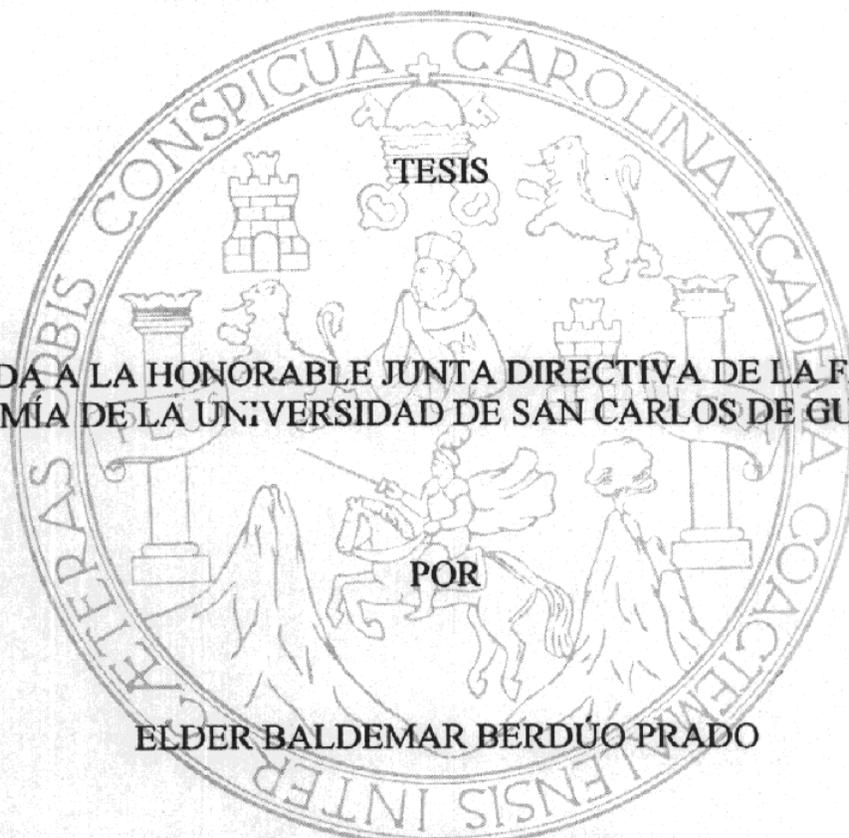


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA MICORRÍCICA DE DOS CEPAS DE HONGOS,  
*Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, AISLADAS EN GUATEMALA, SOBRE  
PLANTAS DE *Pinus ayacahuite* Ehr, *Pinus rudis* Endl, Y *Pinus hartwegii* Lindl.



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

ELDER BALDEMAR BERDÚO PRADO

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA.

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO.

GUATEMALA, ABRIL DE 2,000.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

RECTOR.

Ing. Agr. EFRAÍN MEDINA GUERRA.

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO

VOCAL PRIMERO

VOCAL SEGUNDO

VOCAL TERCERO

VOCAL CUARTO

VOCAL QUINTO

SECRETARIO

Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera.

Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello.

Ing. Agr. William Roberto Escobar López.

Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa.

Br. Jacobo Bolvito Ramos.

Br. José Baldomero Sandoval Arriaza.

Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada.

GUATEMALA, ABRIL DE 2000.

Guatemala, abril de 2000.

Honorable Junta Directiva.

Honorable Tribunal Examinador.

Facultad de Agronomía

Universidad de San Carlos de Guatemala.

Distinguidos miembros:

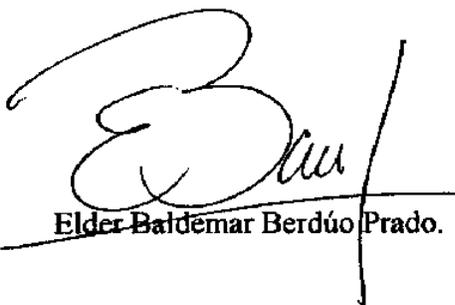
De acuerdo con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA MICORRÍCICA DE DOS CEPAS DE HONGOS, *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, AISLADAS EN GUATEMALA, SOBRE PLANTAS DE *Pinus ayacahuite* Ehr, *Pinus rudis* Endl, Y *Pinus hartwegii* Lindl.**

Presentando como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado de Licenciado.

En espera de su aprobación.

Atentamente,



Elder Baldemar Berdú Prado.

## ACTO QUE DEDICO.

**A:**

**DIOS:** Todo poderoso, quien me dio toda la sabiduría y la oportunidad de alcanzar este triunfo.

**MI PADRE:** Felicito Berdúo Aragón (Q.E.P.D.)  
Aunque físicamente este ausente, siempre estará en mi mente y mi corazón.

**MI MADRE:** Petrona Prado Morales.  
Quien me supo encausar por el camino del bien, educándome con sabiduría y esforzándose cada día para brindarme lo mejor. Hoy dedico este triunfo como una recompensa a todos sus esfuerzos.

**A:** Julio Cesar Garrido Catalán.  
Quien es hoy la persona que me aconseja y se esfuerza cada día por brindarme una mejor oportunidad, infinitas gracias.

**MIS HERMANOS:** Edna Lorena, Walter Felicito.  
Por apoyarme y animarme en todo momento, gracias.

Julio Jesús.  
Que pueda ser un ejemplo para su vida.

**MI FAMILIA:** Muy en especialmente a mis tíos Prado Morales, quienes forman parte importante en mi vida.

**MIS AMIGOS:** Juan José García Ríos, Fulvio Castellón, Marvin Urizar, Roberto Flores, José Mérida, Melgin Bautista, Danilo Campos, Manuel Donis, Carlos García, Carlos de la Torre, Esau Miranda, Miguel Castillo, Ramiro López, Marco Santos, Herbert Soto, Byron García, Prospero Carrascosa, Boris Herrera, Iliana Miranda, Karina Teos, Oscar Alvarado y Osberth Morales.

## TESIS QUE DEDICO.

A:

Guatemala

Villa Nueva, Guatemala y Morazán, El Progreso.

Universidad de San Carlos de Guatemala.

Facultad de Agronomía

Instituto Teórico Practico de Agricultura.

La Carrera de Agronomía

Mis Catedráticos Universitarios.

Mis Asesores.

Mi Familia.

Todas aquellas personas que de una u otra forma  
contribuyeron en la realización de esta tesis.

## AGRADECIMIENTOS.

A:

Lic. Roberto Enrique Flores Arzú.

Por el trabajo arduo, asesoría, revisión y corrección de esta tesis.

Ing. Agr. Msc. Edil Rodríguez Quezada.

Por su orientación, asesoría, revisión y corrección de esta tesis.

Lic. María del Carmen Bran González.

Eternamente agradecido, ya que fue integrante fundamental en la realización de esta tesis.

Lic. Msc. Blanca Samayoa.

Por su valiosa colaboración en la revisión, orientación en la elaboración de esta tesis.

Al personal de la Escuela de Química Biológica, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, tanto Secretarias, Personal Técnico y Auxiliares de Cátedra, eternamente agradecido.

Al personal del Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Lic. Msc. Karin Herrera y Sr. Cesar Maas, gracias por la ayuda recibida en todo momento.

A Ing. Agr. Gustavo Alvarez, Ing. Agr. Eugenio Orozco, Ing. Agr. Alvaro Hernández e Ing. Agr. Adalberto Rodríguez, gracias por su valiosa colaboración en la revisión y evaluación del trabajo elaborado.

A la Sra. Olga Escobar, mil gracias.

## INDICE GENERAL.

CONTENIDO	PAGINA
INDICE DE CUADROS	i
INDICE DE FIGURAS	ii
INDICE DE FOTOGRAFIA	ii
RESUMEN	1
1. INTRODUCCION	2
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 MARCO CONCEPTUAL	4
3.1.1 Definición	4
3.1.2 Tipos de Micorrizas	4
3.1.3 Anatomía de la Ectomicorrizas	5
3.1.4 Morfología de la Ectomicorrizas	6
3.1.5 Función de la Ectomicorrizas	7
3.1.6 Ecología de las Ectomicorrizas	9
3.1.7 Factores que Influencian la Formación de Micorrizas	10
3.1.8 Aplicación de las Ectomicorrizas en Tecnología Forestal	11
3.1.9 Aplicación de las Ectomicorrizas en Guatemala	11
3.1.10 Presencia de las Ectomicorrizas en Viveros Forestales	12
3.1.11 Selección de Hongos para Inoculación en Viveros	12
3.1.12 Inoculación Artificial en Viveros	13
3.1.13 Efecto de las Micorrizas en Plantaciones	14
3.1.14 Producción de Pino en Contenedor	15
3.1.15 Descripción General de las Especies de Pino Utilizadas	16
3.1.16 Descripción Morfológica y Anatómica de los Cuerpos Fructíferos	18
3.1.17 Descripción de las Micorrizas Producidas Naturalmente en Plantas de Pino	19
3.2 MARCO REFERENCIAL	20
3.2.1 Información General del Area de Colecta e Influencia	20
3.2.2 Información General del Area donde se Efectuó el Experimento	20
4. OBJETIVOS	21
5. HIPÓTESIS	22
6. METODOLOGÍA	23

