

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

EFICIENCIA EN LA PRODUCCION DE MICORRIZAS Y AUMENTO DE BIOMASA EN  
PLANTULAS DE PINO CANDELILLO (Pinus maximinoi. H. E. Moore) CON Laccaria  
laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y  
Scleroderma sp (Pers) EN CONTENEDOR

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

POR:

MARVIN GAUDENCIO URIZAR QUEZADA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA. ABRIL DE 1,999

UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR  
Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. JOSE ROLANDO LARA ALECIO
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. JUAN JOSE CASTILLO MONT
VOVAL SEGUNDO	Ing. Agr. WILLIAM ROBERTO ESCOBAR LOPEZ
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. ALEJANDRO ARNOLDO HERNANDEZ FIGUEROA
VOCAL CUARTO	Br. OSCAR JAVIER GUEVARA PINEDA
VOCAL QUINTO	Br. JOSE DOMINGO MENDOZA CIPRIANO
SECRETARIO	Ing. Agr. GUILLERMO E. MENDEZ BETETA

Guatemala, Abril de 1999

Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala

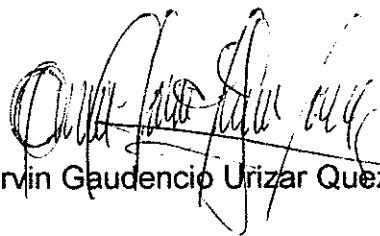
Señores Miembros:

De conformidad con las normas establecidas por la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de presentar a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

**EFICIENCIA EN LA PRODUCCION DE MICORRIZAS Y AUMENTO DE BIOMASA EN PLANTULAS DE PINO CANDELILLO (Pinus maximinoi. H. E. Moore) CON Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers) EN CONTENEDOR.**

Como requisito, previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola en el Grado Académico de Licenciado.

Atentamente



Marvin Gaudencio Urizar Quezada

## ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS: Porque nunca me desampara.

MIS PADRES: Marta Alicia Quezada Quiroa de Urizar  
Augusto Urizar Méndez  
Por brindarme siempre su apoyo incondicional y creer  
en mi.

Mis Hermanos: Hilda Juliza, Amarilis Oralia, Cesar Augusto.

Mi Sobrina: Cinthia Mariam Urizar Méndez.

MI Familia: En general.

Mis Primos: Oscar Alvarado , Heber Quezada, Augusto Quezada,  
Carlos Quezada, Hugo Quezada, Edil Rodríguez.  
Luis Quezada.

Mis amigos: Elder Berduo, José Mérida, Melgin Bautista, Mara Ruano  
Danilo Campos, Manuel Donis, Carlos García, Julio Peña  
Eduardo Gudiel, Carlos de la Torre, Esau Miranda, Miguel  
Castillo, Claudia Ixmucané, Tojín Us, Miguel Quiñones,  
Aldo Martínez, Bayron Calderón (QEPD), Yony  
Castellanos, Ramiro López. Eric Solano

## TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS  
MIS PADRES  
HERMANOS  
GUATEMALA  
UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

## AGRADECIMIENTOS

**A:**

**MIS ASESORES:**

Lic. Roberto Flores Arzu e Ing. Agr. MSc. Edil Rodríguez Quezada  
Por su apoyo y asesoría en la realización de este trabajo y por su amistad.

**Lic. Roberto Flores Arzu**

Por su apoyo, asesoría, y confianza brindada en todo momento

**Familia Montufar Urizar**

Por su apoyo y cariño

**Lic. Maria del Carmen Bran**

Por su apoyo incondicional en la ejecución de este trabajo de tesis.

**Al personal del laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

Por el apoyo brindado en la fase de laboratorio en la obtención de resultados.

## CONTENIDO

	PAGINA
<b>INDICE DE CUADROS</b>	ix
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	x
<b>RESUMEN</b>	xi
<b>1. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>2. DEFINICION DEL PROBLEMA</b>	<b>2</b>
<b>3. MARCO TEORICO</b>	<b>3</b>
<b>3.1. MARCO CONCEPTUAL</b>	<b>3</b>
3.1.1. DESCRIPCION DE MICORRIZAS	4
3.1.1.1. TIPOS DE MICORRIZAS	4
3.1.1.2. ESTRUCTURA Y FUNCION DE LAS ECTOMICORRIZAS	4
3.1.1.3. ANATOMIA DE LAS ECTOMICORRIZAS	5
3.1.1.4. MORFOLOGIA DE LAS ECTOMICORRIZAS	7
3.1.2. INTERRACION PLANTA-HONGO-MEDIO	8
3.1.2.1. PAPEL DE LA PLANTA	8
3.1.2.2. PAPEL DEL HONGO	9
3.1.2.3. PAPEL DEL MEDIO	9
3.1.3. IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS	9
3.1.3.1. USOS EXITOSOS DE LAS MICORRIZAS	9
3.1.3.2. NUTRICION DE LA PLANTA MICORRIZADA	11
3.1.3.3. DESCRIPCIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MMN	12
3.1.3.4. FERTILIZACION	13
3.1.4. PRODUCCION DE MICORRIZAS	13
3.1.4.1. FORMAS DE INOCULACION ARTIFICIAL	13
3.1.5. TECNICAS DE PRODUCCION DE PLANTAS FORESTALES	16
<b>3.2. MARCO REFERENCIAL</b>	<b>18</b>
3.2.1. LOCALIZACION	18
3.2.2. CLIMA Y ZONA DE VIDA	18
3.2.3. DESCRIPCION DE <u>Pinus maximinoi</u> H. E. Moore	18
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>5. HIPOTESIS</b>	<b>21</b>
<b>6. METODOLOGIA</b>	<b>22</b>
6.1. DESINFECCION Y GERMINACION DE SEMILLAS	22
6.2. TECNICAS DE INOCULACION	22

6.2.1.	INOCULACION CON MICELIO	22
6.2.2.	DOSIFICACION DE INOCULO	23
6.2.3.	INOCULACION CON ESPORAS	23
6.2.4.	DOSIFICACION DEL INOCULO	23
6.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL	23
6.4.	VARIABLES DE RESPUESTA A EVALUAR	25
6.4.1.	ANALISIS DE DATOS	25
6.4.2.	MANEJO EXPERIMENTAL	26
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b>	<b>27</b>
7.1.	CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y ANATOMICAS	27
7.2.	ALTURAS DE PLANTULAS	28
7.3.	PESO FRESCO TOTAL	30
7.4.	PESO FRESCO AEREO	31
7.5.	PESO FRESCO DE RAIZ	32
7.6.	DIAMETRO DE PLANTULAS	33
7.7.	PESO SECO AEREO	34
7.8.	PESO SECO RADICULAR	35
7.9.	PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS	36
<b>8.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>39</b>
<b>9.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>40</b>
<b>10.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>41</b>
<b>11.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>44</b>



## INDICE DE CUADROS

TITULO	PAGINA
1. Formulación del medio	12
2. Composición química de los fertilizantes empleados	13
3. Análisis de varianza para altura de plántulas de pino	28
4. Prueba de Tukey para diferencia de alturas de plántulas de pino	28
5. Análisis de varianza para peso fresco total de plántulas de pino	30
6. Prueba de Tukey para diferencia entre peso fresco total	30
7. Análisis de varianza para peso fresco aéreo de plántulas de pino	31
8. Prueba de Tukey para diferencia en peso fresco aéreo	31
9. Análisis de varianza para peso fresco radicular de plántulas de pino	32
10. Prueba de Tukey para diferencia en peso fresco radicular	32
11. Análisis de varianza para diámetro de plántulas de pino	33
12. Prueba de Tukey para diámetro de plántulas de pino	33
13. Análisis de varianza para peso seco aéreo de plántulas de pino	34
14. Prueba de Tukey para peso seco aéreo de plántulas de pino	34
15. Análisis de varianza para peso seco radicular de plántulas de pino	35
16. Prueba de Tukey para peso seco radicular de plántulas de pino	35
17. Análisis de varianza para porcentaje de puntas micorrizadas	36
18. Prueba de Tukey para porcentaje de puntas micorrizadas	37
19. Alturas de plántulas de pino	45
20. Peso total de plántulas de pino	45
21. Peso fresco aéreo de plántulas de pino	46
22. Peso fresco radicular de plántulas	46
23. Diámetro de plántulas de pino	47
24. Peso seco aéreo de plántulas de pino	47
25. Peso seco radicular de plántulas de pino	48
26. Porcentaje de plántulas de pino micorrizadas	48
27. Croquis del experimento	49
28. Aleatorización	50

**INDICE DE FIGURAS**

<b>FIGURA</b>		<b>PAGINA</b>
1.	Altura de plántulas de pino inoculadas con 3 hongos micorrícicos contra un testigo.	29
2.	Porcentaje de micorrización de plántulas de pino inoculadas con 3 hongos micorrícicos contra un testigo.	39

EFICIENCIA EN LA PRODUCCION DE MICORRIZAS Y AUMENTO DE BIOMASA EN  
 PLANTULAS DE PINO CANDELILLO (Pinus maximinoi. H. E. Moore) CON Laccaria laccata  
 (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers)  
 EN CONTENEDOR

**RESUMEN**

EFFICIENCY IN MYCORRHIZAE PRODUCTION AND BIOMASS INCREASE ON  
 "CANDELILLO PINE" (Pinus maximinoi H.E. Moore) WITH ; Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk.  
 e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) AND Scleroderma sp (Pers) IN CONTAINER.

Actualmente, Guatemala cuenta con 3,750,200 hectáreas de cobertura boscosa, equivalente al 34.4% del país, incluyéndose diversidad de especies de coníferas y latifoliadas. (17)

Sin embargo la necesidad de leña, madera y mantenimientos de fuentes de agua, obliga a aumentar el área forestal del país. Una alternativa que favorecería el establecimiento de bosques energéticos y el aumento del área boscosa es el empleo de planta micorrizada. Actualmente es muy poco lo que se ha investigado en este campo en nuestro país, y la producción de planta en vivero se limita a la aplicación de broza, sin ningún estudio previo, ni empleo de cepas fúngicas idóneas.

En este experimento se evaluó: La inoculación de micelio de cepas Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br), Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y esporas de Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers.). Las anteriores cepas se inocularon en pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore).

El trabajo consistió en dos etapas: la primera al nivel de laboratorio, en la Facultad de Ciencias Químicas y FARMACIA; y la segunda en el invernadero de la Facultad de Agronomía (USAC).

Los hongos aislados se pusieron a crecer en cajas de pétri con medio nutritivo MMN y PDA (15 días). Crecido el micelio, se transfirió a medio líquido MMN en un beaker de 50 ml (25 días). Luego que el crecimiento fue uniforme, el hongo fue transferido a frascos de vidrio estériles de 2 lt, conteniendo 1100 ml de vermiculita, 100 ml turba y 600 ml de solución de MMN (por dos meses). Se determinó la dosis 1:8 v/v inoculación con micelio para Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y 1:16 v:v para Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.).

El inóculo de esporas se obtuvo mediante el conteo del número de esporas en 0.1 gr de la masa esporal seca de Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers.).

Se determinó una concentración de  $1 \times 10^5$  para cada hongo, siguiendo la información de resultados óptimos para estos hongos en otros lugares. (<sup>2</sup>18)

Se aplicaron 10 ml de solución de esporas a cada contenedor, llenado con un sustrato de turba más vermiculita.

El tiempo de permanencia en el vivero fue de 5 meses. La aplicación de los fertilizantes se realizó cada 15 días a partir de un mes después de la siembra, combinando 3.6 gr de Peter M77, 0.24 gm de Fetrilon por dos litros de fertilizante preparado con agua corriente; el fertilizante previo a su incorporación fue llevado a un pH de 5.5, de esta solución se dispensaron 10 ml. por planta.

Los resultados indicaron que las mejores cepas infectivas fueron Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.) (micelio), y Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) (esporas), obteniéndose un porcentaje de infección radicular del 84.0% y 76.33% respectivamente.

Se evaluó el porcentaje de micorrización, altura, peso fresco y seco de parte aérea y radicular y diámetro de tallo. Para demostrar, secundariamente los beneficios de la posesión de micorrizas en la plántula forestal.

La aplicación de los hongos micorrizicos al ser inoculado en plántulas de pino candelillo, indujeron simbiosis; dándose un incremento claro y definitivo en las variables de respuesta estudiadas.

---

<sup>2</sup> PERA ALVAREZ, J.I. 1992. Selección de hongos ectomicorrizicos de *Pinus pinaster* para su aplicación en reforestación.

## 1. INTRODUCCION

En Guatemala, el crecimiento poblacional y diversos factores económicos, culturales y políticos han provocado una disminución notoria de las áreas boscosas del país. Actualmente la cobertura forestal del territorio nacional es aproximadamente de 3,750,200 hectáreas, equivalente al 34.4% del país. La aptitud de los suelos con vocación forestal alcanza el 51.1% de la superficie total y la tasa de deforestación, estimada en la década de los noventa se calcula en 90,000 hectáreas por año. (7, 26)

Las principales causas de destrucción de los bosques en nuestro país es el *avance de la frontera agrícola, consumo de leña, talas irracionales, incendios, y en menor grado la presencia de enfermedades*. Debe tomarse en cuenta que el bosque, aparte de su función protectora de suelo y fauna, juega un papel importante en el desarrollo socioeconómico del país, de donde surge la necesidad de reforestar aquellas áreas más afectadas con especies adecuadas para lograr una producción racional a corto plazo. (7)

En las últimas décadas se ha desarrollado el uso de micorrizas como una alternativa más para la mejora de áreas de reforestación. En otros lugares como Australia y Nueva Zelanda, donde el pino es una especie introducida, se tuvieron problemas para el desarrollo de las plántulas, los cuales fueron aliviados con el uso de ectomicorrizas (*introducción de hongos micorrizógenos específicos*). (9)

En nuestro país el uso de micorrizas para la producción de planta forestal de calidad no ha sido desarrollado ya que la única técnica empleada es la aplicación de **broza de bosques**, la cual si bien es una alternativa económica, produce serios daños a los terrenos de donde se extrae.

