vaginata, Boletus sp., Cantharellus sp., Helvella crispa, Laccaria sp., Lactarius indigo, Lactarius rufus, Lactarius salmonicolor y Rusulla emetica.

De éstas se aislaron en el medio Meling Norkrans Modificado (MNM) las siguientes especies: Helvella crispa, Lactarius indigo, Lactarius salmonicolor y Rusulla emetica.

En el invernadero se inocularon Helvella crispa y Rusulla emetica. A los 8 meses se determinó la altura, peso de plántula, peso fresco y seco de parte aérea y raíces y porcentaje de puntas de micorrizas.

La aplicación de los hongos ectomicorrícicos Rusulla emetica y Helvella crispa al ser inoculados e inducir simbiosis, produjeron un incremento claro y definido en las variables estudiadas en Pinus oocarpa y Pinus maximinoi.

I- INTRODUCCION

Guatemala, es un país con mucho potencial forestal, contando con un 72.5% de su territorio para esta vocación lo que equivale a 78,977 Kms. cuadrados. Sin embargo, anual y paulatinamente esas áreas boscosas han venido disminuyendo, dando paso a la agricultura y a la ganadería. En 1946 se contaba con un 60% de su territorio cubierto de bosque; en 1966 se observó el 50% y actualmente tiene un 47.59% de área del territorio nacional cubierta de bosque.

El área total, excluyéndose las cubiertas con matorrales y bosque no productivo suman estimativamente 43,700 Kms. cuadrados de los cuales las latifoliadas suman 35,600 Kms. cuadrados y las coníferas 8,100 Kms. cuadrados.

Guatemala entre 1950 y 1982 ha perdido el 33.65% de su cubierta forestal equivalente a 20,000 Kms. cuadrados y entre las causas están el avance de la frontera agrícola, incendios forestales, talas irracionales, consumo de leña, plagas y enfermedades. Esto ha traído como consecuencia las inundaciones en la costa, al quedar sin una adecuada cubierta forestal las partes montañosas del país.

En Guatemala, se estima que actualmente se cortan 6 millones de metros cúbicos de madera rolliza, de los cuales 5.5 millones aproximadamente se utilizan como leña y carbón y 0.5 millones como materia prima industrial.

En Guatemala la producción masiva de árboles para la reforestación del territorio se ha realizado considerando factores como: especies a propagar, agua, condiciones del suelo, topografía, accesibilidad y mano de obra; así como la preparación del suelo (arado o manualmente); desinfección del suelo con diversos productos, enmiendas del suelo y abonos (orgánicos, inorgánicos y cálcicos), pero hasta la fecha, el uso de ectomicorrizas no se ha tomado en cuenta entre las necesidades básicas de las diferentes especies y dentro de las coníferas.

En otros países como Chile, Nueva Zelanda y Australia donde el pino es una especie introducida, al principio hubo fracasos, pero al realizar investigaciones encontraron la necesidad de introducir las ectomicorrizas para tener éxito, lo que les llevó a utilizar, la inoculación artificial, ya que de otra manera las plantaciones no hubieran prosperado.

En este trabajo se hizo una colección de ectomicorrizas y paralelamente se procedió a su identificación, asegurándose que se encontraran en simbiosis con Pinus oocarpa y Pinus tenuifolia o maximinoi. Luego se procedió a aislarlos e incrementarlos en laboratorio específicamente el tejido micelial, para que al final se inoculara y evaluara en plántulas de pino durante 8 meses en invernadero.

Dicha investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Fitopatología e Invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, así como en los bosques que se encuentran dentro de la cuenca del Río Villalobos.

C II- HIPOTESIS

- 1- El medio de cultivo, Melin-Norkrans Modificado (MNM) será apropiado para incrementar el inoculo, así como para la inoculación de semillas y plántulas de Pinus spp.

- 2- Las plántulas de pino inoculadas con micelio de hongo ectomicorrizico mostrarán mejor Altura, Peso total de plántula, Longitud de Raíces, Peso fresco y seco de la parte aérea y raíces y Porcentaje de Puntas de Micorrizas "Tips", que las plántulas no inoculadas.

III- OBJETIVOS

- 1- Aislar e identificar hongos ectomicorrizicos asociados a Pinus spp.
- 2- Reproducir el micelio del hongo ectomicorrizico para su posterior inoculación en Pinus maximinoi y Pinus oocarpa.
- 3- Comparar plántulas de pino micorrizadas, contra plántulas de pino no micorrizadas de 8 meses de edad; evaluando Altura, Peso total de plántula, Longitud de Raíces, Peso fresco y seco de Parte aérea y raíces y Porcentaje de Puntas de Micorrizas.

IV- REVISION DE LITERATURA1- MICORRIZA:

El término micorriza fue acuñado por el científico alemán A. B. Frank en 1,885, (mico = hongo; rhiza = raíz) describiendo las relaciones de los componentes de la simbiosis mutualista. (1, 21).

Se denomina micorriza a las asociaciones simbióticas mutualísticas entre ciertos hongos y raíces de determinadas plantas superiores; en ellas el hongo invade el córtex de la raíz, mientras que el meristemo apical y el cilindro vascular quedan intactos. (11, 13, 17).

Las micorrizas son muy comunes en el reino vegetal, ya que se les encuentra en todas las plantas excepto en las crucíferas, quenopodeaceas, ciperaceas, y las acuáticas.

Cordell, (11), observa que la sobrevivencia y desarrollo de grandes árboles puede ser obtenida usando su propia simbiosis natural con hongos ectomicorrizicos, pero empleándolas efectiva y eficientemente.

Los árboles micorrizados se benefician de muchas formas; por ejemplo están las siguientes:

- a- Producen hormonas estimulantes del crecimiento (Auxinas, Citoquininas, Giberelinas y Tiamina), que benefician al huésped.
- b- Mayor acción radicular para absorción de agua y nutri-

mentos ya que el micelio fúngico se prolonga al suelo.

- c- Almacenan en su manto fungoso: N, P, K, Mg, Cu, Na, Si, Zn, Al y B. (10)
- d- Resistencia a ciertas enfermedades de las raíces.
- e- Tolerancia a sequía y resistencia a altas temperaturas del suelo y valores extremos de pH. (6, 11, 21, 25).

3- IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS:

USOS EXITOSOS DE LAS MICORRIZAS:

Plantúlas desarrolladas en vivero de Pinus taeda y P. echinata con ectomicorriza formada por Pisolithus tinctorius, sobrevivieron y desarrollaron significativamente mejor que plántulas con Thelephora terrestris sobre restos de carbón ácido en Kentucky y 4 años sobre restos de carbón ácido en Virginia. (23)

Marx, (24), a revisado la significancia de las ectomicorrizas específicas a la sobrevivencia y desarrollo de pinos en varios desperdicios después de ser usadas las minas de carbón y caolín.

En 1966, Schramm (24), publicó un reporte sobre colonización de plántulas en restos de antracita en Pensilvania. El encontró que el desarrollo temprano de ectomicorrizas era esencial para el establecimiento de plántulas de Betula, Pinus, Quercus y Populus, las cuales desarrollaron sus semillas sobre estos desperdicios. Los cuerpos fructíferos de los hongos desarrollados cerca de las plántulas sobrevivientes fueron: Inocybe lacera, Amanita

Muscaria y Thelephora terrestris, y el cuerpo fructífero de Scleroderma aurantium y Pisolithus tinctorius.

También se ha determinado la asociación micorrizica de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. con Eucalyptus saligna evaluando la influencia de estos hongos en esta especie forestal, mediante mediciones de altura y peso de raíces. (2)

4- NUTRICION:

Los hongos micorrizicos necesitan para su nutrición de C, N, K, S, y Mg, en cantidades relativamente altas, así como Cu, Zn, Mn, Mo, y Fe en cantidades menores.

El azúcar preferido por la mayoría de los hongos micorrizicos es la D-glucosa, aunque también pueden utilizar manosa y fructosa que son buenas proveedoras de azúcar; tienen limitantes la lignina y celulosa.

Con respecto al nitrógeno, las ectomicorrizas pueden utilizar nitratos tan eficientemente como el amonio para su desarrollo y en el caso del fósforo, en medios artificiales, se utiliza fosfato inorgánico de potasio, pero en su habitat normal el lecho del humus del suelo, el fosfato puede estar presente como fosfato orgánico.