CONTENIDO	PAGINA
6. METODOLOGÍA	23
6.1 COLECTA DE CUERPOS FRUCTIFEROS	23
6.2 PRODUCCIÓN DE INOCULO MICELIAR EN SUSTRATO TURBA – VERMICULITA	23
6.3 DOSIFICACIÓN DE INOCULO	23
6.4 GERMINACION DESEMILLAS	23
6.5 SELECCIÓN Y SIEMBRE DE PLANTULAS DE PINO	23
6.6 DISEÑO EXPERIMENTAL	24
6.7 VARIABLES DE RESPUESTA	25
6.8 ANÁLISIS DE DATOS	26
6.9 MANEJO DEL EXPERIMENTO	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
7.1 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y MORFOLOGÍA DE LAS MICORRIZAS PRODUCIDAS ARTIFICIALMENTE EN PLANTAS DE PINO	27
7.1.1 <i>Laccaria aff bicolor</i> más <i>Pinus ayacahuite</i> Ehr, <i>P. rudis</i> Endl y <i>P. hartwegii</i> Lindl.	27
7.1.2 <i>Suillus aff brevipes</i> más <i>Pinus rudis</i> Endl y <i>P. hartwegii</i> Lindl.	28
7.2 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS CONTROL.	28
7.3 PORCENTAJE MICORRIZACIÓN	29
7.4 CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE PINO	30
7.4.1 Altura de las Plantas Inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> y <i>Suillus aff brevipes</i>	30
7.4.2 Longitud Radicular de Plantas Inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> y <i>Suillus aff brevipes</i>	31
7.5 DESARROLLO DE LAS PLANTAS DE PINO	32
7.5.1 Peso Fresco del Área Foliar de Plantas Inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> y <i>Suillus aff brevipes</i>	32
7.5.2 Peso Fresco del Sistema Radicular de Plantas de Pino Inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> y <i>Suillus aff brevipes</i>	33
7.5.3 Número de Raíces Laterales de Plantas Inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> y <i>Suillus aff brevipes</i>	34
8. CONCLUSIONES	36
9. RECOMENDACIONES	37
10. BIBLIOGRAFIA	38
11. APENDICES	41

## INDICE DE CUADROS.

CUADRO NÚMERO.	PAGINA
1. Número de unidades experimentales por especie utilizada	24
2. Prueba de medias (Tukey), porcentaje de micorrización de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> .	29
3. Prueba de medias (Tukey), porcentaje de micorrización en plantas inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> .	29
4. Prueba de medias (Tukey), altura de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> a diferentes dosis.	31
5. Prueba de medias (Tukey), altura de plantas de pino inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> a diferentes dosis.	31
6. Prueba de medias (Tukey), longitud de la raíz principal de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> .	31
7. Prueba de medias (Tukey), longitud de la raíz de plantas de pino inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> .	32
8. Prueba de medias (Tukey), peso fresco del área foliar de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> .	32
9. Prueba de medias (Tukey), peso fresco área foliar de plantas de pino inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> .	33
10. Prueba de medias (Tukey), peso fresco radicular de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> .	33
11. Prueba de medias (Tukey), peso fresco radicular de plantas de pino inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> .	34
12. Prueba de medias (Tukey), número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con <i>Laccaria aff bicolor</i> .	34
13. Prueba de media (Tukey), número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con <i>Suillus aff brevipes</i> .	34

## INDICE DE FIGURAS.

FIGURA NÚMERO	PAGINA
1. Porcentaje de micorrización producido a diferentes dosis de inóculo en plantas de pino.	30

## INDICE DE FOTOGRAFIAS.

FOTOGRAFIA NÚMERO	PAGINA
1. Micorrizas de <i>Laccaria aff bicolor</i> formadas en raíces de plantas de pino.	27
2. Micorrizas de <i>Suillus aff brevipes</i> formadas en raíces de plantas de pino.	28

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA MICORRÍCICA DE DOS CEPAS DE HONGOS, *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, AISLADAS EN GUATEMALA, SOBRE PLANTAS DE *Pinus ayacahuite* Ehr, *Pinus rudis* Endl Y *Pinus hartwegii* Lindl.

EVALUATION OF THE MYCORRHIZAL EFFICIENCY OF TWO FUNGAL STRAINS *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes* ISOLATED IN GUATEMALA, ON PLANTS OF *Pinus ayacahuite* Ehr, *Pinus rudis* Endl AND *Pinus hartwegii* Lindl.

### RESUMEN

Guatemala es un país de eminente vocación forestal con un 72.5% del territorio nacional apto para este tipo de cultivo, sin embargo la cobertura forestal del territorio se ha reducido a un 34.4%, siendo la tasa de deforestación de 90,000 hectáreas por año (12), la cual ha sido la más elevada de las últimas décadas. La causa principal de la deforestación es y sigue siendo el avance de la frontera agrícola y la falta de políticas que garanticen la conservación y buen manejo de las áreas boscosas remanentes.

Se han efectuado algunos esfuerzos para evitar la pérdida del recurso bosque en nuestro país, pero estos han resultado infructuosos, debido a la falta de participación activa de las comunidades en proyectos de reforestación. Una alternativa que puede contribuir a mejorar la participación campesina en la reforestación, es la utilización de hongos micorrízicos comestibles. Los cuales no sólo mejoran el desarrollo de las plantas en vivero, sino que también garantizan un mayor porcentaje de sobrevivencia al trasplante y producen hongos de alto valor comercial y alimenticio.

Esta investigación consistió en evaluar la eficiencia micorrízica de dos hongos comestibles aislados en Guatemala, *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, aplicados a diferentes dosis de inoculación, en plantas de *Pinus ayacahuite* Ehr, *Pinus rudis* Endl y *Pinus hartwegii* Lindl. en contenedor. La razón de haber seleccionado éstos radica en que ambos se asocian perfectamente a plantas jóvenes de pino, además de tratarse del primer estudio sobre aplicación de diferentes dosis de inóculo micorrízico con cepas nativas que se realiza en el país.

Se logró determinar que estas cepas son efectivas en la producción de micorrizas, siendo *Laccaria aff bicolor* notablemente superior en infectividad a *Suillus aff brevipes*. La cepa de *Laccaria* produjo porcentajes de micorrización de hasta el 72% con una mejora notable en el crecimiento y desarrollo de las plantas inoculadas. Se comprobó además que para esta cepa la dosis de inoculación más conveniente para la producción de micorrizas y reducción de costos es la dosis 1:16, volumen: volumen.

## 1. INTRODUCCIÓN.

La República de Guatemala cuenta con una extensión territorial de 108,889 Km<sup>2</sup>, de los cuales el 26.4% de la superficie es apto para la agricultura, el 21.4% para pastos, cultivos perennes y forestales, 37.4% para bosques productores y 14.1% para bosques protectores y vida silvestres (12).

Sin embargo, se ha estimado que actualmente existe una cobertura boscosa del 34.40% del territorio nacional, donde el 18.5% lo constituyen bosques de coníferas. Esta disminución se debe a que la tasa de deforestación aumentó de 40,000 ha/año a 90,000 hectáreas anuales. La causa principal es el continuo avance de la frontera agrícola, el incremento de la actividad ganadera, la utilización de terrenos destinados a retornados y otros factores económicos, culturales y políticos.

La reforestación de algunas zonas del país es hoy una prioridad para la conservación de fuentes de agua, biodiversidad, protección de suelos y producción de leña y madera; sin embargo, pocos adelantos se han logrado hasta la fecha. Una característica de muchos programas de reforestación en Guatemala es que carecen de la participación activa de las comunidades en los mismos (12). En algunos países de Europa y América se ha desarrollado el uso de hongos micorrízicos para el éxito y aumento de áreas de reforestación y mantenimiento de la frontera forestal. Países como Ecuador y Perú, han encontrado un mejor desarrollo forestal al involucrar directamente a campesinos en la actividad silvicultural en el aprovechamiento y comercialización de hongos micorrízicos comestibles, lo que les ha generado además otros ingresos económicos (22).

La aplicación de hongos micorrízicos en plantas de vivero es una actividad que podría desarrollarse en nuestro país para el mejoramiento de plantaciones forestales. Afortunadamente ya existe en Guatemala un cepario de hongos micorrízicos, en el que se encuentran aislados hongos de gran valor forestal y comestible (Cepario del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala).

Este trabajo ha sido un importante complemento del proyecto "Hongos ectomicorrízicos asociados a *Abies guatemalensis*, *Pinus rudis* y *Pinus ayacahuite* en la Sierra de los Cuchumatanes y su aprovechamiento en la producción de planta forestal micorrizada", el cual es financiado por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos. En esta investigación se estudió y se analizó específicamente la eficiencia de los hongos *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, aplicados a diversas dosis, en la producción de micorrizas y mejora del crecimiento y desarrollo de plantas de *Pinus ayacahuite*, *P. rudis* y *P. hartwegii* en contenedor.

La selección de estos hongos se debe a que ambos se asocian perfectamente a plántulas de pino y son especies comestibles. Estas fueron aisladas de hongos colectados en un área de regeneración natural de *P. rudis* / *P. hartwegii* de Tzichim, aldea del municipio de Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Actualmente Guatemala posee solo un 34.4% de cobertura boscosa, distribuida en diversas áreas del país. La tasa de deforestación se ha incrementado más y muchos programas de reforestación han sido infructuosos debido a factores culturales y deficiencias técnicas (12).

La utilización de planta micorrizada para favorecer la reforestación de las zonas más altas del país es una actividad casi nula o trabajada de manera empírica. La única técnica empleada para micorrizar en viveros forestales es la aplicación de broza, lo cual no es aconsejable en muchas zonas, ya que descubre la capa protectora de suelos altamente erosionables y no siempre se encuentran las especies de hongos más adecuados para la edad de las plántulas. Se debe recordar también que con esta práctica se pueden introducir fitopatógenos en viveros y distribuir estos a nuevas áreas.