Una alternativa para el mejoramiento de plantaciones forestales de coníferas es la utilización de hongos ectomicorrícicos, los cuales contribuyen a mejorar la respuesta al transplante de la planta en suelos deforestados por largo tiempo, además de facilitar una mayor captación de agua, macro y micronutrientes, mayor resistencia a enfermedades de la raíz, resistencia a sequías y en algunos casos resistencia a altas temperaturas del suelo. (24)

En este trabajo se evaluó la inoculación de Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br), Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp ( Pers.) en plántulas de pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore), en contenedor. Luego de 5 meses en el invernadero de la Facultad de Agronomía se procedió a extraer las plantas, a las cuales se analizó el porcentaje de micorrización y otras variables como peso fresco y seco de parte aérea y radicular, altura, diámetro de tallo.

## 2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Guatemala posee un 34.4% de área boscosa, lo que significa que aproximadamente el 60% del territorio con vocación forestal no posee bosque. (7)

La tasa de deforestación en la época de los 90 sé a calculado en 90,000 hectáreas por año (7, 26). Por lo que es necesario reforestar con árboles de rápido crecimiento para el establecimiento de bosques energéticos, en la obtención de madera y leña, ayudando a la conservación del manto acuífero, flora y fauna endémica. Pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore) es un árbol que se adapta a diferentes condiciones climatológicas y/o geográficas. Responde con buen desarrollo al ser plantado en reforestaciones; alcanza alturas de 20 a 35 metros, resiste al ataque de plagas y enfermedades y la producción de madera blanca es de buena calidad. (8)

Se ha comprobado que plantando semillas de árboles forestales en estructuras denominadas **contenedores plásticos**, e inoculadas con cepas de hongos micorrizógenos, las plántulas alcanzan un mejor desarrollo radicular y aéreo en invernadero. (18)

Actualmente en Guatemala no hay ningún vivero que produzca planta micorrizada con cepas específicas, tanto extranjeras como nativas.

Los contenedores plásticos poseen al final un agujero en el cual las raicillas son autopodadas al llegar al final del contenedor, evitando la espiralización radicular y fomentando el desarrollo geotropo de las raíces. Al momento de la siembra definitiva en el campo, las plántulas sembradas son beneficiadas por las cepas micorrizógenos de muchas formas, como un aumento en la: **Producción de hormonas del crecimiento, mayor acción radicular para la absorción de agua y nutrimento, almacenamiento en su manto fungoso de macronutrientes (N, P, K, Mg, Cu, Na, Si, Zn, Al, B), resistencia a ciertas enfermedades de las raíces, tolerancia a sequías y resistencia a altas temperaturas del suelo y valores extremos de pH.** Además el estudio de planta micorrizada se facilita con el uso de estos contenedores. (23)

La evaluación de la actividad de ciertos **hongos ectomicorrizicos** que mejoren el desarrollo de especies forestales nativas, es hoy un una necesidad y línea de investigación que se debe desarrollar en nuestro país; con lo que pueden lograrse incrementos en los porcentajes de sobrevivencia y el crecimiento inicial en plantaciones forestales. Debido a estas circunstancias se realizó este trabajo, con el fin de contribuir a la mejora de la situación forestal del país. Se ha empleado Pinus maximinoi por las ventajas biológicas que presenta en proyectos de reforestación y la alta utilidad actualmente.

Se ha empleado contenedores plásticos porque facilita el desarrollo radicular y producen una mejor planta, así como estudios con pruebas de micorrización. Los hongos utilizados son 2 cepas nativas de clima templado de Guatemala y, una cepa Española caracterizada por su alta infectividad que ha sido utilizada en varios países de Europa con excelentes resultados de reforestación y aforestación. (17)

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. MARCO CONCEPTUAL

##### 3.1.1. DESCRIPCIÓN DE MICORRIZAS

La primera descripción de las micorrizas con estructura reconocible fue realizada por Frank en 1885, (*mico* = hongo; *rhiza* = raíz) describiendo las relaciones de los componentes de la simbiosis mutualista. (1,20)

Según Parláde, (17) las micorrizas son órganos complejos resultantes de la simbiosis mutualista entre raíces de plantas vasculares y hongos del suelo; el hongo invade el córtex de la raíz, mientras que el meristemo apical y el cilindro vascular quedan intactos. Esta asociación juega un papel de gran importancia en ecosistemas naturales y en los sistemas biológicos creados por el hombre.

Esta asociación resulta altamente beneficiosa para las plantas por el incremento en la absorción de agua y nutrientes del suelo, así como por la protección que recibe contra patógenos y por las hormonas sintetizadas en el sistema simbiótico. Es actualmente de gran importancia el uso de micorrizas en programas de reforestación y aforestación con coníferas en algunas regiones del mundo y en la introducción de las mismas. (23)

En el reino vegetal las micorrizas son muy comunes ya que se les encuentra presentes en gran diversidad de plantas, excluyendo las acuáticas, crucíferas, quenopodáceas y ciperáceas. (1)

El proceso de micorrización se lleva a cabo mediante la infección de las raíces secundarias de una planta por las hifas de una o más especies de hongos. En algunos casos pueden ser invadidas algunas raíces secundarias. Las hifas externas de la raíz micorrizada son las responsables de la mayor absorción de agua y nutrimentos del suelo, mientras que las internas intervienen más directamente en el intercambio nutricional y metabólico de la relación **hongo-planta**. (18)

En el proceso de micorrización, la raíz formada por los pelos radiculares será sustituida por las hifas del hongo, lo que implica un menor gasto energético a la planta y una mayor área de absorción por la longitud de las hifas externas desarrolladas. Las micorrizas pueden tomar variadas formas dependiendo de la naturaleza de la planta y del hongo. (18)

Los árboles micorrizados se pueden beneficiar de muchas formas, tales como: (23)

1. Aumento en la producción de producción de hormonas estimulantes del crecimiento (auxinas, citoquininas, giberelinas, y tiaminas), que benefician al huésped.
2. Mayor absorción de agua y nutrimentos, ya que el micelio fúngico se prolonga mas al suelo y lo trasloca al sistema radicular.
3. Almacenamiento en su manto fungoso de: nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, cobre, sodio, silicio zinc, aluminio y boro.

4. Tolerancia a sequía, resistencia a altas temperaturas del suelo y valores extremos de pH.

### **3.1.1.1. Tipos de Micorrizas**

1. *Ectomicorrizas*: Son formadas por casi todos los grupos de Basidiomicetos, muchos Ascomicetos hipógeos y algunos epígeos, y por Ficomicetos del género **Endogene**. Este tipo de micorrizas se caracteriza por la formación de una estructura denominada **manto**, compuesta por hifas del hongo densamente agrupadas que envuelven las raicillas finas del huésped. El manto puede ser muy delgado en las ectomicorrizas formadas por el género **Endogene**. A partir de esta estructura y de algunos otros géneros fúngicos pueden irradiar hifas, cordones miceliares y rizomorfos hacia el sustrato. También las hifas penetran hacia el interior del tejido del huésped formando un complejo intercelular denominado **red de Hartig**. No existe penetración intercelular. Las plantas que forman ectomicorrizas son árboles o arbustos pertenecientes a las familias Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae, así como algunas de las familias Rosaceae, Leguminosae, Mirtaceae y otras (24). Se incluye en este grupo la mayoría de las especies arbóreas de interés forestal en climas templados.

2. *Ectendomicorrizas*: Se caracterizan por un manto muy reducido o ausente, red de Hartig bien desarrollada y penetración de las hifas en las células del huésped. Se encuentran asociadas con coníferas, y se encuentran en plantas de viveros. (17)

3. *Micorrizas arbutoides*: Están provistas de manto, hifas de proyección externa y, normalmente, red de Hartig bien desarrollada con penetración intracelular. Las plantas hospedadoras pertenecen a los géneros *Arbutus* y *Arctostaphylos*. (17)

Al ser estos géneros componentes del sotobosque en ecosistemas ectomicorrícicos, en los que los mismos hongos forman micorrizas arbutoides con unas plantas hospedadoras y ectomicorrizas con otras, se ha considerado que las mismas micorrizas arbutoides están mejor clasificadas como un tipo de ectomicorrizas. (17)

### **3.1.1.2. Estructura y función de las Ectomicorrizas**

Las micorrizas son estructuras dinámicas que cambian desde un estado juvenil a la madurez y senescencia. Pueden desaparecer tras un período de actividad, el cual es siempre mayor a la longevidad de una raíz trófica no micorrizada o se pueden adaptar a ciclos de crecimiento. (18)

Según Parláde (17), en estadios iniciales de la infección, las hifas se desarrollan alrededor de células corticales diferenciadas y metabólicamente activas, formando la red de Hartig. En estadios de madurez, las células corticales de la raíz, activas metabólicamente, se hallan rodeadas prácticamente de un sistema de hifas en su totalidad. El estadio de dormición se caracteriza por la formación del metacutis, consistente en una capa protectora constituida por suberificación de las paredes celulares y acumulación



de polifenoles en las células del ápice radicular. De este modo, el meristemo radicular queda protegido y separado del hongo. La zona distal de los sistemas de hifas que constituyen la red de Hartig contiene un citoplasma denso, rico en ribosomas, retículo endoplasmático rugoso y mitocondrias, que frecuentemente recubren las paredes de las hifas. En la zona próxima se sitúan grandes vacuolas. Esta estructura indica la localización de un transporte de nutrientes metabólico y bidireccional.

El manto fúngico está formado por un plecténquima de hifas. En muchas ectomicorrizas se encuentran cordones miceliares y rizomorfas, con estructura dependiente de la especie de hongo implicada. La función de los cordones miceliares es el transporte de agua y nutrientes. (19)

Read y Finlay (4), demostraron que los carbohidratos pueden ser transportados a largas distancias a través de los cordones miceliares interconectados con las raíces. De este modo se suministran carbohidratos a otras micorrizas en formación a partir de micorrizas preexistentes.

La eficiencia de la absorción de nutrientes es incrementada por la presencia de ectomicorrizas. En las micorrizas que no poseen cordones miceliares, el manto es el responsable de la absorción de nutrientes desde el suelo. (17)

La capacidad de captar amonio es importante en los bosques con suelos de bajo pH y bajas tasas de nitrificación. La gran superficie explorada por las hifas y cordones miceliares capacita a las ectomicorrizas para captar cantidades suficientes de amonio, a pesar de la considerable inmovilidad de este elemento. Las micorrizas también aumentan la absorción de elementos más móviles como el nitrato, especialmente en zonas con bajo nivel de nitratos en suelos. (24)

Según Parláde, (17) puede ser demostrada la producción de vitaminas como la biotina, tiamina y ácido pantoténico por numerosos hongos ectomicorrícicos.

### **3.1.1.3. Anatomía de las Ectomicorrizas**

- Desarrollo del Manto y la Red de Hartig.

Las hifas de los hongos ectomicorrícicos tienden a desarrollarse en las superficies radicales. Torres (24), sugiere que una capa de hifas poco densa se desarrolla antes de la iniciación de la red de Hartig. La colonización de la superficie de la raíz por hifas, se ha observado en simbiontes aparentemente incompatibles. Esto sugiere que las envolturas de las hifas pueden ser simplemente el resultado del crecimiento del micelio debido a la estimulación por exudados radicales y, de hecho, no se requiere una unión hongo-raíz. Sin embargo, en el desarrollo de una ectomicorriza, se considera un manto como un tejido compacto, y no como una simple envoltura de hifas. Los **mantos fúngicos** son específicos de las **ectomicorrizas**, y poseen unas características morfológicas y anatómicas propias del hongo simbionte.

Actualmente hay controversia en lo referente a la secuencia de eventos ocurridos durante el desarrollo de una ectomicorriza, mientras que la red de Hartig se forma previamente al manto en diferentes especies de coníferas. (24)

El manto se desarrolla con anterioridad a la red de Hartig en ectomicorrizas estudiadas en Fagus sylvatica. Sin embargo, en las ectomicorrizas formadas por Laccaria bicolor y Pinus banksiana, el manto y la red de Hartig aparecen y se desarrollan de manera simultánea. En angiospermas, los mantos parecen preceder en su organización a la formación de la red de Hartig, debido a que sus raíces son relativamente más resistentes a la penetración de las hifas. (18)

- El Manto.

Según Torres, (23) en un sentido amplio, los mantos maduros son característicos reminiscentes de los tejidos fúngicos observables en los esporocarpos y pueden tener diferentes estratos desde su superficie externa, hasta la interior que está en contacto con la epidermis radical.

Un manto esta formado por hifas. Si las hifas son reconocibles, la estructura se denomina **plecténquima** o **prosénquima**. Ahora bien, pueden ser que las hifas estén tan densamente entrelazadas que no se aprecie la naturaleza filamentosa de las mismas, recibiendo entonces el nombre de **pseudoparénquima** o **sinénquima**, ya que las hifas se agrupan de manera que recuerdan un verdadero parénquima. (24)

Se distinguen nueve subtipos de mantos plectenquimáticos y seis de mantos pseudoparenquimáticos. (24)

#### Plectenquimáticos

1. Grupos de hifas dispuestas en forma de red.
2. Hifas dispuestas de forma irregular sobre la superficie de la raíz.
3. Hifas embebidas en una matriz gelatinosa originada a partir de las paredes de las hifas.
4. Hifas dispuestas en una red desde la que parten cistidios prominentes.
5. Hifas dispuestas en una red producida por la ramificación múltiple de las hifas.
6. Zonas de células redondeadas sobre un manto de hifas entrelazadas.
7. Hifas dispuestas en forma de estrella.
8. Hifas irregulares dispuestas en forma de red. Este tipo es una transición entre tejidos plectenquimáticos y pseudoparenquimáticos.
9. Hifas dispuestas de forma perpendicular a la superficie del manto.

#### Pseudoparenquimáticos

1. Células angulares y grupos de células redondeadas emergentes.
2. Células angulares.
3. Células epidermoides, células que recuerdan en su morfología a las que se encuentran en la epidermis de las hojas.
4. Células más o menos angulares y algunas con gúttulas lipídicas en su interior.