La mayoría de los hongos ectomicorrizicos, necesitan de Tiamina (Vitamina B-1) para su crecimiento. Algunos necesitan además Biotina (Vitamina H).

El calcio es requerido en trazas por casi todos los hongo. No se ha observado requerimientos de potasio por las micorrizas según

Harley. (4, 17).

5- CONDICIONES AMBIENTALES:

Los hongos micorrizicos, tienen un óptimo de pH, entre 4.5 a 5, aunque toleran desde 2 hasta 6 y temperaturas óptimas entre 18 y 25 grados centígrados. Son además obligadamente aeróbicos y fotoinactivos. (4)

6- MEDIOS DE CULTIVO:

Generalmente se utilizan MNM, Palmer y Hacskaylo y FDA con papa deshidratada. (3, 28)

7- SUBSTRATOS PARA INCREMENTAR EL INOCULO:

Según Alvarez, (4) la producción de inóculo vegetativo, usa como substrato una mezcla de vermiculita, turba y MNM líquido. La vermiculita y turba son tamizadas para eliminar las partículas de tamaño inferior a 0.5 cms. Las proporciones a usar son 28:1 (V/V), vermiculita/turba. El MNM se aplica al 50% del volumen total de la materia seca.

Ruehle, (27) reporta el uso de corteza de pino molida como una prometedora y barata alternativa en el uso de medios de desarrollo.

En Chile, (13) se ha utilizado mezcla de iguales volúmenes de turba, trigo y hojas de pino (viejas y secas) adicionadas con una solución de glucosa al 5%.

8- FORMAS DE INOCULACION:

La introducción artificial de hongos micorrizicos se puede hacer de distintas maneras: suelo, plantas micorrizadas, esporas y micelio.

8.1- SUELO:

El inòculo natural es ampliamente utilizado, especialmente en países en desarrollo tomando suelo o humus colectado de plantaciones de pino establecidas. También se puede recoger de un bosque natural y debe usarse rápidamente en un plazo inferior a los 8 días y manteniéndose húmedo hasta su uso.

La desventaja de la inoculación con suelo, está en la falta de control sobre los tipos de ectomicorrizas introducidas. El peligro de introducir patògenos, nemàtodos o semillas de malas hierbas, es también considerable aunque se tomen precauciones al respecto, ya que estos microorganismos, pueden ser potencialmente dañinos, no solo a las plàntulas sino también a las cosechas agrícolas. También el transporte de grandes volùmenes de suelo inoculado es dificultoso. (4, 28)

8.2- PLANTAS MICORRIZADAS:

Método primeramente usado en Indonesia con Pinus merkussi; se plantan en las camas de vivero en planta micorrizadas a distancias entre 1 y 2 metros. El crecimiento del micelio se extiende, infectando las plàntulas próximas. (4)

8.3- ESPORAS:

Esporocarpos y esporas de varios hongos han sido

usados como inóculo al formar ectomicorrizas específicas en plántulas de árboles.

El uso de esporas como forma de inóculo es aplicable a hongos del grupo de Gasteromicetos, tales como Rhizopogon, Scleroderma y Fisolithus, capaces de producir numerosas esporas de fácil recolección y almacenamiento. Para otros grupos la obtención de grandes cantidades de esporas, es difícil, pero la técnica puede ser adaptada sacando y triturando los esporocarpos, lo cual es otra forma de inoculación con esporas. (3)

8.4- MICELIO:

El inóculo vegetativo de hongos ectomicorrizicos ha sido repetidamente recomendado como el método más sano biológicamente usado en inoculación. Muchas especies nunca han sido aisladas en cultivo puro. Algunas especies desarrollan lentamente, muchas otras mueren después de unos pocos meses de cultivo. Muchos de estos hongos requieren sustancias específicas para su desarrollo como tiamina y biotina, en adición a simples carbohidratos, muchos son sensibles a la inhibición por sustancias.

Una variedad de medios de cultivo y métodos de aislamiento pueden ser usados en la obtención de cultivo puro de hongos seleccionados.

Una de las características de desarrollo de un hongo ha sido confirmada; es importante determinar su capacidad

de resistencia a las manipulaciones físicas, químicas y biológicas. (5)

Produciendo grandes cantidades de inóculo vegetativo de un hongo, es de un bajo valor, si el inóculo no puede sobrevivir los rigores de varias manipulaciones tales como procesos físicos (mezclado, lavado, secado) e incorporado al suelo. El inóculo debe también ser hábil al sobrevivir un mínimo de 4 a 6 semanas entre el suelo inoculado y la producción de raíces cortas por las plántulas. Durante este periodo, este debe sobrevivir a fluctuaciones de humedad del suelo, temperatura y competencia microbiana. (28)

V- METODOLOGIA1- LOCALIZACION DEL ESTUDIO:

El presente estudio se llevó a cabo, haciendo muestreos de bosques dentro de la Cuenca del Río Villalobos, en los Departamentos de Guatemala y Sacatepèquez, y posteriormente en el Laboratorio de Fitopatología e Invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

2- CARACTERISTICAS DE LA CUENCA DEL RIO VILLALOBOS:A- GEOGRAFICAS:

La Cuenca está situada en la parte sur del valle de Guatemala, abarcando la Ciudad de Guatemala, Amatitlán, Villa Nueva, Mixco y otros. Cubre una extensión aproximada de 319.73 kilómetros cuadrados. (7)

B- GEOLOGICAS:

Se encuentra sobre materiales de la época Terciaria y Cuaternaria, como andecita, riocacita, dacita, tobas, aluviones y sedimentos volcánicos eólicos.

Los suelos de valles no diferenciados, representan áreas de terreno valioso para la agricultura, localizándose generalmente en las partes bajas de la cuenca. (7)

C- HIDROLOGICAS:

Se cuenta con una distribución pluvial predominante del tipo convectivo y orográfico, distribuida durante seis meses. (7)

D- AGROLOGICAS:

La cuenca cuenta con las siguientes características:

- a- En las partes altas y a mediana altura, suelos profundos sobre materiales volcánicos.
- b- En las partes quebradas, suelos poco profundos débilmente cementados.
- c- En las partes altas, suelos poco profundos sobre materiales volcánicos de color oscuro.
- d- En los pequeños valles, formados en las partes bajas de la cuenca, se encuentran en su mayoría suelos aluviales no diferenciados.
- e- La ocupación agrícola que se le da a las tierras de la cuenca es principalmente para la producción de especies vegetales de consumo local.

Entre las cosechas están: el maíz, el frijol, el café y de menor importancia: caña de azúcar, frutales, hortalizas y bosque. (7)

3- AREA DE MUESTREO:

El sitio de muestreo comprendió toda la Cuenca del Río Villalobos, especialmente las áreas que aún cuentan con bosques de pino, para lo cual los muestreos se realizaron en época lluviosa por ser la más apropiada para la búsqueda de los carpóforos de los hongos ectomicorrizicos.

Las áreas que se muestrearon son:

- 1- Bosques entre los ríos Pansalic y Panchochá.
- 2- Finca "El Paraíso".

- 3- Labor Santa Cruz.
- 4- Finca "Labor de Castilla".
- 5- Country Club.
- 6- Finca "San José las Majaditas".
- 7- Finca "El Zompopero".
- 8- El Encinal.

4- COLECTA:

- 4.1- Al encontrar un hongo ectomicorrizico, con el machete se hizo un corte para sacarlo junto con un pilón de tierra y observar las estructuras micorrizicas.
- 4.2 Se envolvió el carpóforo en papel encerado para protegerlo de la pérdida de humedad y así conservarlo viable. También suelo y las raíces micorrizadas correspondientes se trasladaron al laboratorio.
- 4.3 Se introdujo en una bolsa plástica y luego en un frasco de vidrio, para asegurar su transporte.
- 4.4 Se identificó en el campo y se colocó en la bolsa una etiqueta en la que se hizo una descripción completa.
- 4.5 Se trasladó al Laboratorio, en el menor tiempo posible.

5- IDENTIFICACION DE LOS HONGOS ECTOMICORRIZICOS:

Al momento de la recolección se procedió a identificar a los hongos colectados utilizando para el efecto claves taxonómicas; se tomaron fotografías de los carpóforos.