La capacidad micorrícica de cepas aisladas en Guatemala ha sido poco estudiada. Tampoco existen trabajos sobre dosis de inoculación con este tipo de cepas, ya que solo se reportan informes sobre dosis únicas. En base a estas premisas, el presente trabajo tuvo como finalidad determinar la eficiencia micorrícica de dos cepas de hongos comestibles provenientes de la parte alta de la sierra de los Cuchumatanes, sobre plántulas de *Pinus ayacahuite*, *P. rudis* y *P. hartwegii*, a diferentes dosis de inoculación. Con ello se pretende ofrecer información útil para proyectos de reforestación en zonas de gran altitud en Guatemala y brindar alternativas futuras que permitan hacer más atractiva la actividad forestal.

### 3. MARCO TEÓRICO.

#### 3.1 MARCO CONCEPTUAL

##### 3.1.1. Definición:

La palabra Micorriza, deriva del griego  $\mu\upsilon\kappa\epsilon\delta$  (mico) = hongo,  $\rho\iota\zeta\omicron$  (rhiza) = raíz, que literalmente significa hongo de la raíz (2,6). Marx menciona que las micorrizas (hongo-raíz) son raíces formadas por la asociación simbiótica entre raíces finas nutritoras de las plantas verdes y hongos altamente especializadas que habitan en las raíces. Cada componente en la asociación depende del otro en algún grado para su existencia. En este tipo de simbiosis, dos o más organismos fisiológicamente distintos actúan como componentes de un solo organismo, donde cada uno por separado esta sujeto a variaciones, selección y evolución y tienen además un proceso reproductivo distinto y generalmente potencial de vida libre (20).

Se considera que casi todas las plantas terrestres (95% de las especies conocidas) se caracterizan por establecer de forma natural y constante, una simbiosis a nivel radical con una serie de hongos del suelo (27).

##### 3.1.2 Tipos de Micorrizas.

Las micorrizas representan posiblemente en el mundo vegetal la forma simbiótica más extensa. Hoy en día se sabe que de las 260,000 especies de plantas terrestres existentes al menos 240,000 viven en simbiosis mutualista con numerosos hongos pertenecientes a diferentes taxa. Debido a esto se ha hecho necesario, una clasificación de los distintos tipos micorrícicos en base a la sistemática de los organismos participantes (2).

La primera descripción de micorriza fue realizada por Frank en 1885, clasificándolas en dos tipos, micorrizas ectotróficas, en las que el hongo no penetra en las células del huésped y forma un manto externo de tejido fúngico que envuelve la raíz, las micorrizas endotróficas, que no forman manto y se extienden intracelularmente en el tejido del huésped, formando órganos o estructuras fúngicas en el interior de las células (26).

Actualmente las micorrizas se clasifican en base a su estructura, morfología y modo de infección en dos tipos principales: ectomicorrizas y endomicorrizas, este último se subdivide en ectendomicorrizas, micorrizas arbutoides, monotropoides, ericoides, orquidáceas y arbusculares (1).

Las ectomicorrizas o micorrizas ectotróficas son las más fáciles de observar a simple vista, ya que poseen una cubierta miceliar externa en la superficie de las raíces infectadas la cual se denomina **Manto**. Este puede variar en espesor, color, textura y aspecto. Las ectomicorrizas forman además una estructura denominada **Red de Hartig**, constituida por hifas que rodean a las células corticales de la raíz. Este tipo de micorrizas son formadas por casi todos los grupos de Basidiomicetos, muchos Ascomicetos y por Ficomicetos del género *Endogone*. Las

endomycorrizas o micorrizas endotróficas no forman Manto ni Red de Hartig y son más difíciles de identificar ya que requieren de tinciones especiales para su reconocimiento (10).

La distribución de la simbiosis micorrícica está relacionada con la distribución de los diferentes biomas que hay en el planeta; así las endomicorrizas, que son las más abundantes en la naturaleza se asocian principalmente a plantas herbáceas y arbustivas, desde cultivos agrícolas hasta árboles frutales. Son predominantes en climas tropicales, sabanas y desiertos. Las endomicorrizas, pueden también desarrollarse en algunas especies de interés forestal como eucaliptos, cipreses, alisos, encinos y otros pocos, dependiendo de las condiciones ambientales y edáficas. Las ectomicorrizas se desarrollan principalmente en aquellas especies de clima templado a frío, y las plantas que forman este tipo de simbiosis son árboles o arbustos pertenecientes a las familias: Pinaceae (pinos y abetos), Fagaceae (roble), Betulaceae (alisos), Salicaceae (sauce), Juglandales (caria), Myrtaceae (eucalipto) Ericaceae (madroño) y otras familias (20).

### 3.1.3 Anatomía de las Ectomicorrizas.

#### ▪ El Manto

Según Chilvers, citado por Parlade (26), el manto fúngico esta formado por hifas. Si las hifas son reconocibles, la estructura se denomina **Plecténquima** o **prosénquima**. Ahora bien, puede ser que las hifas estén tan densamente entrelazadas que no se aprecie la naturaleza filamentosa de las mismas, recibiendo entonces el nombre de **Pseudoparenquima** o **sinénquima**, ya que las hifas se agrupan de manera que recuerdan un verdadero parénquima (24).

Según Chilvers, citado por Varma (37), el manto se puede clasificar en diferentes tipos de acuerdo a la superficie y estructura que posee. Existen dieciséis diferentes tipos de manto según la superficie observada.

#### ▪ La Red de Hartig.

La extensión de la red de Hartig, es otra característica importante para la determinación de ectomicorrizas. Puede desarrollarse solo al nivel de la primera capa de células corticales, como ocurre en las angiospermas, o penetrar hasta la endodermis, como es tipo de gimnospermas (26).

Este desarrollo puede estar determinado por las diferencias existentes en la química de las paredes celulares, y la anatomía de la raíz. Muchos miembros de las angiospermas tienen un extremo que puede limitar la penetración del hongo de la misma forma que lo hace la endodermis. Se ha propuesto que los reguladores del crecimiento de las plantas, producidos por hongos ectomicorrícicos, tienen un papel en la alteración de las paredes celulares radicales. El papel de las interacciones hongo y 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 cortex (26).

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 compartimiento. Esta estructura parece estar relacionada con la capacidad de transporte de nutrientes dentro del mismo hongo (26).

▪ **Rizomorfias y Cordones miceliares.**

En muchas ectomicorizas, se encuentran cordones miceliares y rizomorfias (rizo = raíz, morphos = formas), con una estructura dependiente de la superficie del hongo implicada. En los cordones miceliares y rizomorfias se diferencian conductos vasculares internos, consistentes en tejido muerto similar al xilema de las plantas vasculares (26).

Finlay, citado por Varma et al (37), demostró que los carbohidratos son transportados a largas distancias a través de los cordones miceliares interconectados con raíces. De este modo se suministran carbohidratos a otras micorizas en formación a partir de micorizas preexistentes.

### 3.1.4 Morfología de las Ectomicorizas.

La morfología de las ectomicorizas varía según el hongo simbiote y el género al que pertenezca el hospedante. Según Varma et al (37), existen varios tipos de ramificaciones que normalmente se presentan en los sistemas radicales de las especies arbóreas ectomicorrícicas más conocidas. Los principales caracteres morfológicos que definen una ectomicoriza y que se utiliza para realizar una exhaustiva descripción de la misma son:

- A. No Ramificado: El sistema micorrícico consiste en micorizas simples, no ramificadas, donde el manto envuelve solo raíces simples. Este tipo de micorizas es característico en el hongo *Cenococcum geophilum* en plantas de pino.
- B. Monopodial Pinnada: 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. Este sistema micorrícico se observó en *Abies religiosa*.
- C. Monopodial Piramidal: Similar a las anteriores pero las ramas laterales se originan desde el eje en varios planos (3 - 4 o más).
- D. Dicotómicas: El meristemo de la raíz se divide dicotómicamente, las dos ramas laterales crecen con la misma longitud. En estas ramificaciones pueden aparecer repetidas dicotomías de 2do. y 3er. orden. Este tipo de ramificaciones es típico de ectomicorizas formadas en el género *Pinus* infectadas con *Laccaria sp.*
- E. Irregular Pinnada (con ramificaciones dicotómicas): En algunos casos las ramificaciones dicotómicas pueden no distinguirse porque uno o dos ápices micorrícicos crecen más rápido que otros.

- F. Coraloides: Sistemas micorrícicos dicotómicamente ramificados o pinnados, con ejes cortos que están densamente ramificados causando una apariencia de coral. Este tipo de ramificaciones son típicas del género *Suillus* en especies de *Pinus*.
- G. Tuberosas: Las micorrizas están muy densamente ramificadas y unidas por una densa capa de hifas que les confiere forma de tubérculo. Este tipo de ramificaciones aparece en micorrizas formadas entre algunas especies de *Suillus* y *Pinus*.

### 3.1.5 Función de las Ectomicorrizas.

#### 3.1.5.1 Micorriza y Nutrición Vegetal:

Kramer, citado por Pera (27), determinó que la eficiencia en la absorción de nutrientes es incrementada por las ectomicorrizas, considerando que el nitrógeno es el factor limitante más importante para el crecimiento en los sistemas forestales. Según Carrodus, (27), las ectomicorrizas estimulan la asimilación de nitrógeno tanto en forma de nitrato y amonio. Rosseau (30), comprobó que el micelio del hongo tiene otras funciones que incluyen la utilización de formas orgánicas de nitrógeno del suelo, transportándolo hacia la planta en cantidades mayores a través del micelio del hongo.

Linderman, citado por Blanco (1), considera que el micelio extra radical puede llegar hasta 9 cm desde la raíz, en comparación con los 2 mm que la raíz puede alcanzar para la absorción a través de los pelos radicales. También se ha observado que la formación de cordones miceliarios, aumentan aún más el área de absorción. Duddrige et al, citado por Parlade (26), menciona que los cordones miceliarios que forman las ectomicorrizas pueden transportar carbohidratos a largas distancias, mientras que en las ectomicorrizas que no los forman, el manto es el responsable de la absorción de nutrientes desde el suelo.