Se ha demostrado que es posible reconocer e identificar hongos ectomicorrícicos por las características anatómicas del manto. Además en la superficie del manto se pueden encontrar estructuras como setas, cistidios, tubos laticíferos, hifas pigmentadas, etc, que ayudan al reconocimiento e identificación del simbionte fúngico. (24)

- La Red de Hartig.

La extensión de la red de Hartig es otra característica importante para la determinación de ectomicorrizas. Puede desarrollarse solo a nivel de la primera capa de células corticales, como ocurre en las angiospermas, o penetrar hasta la endodermis, como es típico de gimnospermas. (24)

En sección transversal, el tipo más común de red de Hartig es la formada por una sola fila entre las células del córtex, pero ocasionalmente pueden existir varias filas. (24)

El micelio que forma la red de Hartig puede extenderse hasta la endodermis en las raíces de gimnospermas, mientras que no suele penetrar mas allá de la epidermis en las raíces de angiospermas (24). Esta distinción puede estar determinada por las diferencias existentes en la química de las paredes celulares, y en la anatomía de la raíz. Muchos miembros de las angiospermas tienen una exodermis que pueden limitar la penetración del hongo de la misma forma que lo hace la endodermis.

Según Torres, (24) se encontró una serie de aperturas en raíces no colonizadas de *Pinus taeda*, que fueron utilizadas como puntos de entrada por hifas de *Pisolithus tinctorius*. Aunque estas aperturas puedan ser utilizadas por hongos ectomicorrícicos, pueden no ser los únicos puntos de entrada, porque la red de Hartig penetra uniformemente en la superficie de la raíz en toda la lámina media.

Se propone que los reguladores del crecimiento de las plantas, producidos por hongos ectomicorrícicos, tienen un papel de alteración de las paredes de las células radicales. (23)

El papel de las interacciones **hongo-planta** en la red de Hartig, así como en la capa más interna del manto, no se conoce. Estas interacciones pueden determinar el crecimiento laberintiforme del hongo, así como la penetración a través de la epidermis y el córtex. (23)

En general, en el desarrollo de la red de Hartig se producen cambios de crecimiento y morfología de las hifas. Las hifas se orientan transversalmente al eje de la raíz y se ramifican irregularmente sin apenas formar septos. La organización de la red de Hartig es cenocítica, encontrándose un número variable de núcleos por compartimientos. Esta estructura parece estar relacionada con la capacidad para el transporte de nutrientes dentro del mismo hongo. (24)

#### **3.1.1.4. Morfología de las Ectomicorrizas**

La morfología de las ectomicorrizas varía según el hongo simbionte y el género al que pertenezca el hospedante. (24)

A continuación se describen los principales caracteres morfológicos que definen una ectomicorriza y que se utilizan para realizar una exhaustiva descripción de la misma. (24)

### III.1. Tipos de Ramificación.

Las ectomicorrizas que aparecen en las especies del género **Pinus** están ramificadas dicotómicamente una o varias veces, dando lugar a sistemas coraloides. Cuando estos sistemas coraloides se ven envueltos por una capa de hifas, se desarrollan los sistemas en forma de nódulos o tubérculos. (24)

Según Torres, (24) existen varios tipos de ramificación que normalmente se presentan en los sistemas radicales de las especies arbóreas ectomicorrícicas más conocidas. Las formas más típicas de las ectomicorrizas son las siguientes. (24)

1. No ramificadas: El sistema micorrícico consiste en micorrizas simples, no ramificadas; el manto envuelve sólo raíces simples. Un ejemplo son algunas ectomicorrizas desarrolladas en el género **Picea**.
2. Monopodial-pinnadas: El sistema micorrícico posee un eje desde el cual se originan ramas laterales más cortas que el eje. Estas ramas se sitúan más o menos en un solo plano. Ejemplo: ectomicorrizas formadas entre **Picea abies** y **Thicholoma vaccinum**.
3. Monopodial-piramidal: Similar a la anterior pero las ramas laterales se originan desde el eje en varios planos (3 ó más). Por ejemplo las ectomicorrizas desarrolladas entre **Fagus sylvatica** y **Lactarius vellereus**.
4. Dicotómicas: El meristemo de la raíz se divide dicotómicamente; las dos ramas laterales crecen con la misma longitud; estas ramificaciones pueden aparecer repetidamente: dicotomías de 2°, 3° er orden, etc. Este tipo de ramificación son típica de ectomicorrizas formadas en el género **Pinus**.
5. Irregular-pinnadas (con ramificaciones dicotómicas): En algunos casos las ramificaciones dicotómicas pueden no distinguirse porque uno o dos ápices micorrícicos crecen más rápido que otros.
6. Coraloides: Sistemas micorrícicos dicotómicamente ramificados o pinnados, con ejes cortos que están densamente ramificados causando una apariencia de coral, Un ejemplo son las ectomicorrizas desarrolladas entre **Rhizopogon** y **Pinus**.
7. Tuberosas: Las micorrizas están muy densamente ramificadas y unidas por una densa capa de hifas que les confiere forma de tubérculo. Este tipo de ramificación aparece en micorrizas formadas entre algunas especies de **Suillus** y **Pinus**.

### 3.1.2. INTERACCIÓN PLANTA-HONGO-MEDIO

#### 3.1.2.1. Papel de la Planta

La morfología y disposición interna de las células radicales, son características del hospedante, pero modificadas por la interacción del hongo. El tipo de ramificación del sistema micorrícico, varía muy poco o no varía entre especies arbóreas del mismo género, pero sí existen grandes diferencias entre géneros. Así por ejemplo, **Populus** y **Salix** poseen ectomicorrizas formadas por un eje central del

que parten ramificaciones cortas (monopodiales); en Castanea, Fagus y Quercus se presentan formas irregulares pinnadas; Abies, Larix, Picea, Pseudotsuga y Tsuga poseen ectomicorrizas regular o irregularmente ramificadas, y además formas piramidales; y en Pinus las ectomicorrizas presentan siempre formas dicotómicas. (24)

En general, la estructura interna de la raíz se modifica por la carencia de epidermis y pelos radicales, y por la distorsión espacial de las células corticales. (24)

En algunos árboles, con determinadas especies fúngicas, se forman ectomicorrizas en forma de nódulos o tubérculos, como en el caso de Pinus más Rhizopogon. (24)

### **3.1.2.2. Papel del Hongo**

El hongo simbiote es el que directa o indirectamente produce cambios en la raíz, hasta transformarla en una ectomicorriza. Rodea a la raíz con sus hifas, formando un manto bien diferenciado. Las hifas penetran entre las células corticales formando la red de Hartig. La interacción con la raíz provoca un cambio en las dimensiones de las células corticales. También estimula un crecimiento diferencial de la raíz, como la formación de dicotomías en el género Pinus; esta diferenciación puede estar condicionada por la producción auxinas por el hongo simbiote. (24)

Diferentes aislamientos de algunos hongos ectomicorrícicos crecido en un mismo medio nutritivo varían en color y textura del micelio. Estas diferencias culturales en morfología no se reflejan sin embargo en la micorriza. Por otro lado, la mayoría de las especies fúngicas se diferencian por caracteres de sus estructuras reproductoras y no por caracteres del micelio vegetativo, y forman por lo tanto ectomicorrizas completamente idénticas. (24)

Se ha sugerido que algunos hongos ectomicorrícicos pueden modificar las micorrizas morfológicamente cuando se asocian con determinadas especies arbóreas. Una especie fúngica puede incluso formar ectomicorrizas con una planta hospedante y endo o ectendomicorriza con otra. (24)

### **3.1.2.3. Papel del Medio**

Aunque los factores del medio pueden influir en la morfología y anatomía de las ectomicorrizas, pueden ser responsables en la gran mayoría de cambios que pueden ocurrir dentro de la constitución de las ectomicorrizas. (24)

Un ejemplo es la influencia del pH del medio, que puede provocar cambios en el color de la ectomicorriza, aunque todavía no está muy claro que esto ocurra siempre. (24)

## **3.1.3. IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS**

### **3.1.3.1. Usos Exitosos de las Micorrizas:**

Según Trappe (25), la capacidad de los hongos ectomicorrícicos introducidos artificialmente para competir con éxito con otros microorganismos de la rizósfera, es uno de los factores considerados en la selección de hongos para su uso en prácticas de inoculación en viveros. También observó que las plantas

de abeto de **Douglas** producidas a raíz desnuda crecían mejor con dos hongos formando ectomicorrizas que con uno solo.

Según Marx (10), plantúlas desarrolladas de **Pinus taeda** (Hr) y **Pinus echinata** (Pers. S) desarrolladas en vivero con ectomicorrizas formadas por **Pisolithus tinctorius** (Pers. Coker y Couch), sobrevivieron y desarrollaron significativamente mejor que plántulas con **Thelephora terrestris** (Bk. We) sobre restos de carbón ácido en Kentucky y Virginia.

La efectividad de la inoculación de plantas de vivero con hongos ectomicorrícicos requiere la persistencia del hongo posterior al trasplante a campo, siendo deseable que el hongo se extienda rápidamente en el suelo durante el establecimiento inicial de la planta. (10)

Según Parláde (17), existió colonización de plántulas en restos de antracita en Pensilvania, donde se 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 supervivientes fueron: **Inocybe lacera**(Fr), **Amanita muscaria** (Ex. H) , **Thelephora terrestris** (Bk. We), **Scleroderma aurantium** (Pers) y **Pisolithus tinctorius** (Pers. Coker y Couch).

La presencia o carencia de hongos ectomicorrícicos nativos capaces de infectar la especie forestal con la que se va a repoblar, debe ser evaluada en las zonas de plantación para determinar la necesidad de utilizar plantas que ya vengan inoculados del vivero. (18)

Fogel (5), estimó que el 40% de la incorporación anual de nitrógeno en un bosque de abeto de Douglas se debía a los hongos ectomicorrícicos, lo cual coincide con los resultados obtenidos en trabajos sobre fisiología de ectomicorrizas, en los que se encontró que el manto fúngico funcionaba como un tejido de acumulación y almacenamiento, función que lleva a cabo el córtex en raíces no infectadas.

El material fúngico, rico en nutrimentos, es aprovechado por insectos y otros pequeños animales micófagos, que contribuyen a su diseminación. El micelio de los hongos es ingerido por animales tales como colémbolos y nemátodos, y los cuerpos fructíferos (especialmente de hongos ectomicorrícicos) y esclerocios constituyen una importante fuente de alimento para algunos micromamíferos (6). Aunque las actividades micófagas de los animales han sido consideradas como una contribución a la diseminación de esporas de hongos (especialmente hipogeos), posiblemente desarrollen otro papel importante en el ecosistema como la contribución a la rotura del eficiente ciclo cerrado de nutrientes en el sistema micorrícico, y la redistribución de material rico en nutrientes como orina, heces o cadáveres en las distintas capas del suelo. (17)

Los hongos micorrícicos median directamente en las interacciones entre plantas al menos de tres formas: en primer lugar, permitiendo a los árboles competir con éxito con la vegetación herbácea por recursos (17), pudiendo además detoxificar el suelo de agentes aleloquímicos producidos por estas

plantas; en segundo lugar, disminuyendo la competencia entre plantas e incrementando la productividad de las combinaciones de especies, especialmente en suelos con limitaciones de fósforo (19); y, en tercer lugar, estableciendo uniones entre plantas de la misma o de distintas especies mediante hifas que actúan como rutas de transferencia de materiales. (19)

La formación de micorrizas es esencial en la vegetación de zonas con bajo contenido de nutrientes como las escombreras de minas áridas, bordes de carreteras, canteras, etc. (9)

Los microorganismos y las micorrizas afectan a la formación del suelo y a sus características estructurales, produciendo compuestos húmicos, acelerando la descomposición de minerales primarios y produciendo sustancias adhesivas (**polisacáridos extracelulares**) que aglutinan partículas del suelo constituyendo agregados estables (17).

Los dos primeros procesos son importantes en la fertilidad del suelo y en la nutrición de la planta. La formación de agregados influye en las propiedades del suelo, proporcionando una porosidad que permite, por un lado, el drenaje de agua y la aireación del suelo, y por otro, la retención de agua. (19)

Se demostró que el micelio de los hongos ectomicorrícicos está concentrado en los estratos de materia orgánica del suelo, como la mayoría de las raíces que colonizan. Esta es, evidentemente, la zona en la cual tienen los procesos cruciales de movilización de nutrientes. (17)

### **3.1.3.2. Nutrición de la planta Micorrizada**

Los macronutrientes necesarios para la nutrición de los hongos micorrícicos son **Carbono, Nitrógeno, Potasio, Azufre y Magnesio**; los anteriores elementos deben estar disponibles y, en trazas lo suficientemente altas para la subsistencia de los mismos, así como los siguientes micronutrientes: **Cobre, Zinc, Manganeso, Molibdeno y Hierro**, en cantidades menores pero disponibles. (18)

Existe un transporte de carbohidratos desde el huésped hacia el hongo. Así mismo, las hifas absorben nitrógeno, fósforo, potasio y calcio que transportan hacia el huésped. Finlay y Read (4), demostraron que los carbohidratos pueden ser transportados a largas distancias a través de los cordones miceliares interconectados con raíces. De esta manera, se suministran carbohidratos a otras micorrizas en formación a partir de micorrizas preexistentes. El azúcar preferido por la mayoría de los hongos micorrícicos es la **D-glucosa**, aunque también pueden utilizar manosa y fructosa que proporcionan cantidades adecuadas de azúcares; mientras que no existe preferencia para el consumo de lignina y celulosa. El nitrógeno es absorbido preferentemente por las ectomicorrizas, y pueden utilizar nitratos tan eficientemente como el **amonio** para su nutrición y su normal desarrollo. Los hongos implicados en la simbiosis también son capaces de captar aminoácidos, como glutamato y glutamina entre otros compuestos químicos. (17)

La capacidad de captar amonio es importante en los bosques con suelos de bajo pH y bajas tasas de nitrificación. La gran superficie explorada por las hifas y cordones miceliares capacita a las

ectomicorrizas para captar cantidades suficientes de amonio, a pesar de la considerable inmovilidad de este elemento. Las micorrizas también aumentan la absorción de elementos más móviles como el nitrato, especialmente en zonas con bajo nivel de nitratos en suelo. (18)

La absorción de fosfatos y su transporte por el simplasto en ectomicorrizas fue demostrada por Finlay y Read (4). La tasa de absorción de fosfatos depende de la tasa de respiración y no puede ser intensificada por la tasa de transpiración. El fósforo se almacena como polifosfatos en las vacuolas fúngicas de los cordones miceliares y el manto. Los polifosfatos se acumulan en forma de gránulos metacromáticos y se movilizan cuando es necesario. La transferencia de fósforo al huésped se supone que está interconectada con la transferencia de carbohidratos al hongo; en el caso del fósforo, en medios artificiales, se utiliza fosfato inorgánico de potasio, pero en su hábitat normal, el humus del suelo, el fosfato puede estar presente como fosfato orgánico. El potasio se absorbe con facilidad y se acumula en el manto (17). El calcio se puede encontrar en los gránulos de polifosfatos, (24). Se demostró que la excesiva absorción de calcio y potasio en suelos calcáreos es reducida por la micorrización. (17)

La mayoría de los hongos ectomicorrícicos, si bien producen vitaminas necesitan de algunas como: biotina (vitamina H), ácido pantoténico, tiamina (Vitamina B-1) para su crecimiento. (17)

### 3.1.3.3 DESCRIPCIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO MMN. (Melin-Norkrans Modificado)

El medio de cultivo MMN es un excelente sustrato para la producción de micelio como inóculo. Por décadas el medio Melin - Norkrans, ha sido el nutrimento básico en la síntesis de ectomicorrizas asépticamente. La formulación modificada consiste simplemente en un enriquecimiento de este medio nutritivo. La formulación de MMN es como se observa en el cuadro 1.