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE LOS HONGOS COLECTADOS:

Para aislar en cultivo puro, los hongos ectomicorrizicos colectados, se usó el medio de cultivo MNM, a partir de carpóforos, usando pequeñas secciones internas de los mismos, siguiendo las técnicas de asepsia necesarias y colocándolos en una incubadora a 28 grados centigrados.

Descripción del medio de cultivo MNM

(Melin-Norkrans Modificado)

El medio de cultivo MNM es un excelente substrato para la producción de micelio para inóculo. Por décadas el medio Melin-Norkrans, ha sido el nutrimento básico usado en la síntesis de ensayo de ectomicorriza aséptica. La formulación modificada es simplemente un enriquecimiento de este medio nutritivo.

La formulación de MNM es la siguiente:

0.05 gms.	de	CaCl ₂
0.025 gms.	de	NaCl
0.5 gms.	de	KH ₂ PO ₄
0.25 gms.	de	(NH ₄) ₂ HP ₀₄
0.15 gms.	de	MgSO ₄ 7 H ₂ O
1.2 ml.	de	FeCl ₃
100 ug.	de	Tiamina HCl.
3 gms.	de	Extracto de Malta
10 gms.	de	Glucosa

Luego se agregan 15 a 20 g/l. de agar. Después de autoclavar, el pH líquido y formulación del agar deberá ser de 5.5 a 5.7. Todos estos compuestos se diluyen en un litro de agua destilada. (28)

7- OBTENCION DEL INOCULO:

Cada especie de hongo ectomicorrizico se incrementó utilizando cajas de Petri con el medio de cultivo MNM.

8- GERMINACION E INOCULACION DE SEMILLAS DE PINO:

PROCEDIMIENTO:

- 8.1- Las semillas de pino se colocaron en cajas de Petri conteniendo Hipoclorito de Sodio al 3% para desinfectarlas durante tres minutos.
- 8.2- Cuando ya estuvo la superficie de las semillas desinfectada se procedió a introducir las en las cajas de Petri que contenían micelio de hongos ectomicorrizicos para que germinaran dentro de la caja y a la vez asegurar su inoculación. Luego se incubaron a 30 grados centígrados por 15 días. Similar tratamiento se dió a las semillas que posteriormente fueron plántulas testigo, las que además de desinfectarlas externamente, se colocaron a germinar en cajas de Petri con MNM, pero sin los hongos ectomicorrizicos.

9- OBTENCION DE LAS PLANTULAS:

Después de germinadas las semillas y de inoculadas; se les pasó junto con el micelio a macetas que contenían suelo

previamente esterilizado, para que la plántula diera inicio a un desarrollo normal, el cual fue observado durante un periodo de 8 meses.

10- EVALUACION DE LAS PLANTULAS INOCULADAS:

Para el efecto se midieron a los 8 meses después de la inoculación los siguientes aspectos: Altura de plántulas, Peso total de la Plántula, Longitud de Raíces, Peso fresco y seco de Parte Aérea y Raíces y Porcentaje de Puntas de Micorrizas.

11- METODOLOGIA PARA OBTENER EL PORCENTAJE DE PUNTAS DE MICORRIZAS

Para obtener dicho porcentaje se efectuaron los siguientes pasos:

- a- Se extrajo la planta de la maceta en "pilón"
- b- Se estimó el porcentaje de área cubierta por el tejido del hongo (micelio).
- c- Se eliminó el suelo de las raíces para determinar por observación directa el porcentaje de las puntas de micorriza, únicamente de la parte superior de las raíces, donde se concentró la mayor parte de estructuras micorrícicas.

DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE MICORRIZAS:

El diseño que se utilizó para dicho estudio fue Completamente al Azar con Arreglo Combinatorio 2 X 3 con 10 repeticiones.

Su principal característica es que los tratamientos se asignan a las unidades experimentales aleatoriamente (azar). Se utilizó este diseño porque las condiciones de experimentación, fueron homogéneas ya que se realizó una etapa en laboratorio y otra en invernadero.

NUMERO DE TRATAMIENTOS

3 FACTORES Y 2 NIVELES

$p \times q$

$3 \times 2 = 6$ tratamientos

A₀ = Pinus maximinoi o tenuifolia

A₁ = Pinus oocarpa

B₀ = Testigo (sin micorriza)

B₁ = Hongo micorrizico 1 (HM 1)

B₂ = Hongo micorrizico 2 (HM 2)

	B ₀	B ₁	B ₂
A ₀	A ₀ B ₀	A ₀ B ₁	A ₀ B ₂
A ₁	A ₁ B ₀	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂

NUMERO DE UNIDADES EXPERIMENTALES

$$n = tr$$

$$t = 6 \text{ tratamientos} \quad r = 10 \text{ repeticiones}$$

$$n = 6 (10)$$

$$n = 60 \text{ unidades experimentales}$$

MODELO ESTADISTICO:

$$Y_{ij} = U + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, \dots, t$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, r$$

de donde:

- Y_{ij} = variable respuesta de ij -ésima unidad experimental
 U = efecto de la media general
 A_i = efecto de la i -ésima modalidad del factor A
 B_j = efecto de la j -ésima modalidad del factor B
 AB_{ij} = efecto de la interacción entre los factores A y B.
 E_{ij} = efecto del error experimental de la ij -ésima unidad experimental.

ANALISIS DE DATOS:

A las variables respuesta se les hizo un Análisis de Varianza (ANDEVA) y al presentarse significancia se empleó la Prueba de Duncan; así también, para las principales variables se realizaron gráficas. (ver apéndice)

VARIABLES RESPUESTA: Altura, Peso fresco y seco de parte aérea y raíces, longitud de raíces, Peso total de plántula y

VI- RESULTADOS Y DISCUSION1- HONGOS MICORRIZICOS ENCONTRADOS:

Durante los muestreos efectuados en los diferentes bosques de la Cuenca del Rio Villalobos, se recolectaron gran diversidad de hongos ectomicorrizicos asociados a las raices de Pinus spp. Algunos presentaron basidiocarpo y otros únicamente el micelio asociado a la raiz.

2- IDENTIFICACION:

Usando claves taxonómicas, ilustraciones y haciendo las comparaciones correspondientes con los hongos recolectados, se identificaron plenamente los siguientes:

- a- Amanita caesarea
- b- Amanita vaginata
- c- Boletus sp.
- d- Cantharellus sp.
- e- Helvella crispa
- f- Laccaria sp.
- g- Lactarius indigo
- h- Lactarius rufus
- i- Lactarius salmonicolor
- j- Rusulla emetica

3- HONGOS ECTOMICORRICICOS AISLADOS

Todos los hongos ectomicorrizicos aislados identificados se sembraron en el medio de cultivo MNM. Después se incubaron a 28 grados centígrados, por aproximadamente 120 días; los hongos aislados fueron:

Hongos aislados	Días de incubación
<u>Helvella crispa</u>	120 días
<u>Lactarius indigo</u>	120 días
<u>Lactarius salmonicolor</u>	60 días
Micorriza no identificada	120 días
<u>Rusulla emetica</u>	120 días

4- EVALUACION DE LOS HONGOS ECTOMICORRICICOS AISLADOS

La evaluación del efecto de inocular los hongos a raíces de pino, se realizó con Rusulla emetica y Helvella crispa en Pinus maximinoi o tenuifolia y Pinus oocarpa.

Las variables evaluadas fueron: altura, peso de plántulas, peso fresco y seco de parte aérea y raíces, longitud de raíces y porcentaje de puntas de micorrizas (tips).

4-1 ALTURA

Las alturas de las plantas tratadas se presentan en el cuadro No. 1.

CUADRO 1 Alturas de plântulas de dos especies de pino inoculados con dos hongos ectomicorrícicos y plântulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamiento *	Altura (cms.)										\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
P. o.+H. c.	-	-	21	28	-	22	26	25	23	-	24.1
P. o.+R. e.	-	-	-	-	29	26	23	24	31	17	25.0
P. o.(test)	16	21	19	19	24	18	11	17	24	19	18.8
P. m.+H. c.	24	22	24	24.5	22	24	25	23.5	21	26	23.6
P. m.+R. e.	26.5	28	20	18	24	26	18	22	21	15	21.8
P. m.(test)	15	-	-	-	19	-	13.5	-	-	16	15.8

El análisis de varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	3.55	0.0669	N.S.
Hongo	2	6.97	0.0025	*
Pino*Hongo	2	0.07	0.4282	N.S.