Según Harley, (26), el fósforo es absorbido por los cordones miceliarios o el manto; éste se almacena en las vacuolas como poli-fosfatos en forma de gránulos meta-cromáticos y se moviliza cuando es necesario. Se supone que la transferencia del fósforo está ligada con la transferencia de carbohidratos. El potasio es absorbido con facilidad y almacenado en el manto. Lapeyrief (15), ha demostrado que la excesiva absorción de calcio y potasio en el suelo es reducida por la micorrización. La presencia de la asociación fúngica permite una mayor interacción con otros microorganismos del suelo, provocando así una mayor tolerancia de las plantas a suelos calcáreos.

La infección micorrícica no sólo produce un incremento en el contenido de nutrientes en la planta sino que también puede aumentar la absorción de agua (31), otro beneficio para la planta micorrizada es la tolerancia a valores extremos de pH, lo que permite establecimiento de plántulas micorrizadas en suelos marginales, con desechos de conejeras, basura, cantera y otros, así como en la adaptación a suelos con pH ácido o de baja fertilidad optimizando el éxito de los programas de reforestación (25).

### 3.1.5.2 Producción de Vitaminas y Reguladores de Crecimiento.

Muchos hongos ectomicorrícicos proporcionan a la planta vitaminas como la biotina, tiamina y ácido pantoténico, y producen compuestos reguladores del crecimiento como las auxinas, citoquininas, etileno y giberelinas. Estos compuestos actúan afectando la morfogénesis del sistema radicular micorrizado (27).

Shemarhanova, citado por Parlade (26), demostró que las micorrizas son productoras de vitaminas, mediante un cultivo puro de *Rhizopogon roseolus*, aisló citoquininas, observando de esta manera como el hongo produce sustancias reguladoras del crecimiento que contribuyen al crecimiento y desarrollo de la planta.

### 3.1.5.3 Control Biológico.

Las ectomicorrizas poseen un alto potencial en el control de agentes patógenos de la raíz. Según Marx (21), las micorrizas forman mecanismos complejos de protección en el sistema radicular de las plantas. Estas utilizan un excedente de carbohidratos radicales, los cuales reducen el contacto con patógenos proveendo a las plantas de una barrera física. El manto actúa como una barrera a la penetración de patógenos, secretando antibióticos inhibidores a lo largo de las células corticales de la raíz.

Esta capacidad antagonista hace que muchos hongos ectomicorrícicos sean un potencial agente de control biológico frente a patógenos radiculares comunes de viveros forestales, tales como *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia* (27).

### 3.1.5.4 Micorrizas y Fauna del Suelo.

Los hongos micorrícicos interactúan con una gran diversidad de organismo del suelo. La interacción produce mas o menos una inhibición o una estimulación, creando una clara competitividad mutualista (9). Según Lindelman citado por Blanco (1), cuando se forma la micorriza se altera la fisiología y se estimulan las exudaciones radicales, lo que a su vez cambia la población microbiana circundante, esto ha dado lugar a definir la **rizosfera**, como la " zona de influencia directa de las raíces en la biología del suelo", al cambiar la interacción de los microorganismos, el área de influencia entre la raíz micorrizada y estos se denomina **micorrizosfera**.

La interacción microbiana juega un papel de gran importancia en la dispersión de hongos micorrícicos, esto se debe a que las esporas son vulnerables al parasitismo y otros organismos del suelo. Algunos hongos micorrícicos interactúan directamente con otros organismos del suelo en la simbiosis con la planta huésped (9). Las micorrizas pueden diseminarse mediante los insectos y otros pequeños animales micófagos, mientras que el micelio del hongo es ingerido por los animales tales como los colémbolos y nemátodos. Los cuerpos fructíferos (especialmente de hongos ectomicorrícicos) y esclerócios constituyendo una importante fuente de alimento para micromamíferos, lo cual favorece la dispersión.

Aunque las actividades micófagas de los animales han sido consideradas como una contribución a la diseminación de esporas de hongos (especialmente de hipogeos), posiblemente desarrollen otro papel importante en el ecosistema como la contribución a la rotura del eficiente ciclo cerrado de nutrientes en el sistema micorrizico y la redistribución de material rico en nutrientes como orina, heces o cadáveres en las distintas capas del suelo (9).

Algunos estudios efectuados han comprobado esta interacción, Lindelman en 1986 realizo un experimento con *Rhizopogon sp* utilizando micelio, obteniendo como resultado bajo crecimiento de las plantas en cultivo puro in vitro, por el contrario las plantas inoculadas con esporas las cuales naturalmente estaban contaminadas con *Pseudomonas sp* produjeron mejores resultados, comprobando de esta manera la interacción de este hongo con algunas bacterias del suelo, esenciales para favorecer el crecimiento y desarrollo de las plantas (29).

Otro factor muy importante en la interacción de las micorrizas y muchos microorganismos es que afectan la formación del suelo y sus características estructurales; mediante la producción de compuestos húmicos los cuales aceleran la descomposición de minerales primarios produciendo sustancia adhesivas que aglutinan partículas de suelo para formar agregados estables, que favorecen la fertilidad del suelo y la nutrición de la planta (26).

### **3.1.6 Ecología de las Ectomicorrizas:**

La micorriza se considera una regla y no una excepción, por lo que se debe de considerar como una relación universal entre el reino de las plantas y los hongos. Esto se debe a que la mayoría de plantas vasculares han evolucionado hacia la dependencia de las micorrizas para su supervivencia (8, 26, 29).

Según Perry, citado por Parlade (26), los hongos micorrizicos median directamente en las interacciones entre las plantas al menos de tres formas: En primer lugar, mejora la competencia entre árbol y vegetación herbácea, pudiendo detoxificar el suelo de los agentes alelo químicos producidos por las plantas herbáceas; en segundo lugar, disminuye la competencia entre plantas incrementando la productividad de las combinaciones de especies, especialmente en suelos con limitaciones de fósforo; y en tercer lugar, estableciendo uniones entre plantas de las misma o de distinta especie mediante hifas que actúan como rutas de transferencia de materiales. Los hongos ectomicorrizicos por su parte dependen de sus huéspedes para la obtención de compuestos carbonatados, ya que estos poseen poca capacidad de descomposición de materia orgánica.

Existen miles de hongos distintos que pueden formar ectomicorrizas, muchos de ellos asociados a más de una planta huésped, por lo que la apariencia externa y la morfología pueden variar enormemente (27). Esta simbiosis se distribuye en los diferentes biomas existentes en el planeta, así las ectomicorrizas están fuertemente representadas en los bosques templados de coníferas. Mientras que las endomicorrizas tienen una distribución más amplia, encontrándose con frecuencia en zonas tropicales, sabanas y desiertos ( 8).

### 3.1.7 Factores que influyen en la formación de micorrizas.

#### 3.1.7.1 Efecto de los nutrientes del suelo.

Según Slankis (32), la disponibilidad de nutrientes inorgánicos en el suelo es indispensable en la formación de micorrizas, especialmente en la disponibilidad de nitrógeno y potasio. Los efectos que produce la concentración de nutrientes del suelo en la infección de las raíces cortas es muy compleja. Se ha determinado que en altas concentraciones de nitrógeno y potasio se reduce la infección micorrízica en las raíces cortas de la planta.

Es importante que los nutrientes orgánicos del suelo se encuentren estables, por ejemplo, en suelos forestales donde la concentración de humus es estable, se produce una perfecta infección de las raíces; calculando que la concentración de humus en el suelo debe estar comprendida entre 2 y 4%; ya que la deficiencia de los elementos que este proporciona, reduce la infección de los hongos ectomicorrízicos, debido a la falta de enzimas esenciales que este proporciona (32).

#### 3.1.7.2 Efectos del pH del Suelo.

Los hongos ectomicorrízicos asumen una posición acidofílica, dependiendo de la concentración de iones hidrógeno presentes en el suelo. Se ha calculado que el rango de pH adecuado para la formación de micorrizas está comprendido entre 4 - 6. Sin embargo, hay hongos que prefieren o se desarrollan a otros niveles de acidez como por ejemplo, algunas especies de *Suillus* prefieren un pH 3, en especies de *Paxillus* se ha observado un buen crecimiento a pH 2.7, especies como *Cenococcum graniforme* toleran un pH 2.4, mientras que en ninguna especie se ha observado un desarrollo adecuado en suelos con pH alcalino, ya que la mayoría de estos poseen capacidad acidofílica, adaptándose perfectamente a estos suelos. En algunas especies de baja capacidad acidofílica se ha observado una reducción de la infección micorrízica, lo cual se debe a la disponibilidad de nitrógeno a esta escala de pH (32).

#### 3.1.7.3 Efectos de Temperatura.

La temperatura es un factor muy importante en la colonización e infección de las raíces por los hongos micorrízicos, ya que influye en la producción de exudados radiculares, en la elongación de las raíces y la maduración de las raíces, situaciones esenciales para que se produzca la infección micorrízica. Se ha calculado que el rango de temperatura óptimo para el desarrollo de las micorrizas oscila entre 16 a 25 °C, determinando que a valores extremos se produce una reducción del crecimiento micelial del hongo. Hongos como *Pisolithus tinctorius* puede resistir un máximo de 34 °C, mientras que la especie *Suillus granulatus* se ha observado que resiste temperaturas comprendidas entre los 28 - 38 °C (32).