Cuadro 1. Formulación del medio MMN

CANTIDAD	COMPOSICION
0.05 gr	CaCl <sub>2</sub>
0.25 gr	NaCl
0.25 gr	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0.15 gr	MgSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O
1.2 ml	FeCl <sub>3</sub>
100 ug	Tiamina HCl
3 gr	Extracto de Malta
10 gr.	Glucosa

Fuente: Tesis. Ing. Agr. Torres Herrera. (23)

Luego se agregan 20 gr. de agar. Todos estos compuestos se diluyen en un litro de agua destilada. Después de autoclavar, la formulación del medio deberá tener un pH de 5.5 a 5.7. (23)



### 3.1.3.4 FERTILIZACION

Se preparó para cada fertilización 10 litros de solución con los siguientes compuestos.

PETER M77	18.0 gr
FETRILON	1.2 gr

Los cuales sé llevaron a un pH de 5.5, y se aplicarán foliarmente 10 ml de solución x planta cada 15 días.

DOSIFICAR 10 ml DE SOLUCION DE FERTILIZANTE CADA DOS SEMANAS

#### CUADRO 2. COMPOSICION QUIMICA DE LOS FERTILIZANTES EMPLEADOS

Elemento	Peter M77 20-7-19	Fetrilon	total mg x planta
nitrógeno	3.60		3.60
fósforo	1.29		1.29
potasio	3.42		3.42
hierro	0.07	0.16	0.23
magnesio	--		
manganeso	0.01		0.01
zinc	0.01		0.01
cobre	0.01		0.01
boro	0.0045		0.0145
molibdeno	0.0009		0.0109

### 3.1.4. PRODUCCIÓN DE MICORRIZAS

Los hongos micorrícicos, necesitan un óptimo pH, entre 4.5 a 5.0, aunque toleran desde 2 hasta 6 para su normal desarrollo y crecimiento. Posen temperaturas óptimas entre 18 y 25 grados centígrados. Son organismos obligadamente aeróbicos y fotoinactivos.

#### 3.1.4.1. FORMAS DE INOCULACIÓN ARTIFICIAL:

La introducción artificial de hongos micorrícicos es utilizada para asegurar una buena micorrización en plantas producidas en viveros; se deben desarrollar procedimientos para la inoculación con hongos específicos, y perfeccionar el suministro de nutrientes y agua para adaptar el manejo del vivero a las condiciones necesarias para el mantenimiento de la simbiosis **planta-hongo**. La introducción de cepas de hongos micorrícicos se puede realizar de distintas formas: **suelo, planta micorrizadas, esporas y micelio**.

(2, 22)

### I. Utilización de Suelo.

El inóculo natural más usado, especialmente en países en vías de desarrollo, es suelo o humus que contiene esporas, micelio y micorrizas, y se recolecta de plantaciones establecidas de pino. Este se mezcla con el sustrato del vivero. Para obtener resultados satisfactorios la mezcla debe mantenerse húmeda, hasta su uso. (17)

La desventaja de este procedimiento es la de no poseer un control adecuado sobre especies de hongos indeseables para la zona de transplante (patógenos y hongos con poca tolerancia a cambios de pH y condiciones edáficas). Por otra parte el suelo recolectado puede contener microorganismos que pueden ser potencialmente dañinos y pueden afectar a la plantación. Además, se requiere el manejo de grandes cantidades de inóculo, lo cual trae problemas al terreno de donde se extrajo. (24)

### II. Utilización de Planta Micorrizada.

En este método se utilizan plántulas infectadas que son recolectadas de plantaciones establecidas. El micelio desarrollado a partir de las micorrizas de las plantas infectadas se desarrolla rápidamente e infecta a otras plántulas que están próximas (17). Esta metodología consiste en la utilización de ectomicorrizas recolectadas de plantaciones. Ha sido aplicado únicamente en condiciones experimentales por el inconveniente de requerir grandes cantidades de inóculo. (17)

### III. Utilización de Esporas.

Este procedimiento es utilizado a partir de esporas procedente de inóculo, para desarrollar micorrizas específicas con hongos conocidos. (17)

Según Trapee (25), los primeros intentos de inoculaciones con esporas se desarrollaron en el siglo XVIII mediante la aplicación de esporocarpos de trufas en agujeros practicados debajo de robles en plantaciones, para asegurar la producción de trufas.

Los hongos del grupo de los **Gasteromicetos**, tales como *Rhizopogon*, *Scleroderma* y *Pisolithus*, producen numerosas basidiosporas fáciles de coleccionar en grandes cantidades. Las esporas se recolectan tras la desecación de los esporocarpos y se aplican en seco o mediante agua de riego. (24)

La inoculación con esporas presenta ventajas e inconvenientes frente al inóculo vegetativo. Entre las ventajas, se considera que este tipo de inóculo no requiere una fase de crecimiento en cultivo puro, es ligero, puede obtenerse en grandes cantidades y algunas especies pueden tolerar largos períodos de almacenamiento sin ver su viabilidad drásticamente reducida. Entre los inconvenientes, se encuentra la carencia de metodología para determinar la viabilidad de las esporas, la irregular fructificación de esporocarpos, el mayor tiempo requerido para la formación de micorrizas en comparación con el inóculo vegetativo y la falta de definición genética en el inóculo. (12)

#### IV. Utilización de Micelio.

Es uno de los métodos más sanos biológicamente usados en inoculación. La utilización de inóculo vegetativo o miceliar fue iniciada en Australia por Moser (24), citado por Marx (12) a partir de cultivos líquidos de Suillus plorans (Br. K) mantenidos bajo aireación y transferidos posteriormente a un sustrato sólido de turba humedecida con solución nutritiva fresca. Esta metodología ha sido la base para investigaciones posteriores sobre la producción de inóculo. (14, 17)

Producir grandes cantidades de inóculo vegetativo de un hongo, será de poca efectividad, si el inóculo no puede sobrevivir los rigores de varias manipulaciones tales como: procesos físicos (mezclado, lavado, secado) para luego incorporarlo al suelo (24, 3). Así como la falta de supervivencia a un mínimo de 4 a 6 semanas entre el suelo inoculado y la producción de raíces cortas por las plántulas.

Según Parladé (17), los métodos actuales de inoculación con micelio de hongos ectomicorrícicos, han sido probados experimentalmente con aislamientos seleccionados previamente por hábitat, localidad geográfica, especies asociadas, crecimiento en cultivo y capacidad de formación de ectomicorizas en cultivo puro. La producción de inóculo se ha realizado generalmente en un sustrato de **turba-vermiculita** (inóculo vegetativo) y mediante la inclusión del micelio en un gel de alginato.

El sustrato de crecimiento a partir de una mezcla de turba y vermiculita. Tiene ventajas económicas y funcionales. Entre sus principales características se encuentran. (17)

1. Ligereza de peso, lo que permite facilidad de operación.
2. Uniformidad en la composición, precio relativamente bajo y fácilmente disponible.
3. Relativamente libre de plagas y enfermedades.
4. Elevada capacidad de intercambio catiónico.
5. Elevada capacidad de almacenamiento de agua, con lo cual se requiere menor frecuencia de irrigación.
6. pH ácido.
7. Buena aireación y drenaje, lo que favorece el desarrollo de las raíces cortas.

La turba procede del musgo Sphagnum sp. y no tiene ningún fertilizante añadido. Este tipo de turba tiene una gran capacidad de retención de agua y es la más adecuada para su utilización como sustrato de contenedores. (17)

La vermiculita es un material micáceo que se expande a altas temperaturas (1100°C), formando unas partículas que encierran pequeñas cavidades de aire. Químicamente es un silicato de magnesio, aluminio y hierro hidratado. Cuando está expandida es muy ligera y posee (100-140 kg x m<sup>3</sup>) de reacción neutra y con buena capacidad tampón. Tiene además una elevada capacidad de intercambio catiónico con lo que puede almacenar nutrientes y liberarlos lentamente. La mezcla de turba y vermiculita se realiza en la proporción **1:1 (v:v)** con lo que se han obtenidos buenos resultados en el desarrollo de la mayoría de

especies de coníferas; el pH final de la mezcla es de 5.5, favorable para el crecimiento de la mayoría de hongos ectomicorrícicos. (24)

El sustrato de turba y vermiculita que se compra en Guatemala procedente de negocios de Canadá, Estados Unidos de América y México, actualmente es bastante utilizada la mezcla de ambos para la producción de planta de hortaliza, café y otros. En otros países es empleada en gran escala para la producción de planta forestal es usada para la producción a gran escala; de preferencia mezcladas o solo turba. (24)

No se usa arena blanca porque afecta la porosidad del sustrato, el mejor mantenimiento del hongo en los contenedores. La arena sí se recomienda para sustrato de experimentos a raíz desnuda en el suelo. (24)

### **3.1.5. TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE PLANTAS FORESTALES EN VIVERO**

La producción de plantas en vivero forestales puede realizarse a raíz desnuda y en contenedor. Ambos tipos presentan ventajas e inconvenientes. (17)

En los viveros a raíz desnuda, las plantas crecen en almácigos expuestos bajo determinadas condiciones culturales, y luego son extraídas del suelo, seleccionadas y embaladas para su envío a la zona de plantación. (17)

Las principales características de los viveros a raíz desnuda son: (17)

1. Los árboles crecen en el suelo. Como consecuencia, se requiere un suelo adecuado para el crecimiento.
2. Se requieren grandes cantidades de agua para irrigación.
3. Las plantas están expuestas al tiempo adverso.
4. Se requiere una superficie considerable de terreno de buena calidad, maquinaria especial, edificios de soporte y sistemas de irrigación.
5. La optimización de costos requiere trabajar al límite de la capacidad del vivero.
6. Los períodos de crecimiento están controlados por el clima.
7. Se requiere poca energía en comparación con los invernaderos.
8. Las plantas pueden ser empaquetadas en poco volumen aunque requieren humedad y bajas temperaturas para su mantenimiento.
9. La capacidad amortiguadora de las condiciones ambientales permite minimizar los errores culturales.

La producción de plantas en contenedor se refiere a viveros en los que las plantas crecen en un sustrato dentro de un contenedor especialmente diseñado. Los contenedores pueden mantenerse al aire libre en climas templados, aunque en climas rigurosos se sitúan en un invernadero o umbráculo donde se puede controlar el ambiente. Las principales características de este tipo de producción son: (17)

1. Puede establecerse en tierras con poco valor agrícola.

2. No se requiere una gran cantidad de agua.
3. Las plantas no están expuestas a situaciones climáticas extremas, por lo que la producción es más segura.
4. La producción puede ajustarse a la demanda con más facilidad que en la producción a raíz desnuda, ya que cada unidad de producción funciona de manera independiente con sus propios costos.
5. Se utiliza una gran cantidad de energía que se consume para incrementar la velocidad y seguridad en la producción.
6. Los contenedores son voluminosos para embalar y enviar. Sin embargo, el mantenimiento de las plantas en buen estado supera al de plantas producidas a raíz desnuda.
7. El ambiente controlado del vivero dificulta la aparición de enfermedades y plagas, aunque su diseminación e incidencia suele ser mayor que en viveros a raíz desnuda.
8. La producción de plantas en contenedores es más rápida que a raíz desnuda.

El interés por la producción de plantas en contenedor se extendió desde principios de la década de los 50 para acortar el período de producción y hacer más eficiente el uso de semilla mejorada genéticamente (17). Desde entonces, se han realizado múltiples mejoras técnicas que han incrementado la producción y mejorado la respuesta en campo de las plantas. Entre los primeros contenedores utilizados se encuentran las bolsas perforadas de polietileno que han tenido buena aceptación por su bajo precio. Sin embargo, este tipo de contenedores provoca el crecimiento circular de las raíces que hacen problemático el sostenimiento de la planta, provocando pérdidas importantes en la plantación. Las bolsas de polietileno no controlan la formación de la raíz en espiral y las plántulas generalmente son inestables después de la plantación. Este problema llega a ser mucho peor cuando las plántulas no son plantadas en el tiempo adecuado y son dejadas en el contenedor. Generalmente las bolsas de polietileno se establecen una al lado de la otra en el suelo, lo que permite que las raíces más agresivas se desarrollen en el mismo; pero al momento del traslado al campo definitivo, muchas plántulas están fuertemente enraizadas y no sobreviven o no crecen bien después de plantadas. (17)

La mayoría de los contenedores actuales tienen una capacidad entre 65 y 165 c.c. La forma del contenedor es importante para el correcto crecimiento de la raíz de la planta. Los contenedores de plástico más adecuados tienen nervios longitudinales a lo largo de la parte interna del contenedor y un agujero en la base, lo que permite a la raíz crecer correctamente y autopodarse al llegar al final del contenedor, con lo que previene la espiralización radicular. (16)

### 3.2. MARCO REFERENCIAL

Las características generales de área que cubrirá el estudio se describen a continuación:

#### 3.2.1. Localización

Invernadero de la Facultad de Agronomía. USAC. Ciudad Capital.