*P. o. = Pinus occarpa H. c. = Helvella crispa
 P. e. = Pinus maximinoi R. e. = Rusulla emetica

Debido a que se manifestó significancia entre los tratamientos con los hongos, se hizo la comparación de medias de Duncan.

Tratamientos	\bar{X}	
Helvella crispa	23.875	a
Rusulla emetica	21.937	a
Testigo	18.00	b

Puede observarse que las medias de las alturas de las plántulas inoculadas es significativamente mayor que la del testigo.

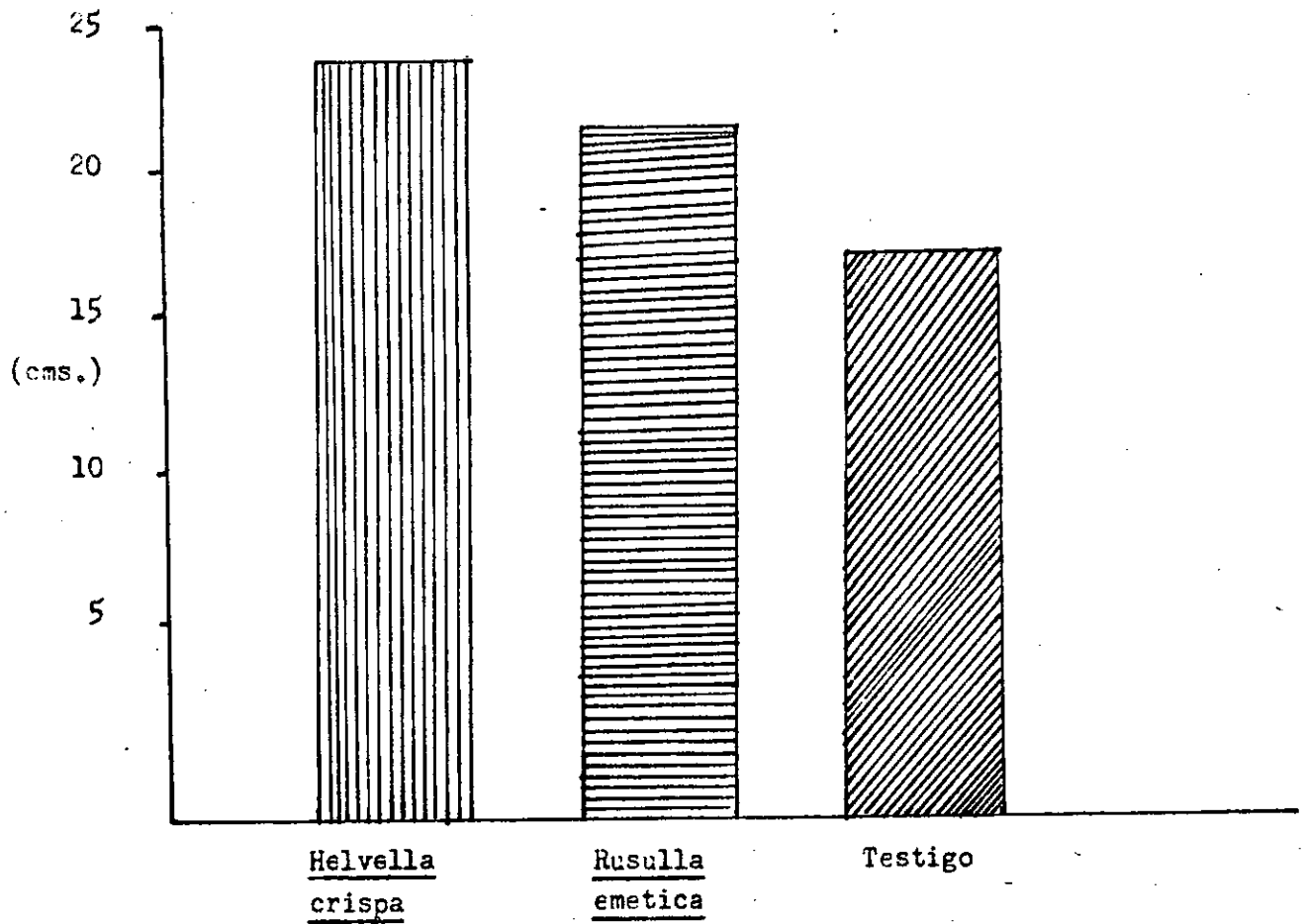
No hay diferencia entre la altura de cualesquiera de las especies de pino al inocular con los hongos. Es indiferente usar Helvella crispa o Rusulla emetica en cuanto a altura se refiere. Sin embargo cuando se inoculan las plántulas con los hongos, las alturas son sustancialmente mayores que cuando no se inoculan.

Está comprobado que los hongos micorrizicos, ayudan a la planta a mejorar la absorción de agua y nutrimentos y que además protege al sistema radicular de agentes adversos como patógenos, pH, sequia, sustancias tóxicas y otros. Por lo tanto estos beneficios se manifiestan en diferencia de crecimiento, en este caso altura entre plántulas con micorrizas y sin micorrizas.

Graficamente pueden apreciarse las diferencias en la figura No. 1 en la siguiente página.

GRAFICA No. 1

MEDIAS DE TRATAMIENTOS DE ALTURAS DE PLANTULAS
DE DOS ESPECIES DE PINO INOCULADAS CON HONGOS
MICORRIZICOS CONTRA EL TESTIGO.



1-2 PESO TOTAL DE PLANTULAS

En el cuadro No. 2 se presenta el peso total de plántulas de dos especies de pino tratadas con dos especies de hongos ectomicorrizicos y sus testigos.

CUADRO 2. Peso total de plántulas de dos especies de pino inoculadas con dos especies de hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos*	Peso total de plántulas. (gms.)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}
P. o.+H. c.	-	-	44	50.1	-	53.1	51	56.2	50	-	50.7
P. o.+R. e.	-	-	-	-	44.6	49.5	56.5	55	54.5	46.5	51.1
P. o. (test)	20.7	39	25	42	55.5	26.5	13	33	47	51.5	35.3
P. m.+H. c.	39	48	38.3	32.5	34.2	38.8	45	38.5	30	50.8	39.5
P. m.+R. e.	50	52	38.3	40.6	51	40.5	28	25.7	31.5	22	37.9
P. m. (test)	20	-	-	-	25.5	-	17	-	-	20	20

El Análisis de Varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g.l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	19.86	0.0001	*
Hongo	2	13.53	0.0001	*
Pino*Hongo	2	0.11	0.8919	NS

* P. o. = *Pinus oocarpa* H. c. = *Helvella crispa*
 P. m. = *Pinus maximinoi* R. e. = *Rusulia emetica*

Debido a que se manifestó significancia entre los tratamientos en las dos especies de pino y los hongos, se hizo la comparación de medias de Duncan.