### 3.1.8 Aplicación de las Ectomicorrizas en Tecnología Forestal.

La aplicación de hongos ectomicorrícicos fue desarrollada para lograr el establecimiento exitoso de plantaciones de pinos exóticos en algunas partes del mundo (20). Para que la aforestación con pinos exóticos en islas tropicales, en pastizales o en estepas se realizara con éxito fue requerida una previa inoculación de las plántulas (7).

En varios países de Europa, América del norte y Australia se ha estado investigando desde hace más de 30 años sobre el modo de realizar la síntesis de micorrizas, en viveros y en laboratorio, con el fin de mejorar la planta forestal. La razón principal es la necesidad de reforestar y lograr la supervivencia de las plantas en terrenos extremadamente pobres, escombros de minas, canteras, orillas de carretera, pendientes altamente erosionadas y suelos abandonados después de varios años de cultivo de gramíneas (10).

En algunas sabanas de Venezuela, Puerto Rico, Florida, Liberia, Uganda y otras, áreas naturalmente carentes de inóculo ectomicorrícico, la introducción de *Pinus caribaea* y *P. oocarpa*, resultó ser infructuosa. Las plantas sembradas desarrollaron un buen sistema radicular durante los meses de lluvia, pero al llegar la época seca estas no resistieron la escasez de agua del suelo. Para corregir esta situación era necesario la aplicación de inóculo micorrícico, y así garantizar la supervivencia de las plantas durante la época seca (15,4).

Marx (22), en 1971 examinó raíces de tres especies de pinos exóticos plantados en zonas semiáridas de los Andes de Perú; las observaciones efectuadas manifestaron un bajo desarrollo de los pinos utilizados en la reforestación de esa zona: Plantas de 25 años de edad mostraban una altura de 4 mts y diámetros de 15 cm, además una clorosis general en el follaje, situación totalmente distinta a la mostrada por árboles micorrizados de la misma especie plantados en otras regiones, llegando a la conclusión que el bajo desarrollo de las plantas se debe a la falta de simbiosis micorrícica.

### 3.1.9 Aplicación de las Ectomicorrizas en Guatemala.

Pocos son los estudios sobre hongos micorrícicos en América Latina. En Guatemala, los primeros estudios remontan a la década de los 30's, cuando Palm estuvo investigando sobre los boletales asociados a ciertos bosques de pino del país. Posteriormente Ivory, colectó algunos hongos en bosques de *Pinus caribaea* y *P. oocarpa*, pero sin publicar los resultados (10).

Hace algunos años Torres (34), efectuó un estudio sobre identificación y aislamiento de hongos ectomicorrícicos asociados a pino en la cuenca del río Villalobos. Se colectaron algunas especies como *Amanita spp.*, *Boletus sp.*, *Cantharellus sp.*, *Helvella sp.*, *Laccaria sp.*, *Lactarius spp.* y *Russula sp.* realizando algunas pruebas de inoculación con *Russula sp.* y *Helvella sp.*, observándose incrementos en la altura y peso de la planta, y una mejora en el sistema radicular.

De León (17), efectuó un estudio en el cual identificó algunos de los hongos micorrícicos presentes en bosques artificiales y bosques naturales, en la aldea Yulcheca, San Juan Ixcoy, Huehuetenango. Esta investigación surgió debido a las observaciones efectuadas en el fracaso de algunos programas de reforestación en esa región, el estudio consistió en inocular plantas de pino en vivero con esporas, siendo los resultados obtenidos un incremento en la altura, peso y mejora del crecimiento radicular.

Urizar (36), efectuó recientemente un estudio sobre tres cepas de hongos micorrícicos, aplicadas a plantas de *Pinus maximinoi*, El estudio consistió en inocular mediante esporas y micelio vegetativo plantas de pino. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios, la inoculación con esporas de *Pisolithus tinctorius* y de micelio de *Laccaria laccata* es eficaz para el mejoramiento de plantas, pero el costo del segundo es más elevado.

Actualmente la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la Dirección General de Investigación está financiando un proyecto de investigación en la Sierra de los Cuchumatanes. El estudio comprende la identificación de los hongos micorrícicos de bosques de *Pinus rudis*, *Pinus ayacahuite*, y *Abies guatemalensis*, así como el aislamiento y evaluación de éstos sobre plantas de pino y pinabete para la producción de planta forestal micorrizada.

### **3.1.10 Presencia de Ectomicorrizas en Viveros Forestales.**

La fumigación del suelo es una practica rutinaria en mucho viveros forestales que elimina o reduce drásticamente la mayoría de la población microbiana en la capa mas superficial del suelo, quedando eliminados los fitopatógenos, pero también muchos microorganismos benéficos como los hongos ectomicorrícicos. Debido a la aplicación de un control químico, resalta la necesidad de inocular artificialmente para favorecer el proceso de recolonización con hongos seleccionados y así poder producir plantas de mejor calidad (24).

Se ha observado que en plantas no micorrizadas se produce un retraso en el crecimiento y se reduce la supervivencia después del trasplante, principalmente en zonas donde se requieren un rápido establecimiento (24). En muchos lugares se está utilizando la micorrización, como una técnica integrada para la producción de plantas de reforestación, a través del uso de esporas, cuerpos fructíferos e inóculos específicos (3).

### **3.1.11 Selección de Hongos para Inoculación en Viveros:**

La selección de hongos ectomicorrícicos es un factor indispensable para obtener buenos resultados en un programa de inoculación. La selección requiere la consideración de criterios ecofisiológicos y operacionales. Entre los primeros cabe destacar la capacidad de colonizar las raíces cortas de la planta huésped y el potencial del desarrollo del micelio extramatricial. Los criterios operacionales más importantes son: adaptabilidad al vivero y a la zona de trasplante, tolerancia a la sequía, tolerancia a la toxicidad y pH del suelo, capacidad para captación de nutrientes, capacidad para descomponer compuestos orgánicos y producción de reguladores de crecimiento (18, 20).

Desde el punto de vista operativo, Marx (20), indica que el hongo debe ser capaz de crecer rápidamente en cultivo puro y colonizar rápidamente las plantas tras la inoculación. Resulta esencial que el hongo resista a la manipulación y que permanezca infectivo tras el período de almacenamiento, transporte, incorporación al sustrato del vivero y cultivo de la planta. Pera et al (28), determinó que la efectividad de la inoculación de planta en contenedor, no depende únicamente de la capacidad simbiótica del hongo ectomicorrízico seleccionado, sino de la capacidad para sobrevivir durante el período comprendido entre la inoculación del sustrato y la formación de micorrizas. El inóculo de un hongo micorrízico, aún siendo capaz de formar ectomicorrizas en condiciones axénicas, puede fallar totalmente al ser aplicado en vivero.

### **3.1.12 Inoculación Artificial en Viveros:**

#### **3.1.12.1 Inoculo Natural:**

Según Marx (23), el inóculo más extensamente usado, especialmente en países poco desarrollados, es el suelo o humus que contiene esporas, micorrizas y micelio asociado. Esta forma de inóculo puede ser recolectada en bosques o plantaciones establecidas y su aplicación puede hacerse mezclando el inóculo con el sustrato del vivero, extendiendo una capa sobre las camas del vivero y regando a continuación o mediante suspensión del suelo en agua y vertido sobre las plantas, obteniéndose mejores resultados a partir de suelo fresco. El gran inconveniente de este procedimiento es: no poder controlar las especies de hongos introducidas que pueden o no ser las adecuadas para la zona de trasplante, además el suelo puede contener microorganismos perjudiciales o malas hierbas que puedan afectar a la plantación. Por otro lado, se requiere el manejo de grandes cantidades de inóculo, lo cual hace desaconsejable su uso a gran escala.

#### **3.1.12.2 Planta Micorrizada:**

Según Pera (27), este procedimiento consiste en utilizar plántulas infectadas o ectomicorrizas recogidas a partir de plantaciones establecidas. El micelio extramatricial desarrollado a partir de las micorrizas de las plantas infectadas se desarrolla rápidamente e infecta a otras plántulas. Este proceso de infección es atribuido a la elongación del micelio que crece dentro de las partículas del suelo hasta infectar una nueva planta.

#### **3.1.12.3 Inoculación por Esporas:**

El inóculo a partir de esporas se ha utilizado para desarrollar micorrizas con hongos específicos. 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 (23).

Según Marx (23), los Gasteromicetos entre los que se encuentran los géneros *Rhizopogon*, *Scleroderma* y *Pisolithus*, producen numerosas basidiosporas fáciles de recolectar en grandes cantidades. Las esporas se recolectan tras la desecación de los esporocarpos y se aplican en seco o mediante el agua de riego, aunque en ocasiones el inóculo de esporas se mezcla con un carrier húmedo (vermiculita o arena) y se aplica sobre el sustrato.

Otra técnica utilizada es el recubrimiento de semillas con esporas mediante la mezcla de semillas y esporas en agua. Una de las variantes de este método es utilizar una matriz de arcilla o adhesivo que se utiliza para recubrir la semilla. La adición de fungicidas adecuados como Captan, Benomyl o Tiram, pueden evitar la infección de la semilla con microorganismos patógenos derivados de la utilización de esporas obtenidas de esporocarpos demasiado maduros o rotos. Una de las desventajas de este método es la falta de test de laboratorio para determinar la viabilidad de las esporas, la obtención de esporocarpos ya que se depende de la abundancia estacional y no todas las especies producen esporocarpos con un número elevado de esporas, otro problema más significativo es la falta de definición genética, pero para algunas especies de hongos puede resultar positiva la utilización, identificando con anterioridad las especies a utilizar.