#### 3.2.2. Clima y zona de vida

Según el mapa de zonas de vida al nivel de reconocimiento de la República de Guatemala, a escala 1:600,000; publicado por el Instituto Nacional Forestal, la ciudad de Guatemala se encuentra dentro de la zona de vida: Bosque Húmedo Subtropical templado (Bh - st). (15)

Las condiciones climáticas del invernadero son las siguientes:

- A. Precipitación media anual: 1,216.2 mm, distribuidos en 110 días, en los meses de Mayo a Octubre.
- B. Temperatura media anual: 18.3°C.
- C. Humedad relativa (media): 79%
- D. Insolación promedio: 6.65 horas/día
- E. Radiación: 0.33 cal/cm<sup>2</sup>/min.

#### 3.2.3. Descripción de Pinus maximinoi H.E. Moore

*Pino, ocote, Pino canis*

Es uno de los pinos más finos que crece bajo climas tropicales y semi tropicales, en México y América Central. Colecciones de semillas han sido plantadas por miembros de organizaciones de CAMCORE (Centro de investigaciones de coníferas de México y Centro América), en Venezuela, Colombia, Brasil y Sur África.

**El árbol:** Un pino muy fino, alto, recto con una copa muy clara de 20-35 metros de altura, y con diámetro de hasta un metro. Estos árboles tienen las ramas más horizontales. (8)

**Corteza** En árboles viejos la parte baja de la corteza se encuentra áspera y dividida por círculos horizontales y largos, poseen fisuras largas y horizontales de color café plateado. En la parte alta del tronco, la corteza es más suave y más café grisenta; los árboles jóvenes tienen más suave y grisenta la corteza en el tronco. (8)

**Ramas** Son largas y flexibles, algunas están colgando; la base de las hojas no está bien sujeta y sumergida dentro de la corteza, dejando las ramas suaves, ligeramente introducidas en escala. (8)

**Hojas:** Se encuentran distribuidas en grupos de 5; miden de 15-18 cm de largo, muy delgadas, 0.7-0.8 mm de ancho, inclinadas, finalmente dentadas (serradas). Los canales de la resina son medianos, usualmente 3, pero ocasionalmente 2 ó 4. Hipodérmicas, a menudo de formas profundas. (8)

**Distribución:** Tiene una amplia distribución en México, desde Sinaloa, hasta Chiapas; encontrándose de igual manera en Guatemala y escasamente en bosques pequeños en El Salvador, principalmente a lo largo de la frontera con Honduras. (8)

En Honduras se encuentran en la frontera con Guatemala y al Sudoeste con Nicaragua.

**Hábitat:** Pinus maximinoi (H. E. Moore), crece a elevaciones de 600 - 2400 msnm, pero crece mejor en altitudes de 800 a 1,500 msnm, encontrándose los mejores estándares de crecimiento bajo climas semitropicales, con suelos muy agrietados y con lluvias anuales entre 1,000 a 2,000 mm al año. (8)

#### 4. OBJETIVOS

- 4.1.** Conocer la capacidad infectiva de cepas de, Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers) en plántulas de pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore) para la formación de ectomicorrizas.
- 4.2.** Describir las características morfológicas y anatómicas de las micorrizas formadas por Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers) en plántulas de pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore).
- 4.3.** Establecer si existe diferencia en producción de biomasa entre plántulas de pino candelillo (Pinus maximinoi H. E. Moore) micorrizadas y no micorrizadas de 5 meses de edad, evaluando altura, diametro, longitud de raíces y peso fresco y seco de la parte aérea y radicular.



## 5. HIPÓTESIS

5.1. La inoculación con micelio y/o esporas de los hongos Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers); producirá ectomicorrizas incremento de biomasa en plántulas de pino a las que se aplique. Este incremento podrá notarse en la altura, diámetro de tallos, peso fresco y seco de las partes aéreas y radicales de las plántulas y porcentaje de micorrización.

## 6. METODOLOGIA

### 6.1. DESINFECCIÓN, Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS

Las semillas de Pinus maximinoi (H. E. Moore), fueron conservadas a 4°C, se limpiaron superficialmente en agua corriente en circulación durante 12 horas. Transcurrido este período, se eliminaron las semillas que permanecieron en flotación (vanas), y se procedió a la desinfección superficial de las restantes mediante su inmersión en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% durante 2 minutos. Una vez desinfectadas, se lavaron con una cantidad suficiente de agua destilada estéril (120 °C durante 15 minutos); para eliminar el exceso de desinfectante y se sembraron asépticamente en los contenedores en sustratos inoculados.

### 6.2. TECNICAS DE INOCULACION Y DOSIFICACION DE INOCULO

#### ECTOMICORRIZICO.

#### 6.2.1 INOCULACIONES CON MICELIO PRODUCIDO EN SUBSTRATO DE TURBA-VERMICULITA.

La producción de inóculo miceliar en sustrato de turba-vermiculita se realizó siguiendo la técnica descrita por Pera (18), con algunas modificaciones. Las cepas fúngicas, aisladas en cultivo puro, se transfirieron de la colección de cultivos a placas Petri con medio de cultivo agar **Melin-Norkrans** modificado (**MMN**) Marx (9). y se incubaron a 25 °C durante 30 días. A partir de las colonias obtenidas, se transfirieron 15 discos de micelio de 5 mm de diámetro a frascos con tapón de rosca que contenían 70 ml de medio líquido **MMN** estéril (120 °C, 15 minutos). Los cultivos líquidos se incubaron a 25 °C durante 15-40 días (según la rapidez del crecimiento del hongo) y se agitaron cada 5-7 días para fragmentar el micelio y conseguir un crecimiento disperso y uniforme. Los hongos empleados fueron: Laccaria laccata A-127 (cepa extranjera) y Pisolithus tinctorius (cepa nativa).

El sustrato para la producción de los inóculos se preparó en frascos de tapón de rosca de 2 lt de capacidad. Cada frasco contenía 1100 ml de vermiculita, grado 2 (2 mm de tamaño de partícula), 100 ml de turba de Sphagnum tamizada (2 mm de tamaño de partícula) y 600 ml de medio líquido **MMN** modificado. Los componentes se mezclaron por agitación y los frascos preparados se autoclavearon a 120 °C durante 20 minutos.

A cada frasco se transfirieron, asépticamente, 140 ml de cultivo líquido del hongo se incubaron a 26 °C hasta conseguir un crecimiento total en todo el sustrato del inóculo (60 días). Transcurrido el período de incubación, el inóculo se mezcló con un sustrato de turba y vermiculita previamente, desinfectado con el que se llenaron los contenedores.

### 6.2.2 DOSIFICACION DE INOCULO (micelio)

El inóculo se mezcló con sustrato de turba-vermiculita (1:1, v:v) desinfectado (120 °C, 60 minutos) estableciendo una dosis de inoculación por cepa de: 1:8 para Pisolithus tinctorius y 1:16 para Laccaria laccata (inóculo : sustrato, v:v). Se prepararon 10 contenedores por dosis y se sembraron tres semillas Pinus maximinoi (H. E. Moore), desinfectadas, en cada contenedor. Una vez germinadas, se dejó una sola planta por contenedor, los tratamientos se distribuyeron totalmente al azar en el invernadero de la Facultad de Agronomía.

Después de 20 semanas de crecimiento, se recogieron 30 plantas al azar por tratamiento, se lavó el sistema radical para liberarlo del sustrato de cultivo, y se tomaron los datos del **diámetro de tallo, altura de planta, porcentaje de micorrización, peso seco de la parte aérea y el peso seco de la parte radical** de cada una de las plantas. Los porcentajes de micorrización se determinaron por recuento directo, a la lupa binocular, de tres muestras tomadas al azar del sistema radical de cada planta. En cada muestra se contaron un total de 100 a 200 raíces cortas.

### 6.2.3. INOCULACION CON ESPORAS

Tras la recolección, los esporocarpos se identificaron y se limpiaron cuidadosamente con pincel de cerdas gruesas. Posteriormente se desecaron en una estufa con circulación de aire. Mediante raspados, se recolectaron basidiosporas de los hongos Pisolithus tinctorius y Scleroderma sp; se recolectó 0.1 gramo de material de cada hongo. Luego se mezcló con H<sub>2</sub>O destilada más 5 gotas de Tween 20, agitándose por 10 minutos, posteriormente se procedió al conteo de esporas mediante un hematocitómetro.

### 6.2.4. DOSIFICACION DEL INOCULO (esporas)

Las dosis utilizadas para la inoculación con esporas fueron: Pisolithus tinctorius  $1 \times 10^5$ ; y Scleroderma sp  $1 \times 10^5$ ; se prepararon 10 contenedores por dosis, inoculando 10 ml de la solución por contenedor y se sembraron 3 semillas de pino desinfectadas en cada contenedor.

## 6.3. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DE MICORRIZAS

El diseño experimental para este estudio fue el del completamente al azar con tres repeticiones.

Los tratamientos fueron asignados a las unidades experimentales aleatoriamente (al azar). Se utilizó este diseño debido a que las condiciones del experimento fueron homogéneas.

## • NUMERO DE UNIDADES EXPERIMENTALES

$n = tr$

$t = 5$  tratamientos

$r = 3$  repeticiones

$n = 15$  unidades experimentales

## • MODELO ESTADISTICO

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

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

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

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta de  $ij$  - esima unidad experimental

$\mu$  = Efecto de la media general

$T_i$  = Efecto de la  $i$ esima cepa sobre la  $ij$  - esima unidad experimental

$E_{ij}$  = Efecto del error experimental de la  $ij$  - esima unidad experimental.

## • TRATAMIENTOS

### 1. Laccaria laccata (micelio) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

El inóculo se obtuvo después de un cultivo por 2 meses en sustrato de turba mas vermiculita más solución nutritiva. Se realizó una mezcla de 1:16 (v:v 1 parte de inóculo y 15 de sustrato). En cada tratamiento se sembraron 3 semillas de Pinus maximinoi (H. E. Moore) por contenedor. Después de 15 días de germinadas se dejó solamente la planta más desarrollada. Se distribuyeron al azar y cada 15 días las plantas recibieron fertilización foliar.

### 2. Pisolithus tinctorius (esporas) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

La dosis utilizada para esta cepa fue  $1 \times 10^5$  esporas x ml de solución, aplicándose 10 ml de solución x planta. Sembrándose 3 semillas por contenedor, dejándose al momento de la germinación la planta mas desarrollada. Se distribuyeron uniformemente al azar 3 repeticiones en el invernadero de la Facultad de Agronomía.

### 3. Sclerotinia sp (esporas) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

La dosis utilizada para esta cepa fue  $1 \times 10^5$  esporas x ml de solución, se aplicaron 10 ml de solución/planta. Sembrándose 3 semillas por contenedor, dejándose al momento de la germinación la

planta mas desarrollada. Sé distribuyeron uniformemente al azar 3 repeticiones en el invernadero de la Facultad de Agronomía.

4. Phisolithus tinctorius (micelio) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

El inóculo se obtuvo después de un cultivo por 2 meses en substrato de turba más vermiculita más solución nutritiva. Se realizó una mezcla de 1:16 (v:v), sembrándose 3 semillas por contenedor, dejándose al momento de la germinación la semilla o planta mas desarrollada. Sé distribuyeron uniformemente al azar 3 repeticiones en el invernadero de la Facultad de Agronomía.

5. Testigo (sin inóculo)

Este tratamiento consistió en dejar germinar 3 semilla de pino en el substrato de turba mas vermiculita del contenedor. El tiempo de permanencia fue de 5 meses. Sé distribuyeron uniformemente al azar 3 repeticiones en el invernadero de la Facultad de Agronomía

#### 6.4. VARIABLES DE RESPUESTA A EVALUAR

Luego de permanecer 5 meses el experimento en invernadero, sé realizaron las siguientes variables de respuesta para la obtención del beneficio aportado por las micorrizas en las plántulas.

- Altura de plantas

La altura de las plántulas se obtuvo desde el hipocótilo hasta la copa; medición que se realizó luego de 5 meses de permanencia en el invernadero de la Facultad de Agronomía.

- Diámetro de tallo

Se efectuó esta medición luego de 5 meses finalizado el experimento; está variable se dio a conocer obteniendo el diámetro de la región de inicio de las yemas primarias. Se utilizó un vernier para efectuar la medición.

- Peso fresco y seco de las partes aéreas y radiculares.

Luego de 5 meses finalizado el experimento sé pesaron las partes aéreas y radiculares de las plantas por separado. Una vez medidas sé procedió a medir el peso seco por separado al horno a 30°C durante un periodo de 3 días.

- Porcentaje de micorrización

Para la realización de este punto se contó el número de raíces secundarias (cortas), micorrizadas y no micorrizadas por planta. De la medida del conteo por planta se extrajo dicho porcentaje.

##### 6.4.1. ANALISIS DE DATOS

A las variables de respuesta se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA), y una prueba múltiple de medias de TUKEY.

#### **6.4.2. MANEJO DEL EXPERIMENTO**

Las semillas de pino se colocaron en contenedores provistos de turba-vermiculita inoculados con las 3 cepas de hongos seleccionados más un grupo control sin inóculo (testigo). Posteriormente fueron colocados por un periodo de 20 semanas a nivel de invernadero.

- Riego

El riego que se efectuó a las plantitas de pino fue en forma periódica, cada 3 a 4 días, con una regadera, evitando las salpicaduras de bandeja en bandeja.