Pino	\bar{X}	
<i>Pinus oocarpa</i>	43.827	a
<i>Pinus maximinoi</i>	35.717	b

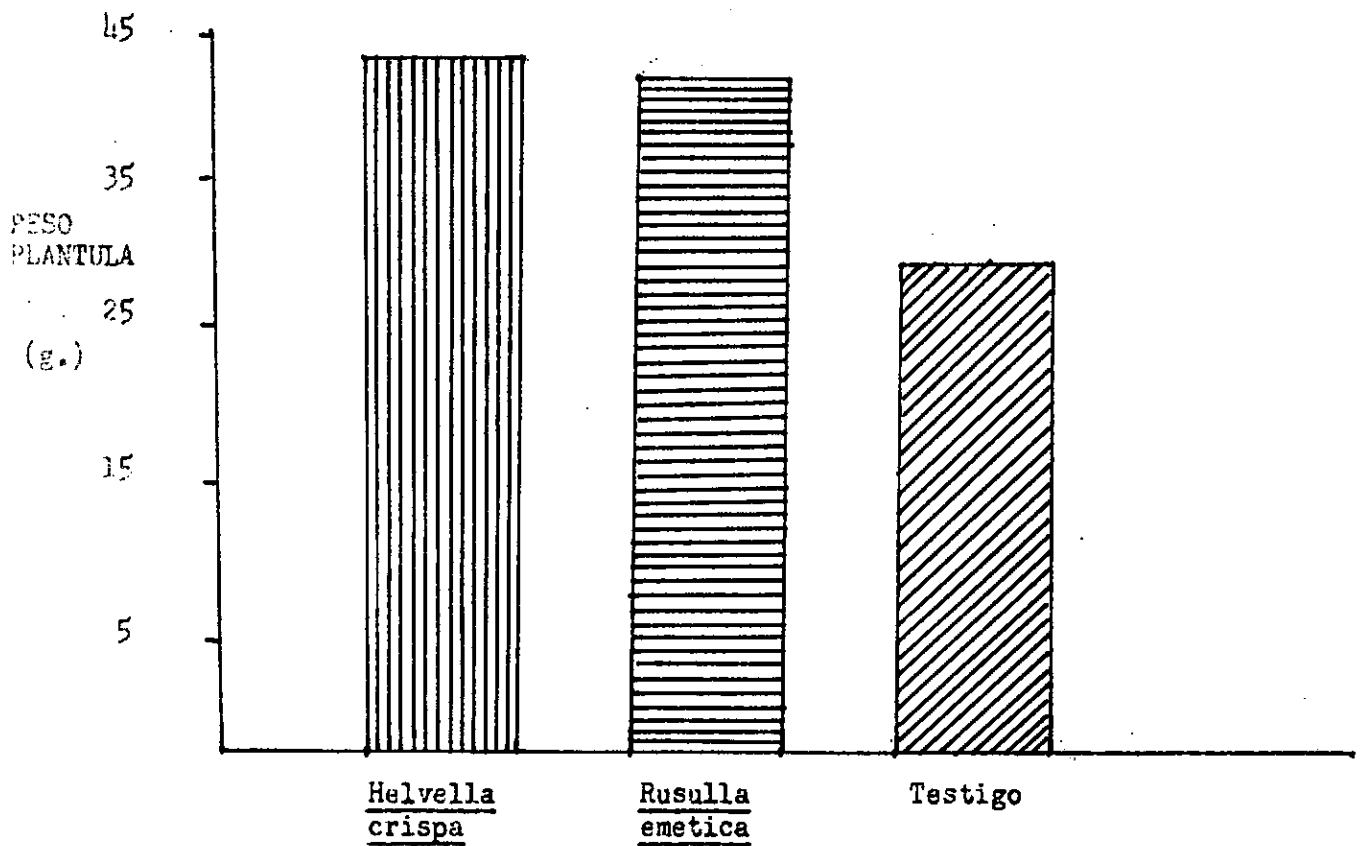
Se puede observar diferencias significativas entre las dos especies de pino debido a que *Pinus oocarpa*, desarrolló un follaje más denso en sus primeros meses a diferencia de *Pinus maximinoi* o *tenuifolia*; esto podría deberse a una mejor adaptación de *Helvella crispa* y *Rusulla emetica* hacia *Pinus oocarpa*. (Ver gráfica No. 2)

Tratamiento	\bar{X}	
<i>Helvella crispa</i>	43.719	a
<i>Rusulla emetica</i>	42.888	a
Testigo	31.121	b

Con respecto a los tratamientos nuevamente se puede observar que las micorrizas imprimen su efecto aditivo en el peso de la plántula, lo que comprueba que las micorrizas son organismos simbióticos eficientes y cumplen un papel importante al aumentar la biomasa, ya que producen hormonas estimulantes del crecimiento, además de otras ventajas ya indicadas.

GRAFICA No. 2

MEDIAS DE TRATAMIENTOS DE PESO FRESCO DE PLANTULAS DE
DOS ESPECIES DE PINO INOCULADAS CON HONGOS MICORRICICOS
CONTRA EL TESTIGO.



4.3 LONGITUD DE RAICES

En el cuadro No. 3 se presenta la longitud de raíces de las plántulas de pino tratadas con *Helvella crispa* y *Rusulla emetica*.

CUADRO No. 3 Longitud de raíces de plántulas de dos especies de pino, inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Longitud de raíces (cms.)										\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
P. o.+H. c.	-	-	97.5	100	-	53.1	51	56.2	50	-	67.9
P. o.+R. e.	-	-	-	-	120	75	124	80	147.5	120	111
P. o. (test)	85	75	80	93	116	139	60	136.5	110	89	98.3
P. m.+H. c.	95	120.5	69.5	92.5	53	89	74.5	50	115	75	83.4
P. m.+R. e.	63	67.5	72	86.5	75	84	50	85	67	97	74.7
P. m. (test)	59	-	-	-	58	-	60	-	-	59	59.0

El Análisis de Varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g.l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	26.88	0.0001	*
Hongo	2	2.49	0.0960	NS
Pino*Hongo	2	0.44	0.6442	NS

* P. o. = *Pinus oocarpa*
P. m. = *Pinus maximinoi*

H. c. = *Helvella crispa*
R. e. = *Rusulla emetica*

Unicamente se manifestò significancia entre las dos especies de pino y no la hubo entre tratamientos, haciéndose comparación de medias de Duncan entre especies de pino.

Pino	\bar{X}	
<i>Pinus occarpa</i>	104.636	a
<i>Pinus maximinoi</i>	75.708	b

Se observa que *Pinus occarpa* denota una diferencia significativa con *Pinus maximinoi* o *tenuifolia* ya que tuvo un mayor desarrollo; probablemente los dos hongos micorrizicos evaluados tienen cierta afinidad con *Pinus occarpa*. Las micorrizas en este caso no influyeron directamente en el largo de raíces.

4-4 PESO FRESCO DE RAICES

En el cuadro No. 4 se presenta el Peso Fresco de Raíces de Plántulas de dos especies de pino tratadas con Helvella crispa y Rusulla emetica.

CUADRO No. 4

Peso fresco de raíces de plántulas de dos especies de pino, inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Peso fresco de raíces. (gms.)										\bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
P. o.+H. c.	-	-	22	13.6	-	26.6	20.7	18	25	-	20.9
P. o.+R. e.	-	-	-	-	17.6	22.5	23	23	20.5	18.5	20.8
P. o.+(test)	9	20.4	10.5	17	16.5	8.8	8	16	9	20.5	13.5
P. m.+H. c.	20	24.2	15.3	12.9	6.7	14.5	19.3	23.5	13.5	29.9	17.9
P. m.+R. e.	13	24.7	17.8	29.6	22	17	8.6	13.7	12.5	12.5	17.1
P. m.(test)	12	-	-	-	16	-	10	-	-	13	12.7

* P. o. = Pinus oocarpa H. c. = Helvella crispa
 P. m. = Pinus maximinoi R. e. = Rusulla emetica

El Análisis de Varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	2.14	0.1517	NS
Hongo	2	5.19	0.0099	*
Pino*Hongo	2	0.24	0.7887	NS

En este caso únicamente se manifestó significancia entre los tratamientos con hongos, realizándose la comparación de medias de Duncan.

Tratamientos	\bar{X}	
<i>Helvella crispa</i>	19.075	a
<i>Rusulla emetica</i>	18.531	a
Testigo	13.336	b