#### **3.1.12.4 Inoculo Vegetativo o Miceliar.**

Esta forma de inoculación fue iniciada en Australia por Moser. La técnica se inició a partir de un cultivo de *Suillus plorans* en medio líquido, mantenido bajo aireación y transferido posteriormente a un sustrato sólido de turba humedecida con solución nutritiva fresca. Esta metodología ha sido la base para las investigaciones posteriores sobre la producción de inóculo y requiere de condiciones asépticas estrictas para ofrecer buenos resultados. La aplicación a gran escala de este tipo de inóculo ha sido realizada con éxito para *Pisolithus tinctorius* y *Laccaria laccata* (26).

Marx, recomienda repetidamente la utilización de micelio puro o inóculo vegetativo de hongos ectomicorrícicos como el método de inoculación más seguro biológicamente. Desafortunadamente estos hongos son un grupo difícil de cultivar en el laboratorio y muchas de las especies nunca han crecido en cultivo puro, algunas especies crecen lentamente y otras mueren a menudo después de unos meses de cultivo (20).

Según Pera et al (28), la producción de inóculo miceliar en sustrato de turba-vermiculita, se efectúa una vez determinada la capacidad simbiótica de los hongos en cultivo puro. La técnica es la siguiente: de fragmentos del hongo se obtiene micelio incluido en medio sólido MMN, luego se colocan fragmentos de agar con micelio en un medio líquido MMN esperando que el hongo aumente su biomasa. Se preparan frascos de tapón de rosca, los cuales deben de contener 1 parte de turba de Sphagnum tamizada a 2mm, 11 partes de vermiculita grado 2 y 6 partes de medio líquido MMN, esterilizados a 120 °C, durante 20 min. Los frascos se inoculan con el micelio producido en medio líquido y se espera que éste llene totalmente el sustrato en un periodo no mayor de 3 meses.

#### **3.1.13 Efecto de las Micorrizas en Plantaciones.**

Según Parladé (26), el test crítico para determinar el éxito de la inoculación con hongos ectomicorrícicos es el comportamiento de la planta en el campo. La inoculación puede no producir un incremento en el tamaño de las plantas en el vivero, pero debe proporcionarles una mayor oportunidad de sobrevivir o crecer mejor después del trasplante.

Marx (23) indica que en las zonas de reforestación rutinarias pueden encontrarse comunidades numerosas de hongos simbiotes. Sin embargo, las plantaciones de estos hongos pueden fluctuar temporalmente debido a determinadas prácticas silvícolas como las talas masivas no seguidas de repoblaciones o dañadas por el fuego. La inoculación de plantas destinadas a plantaciones regulares se justifica en aquellas situaciones en las que el comportamiento de la planta inoculada, sea notablemente superior al de la planta no inoculada. De este modo, podemos considerar tres tipos de zonas que pueden beneficiarse de la introducción de plantas inoculadas.

- Zonas con algún tipo de estrés ambiental: Son las zonas alteradas por el hombre, entre las que se encuentran las zonas altamente erosionadas.
- Zonas con bajas poblaciones de hongos ectomicorrícicos nativos: Son aquellas que generalmente han estado deforestadas durante largos periodos de tiempo.
- Zonas donde se introducen especies exóticas: Algunas especies introducidas requieren la presencia de determinados hongos ectomicorrícicos para su crecimiento. La especie forestal de crecimiento rápido puede beneficiarse del incremento inicial promovido por el hongo simbiote.

### **3.1.14 Producción de Pino en Contenedor.**

Para producir planta de pino en contenedor se debe tener en cuenta los siguientes factores: tipo de contenedor, sustrato, irrigación y fertilización. La correcta utilización de los mismos permite obtener plantas de mejor calidad forestal a las producidas en viveros tradicionales.

#### **3.1.14.1 Tipo de Contenedor.**

Los ensayos de inoculación se han realizado en contenedores Roottrainers Spencer - Lemaire. Fabricados en Canadá, modelo Sherwood de 175 cc de capacidad. Este tipo de contenedores consiste en tubos de plástico rígido negro con paredes recorridas por surcos que guían las raíces hacia abajo. El agujero de la parte inferior permite la autopoda del sistema radicular. Existen varios modelos comerciales los cuales son fabricados en distintos países del mundo. Los más conocidos son los fabricados en Canadá y Suecia, los cuales varían en tamaño, diámetro y volumen dependiendo de la especie forestal que se desee producir (14).

#### **3.1.14.2 Sustrato.**

El sustrato de crecimiento que más se ha trabajado es la mezcla de turba y vermiculita. Este tipo de sustrato tiene ventajas económicas y funcionales. Entre sus principales características se encuentran: ligereza de peso, uniformidad en la composición, precio relativamente bajo y fácilmente disponible, relativamente libre de plagas y enfermedades, elevada capacidad de intercambio catiónico, elevada capacidad de almacenamiento de agua, pH ácido, buena aireación y buen drenaje. Existen otras opciones como el bagazo de coco, el cual ha proporcionado buenos resultados pero aún es necesaria su evaluación (14).

La turba procede del musgo *Sphagnum spp* la cual no posee fertilizantes añadidos. Esta turba tiene una gran capacidad de retención de agua y es la más adecuada para su utilización como sustrato de contenedores. La vermiculita es un material micáceo que se expande a altas temperaturas (1,100 °C), formando partículas que encierran pequeñas cavidades de aire. Químicamente es un silicato de magnesio, aluminio y hierro hidratado. Cuando está expandida es muy ligera ( 100 – 140 kg/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 que se aconseja es la proporción 1:1 (v:v) con la que se ha obtenido buenos resultados en el desarrollo de la mayoría de especies de coníferas. El pH final de la mezcla es de 5.5 favorable para la mayoría de los hongos ectomicorrícicos (14).

#### 3.1.14.3. Irrigación.

El riego se debe realiza de forma manual o por microaspersión, en función de las necesidades de la época de crecimiento, ya que el exceso o carencia de agua puede reducir la formación de raíces finas. La sobre irrigación produce la formación de raíces de agua, de aspecto carnoso y engrosado con ausencia de pelos radicales. La producción de este tipo de raíces no es deseable, ya que se descomponen con facilidad e impiden la formación de raíces cortas susceptibles de ser transformadas en ectomicorrizas. La falta de agua en el sustrato minimiza la formación de raíces cortas y por tanto de micorrizas (14).

#### 3.1.14.4 Fertilización.

Debido a que los hongos ectomicorrícicos están adaptados a condiciones de baja fertilización natural en suelos forestales, los niveles elevados de fertilización en viveros pueden inhibir la formación de ectomicorrizas. Se ha comprobado que la formación de ectomicorrizas con *Pisolithus tinctorius* se reduce al aplicar niveles elevados de fertilizante ricos en NPK solubles. El tipo de fertilizante también puede influir en el desarrollo de las micorrizas, los fertilizantes de liberación lenta pueden reducir la micorrización mientras que los fertilizantes solubles no han mostrado ningún tipo de efecto inhibitor (14,32).

### 3.1.15 Descripción general de las especies de pino utilizada.

#### 3.1.15.1 *Pinus ayacahulte* Ehren (Pino blanco, Pinabete).

Este es un magnifico pino cuyos especimenes pueden llegan a medir de 35 a 40 m de altura, con diámetros de 2 metros. Los árboles maduros tienen una corona bien formada, son abiertos e irregulares. Las ramas son horizontales a un tanto inclinadas, la corona de los árboles jóvenes es cónica con las ramas en formas de espiral esparcidas irregularmente. La corteza en árboles jóvenes es gruesa, de color gris cenizo y lisa, mientras que en árboles maduros ésta empieza a arrugarse y tomarse de color café grisáceo, escalada y divide en pequeñas placas rectangulares. Las ramas son delgadas, lisas, de color gris claro, con las hojas generalmente agrupadas hacia el final, en la base de las acículas no decurrentes. Las acículas son delgadas, flexibles, en grupos de cinco, de 10 – 18 cm de longitud. La parte dorsal es color verde brillante y la parte ventral es más clara; el margen es finamente aserrado y con dientes ampliamente espaciados. Los estomas están presentes solamente en la parte ventral de las

acículas, El número de canales resiníferos varía de 2 – 4 ocasionalmente 5 – 6 en la parte externa, con un corte fibrovascular simple. Los conos siempre cilíndricos pero estrechos hacia el ápice, en una pendiente un poco curvada, 10 – 20 cm long. Son de color café amarillento y cuando maduran son muy resinosos y caen al llegar a su madurez total. El pedúnculo mide entre 1 – 3 cm long. Las semillas son de color café claro con algunas pequeñas manchas oscuras, miden de 5 – 8 mm long.; con un buen desarrollo pueden llegar a alcanzar hasta 30 – 40 mm long. Las semillas son fuertemente achatadas a adnadas, poseen de 11 – 13 cotiledones, aunque las semillas de los árboles de Guatemala, muestran entre 7 – 8 cotiledones. La madera es suave a blanda, de color blanco cremoso, clara y no es muy resinosa. La madera es muy solicitada porque es fácil de forjar con la mano. Los carpinteros locales la prefieren para la elaboración de puertas, ventanas, gabinetes y muebles. En Guatemala esta especie se encuentra distribuida en grupos y árboles individuales, a elevaciones muy altas en los departamentos de Huehuetenango, Totonicapán, Quiché, San Marcos y Quetzaltenango. *P. ayacahuite*, crece a altitudes de 2,000 a 3,200 msnm, requiere de suelos profundos, con buen drenaje, húmedos, preferentemente suelos limosos. Esta especie no se adapta a climas cálidos y suelos áridos pero su buen crecimiento se observa en regiones de elevadas altitudes, climas fríos, con buena humedad relativa en el ambiente (19).