- Fertilización

La fertilización de las plantas se ha realizado con unos fertilizantes a partir de quelatos: Fetrilon y Peter M77; para proporcionar hierro y micronutrientes respectivamente.

La aplicación de los fertilizantes se realizó cada 15 días a partir de un mes después de la siembra, combinando 3.6 gr de Peter M77, 0.24 gr de Fetrilon por dos litros de fertilizante preparado con agua corriente; el fertilizante previo a su incorporación se llevo a un pH de 5.5, dispersando 10 ml. por planta.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ANATÓMICAS

#### 7.1.1. Laccaria laccata (micelio) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

Ectomicorrizas claro amarillento, Abundante micelio algodonoso laxo blanquecino amarillento, escasos cordones miceliares interconectados entre las raíces micorrizadas.

Superficie con manto de aspecto liso, delgado y brillante, en algunas un poco algodonosa, poco micelio envolviendo las raíces, la mayoría de las micorrizas se situaron en la parte superior de las raíces; aunque hubo distribución a lo largo del eje radical. La mayor parte de micorrizas son simples o bifurcadas simples. Con un tamaño de 0.5 mm de ancho y 2 mm de largo. Abundantes raíces secundarias. No se observaba micelio en el substrato del tuvo de síntesis. La profundidad del manto fue de 17 micras, red de harting 25 micras y el grosor de hifas fue de 2.5 micras. Después de 4 meses los tratamientos fueron contaminados con esporas de Pisolithus tinctorius.

#### 7.1.2. Pisolithus tinctorius (esporas) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

Ectomicorrizas gruesas de color café amarillento claro, simples o doblemente bifurcadas, llegando a formar estructuras coraloides de 0.8 mm a 2.3 mm de longitud.

La mayor parte de las micorrizas se situaron en la parte superior de las raíces, además en esta parte se dio una mayor bifurcación de las raíces. El manto, café claro, cubre la raíz micorrizada, y presenta un aspecto fibriloso y compacto, en las porciones superiores y media. Existió presencia de abundantes cordones miceliares y rizomorfas café amarillento claro, partiendo siempre de la misma. La profundidad del manto fue de 17 micras, red de harting 20 micras y el grosor de hifas fue de 1.5 micras. El micelio es café mostaza claro.

#### 7.1.3. Pisolithus tinctorius (micelio) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

El micelio no sobrevivió más allá de 2 meses. Se dio un inicio de micorrización pero este no prosperó.

#### 7.1.4. Scleroderma (esporas) mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

Ectomicorrizas blanquecinas con un ligero tono rosado claro; simples en muy poca proporción, la mayor parte de ellas bifurcadas y dicómicamente bifurcadas, sobre todo en la parte media y superior de la raíz principal. De 1 a 4 mm de longitud. Manto de aspecto liso con pequeñas hundiciones (puntos), delgado y compacto en las micorrizas jóvenes pero algodonoso y con poco micelio externo, el cual envolvía a las micorrizas maduras.

Abundantes rizomorfos y cordones miceliares, interconectandose entre las micorrizas, blanco amarillento claro. Presencia de micelio externo, rosado claro sobre las raíces. Se formaron pocas

ectomicorrizas. La profundidad del manto fue de 20 micras, red de harting 22 micras y el grosor de hifas fue de 3.0 micras.

Se observó poco micelio en el substrato del contenedor.

#### 7.1.5. Control mas Pinus maximinoi (H. E. Moore).

No existió presencia de micorrizas ni elementos fúngicos. Con finas raíces, todas con pelos radiculares a diferencia de las raíces micorrizadas, que carecen de ellos. Este tratamiento presentó menor altura, peso fresco y seco, desarrollo radicular y diámetro, contrastando con los tratamientos micorrizados.

### 7.2. ALTURAS DE PLANTULAS

La altura de plantulas de pino mostró una diferencia entre plantas inoculadas y no inoculadas. Se observan diferencias entre tratamientos.

El análisis de varianza para la variable altura de los datos anteriores se presenta en el cuadro 3.

CUADRO. 3 ANDEVA PARA LA ALTURA DE PINOS INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	245.77	61.44	500.89	0.0001
Error	10	1.23	0.13		
Total	14	246.9			

Coefficiente de Variación = 2.52

En el anterior análisis se observó que existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY, que se muestra en el cuadro 4.

CUADRO. 4 PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA ENTRE ALTURAS DE Pinus maximinoi (H. E. Moore); INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
Laccaria laccata (micelio)	19.40	A
Pisolithus tinctorius (esporas)	16.67	B
Scleroderma (esporas)	14.33	C
Pisolithus tinctorius (micelio)	11.67	D
Testigo	7.67	E



Existe una diferencia marcada en la altura de las plantas de *Pinus maximinoi* (H.E. Moore) inoculado con los hongos micorrizicos; se observó que al utilizar *Laccaria laccata* (micelio), se dio mayor incremento en altura (19.40 cm), respecto al testigo. Los otros tratamientos también resultaron efectivos pero en menor grado, respecto a *Laccaria laccata* (micelio), seguido por *Pisolithus tinctorius* (esporas) y *Scleroderma* sp (esporas), los cuales presentaron alturas de, 16.67 y 14.33 cm. El (Testigo) no presentó infección micorrizica, presentando bajos índices de altura. Ver figura 1.

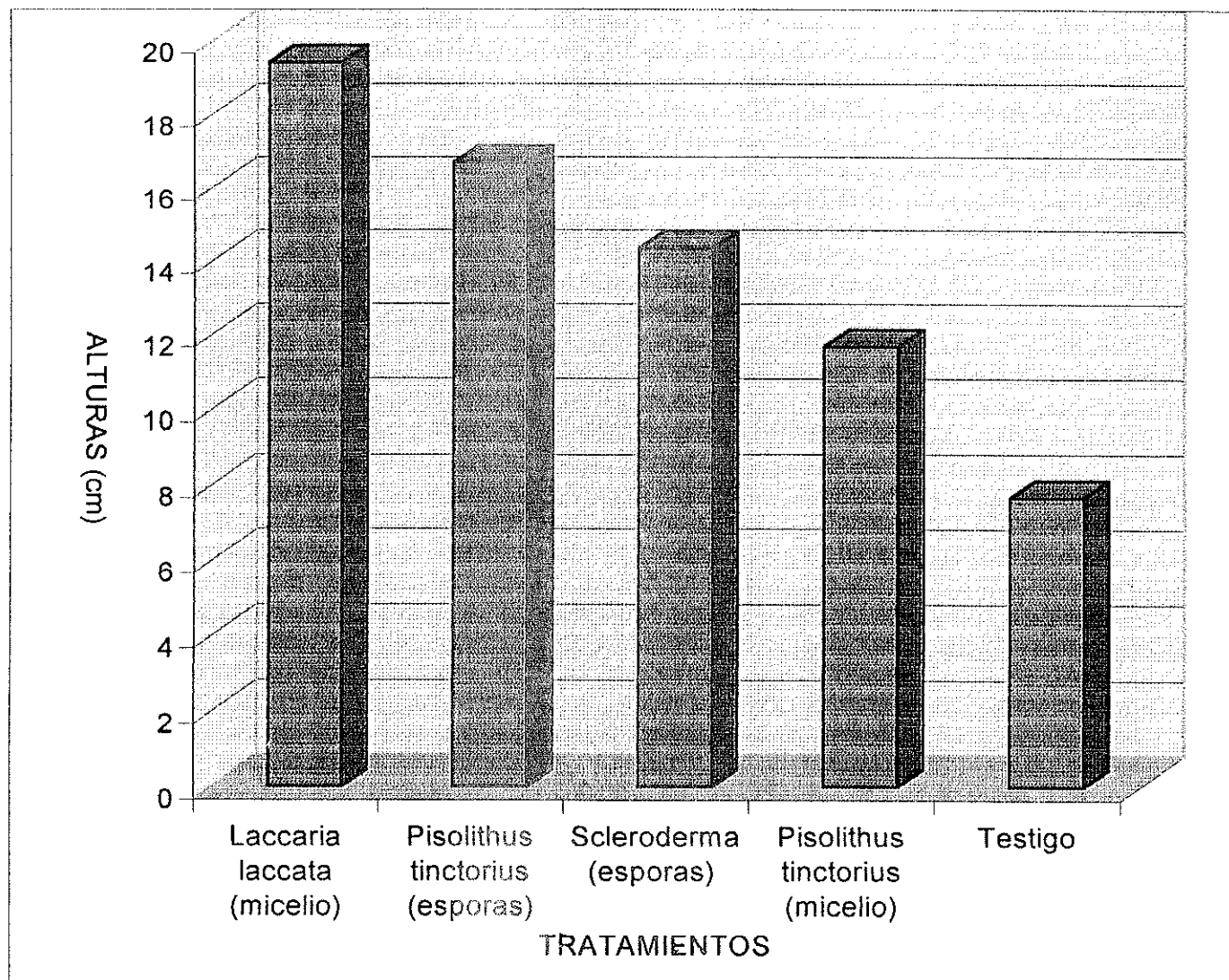


FIGURA. 1 ALTURAS DE TRATAMIENTOS DE PLANTULAS DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRIZICOS CONTRA UN TESTIGO.

### 7.3. PESO FRESCO TOTAL DE PLANTULAS

El análisis de varianza para la variable peso fresco total de plántulas de pino se presentan en el cuadro 5.

CUADRO. 5 ANDEVA PARA PESO FRESCO DE PINO INOCULADO CON 3 HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	13.53	3.38	265.4	0.0001
Error	10	0.13	0.013		
Total	14	13.66			

Coefficiente de Variación = 5.38

Debido a que se manifestó significancia entre tratamientos de cepas micorrícicas en la variable peso total de plántulas, se procedió a efectuar la prueba de TUKEY; que se muestra en el cuadro 6.

CUADRO. 6 PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA ENTRE PESO FRESCO TOTAL DE *Pinus maximinoi* (H. E. Moore) INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
<i>Laccaria laccata</i> (micelio)	3.36	<b>A</b>
<i>Pisolithus tinctorius</i> (esporas)	2.83	<b>B</b>
<i>Scleroderma</i> (esporas)	2.10	<b>C</b>
<i>Pisolithus tinctorius</i> (micelio)	1.53	<b>D</b>
Testigo	0.67	<b>E</b>

Queda demostrado estadísticamente que en la fase experimental la utilización de hongos micorrícicos proporciona un follaje más denso. Al inocular *Laccaria laccata* en *Pinus maximinoi* (H. E. Moore) el desarrollo de la planta manifestó una diferencia notable en relación con el testigo. *Laccaria laccata* (micelio) fue el que mayor peso fresco, obtuvo una media de 3.36 gm; mientras que el Testigo obtuvo una media de 0.67 gm.

Debido a que las micorrizas son organos de producción de auxinas, giberalinas y otras hormonas, el aumento en crecimiento y grosor de las plantulas puede verse manifestado en plántulas inoculadas de vivero.

#### 7.4. PESO FRESCO AEREO

El análisis de varianza para la variable peso fresco aéreo de plántulas de pino se presentan en el cuadro 7.

CUADRO. 7 ANDEVA PARA PESO FRESCO AEREO DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	3.39	0.87	197.3	0.0001
Error	10	0.42	0.004		
Total	14	3.43			

Coefficiente de Variación = 5.8

Debido a que se manifestó significancia entre tratamientos de cepas micorrícicas en la variable peso fresco aéreo de plantulas, se procedió a efectuar la prueba de TUKEY; que se muestra en el cuadro 8.

CUADRO. 8 PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA EN PESO FRESCO AEREO TOTAL DE *Pinus maximinoi* (H. E. Moore) INOCULADO CON 3 HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
<i>Laccaria laccata</i> (micelio)	1.86	A
<i>Pisolithus tinctorius</i> (esporas)	1.47	B
<i>Scleroderma</i> (esporas)	1.19	C
<i>Pisolithus tinctorius</i> (micelio)	0.92	D
Testigo	0.46	E

En el cuadro 8 es evidente que el tratamiento menos eficiente fue el testigo, el cual proporcionó un peso fresco aéreo de 0.46 gm, en comparación al tratamiento 1 *Laccaria laccata* (micelio), que obtuvo una media de 1.86 gm.

*Pisolithus tinctorius* (esporas) y *Scleroderma* (esporas) fueron utilizados para determinar la eficiencia en el tipo de inoculación. En este experimento fue mejor la utilización de esporas de *P. tinctorius* obteniendo una media en peso fresco aéreo de 1.47 gm, mientras que con la utilización de *Scleroderma* se obtuvo una media de 1.19 gm.

### 7.5. PESO FRESCO DE RAIZ

El análisis de varianza para la variable peso fresco de raíz de plántulas de pino se presentan en el cuadro 9.

CUADRO. 9 ANDEVA PARA PESO FRESCO RADICULAR DE PINO  
INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	3.52	0.88	60.08	0.0001
Error	10	0.15	0.014		
Total	14	3.67			

Coeficiente de Variación = 12.63

En el anterior 9 se nota que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos cepas micorrizicas, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY que se muestra en el siguiente cuadro.

CUADRO. 10 PRUEBA DE TUKEY PARA LA DIFERENCIA EN PESO FRESCO  
RADICULAR TOTAL DE Pinus maximinoi (H. E. Moore) INOCULADO  
CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
<u>Laccaria laccata</u> (micelio)	1.57	A
<u>Pisolithus tinctorius</u> (esporas)	1.25	B
<u>Scleroderma</u> (esporas)	1.14	B
<u>Pisolithus tinctorius</u> (micelio)	0.62	C
Testigo	0.20	D

NOTA : Los tratamientos con las mismas letras son estadísticamente iguales.

En cuanto al peso fresco radicular existe una clara diferencia comparando el Testigo contra los tratamientos micorrizados; el efecto del incremento en peso se debe al número de raíces micorrizadas. Producto de la inoculación artificial.

Laccaria laccata (micelio) demostró ser el más infectivo; obtuvo una media de 1.57 gm, de peso fresco radicular, por encima del resto de tratamientos. Los tratamientos en esporas de Pisolithus tinctorius (esporas) y Scleroderma (esporas) son estadísticamente iguales aunque ligeramente menores en efecto a Laccaria laccata.