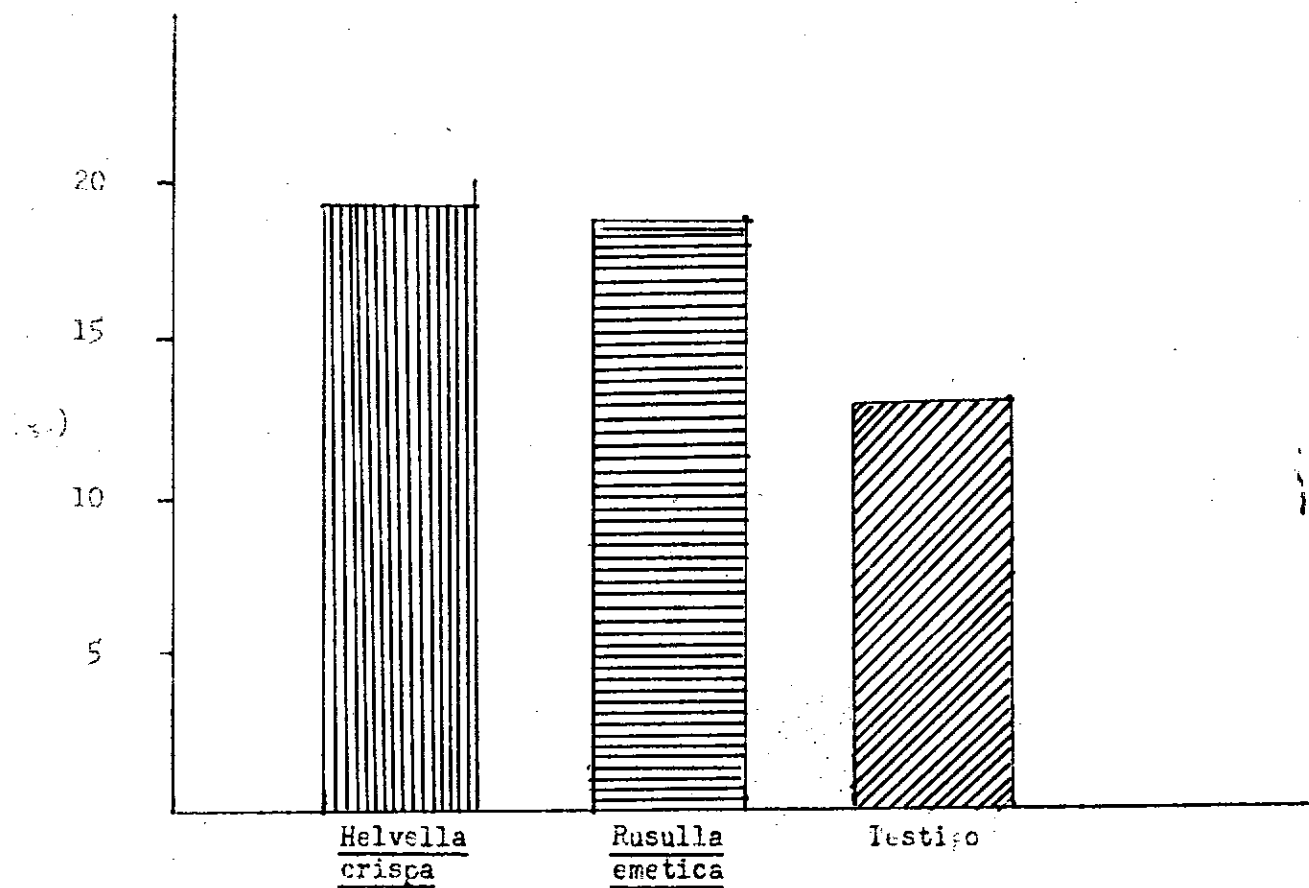
En cuanto al peso fresco de la raíz, hay una clara significancia al comparar con el testigo y el efecto del incremento de peso se debe a la enorme cantidad de puntas de micorrizas que se produjeron como resultado de la inoculación, al inducirse la simbiosis entre ambos organismos. *

El aumento de peso se debe también a la mayor absorción de nutrimentos y agua. Esto implica entonces, que en la raíz habrá mayor disposición de elementos redundando en un mayor crecimiento y desarrollo de toda la plántula. Esto se observó en la mayoría de las variables que se evaluaron, siendo responsables de dichos efectos positivos, la inoculación de los hongos ectomicorrícicos, en contraposición con las plántulas testigo que no fueron inoculadas.

* Ver gráfica No. 3

GRAFICA No. 3

MEDIAS DE TRATAMIENTOS DE PESO FRESCO DE RAICES DE
PLANTULAS DE DOS ESPECIES DE PINO INOCULADAS CON
HONGOS MICORRICICOS CONTRA EL TESTIGO



4-5 PESO FRESCO DE PARTE AEREA

En el cuadro No. 5 se presentan los resultados del Peso fresco de la parte aérea de las plántulas de pino tratadas con *Helvella crispa* y *Rusulla emetica*.

CUADRO No. 5

Peso fresco de la parte aérea de plántulas de dos especies de pino, inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Peso fresco de la parte aérea. (gms.)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}
P. o.+H. c.	-	-	22	36.5	-	26.5	30.8	33.2	25	-	29
P. o.+R. e.	-	-	-	-	27	27	33.5	32	34	28	30.2
P. o. (test)	11.7	18.6	14.5	25	39	17.7	5	17	38	31	21.7
P. m.+H. c.	19	23.8	23	19.6	27.5	20.3	25.7	15	16.5	20.9	21.1
P. m.+R. e.	37	27.3	20.5	11	29	23.5	19.4	12	19	9.5	20.8
P. m. (test)	8	-	-	-	9.5	-	7	-	-	7	7.8

* P.o.= *Pinus oocarpa* H.c.= *Helvella crispa*
 P.m.= *Pinus maximinoi* R.e.= *Rusulla emetica*

El análisis de varianza de los datos anteriores es el siguiente.

Fuente	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	20.76	0.0001	*
Hongo	2	8.47	0.0009	*
Pino x Hongo	2	0.44	0.6490	NS

Los factores plántulas de pino y hongos micorrizicos resultaron significativos, por lo que se llevó a cabo las pruebas de Duncan correspondientes.

Pino	\bar{X}	
<u>Pinus oocarpa</u>	26.273	a
<u>Pinus maximinoi</u>	18.792	b

Existe diferencia significativa entre las dos especies de pino probablemente a un primer desarrollo agresivo, por parte de Pinus oocarpa con respecto a Pinus maximinoi o tenuifolia y la afinidad de los hongos micorrizicos hacia Pinus oocarpa.

Tratamientos	\bar{X}	
<u>Helvella crispa</u>	24.394	a
<u>Rusulla emetica</u>	24.356	a
Testigo	17.786	b

Nuevamente se observa que los hongos ectomicorrizicos inoculados imprimen un efecto de incremento significativo, en el peso fresco de la parte aérea, de las plántulas lo cual acentúa la importancia del uso de micorrizas en Pinus oocarpa y en Pinus maximinoi o tenuifolia.

* P. o. = Pinus oocarpa H. c. = Helvella crispa
 P. m. = Pinus maximinoi R. e. = Rusulla emetica

4-6 PESO SECO DE LA PARTE AEREA

En el cuadro No. 6 se presentan los resultados del peso seco de la parte aérea de las plántulas de pino tratadas con *Helvella crispa* y *Rusulla emetica*.

CUADRO No. 6 Peso seco de la parte aérea de plántulas de dos especies de pino inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Peso seco de la parte aérea. (gms.)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}
P. o.+H. c.	-	-	5	8.5	-	7.5	10	13	6	-	8.3
P. o.+R. e.	-	-	-	-	7	7.5	9.5	8.9	11.5	7.5	8.6
P. o.(test)	2	4.9	4	6	13.5	4	4	3.5	7	9	5.7
P. m.+H. c.	6.8	6.5	6.5	5.5	5	6.5	6.5	4.5	4	7	5.8
P. m.+R. e.	8.5	9	6	3.5	9	5.5	1	4	5	1.5	5.3
P. m.(test)	1.8	-	-	-	2	-	1.5	-	-	1.5	1.7

El análisis de varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	18.19	0.0001	*
Hongo	2	7.39	0.0019	*
Pino*Hongo	2	0.36	0.6975	NS

* P. o. = *Pinus oocarpa* H. c. = *Helvella crispa*
 P. m. = *Pinus maximinoi* R. e. = *Rusulla emetica*

Los factores especies de pino y hongos micorrizicos resultaron significativos, por lo que a ambos se les aplicò la Prueba de las Medias de Duncan.

Pino	\bar{X}	
<i>Pinus oocarpa</i>	7.264	a
<i>Pinus maximinoi</i>	4.942	b

Existen diferencias significativas entre las dos especies de pino probablemente a un primer desarrollo agresivo, por parte de *Pinus oocarpa*, con respecto a *Pinus maximinoi* o *tenuifolia*, así como la afinidad de los hongos ectomicorrizicos a *Pinus oocarpa*.

Tratamientos	\bar{X}	
<i>Helvella crispa</i>	6.80	a
<i>Rusulla emetica</i>	6.55	a
Testigo	4.62	b

Tambièn en este caso, las micorrizas colaboraron estrechamente en la traslocación de nutrimentos de las raíces a la parte aérea en lo que respecta a materia seca propiamente dicha.