### 3.1.15.2 *Pinus rudis* Endl. (Pino ocote, Pino colorado).

Un árbol bien formado, mide de 20 – 30 metros de altura, de 40 - 70 cm de diámetro. El inferior de las ramas es horizontal a encurvado, el extremo superior de forma ascendente a gruesa, de copa redondeada. La corteza es gruesa, café un tanto grisáceo, dividida en pequeñas placas con fisuras horizontales y verticales; en árboles jóvenes la corteza es rugosa. Las ramas son gruesas, rígidas, rugosas, y la base de las ramas decurrente. Las hojas generalmente en grupos de 5, raramente 4 ó 6, gruesas, rígidas, erectas, ligeramente curvadas, de 10 – 15 cm longitud con el margen ordinariamente aserrado. Los estomas están ubicados en los extremos dorsal y ventral, con un número de 3 – 5 canales resiníferos, ocasionalmente 6. La pared exterior del endoderma es espesa con 2 sistemas fibrovasculares. Los conos son ovoides y largos, casi simétricos, ligeramente curvados o principalmente erecto, de 10 – 15 cm de longitud, de color café oscuro a casi café violáceo, nacen en pares o en grupos de 3 – 4, cortos de casi 10 mm, con pedúnculo grueso que continua siendo igual. Los conos se abren y maduran durante los meses de frío y son semipersistentes. Las semillas son pequeñas, oscuras, de casi 5 mm long con una estrecha ala articulada de 13 mm y un número de 5 a 6 cotiledones. La madera es dura, fuerte, resinosa de color amarillento a blanco. Los árboles cortados pueden asociarse a especies de *P. ayacahuite* var. *brachyptera*, *P. montezumae* y *P. hartwegii* y se vende para carpinteros y construcciones. Esta especie se distribuye en Guatemala, en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Totonicapán, Quetzaltenango, Sololá, Quiché, Chimaltenango y Guatemala. Generalmente *P. rudis*, crece a elevaciones de 2,200 – 3,000 msnm. Ocasionalmente este árbol puede desarrollarse a elevaciones más bajas y raramente crece a elevaciones mayores a 3,300 msnm. Los árboles crecen mejor en suelos con buen drenaje, de origen volcánico a 2,500 – 3,000 msnm. A una altitud de 2,000 m puede crecer pero su desarrollo se reduce (19).

### 3.1.15.3 *Pinus hartwegii* Lindl (Pino hartweg, Pino, Pino ocote, Pino colorado)

El árbol es largo, y mide de 20 – 30 m de altura y 1 m de diámetro, en la parte baja de las ramas es largo, grueso e inclinado, la parte superior es de forma horizontal a finamente ascendente, formándose una copa espesa y redondeada, distinta al de árboles jóvenes que tiene forma piramidal. La corteza en árboles maduros es de color café rojizo, gruesa y dividida estrechamente con fisuras. Los árboles jóvenes tienen una corteza rugosa, la cual no esta dividida en placas. Las ramas son gruesas, rígidas, erectas, de color café, que en la base de las hojas es predominante y decurrente. Las hojas generalmente crecen en grupos de 3 pero algunas veces de 4 – 5, gruesas, rígidas, erectas de 8 – 10 cm long, ocasionalmente 5 – 8 cm. Nacen en grupos o en racimos en el final de las ramas. El margen de las hojas es finamente aserrado, con estomas ubicados en la parte dorsal y ventral y un número de canales resiníferos que varia de 3 – 12. El exterior de la pared del endoderma es delgado, aunque algunas veces finamente grueso, con 2 tajos fibrovasculares todos muy cerrados distintos, con un número continuo de reformamiento celular. Los conos son de forma ovoide alargada casi simétrico, finamente curvado, generalmente de una longitud de 8 – 10 cm, aunque ocasionalmente alcanzan 17 cm long. Nacen en pares y grupos de 3, 4 y 5, el tamaño del pedúnculo es de 5 – 10 mm, generalmente grueso, casi oculto por la escala basal del cono. El cono tiene un distintivo color morado fuerte a casi negro, el cono se abre durante los meses frío, cuando el cono cae el pedúnculo permanece con un cono pequeño basal en la rama. Las semillas son casi negras, de 5 mm de longitud, el ala es articulada de color café a café pálido, de 10 – 11 mm long. Posee de 5 a 6 cotiledones, aunque generalmente presentan 5. La madera es dura, de buena calidad, pero resinosa, de color amarillo blanquecino, aunque algunas veces color tierra o café pálido. Esta especie, esta reportada para los Departamentos de Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, Quiché, Sololá, San Marcos, Chimaltenango, Sacatepéquez y Guatemala, creciendo a grande altitudes entre 3,000 – 3,700 msnm (19).

### 3.1.16 Descripción morfológica y anatómica de los cuerpos fructíferos.

#### 3.1.16.1 *Laccaria aff bicolor*.

El píleo tiene un diámetro de 20 – 45 mm, convexo a plano convexo, de color naranja a café rojizo pálido  $8^{7D}$  (38), aunque en ejemplares adultos se manifiesta un color café naranja pálido  $8^{5C}$ , en ejemplares más jóvenes el color es más pálido. La cutícula es desprendible. El contexto es de color blanco violeta  $16^{5C}$  bajo ésta; el margen recto a decurvado, con borde ondulado entero y la superficie es seca y fibrilosa. Posee contexto delgado de hasta 3 mm de grosor, de consistencia carnosa, olor afrutado con sabor a hongo. Láminas de color rosado violeta  $15^{3-4/B}$ , que en los adultos cambian a naranja pálido  $8^{3/A}$ , adnadas con borde liso, muy juntas y gruesas que se tornan onduladas, con superficie lisa y lamélulas truncadas. El estípote tiene 40 – 50 mm de longitud de 4 – 6 mm diámetro en el ápice, 6 – 9 mm diámetro en la base, cilíndrico a un poco ensanchado en la base, superficie fibrilosa, de color café naranja igual al píleo. Contexto lleno, fibriloso de color beige, con sabor y olor afrutado. Micelio basal de color blanco violeta  $17^{3/A}$ . Al aplicar hidróxido de potasio manifiesta un cambio de color café oscuro en contexto píleo y estípote. Este hongo pertenece al Orden Agaricales, muy similar a la especie *Laccaria bicolor* (SCOP. EX FR.) BK & BR. Ver fotografía 3, apéndices.

### 3.1.16.2 *Suillus aff brevipes*.

El píleo tiene 80 – 120 mm de diámetro aunque existen algunos ejemplares que puede alcanzar hasta 220 mm de diámetro, plano convexo, de superficie subviscosa a viscosa-gelatinosa en húmedo; lisa, de margen decurvado a recto, borde levantado ondulado, con cutícula desprendible de color café salmón 7<sup>6F</sup> (38) en los más jóvenes y el centro beige grisáceo, en los más adultos tonos café naranja 7<sup>6E</sup> que se aclara a un beige naranja 5<sup>5C</sup> a una mayor exposición al sol. Cutícula fibrilosa radialmente, contexto blanco bajo la cutícula, el resto de color blanco a verde amarillento 1<sup>3A</sup> sobre el himenio y color café rosado 7<sup>3B</sup> bajo la cutícula central, consistencia esponjosa, con sabor a hongo y olor afrutado. El Himenio posee tubos de color amarillo claro 2<sup>4A</sup> en los más jóvenes, y beige 5<sup>3B</sup> en adultos; poros alargados radiales con abundantes cistidios transparentes. Los cistidios de aspecto granuloso presentan 1 a 2 poros por mm, himenio subsinuado a adnado, tubos adnados a subdecurrentes; que al corte cambia de color a amarillo 5<sup>5D</sup>; tubos desprendibles de 9 mm de longitud y 0.8 mm de diámetro. El estípite mide 30 a 47 mm de long, clavado ligeramente oblicuo y algo atenuado en la base de color amarillo pálido 2<sup>4A</sup>, y en el ápice más claro que luego cambia de color a beige sucio 6<sup>4E</sup> a tonalidades más café 6<sup>5E</sup>, hacia la base, de 11 mm de diámetro en el ápice y 19 mm diámetro de la base, superficie fibrilosa, con alargamiento de los tubos que forma una falsa red. Contexto lleno, fibroso, que se mancha de rosado pálido 6<sup>3B</sup>, las cavidades de las larvas presenta un color 8<sup>4E</sup>. Al aplicar hidróxido de potasio el contexto píleo cambia a rosado grisáceo, mientras que los tubos toman un color café y el contexto estípite cambia a gris. Al aplicar ácido sulfúrico el contexto píleo se torna amarillo intenso 3<sup>6A</sup>, y en los tubos café naranja 6<sup>8D</sup>. Al aplicar cloruro férrico, el contexto píleo se toma café verdusco y los tubos café negruzco. El rojo congo provoca tonos de color purpúreo en el estípite principalmente en el área del ápice. Ver fotografía 4, apéndices.

### 3.1.17 Descripción de las micorrizas producidas naturalmente en plantas de pino.

#### 3.1.17.1 *Laccaria aff bicolor* más *Pinus hartwegii* Lindl.

Las raíces micorrizadas fueron extraídas del suelo donde se desarrollaban los cuerpos fructíferos de los hongos arriba descritos, en un bosque de regeneración de *Pinus hartwegii*, de la aldea Tzichim, Todos Santos Cuchumatán.

Las micorrizas adultas, presentaban un color blanquecino en las puntas con tonalidades amarillo naranja perlado a café naranja hacia la base 5<sup>5C</sup> y 6<sup>7C-D</sup> (38). Ramificaciones dicotómicas de aspecto liso, con una longitud de hasta 8 mm total del sistema, y diámetros de 0.5 mm en las puntas ramificadas, 0.5 mm en las puntas no ramificadas y 0.7 mm en el ramal principal. Micelio poco abundante, fibriloso-algodonoso de color blanquecino que recubría la raíz principal. Ausencia de rizomorfas y únicamente algunas hifas que emergen de la parte media.