Los tratamientos micorrizados mostraron un aumento de peso radicular, debido a que la formación del sistema radicular es incentivada por la simbiosis mutualística entre el hongo micorrizico y las plántulas de pino.

### 7.6. DIAMETRO DE PLANTULAS

El análisis de varianza para la variable diámetro de plántulas de pino se presentan en el cuadro 11.

CUADRO. 11 ANDEVA PARA DIAMETRO DE PINO INOCULADO  
CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	6.51	1.63	57.7	0.0001
Error	10	0.28	0.23		
Total	14	6.79			

Coeficiente de Variación = 10.0

En el cuadro 11 se nota que existe diferencia altamente significativa entre tratamientos de cepas micorrizicas, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY que se muestra en el cuadro 12.

CUADRO. 12 PRUEBA DE TUKEY PARA DIAMETRO DE *Pinus maximinoi* (H. E. Moore)  
INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN  
TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA mm	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
<i>Laccaria laccata</i> (micelio)	2.86	A
<i>Pisolithus tinctorius</i> (esporas)	2.0	B
<i>Scleroderma</i> (esporas)	1.66	C
<i>Pisolithus tinctorius</i> (micelio)	1.23	D
Testigo	0.98	D

NOTA : Los tratamientos con las mismas letras son estadísticamente iguales.

En el cuadro 12 se puede observar que *Laccaria laccata* (micelio) fue el que proporcionó al pino un tallo de mayor grosor (2.86 mm) respecto a los otros tratamientos.

Pisolithus tinctorius (micelio) y el testigo no mostraron diferencias significativas en cuanto a diámetro de plántulas de pino.

Los hongos ectomicorrícicos al infectar las plántulas de pino, sustituyen las raíces secundarias por hifas que absorben de una mejor manera, ejerciendo un menor gasto energético sobre la planta, Este estrecho contribuye también al engrosamiento y prolongación del tallo. A nivel de vivero es importante la variable diámetro al momento en que es transplantada a campo definitivo, ayudándola al sostenimiento, mejor capacidad de transporte de nutrientes.

### 7.7. PESO SECO AEREO DE PLANTULAS

El análisis de varianza para la variable peso seco aéreo de plántulas de pino se presentan en el cuadro 13.

CUADRO. 13 ANDEVA PARA PESO SECO AEREO DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	1.33	0.33	504.13	0.0001
Error	10	0.007	0.0006		
Total	14	1.34			

Coefficiente de Variación = 4.12

En el cuadro 13 se nota que existe diferencia altamente significativa entre tratamientos de cepas micorrícicas, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY que se muestra en el cuadro 14.

CUADRO. 14 PRUEBA DE TUKEY PARA PESO SECO AEREO DE Pinus maximinoi (H. E. Moore) INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
Laccaria laccata (micelio)	0.96	A
Pisolithus tinctorius (esporas)	0.81	B
Scleroderma (esporas)	0.68	C
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.55	D
Testigo	0.09	C

En el cuadro 14. Se puede observar que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos.

El testigo fue el que más humedad perdió 80.0 por ciento, para esta variable evaluada el mejor fue el tratamiento Scleroderma (esporas) ya que solo existió una pérdida del 37.61 por ciento.

La utilización de micorrizas en la producción de planta forestal en vivero contribuye al incremento de la biomasa de las plantas infectadas con los distintos hongos micorrícicos evaluados.

El incremento en la biomasa favorece a la planta tanto al momento del trasplante como en el desarrollo posterior hasta la obtención de madera.

### 7.8. PESO SECO RADICULAR

El análisis de varianza para la variable peso seco radicular de plántulas de pino se presentan en el cuadro 15.

CUADRO. 15 ANDEVA PARA PESO SECO RADICULAR DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	0.556	0.139	473.20	0.0001
Error	10	0.02	0.0002		
Total	14	0.559			

Coefficiente de Variación = 4.96

En el cuadro 15 se nota que existe diferencia altamente significativa entre tratamientos de cepas micorrícicas, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY que se muestra en el cuadro 16.

CUADRO. 16 PRUEBA DE TUKEY PARA PESO SECO RADICULAR DE Pino maximinoi (H. E. Moore) INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA gr	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
Laccaria laccata (micelio)	0.60	A
Pisolithus tinctorius (esporas)	0.47	B
Scleroderma (esporas)	0.34	C
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.28	D
Testigo	0.06	C

En el cuadro 16. Se puede observar que existen diferencias significativas entre todos los tratamientos.

Los resultados son notorios ya que todos los tratamientos micorrizados obtuvieron más raíces secundarias con puntas micorrizadas, dando como resultado mayor capacidad de absorción de nutrientes.

Experimentalmente, en fase de vivero, las plántulas de pino candelillo (Pino maximinoi) (H. E. Moore) manifestaron un mejor desarrollo radicular con los distintos hongos micorrícicos evaluados, esto se pudo comprobar en las plantas de Pisolithus tinctorius (micelio) y testigo donde no existieron micorrizas; y donde se produjeron menos.

La utilización de hongos micorrícicos en la producción de planta forestal de calidad contribuye al aumento y desarrollo prolongado de la raíz primaria y raíces secundarias de las plantas infectadas, así como de micorrizas. El desarrollo radicular favorece a la planta tanto al momento del transplante como en el ciclo de vida.

### 7.9. PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS

El análisis de varianza para la variable porcentaje de puntas micorrizadas de plántulas de pino se presentan en el cuadro 17.

CUADRO. 17 ANDEVA PARA PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TESTIGO.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	4	20363.6	5090.9	60.9	0.0001
Error	10	836.0	83.6		
Total	14	21199.6			

Coefficiente de Variación = 25.8

En el cuadro 17 se nota que existe diferencia altamente significativa entre tratamientos de cepas micorrícicas, por lo que se procedió a efectuar la prueba de TUKEY que se muestra en el cuadro 18.



CUADRO. 18 PRUEBA DE TUKEY PARA PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS DE Pinus maximinoi (H. E. Moore) INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO.

TRATAMIENTO	MEDIA %	AGRUPAMIENTO DE TUKEY AL 5%
<u>Laccaria laccata</u> (micelio)	84.00	A
<u>Pisolithus tinctorius</u> (esporas)	76.33	A
<u>Scleroderma</u> (esporas)	12.33	B
<u>Pisolithus tinctorius</u> (micelio)	0.00	B
Testigo	0.00	B

Los tratamientos con las mismas letras son estadísticamente iguales.

En este caso la prueba de TUKEY forma dos grupos de tratamientos. Los tratamientos con medias más altas son los que formaron un mayor porcentaje de infección radicular (micorrización). Laccaria laccata (micelio) y Pisolithus tinctorius (esporas) fueron los más infectivos, mostrando una alta incidencia de micorrización, como se muestra en la figura 2.

Pinus maximinoi (H. E. Moore) inoculado con Pisolithus tinctorius (micelio) no resultó efectivo debido, posiblemente, a la manipulación del inóculo y ala aplicación inicial del fertilizante a nivel radicular.

La aplicación de esporas ha resultado eficaz, con un porcentaje de micorrizas del 76.33 por ciento. La dosis de  $1 \times 10^5$  esporas x planta fue efectiva, tal y como recomienda la bibliografía consultada. (17, 18)

La aplicación de inóculo de Pisolithus tinctorius en forma de esporas ha resultado efectiva en la formación de micorrizas en ensayos previos con Pinus sp. (11, 21). El umbral a partir del cual se detecta efectividad en la estimulación del crecimiento en campo de plantas inoculadas con Pisolithus tinctorius, se ha establecido en un 50 por ciento de las raíces cortas infectadas en Pinus sp.(13)

El alto porcentaje de micorrizas obtenido para esta cepa micorrícica, ofrece buenas expectativas para la adecuación y comportamiento de la planta luego de ser transplanta a campo definitivo.

La aplicación de inóculo de Scleroderma sp. en forma de esporas, formó un bajo porcentaje de micorrizas (4.33% de raíces cortas infectadas), esto explica que deberán experimentarse dosis mas altas para aumentar el porcentaje de micorrización con este hongo.

La investigación sobre la metodología de las inoculaciones artificiales en vivero se ha centrado principalmente en la problemática de la producción de inóculo vegetativo (11, 21), aunque algunas especies de hongos como P. tinctorius han sido utilizados con éxito en forma de inóculo de esporas para la inoculación de plantas en viveros forestales a raíz desnuda y en contenedor (13).

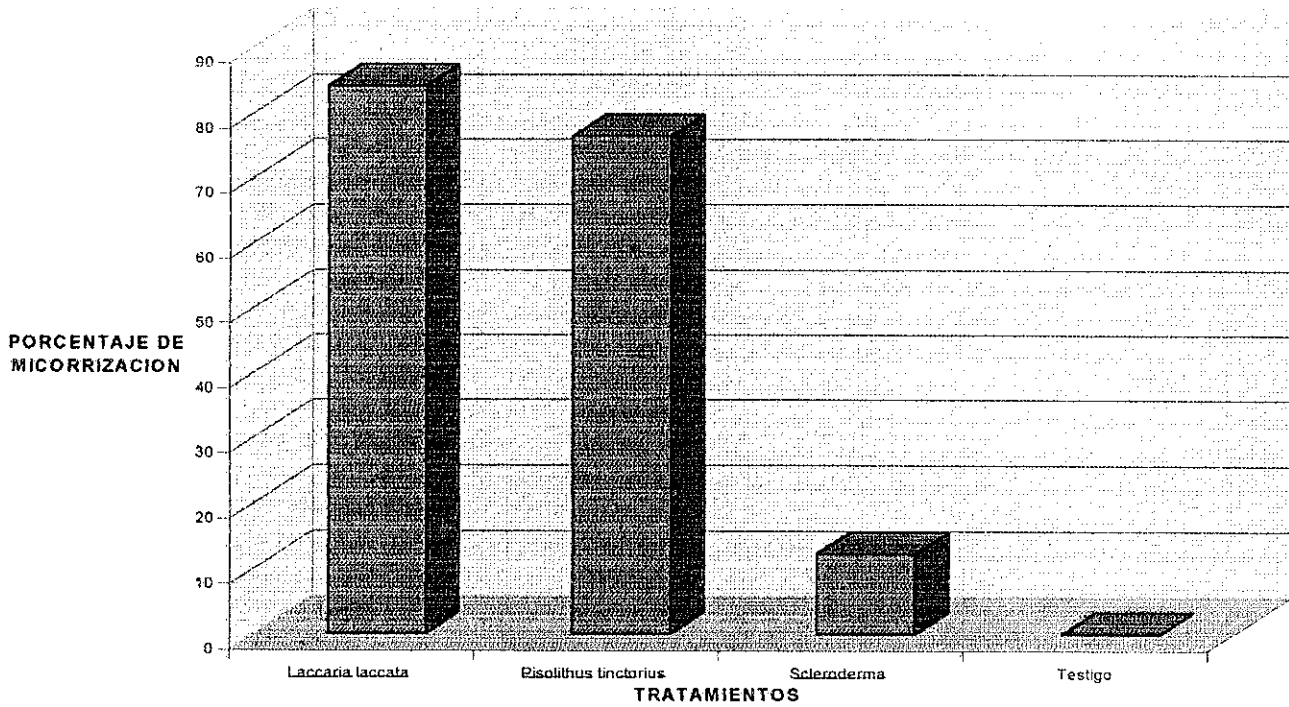


FIGURA. 2 PORCENTAJE DE MICORRIZACION DE PLANTULAS DE PINO INOCULADO CON TRES HONGOS MICORRICICOS CONTRA UN TESTIGO.

## 8. CONCLUSIONES

1. Se demostró la capacidad formadora de micorrizas en Pinus maximinoi (H. E. Moore) con 3 especies de hongos: Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.) A-127 (micelio), Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) (esporas) y Scleroderma sp (Pers) (esporas).
2. Al inocular Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.) A-127 (micelio), Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) (esporas) y Scleroderma sp (Pers) (esporas) en plántulas de Pinus maximinoi (H. E. Moore) se produjo un incremento en altura, peso fresco aéreo y radicular, peso seco aéreo y radicular, diámetro de plántulas y porcentaje de puntas radiculares micorrizadas, respecto al tratamiento no inoculado.
3. La inoculación con esporas de Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Scleroderma sp (Pers) ha sido efectiva para la producción de micorrizas, situación que podría recomendarse para la mejoría de viveros forestales.
4. Existieron diferencias estadísticas significativas al utilizar Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.) (micelio), respecto a los otros hongos, ya que proporcionó un mayor efecto positivo en Pinus maximinoi (H. E. Moore), para todas las variables evaluadas.
5. La aplicación de las dosis de inóculo utilizadas son efectivas para la producción de micorrizas en planta de Pinus maximinoi (H. E. Moore).
6. La utilización de contenedores y sustrato de turba mas vermuculita es efectiva para la producción de planta micorrizada, ya que facilita la extracción y manejo de plantas para estudios de observación.

## 9. RECOMENDACIONES

1. Evaluar en viveros, el uso de Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br.) (micelio), Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) (esporas) y Scleroderma sp (Pers) (esporas) a diversas dosis para determinar la mejor concentración en la producción de planta de pino micorrizado.
2. Se recomienda realizar investigaciones sobre el comportamiento en campo de plantas inoculadas, para determinar la existencia de cambios fúngicos en el sistema micorrízico, y comparar el incremento y desarrollo de las mismas frente a plantas sin inocuar.
3. Para la inoculación artificial en Pinus maximinoi (H. E. Moore). se recomienda la utilización de esporas, ya que es un método de inoculación fácil y barato, del cual se obtienen buenos resultados
4. Ampliar el estudio sobre hongos para su aplicación a especies nativas de pino y encino de zonas semiáridas del país.