4-7 PESO SECO DE RAICES

En el cuadro No. 7 se presentan los resultados del peso seco de raíces de las plántulas de pino tratadas con Helvella crispa y Rusulla emetica.

CUADRO No. 7

Peso seco de raíces de plántulas de dos especies de pino, inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Peso seco de raíces. (gms.)										\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
P. o.+H. c.	-	-	5	6	-	6	4	5	4.7	-	5.1
P. o.+R. e.	-	-	-	-	4.5	4.5	5.5	4.3	9.5	3.5	4.4
P. o.(test)	1.5	3.8	1.5	4	4	1.5	3	3	4.5	7	3.3
P. m.+H. c.	3.2	4.5	2.5	2.5	2.5	2.5	3	2	2.5	6	3.1
P. m.+R. e.	5	5	4.5	5.5	4.8	3.5	1	3	2.5	1	3.5
P. m.(test)	1.2	-	-	-	1.5	-	1.1	-	-	1	1.2

El Análisis de Varianza de los datos anteriores se presenta a continuación.

Fuente	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	16.67	0.0002	*
Hongo	2	7.56	0.0016	*
Pino*Hongo	2	0.99	0.3815	NS

* P. o. = Pinus oocarpa H. c. = Helvella crispa
 P. m. = Pinus maximinoi R. e. = Rusulla emetica

Se aplicó la Prueba de las Medias de Duncan por la significancia de ambos factores.

Pino	\bar{X}	
<u>Pinus oocarpa</u>	4.15	a
<u>Pinus maximinoi</u>	2.99	b

Nuevamente se podría pensar que Pinus oocarpa es mucho más agresivo en su primer estadio y adicionado a ello la afinidad de los hongos micorrizicos mostrados hacia esta especie en particular, en comparación con Pinus maximinoi.

Tratamientos	\bar{X}	
<u>Rusulla emetica</u>	3.91	a
<u>Helvella crispa</u>	3.87	a
Testigo	2.76	b

El efecto de un constante incremento en cada variable evaluada nos dice de la importancia que tienen las micorrizas para un mejor desarrollo de estas dos especies forestales.

4-8 PORCENTAJE DE PUNTAS DE MICORRIZAS

En el cuadro No. 8 se presentan los resultados del Porcentaje de Puntas de Micorrizas, determinados mediante simple observación de dos especies de pino tratadas con *Helvella crispa* y *Rusulla emetica*.

CUADRO No. 8

Porcentaje de puntas de micorrizas de plántulas de dos especies de pino, inoculadas con dos hongos ectomicorrizicos y plántulas testigo a los ocho meses de edad.

Tratamientos *	Porcentaje de puntas de micorrizas.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{X}
P. o.+H. c.	-	-	85	95	-	90	90	85	95	-	90
P. o.+R. e.	-	-	-	-	95	95	95	95	85	90	92.5
P. o. (test)	90	80	90	85	95	80	90	50	80	95	83.5
P. m.+H. c.	95	90	85	80	70	80	90	95	50	90	82.5
P. m.+R. e.	95	95	80	95	95	50	90	60	75	80	81.5
P. m. (test)	60	-	-	-	70	-	75	-	-	70	68.7

* P. o. = *Pinus oocarpa* H. c. = *Helvella crispa*
 P. m. = *Pinus maximinoi* R. e. = *Rusulla emetica*

El ANDEVA de los datos anteriores es el siguiente.

Fuentes	g. l.	F calculada	F tabulada	Signif.
Pino	1	8.52	0.0057	*
Hongo	2	3.12	0.0550	NS
Pino*Hongo	2	0.29	0.7489	NS

En este caso únicamente existe significancia para las especies de pino. Aunque aritméticamente y al observar las medias de los tratamientos con hongos micorrizicos, existe una diferencia de incremento con respecto a los testigos. *

Pino	\bar{X}	
<u>Pinus oocarpa</u>	87.727	a
<u>Pinus maximinoi</u>	79.792	b

La diferencia significativa entre las dos especies de pino se debe con bastante probabilidad a la agresividad demostrada por Pinus oocarpa y a su aparente afinidad con los hongos micorrizicos en comparación con Pinus maximinoi o tenuifolia.

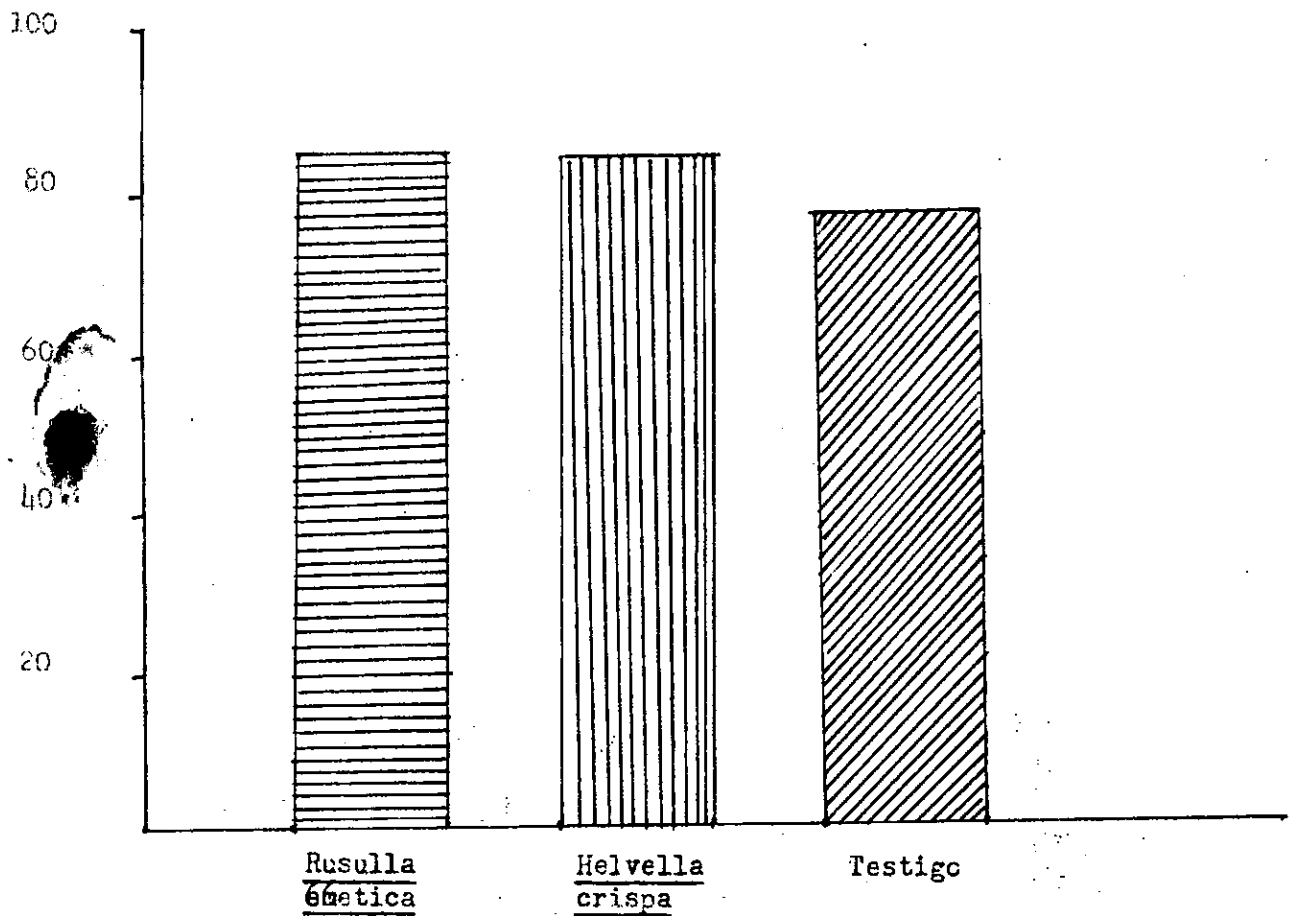
Tratamientos	\bar{X}	
<u>Rusulla emetica</u>	85.625	a
<u>Helvella crispa</u>	85.313	a
Testigo	79.286	a

A pesar de que no existen diferencias significativas estadísticamente hablando las medias aritméticas de los tratamientos con hongos ectomicorrizicos, son superiores a la media aritmética de los testigos, denotándose que el efecto de las micorrizas es determinante en el incremento de las puntas de micorrizas.