## 10. BIBLIOGRAFIA

1. AINSWORTH, G. C.; SUSSMAN, A. S. 1968. the fungi; An advanced treatise. London, England, Academic, Press. v. 3, p. 139 - 171.
2. ALVAREZ, I, s. f. Aislamiento y cultivo de hongos ectomicorrícicos. Asturias, España. Centro de Experimentación Agraria. 7 p.
3. \_\_\_\_\_ s. f. Producción y manejo de inóculo; Técnicas de inoculación con MEC. Asturias, España, Centro de Experimentación Agraria. 6 p.
4. FINLAY, R.D. y READ, D.M. 1986. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants II; The uptake and distribution of phosphorus by mycelial strands interconnecting host plant. *New phytol*, (E.E.U.U), 103: 157-165.
5. FOGEL, R. 1980. Mycorrhizae and nutrient cycling in natural forest ecosystems. *New Phytol*, (E.E.U.U). 86: 199-212.
6. FOGEL, R.; TRAPPE, J. M. 1978. Fungus consumption mycophagy by small nimal. *N.W. Sci.* (E.E.U.U). 52: 1-31.
7. GUATEMALA. MINISTERIO DE AGRICULTURA GANADERIA Y ALIMENTACION. Plan de Acción Forestal para Guatemala. 1996. El rol de la foresteria comunitaria en el desarrollo de Guatemala. Boletín informativo no. 3. 11 p.
8. MARTINES, M. 1948. Los pinos mexicanos. 2 ed. México, Botas. 361 p.
9. MARX, D.H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections I; Pathogenic fungi and soil bacteria. *Pathopathology*, (E.E.U.U), 59: 153-163.
10. MARX, D.H.; BRYAN. W. C 1975. Growth and ectomycorrhizal development of blolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiont *Pisolithus sp.* *For. Sci*, (E.E.U.U), 21: 245:254.
11. MARX, D.H. 1980. Ectomycorrhiza fungus inoculations : a tool for improving forestation practices. En Tropical mycorrhiza research. P. Mikola ed. Oxford, E.E.U.U; p. 13-71.

12. MARX, D.H.; KENNEY, D.S. 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. *Phytopathol. Soc. (E.E.U.U)* p. 131-146.
13. MARX, D.H., RUEHLE, J.L y CORDELL.C.E. 1996. Methods for estudyng nursery and field response of tress to specific ectomycorrhiza. En *Methods in microbiology*. Norris, D.J. Read, A.J y Varma A.K. ed. London, England, Academic Press p. 384-411.
14. MITCHELL, R.J. et al. 1984. Inoculation of three quercus species with eleven isolates of ectomycorrhizal fungi; Foliar nutrient content and isolate effectiveness. *For. Sci. (E.E.U.U)*. 30:563-572.
15. MORALES CAYAY, M.A. 1992. Efecto de cinco frecuencias sobre el rendimiento y Evapotranspiración del cultivo de zanahoria (*Daucus carota*. L.) en el valle central de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 82 p.
16. MULLER, EMIL.; LOEFFLEER. 1976. *Micología*. Trad. Dr. Xavier Llimona Pagés. Barcelona, España, Omega. 345 p.
17. PARLADE IZQUIERDO, X. 1992. Técnicas de inoculación de Abeto de Douglas (*Pseudotsuga menziensii*. ( Mirb ) Franco) con hongos ectomicorrícicos y su Aplicación en reforestación. Tesis. Ph. D. España, Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Biología. 202 p.
18. PERA ALVAREZ, J.I. 1992. Selección de hongos ectomicorrícicos de *Pinus pinaster* para su aplicación en reforestación. Tesis. Ph. D. España. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Biología. 178 p.
19. PERRY, D.A.; MOLINA, M.P. 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospher and reforestation: current knowlwdge and research nees. *Can. J. For. Res. (E.E.U.U)*, 17: 929-940.
20. PELZAR, READ, CHAN. 1993. *Microbiología*. Traducido por Jorge Tay Zavala. 4 ed. México, McGraw-Hill. 826 p.
21. RUEHLE, J.L. 1980. Inoculation of containerized loblolly pine seedlings with basidiospore of *Pisolithus tinctorius*. *U.S.A. Forest Serv. Res.* 291 p.
22. SHENCK, N. C. 1982. *Methods and principles of Mycorrhizal Research*. Minnesota, EE.UU., The American Phytopathological Society. p. 115-144.

23. TORRES HERRERA, J.A. 1989. Aislamiento, Identificación y evaluación de hongos ectomicorrícicos de Pinus sp de la cuenca del río Villa Lobos, Depto de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 43 p.
24. TORRES MARTINES, P. 1992. Estudio de las ectomicorrizas de pino Carrasco (Pinus halapensis. Miller) Tesis. Ph. D. Españã, Barcelona, Universidad de Murcia, Facultad de Biología. 71 p.
25. TRAPPE, J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Ann. Rev. Phytopathol, ( E.E.U.U), 15: 203-222.
26. UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA. Facultad de Agronomía. 1996. La Deforestación en Guatemala. Cuaderno Chac. 26 p



Vº. Bº.

Miriam De La Roca

**11. ANEXOS**



ALTURA DE PLANTAS DE PINO INOCULADAS CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO A LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	ALTURA (cm.)			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	20.0	19.0	19.2	19.4
Pisolithus tinctorius (esporas)	17.0	16.5	16.5	16.67
Scleroderma (esporas)	14.5	14.0	14.5	14.33
Pisolithus tinctorius (micelio)	11.5	12.0	11.5	11.67
Testigo	7.5	8.0	7.5	7.67

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PESO TOTAL DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO A LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	PESO FRESCO (gr)			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	3.5	3.2	3.4	3.36
Pisolithus tinctorius (esporas)	2.9	2.8	2.8	2.83
Scleroderma (esporas)	2.0	2.2	2.1	2.10
Pisolithus tinctorius (micelio)	1.5	1.7	1.4	1.53
Testigo	0.71	0.7	0.6	0.67

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PESO FRESCO AEREO DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS  
CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO  
A LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	PESO FRESCO AEREO (gr)			
	1	2	3	Media
Laccaria laccata (micelio)	1.89	1.78	1.92	1.86
Pisolithus tinctorius (esporas)	1.50	1.48	1.45	1.47
Scleroderma (esporas)	1.09	1.2	1.29	1.19
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.92	0.97	0.88	0.92
Testigo	0.5	0.5	0.4	0.46

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PESO FRESCO RADICULAR DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS  
CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO  
A LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	PESO FRESCO RAIZ (gr)			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	1.61	1.52	1.58	1.57
Pisolithus tinctorius (esporas)	1.27	1.32	1.18	1.26
Scleroderma (esporas)	0.91	1.32	1.18	1.14
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.58	0.78	0.52	0.62
Testigo	0.20	0.27	0.14	0.20

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

DIAMETRO DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS CON  
TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO  
A LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	DIAMETRO (mm)			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	2.8	2.7	3.1	2.86
Pisolithus tinctorius (esporas)	1.9	1.6	1.5	1.66
Scleroderma (esporas)	2.2	1.9	1.9	2.0
Pisolithus tinctorius (micelio)	1.1	1.2	1.4	1.23
Testigo	1.02	0.96	0.97	0.98

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PESO SECO AEREO DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS CON  
TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO A LOS  
CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	PESO SECO AEREO (gr)			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	0.98	0.93	0.99	0.96
Pisolithus tinctorius (esporas)	0.82	0.81	0.81	0.81
Scleroderma (esporas)	0.68	0.67	0.71	0.68
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.51	0.57	0.59	0.55
Testigo	0.089	0.102	0.086	0.09

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PESO SECO RADICULAR DE PLANTULAS DE PINO INOCULADAS  
CON TRES HONGOS MICORRICICOS Y UN TRATAMIENTO TESTIGO A  
LOS CINCO MESES DE EDAD.

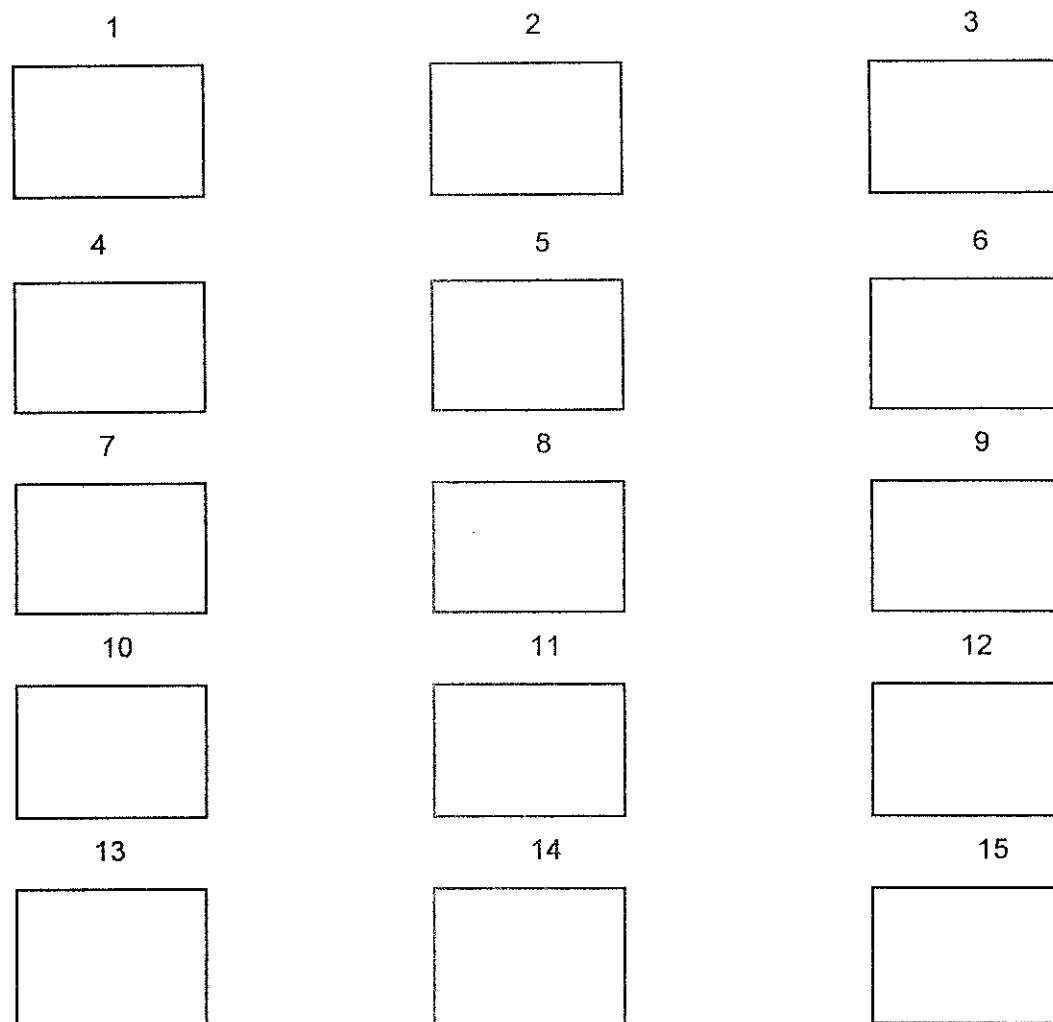
TRATAMIENTO	PESO SECO RADICULAR (gr)			
	1	2	3	Media
Laccaria laccata (micelio)	0.6	0.58	0.62	0.60
Pisolithus tinctorius (esporas)	0.48	0.46	0.47	0.47
Scleroderma (esporas)	0.35	0.34	0.35	0.34
Pisolithus tinctorius (micelio)	0.25	0.29	0.31	0.28
Testigo	0.065	0.073	0.04	0.06

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS DE PLANTULAS  
DE PINO INOCULADAS CON TRES HONGOS MICORRICICOS  
Y UN TRATAMIENTO TESTIGO LOS CINCO MESES DE EDAD.

TRATAMIENTO	PORCENTAJE DE PUNTAS MICORRIZADAS			
	1	2	3	media
Laccaria laccata (micelio)	65	97	90	84.00
Pisolithus tinctorius (esporas)	78	80	71	76.33
Scleroderma (esporas)	8	8	21	12.33
Pisolithus tinctorius (micelio)	0	0	0	0.00
Testigo	0	0	0	0.00

Nota : Cada unidad experimental contó con 10 plantas.

**CROQUIS DEL EXPERIMENTO**

Nota: La unidad experimental esta formada por 10 plantas, cada tratamiento esta formado por 30 plantas.

**ALEATORIZACION**

La aleatorización se realizó por medio del recipiente por sorteo y quedó definido de la siguiente manera.

# UNIDAD EXPERIMENTAL	TRATAMIENTO
1	T4 r3
2	T5 r3
3	T5 r1
4	T3 r2
5	T1 r1
6	T1 r2
7	T4 r1
8	T2 r1
9	T3 r3
10	T2 r2
11	T4 r2
12	T3 r1
13	T1 r3
14	T2 r3
15	T5 r2



FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS


LA TESIS TITULADA: "EFICIENCIA EN LA PRODUCCION DE MICORRIZAS Y AUMENTO DE BIOMASA EN PLANTULAS DE PINO CANDELILLO (Pinus maximinoi H. E. Moore) CON Laccaria laccata (Scop. Ex. Fr. Bk. e. Br) Pisolithus tinctorius (Pers. Coker y Couch) y Sclerodermasp. (Pers) EN CONTENEDOR".


DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: MARVIN GAUDENCIO URIZAR QUEZADA

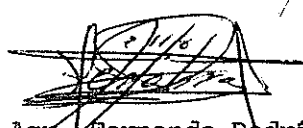
CARNET No: 9117916

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Víctor M. Alvarez Cajas  
Ing. Agr. Gustavo Alvarez Valenzuela  
Ing. Agr. Boris Méndez Paiz

Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

  
Ing. Agr. Edil Rodríguez Quezada  
A S E S O R

  
Lic. Roberto Flores Arzú  
A S E S O R

  
Ing. Agr. Fernando Rodríguez B.  
Director del IIA

I M P R I M A S E

  
Ing. Agr. José Rolando Lara Alecio  
D E C A N O

c.c. Control Académico  
Archivo

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C. A.  
TELEFONO 476-9794 § FAX (502) 476-9770

E-mail: [lia@usac.edu.gt](mailto:lia@usac.edu.gt) § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>