* Ver gráfica No. 4

GRAFICA No. 4

MEDIAS DE TRATAMIENTOS DE PORCENTAJE DE PUNTAS DE
MICORRIZAS "TIPS" DE PLANTULAS DE DOS ESPECIES DE
PINO INOCULADAS CON HONGOS MICORRIZICOS CONTRA EL
TESTIGO



VII- CONCLUSIONES

1- En la Cuenca del Rio Villalobos se encontraron los siguientes hongos micorrizicos asociados a Pinus spp.:

- a- Amanita caesarea
- b- Amanita vaginata
- c- Boletus sp.
- d- Cantharellus sp.
- e- Helvella crispa
- f- Laccaria sp.
- g- Lactarius indigo
- h- Lactarius rufus
- i- Lactarius salmonicolor
- j- Rusulla emetica

2- Se aislaron en el medio de cultivo MNM los siguientes hongos:

- a- Helvella crispa
- b- Lactarius indigo
- c- Lactarius salmonicolor
- d- Micorriza no identificada
- e- Rusulla emetica

3- Al inocular los hongos ectomicorrizicos Rusulla emetica y Helvella crispa en plántulas de Pinus occarpa y Pinus maximinoi o tenuifolia, se produjo un in-

cremento sensible en Altura, Peso de Plàntula, Peso Fresco y Seco de la parte Aérea y Raíces, y Porcentaje de Puntas de Micorrizas (Tips), al comparar con las Plàntulas testigo

4-- Se observò cierta especificidad o preferencia de las dos especies de hongos ectomicorrìcicos, hacia Pinus oocarpa.

5-- Aunque no hubo diferencias estadìsticamente significativas Helvella crispa tuvo un mejor efecto en ambas especies de pino, para la mayoria de las variables evaluadas, que Rusulla emetica.

VIII- RECOMENDACIONES

- 1- Evaluar en viveros, el uso de Rusulla emetica y Helvella crispa en Pinus oocarpa y en Pinus maximoi o tenuifolia.
- 2- Investigar substratos para la reproducción masiva de los hongos Rusulla emetica y Helvella crispa.
- 3- Evaluar otras especies de hongos micorrizicos preferiblemente comestibles con otras especies de pinos para un doble propósito.

IX- BIBLIOGRAFIA

- 1- AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. 1968. The fungi; An advanced treatise. London, England, Academic Press. v. 3, p. 139-171
- 2- ALVARADO Z., B. s. f. Asociación micorrizica de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. con Eucalyptus saligna. Colombia, Instituto Nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente. 3 p.
- 3- ALVAREZ, I. s. f. Aislamiento y cultivo de hongos ectomicorrizicos. Asturias, España, Centro de Experimentación Agraria. 7 p.
- 4- ----- s. f. Aplicaciones de la MEC. en la práctica forestal. Asturias, **España** Centro de Experimentación Agraria. 7 p.
- 5- ----- s. f. Producción y manejo de inóculo; Técnicas de inoculación con MEC. Asturias, España, Centro de Experimentación Agraria. 6 p.
- 6- ANDERSON, R. L.; CORDELL, CH. A. 1980. Micorrhizae. Georgia, EE. UU., United States Department of Agriculture, Forest Service. 14 p.
- 7- ARAGON CASTILLO, V. R. 1974. Aprovechamientos agrícolas potencias de la Cuenca del río Villalobos hasta la desembocadura en el Lago de Amatitlán. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 133 p.
- 8- AZCON-G. DE AGUILAR, C.; BAREA, J. M. 1980. Micorrizas. Investigación y Ciencia (**España**) no. 47: 8-16
- 9- BECKER, P. 1983. Ectomycorrhizae on Shorea (Dipterocarpaceae) seedlings in a lowland malaysian rainforest. The Malaysian Forester (Malasia) 46(2): 146-171
- 10- BORIE, F.; BAREA, J. M. s. f. Ciclo del fósforo: papel de los microorganismos y su recuperación en nutrición vegetal. s. l., Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Anales de Edafología y Agrobiología. p. 2365-2377

- 11- CORDELL, CH. A.; WEBB, D. M. 1980. PT.... a beneficial fungus that gives your trees a better start in life. Atlanta, Estados Unidos, United States Department of Agriculture Forest Service. 16 p.
- 12- DANIEL, T. W.; HELMS, J. A.; BAKER, F. S. 1982. Principios de silvicultura. Trad. por Ramón Elizondo Mata. México, McGraw-Hill. p. 212-218
- 13- DESCHAMPS MAS, J. 1979. Aspectos técnico-económicos de la producción de micorrizas en pinos. In Congreso Forestal Argentino (3, 1979, Buenos Aires, Arg.). Memoria. Arg., s. n. p. 301-308
- 14- FAO (Gua). 1977 Fortalecimiento al sector forestal, Guatemala; estudios para la reforestación nacional. Guatemala, Gua., Impresos Industriales. 62 p.
- 15- FREIRIA, H.; ROLFO, M. 1982. Anuario plan agropecuario: micorrizas. Montevideo, Uruguay, Ministerio de Agricultura y Pesca. Trabajo Técnico no. 3. p. 61-63
- 16- HAYMAN, D. S. 1985. Introducción al estudio de las micorrizas; lectura 1. s. l., s. n. 3 p.
- 17- HARLEY, J. L.; FRS; SMITH, S. E. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Estados Unidos, Academic Press. 891 p.
- 18- GUATEMALA. INSTITUTO NACIONAL FORESTAL. SECTOR PUBLICO AGROPECUARIO Y DE ALIMENTACION. 1982. El recurso forestal y las áreas silvestres en Guatemala. In Congreso Americano de Derecho Forestal (3, 1982, Guatemala, Gua.) Memoria. Guatemala, s. n. s. p.
- 19- ----- . INSTITUTO TECNICO DE CAPACITACION Y PRODUCTIVIDAD. 1979. Manual de viveros forestales. 2 ed. Guatemala, 239 p.
- 20- ----- . SECRETARIA DE RELACIONES PUBLICAS DE LA JEFATURA DE ESTADO. 1985. Los recursos forestales de Guatemala; el manejo de los bosques como alternativa de desarrollo. Guatemala, 26 p.
- 21- IPINZA CARMONA, R.; GRANJE MARCO, M. 1983. Micorrizas en silvicultura. Próxima Década (Chile) 2(17): 14-21

- 22- LUNA O., F. 1966. Guia sobre recursos naturales renovables. Guatemala, s. n. s. p.
- 23- MARX, D. H.; ARTMAN, J. D. 1979. Pisolithus tinctorius ectomycorrhizae improve survival and growth of pine seedlings on acid coal spoils in Kentucky and Virginia. Georgia, EE. UU., United States Department of Agriculture Forest Service. v. 2, p. 23-31
- 24- MARX, D. H. 1980. Role of mycorrhizae in forestation of surface mines. Kentucky, EE.UU., United States Department of Agriculture Forest Service. p. 109-116
- 25- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (EE. UU.). 1979. Microbial processes; promising technologies for developing countries. Washington, D. C., EE. UU., p. 51-55
- 26- QUINTOS ESCALANTE, M.; VALDES, M. s. f. Inoculación de Pisolithus tinctorius en la producción de plántulas de pino en el Estado de Durango, México. Durango, México, s. n. 3 p.
- 27- RUEHLE, J. L.; MARX, D. H. 1977. Developing ectomycorrhizae on containerized pine seedlings. North Carolina, EE.UU., United States Departmente of Agriculture Forest Service. Research Note SE-242 7 p.
- 28- SHENCK, N. C. 1982. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. Minnesota, EE.UU., The American Phytopathological Society. p. 115-144
- 29- VALDES, M. s. f. Sobrevivencia y crecimiento de pinos con ectomicorriza específica después de tres años en un sitio altamente erosionado. México, D. F., Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. 9 p.

Alfonso Ramírez S.





FACULTAD DE AGRONOMIA
GUATEMALA, C. A.

6/11/1989

"IMPRIMASE"



Anibal B. Martinez M.
ING. AGR. ANIBAL B. MARTINEZ M.
DECANO

UNIVERSIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA
Biblioteca