#### 3.1.17.2 *Suillus aff brevipes* más *Pinus hartwegii* Lindl.

Las micorrizas adultas de *Pinus hartwegii* con *Suillus aff brevipes* presentaron un color blanquecino en las puntas y café naranja 7<sup>8B</sup> (38) en el resto. Ramificaciones de tipo simple a bifurcadas, de aspecto rugoso

capitadas, con una longitud de 2.5 hasta 4 mm, con diámetros de 0.5 mm en la base de la micorriza, 0.3 mm en la base de la ramificación y 0.2 mm en las puntas de ramificaciones. La raíz principal estaba recubierta por micelio abundante de color blanquecino de aspecto fibriloso.

### 3.2 MARCO REFERENCIAL.

#### 3.2.1 Información General del Área de Colecta e Influencia.

Según el mapa topográfico de la República de Guatemala, citado por López (18), el área donde se colectaron los hongos de esta tesis, se localiza en el caserío Tuicoy, aldea Tzichim, del municipio de Todos Santos Cuchumatán, departamento de Huehuetenango. Ésta se sitúa en la Sierra de los Cuchumatanes, entre los 15° 32' 42" a 15° 33' 03" latitud norte y a 91° 35' 45" longitud oeste, a una altitud de 3,540 msnm, en una región con pendientes inclinadas, de más del 50% con colinas y altiplanicies.

De la Cruz (6), ubica el área bajo la influencia de la zona de vida del Bosque Húmedo Montano Subtropical, la cual presenta una temperatura media anual de 7.65 °C, con valores que van de 0.6 a 15.3 °C. El valor promedio de precipitación anual es de 800 mm, bien distribuidos en 140 días de lluvia, con humedad relativa que tiene un valor promedio de 80%. Entre las especies indicadoras para esta zona de vida podemos citar: *Juniperus standleyi*, *Pinus rudis*, *Abies religiosa*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus hartwegii*, *Quercus spp*, *Buddleia spp*, *Cestrum spp* y *Braccharia spp*.

Según Simmons et al (33), las características de los suelos del área son las que corresponden al grupo de los suelos cerros de caliza y específicamente los correspondientes a la serie Toquiá. Éstos son poco profundos, bien drenados, desarrollados sobre caliza en un clima frío y húmedo, de color café muy oscuro a negro, con un contenido de materia orgánica muy alto, de estructura granular con reacción ligeramente ácida entre 6.5 y 6.

#### 3.2.2 Información general del área donde se efectuó el experimento.

El experimento se realizó en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en la Ciudad Capital, el cual se encuentra dentro de la zona de vida del Bosque Húmedo Subtropical Templado (Bh - st). Las condiciones climáticas del vivero son las siguientes:

Temperatura media anual:	18.30 °C.
Humedad relativa media:	75.9%
Insolación promedio:	6.65 horas / día.
Radiación:	0.33 cal/cm <sup>2</sup> /min.

#### 4. OBJETIVOS.

- 4.1 Describir macroscópicamente las micorrizas formadas en plantas en vivero de *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl, inoculadas con cepas de *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.
- 4.2 Evaluar la capacidad infectiva de los inóculos *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, a diferentes dosis, en la producción de micorrizas en plantas de *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl en contenedor.
- 4.3 Evaluar la eficiencia micorrícica de las cepas *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, nativas de los Cuchumatanes, sobre el crecimiento y desarrollo de plantas en vivero de *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl en contenedor.

## 5. HIPÓTESIS.

Las diferentes dosis de inóculo de *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, aplicadas a plantas en vivero de *Pinus ayacahutte* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl, en contenedor, producirán similares efectos en el porcentaje de micorrización, crecimiento y desarrollo de las plantas.

## 6. METODOLOGÍA.

### 6.1 COLECTA DE CUERPOS FRUCTÍFEROS.

Los cuerpos fructíferos de los hongos micorrícicos ensayados se colectaron durante la estación lluviosa, observándose su crecimiento alrededor de los árboles de *Pinus hartwegii*/*P. rudis*. Éstos fueron extraídos teniendo el cuidado de no fragmentar ninguna parte del hongo para evitar alguna contaminación; los hongos fueron colocados dentro de papel encerado para protegerlos de la desecación y transportados en hieleras con el fin de mantener vivo el micelio.

### 6.2 PRODUCCIÓN DE INOCULO MICELIAR EN SUSTRATO TURBA - VERMICULITA.

La producción de inóculo miceliar se realizó en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia según la técnica descrita por Molina y Braine, utilizada por Pera (28) con algunas modificaciones. A partir de fragmentos de cuerpos fructíferos de los hongos se obtuvo un cultivo puro de las especies ensayadas (*Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*) en medio Melin Norkans Modificado (MMN) incubado a 25 °C durante 30 días.

Para obtener inóculo miceliar se utilizaron frascos de tapón de rosca de 2 lts de capacidad, los cuales contenían 1100 ml de vermiculita grado 2 (2 mm Ø tamaño de la partícula) más 100 ml de turba de Sphagnum (Peat Moss), tamizada (2 mm tamaño de la partícula) y 600 ml de medio líquido MMN, mezclados homogéneamente.

### 6.3 DOSIFICACIÓN DE INOCULO.

Para evaluar el efecto de *Laccaria aff bicolor* sobre las plantas de pino se emplearon las siguientes dosis de inóculo 1:8, 1:10, 1:12, 1:16, 1:32, y para *Suillus aff brevipes*, las siguientes: 1:4, 1:8 y 1:12. El inóculo obtenido en los frascos de tapón de rosca se mezcló con sustrato turba vermiculita (1:1, v:v) estando ya establecidas las dosificaciones para cada especie de pino y cada especie de hongo evaluado. Se prepararon 5 contenedores por cada dosis evaluada y 5 para cada grupo de plantas control. Los tratamientos fueron distribuidos al azar.

### 6.4 GERMINACIÓN DE SEMILLAS.

Las semillas utilizadas de *Pinus ayacahuite*, *P. rudis*, y *P. hartwegii*, fueron colocadas durante 12 horas en recipientes con agua purificada. Después de transcurrido este tiempo, las semillas flotantes (semillas vanas) fueron descartadas, utilizando para la germinación aquellas semillas que reposaban en el fondo del recipiente (5). Las semillas fueron colocadas en cajas de plástico transparente, conteniendo sustrato turba vermiculita humedecida.

### 6.5 SELECCIÓN Y SIEMBRA DE PLÁNTULAS DE PINO.

Después de transcurridos 8 días, se inició la germinación de las semillas de *Pinus rudis* y *P. hartwegii*. Para el caso de *P. ayacahuite* la semilla tardó entre 15 y 20 días en germinar. Al transcurrir este tiempo se

seleccionaron las plántulas y fueron sembradas en contenedores plásticos, que contenían inóculo dosificado en sustrato turba - vermiculita.

## 6.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, debido a que las condiciones en las cuales se efectuó el experimento eran homogéneas.

### 6.6.1 Número de Unidades Experimentales.

Para determinar el número de unidades experimentales se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = t r$$

$n$  = unidades experimentales.

$t$  = tratamientos.

$r$  = repeticiones.

Cuadro 1: Número de unidades experimentales por especies utilizadas.

Especie.	<i>Laccaria aff bicolor.</i>	<i>Suillus aff brevipes.</i>
<i>Pinus ayacahuile.</i>	20	20
<i>Pinus rudis.</i>	30	20
<i>Pinus hartwegii.</i>	30	20

### 6.6.2 Modelo Estadístico.

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \epsilon_{ij}$$

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

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

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

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\pi_i$  = Efecto de la  $i$ esima cepa sobre la  $ij$  - esima unidad experimental.

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

### 6.6.3 Descripción de los Tratamientos.

- *Laccaria aff bicolor* más *Pinus ayacahuile*.

Después de obtenido el inóculo en incubación por 2 meses en sustrato turba vermiculita y solución nutritiva, se realizaron las mezclas correspondientes para cada dosis de inoculación. Las dosis utilizadas fueron: 1:8 (v:v, 1 parte de inóculo y 7 de sustrato), 1:16 (v:v) y 1:32 (v:v).

- *Laccaria aff bicolor* más *Pinus rudis* y *P. hartwegii*.

La dosis utilizadas fueron 1:8 (v:v, 1 parte de inóculo y 7 de sustrato), 1:10 (v:v), 1:12 (v:v), 1:16 (v:v) y 1:32 (v:v). Se llenaron 5 contenedores de 125 ml de cada una de las dosis utilizadas, sembrando una semilla germinada en cada contenedor.

- *Suillus aff brevipes* más *Pinus ayacahuite*, *P. rudis* y *P. hartwegii*.

Las dosis utilizadas para la inoculación de esta especie de hongo fueron: 1:4 (v:v, 1 parte de inóculo y 3 de sustrato), 1:8 (v:v) y 1:12 (v:v).

- **Plantas Control. (Sin inóculo).**

Este tratamiento consistió en llenar 5 contenedores para cada especie de pino evaluada, con sustrato turba vermiculita sin inóculo; también se colocó una semilla germinada en cada contenedor, con un tiempo de permanencia de 20 semanas y distribuidas completamente al azar.

## 6.7 VARIABLES DE REPUESTA EVALUADAS.

Luego de transcurridas 20 semanas en invernadero, se midieron las siguientes variables: **porcentaje de micorrización, altura de la planta, longitud de la raíz, peso fresco foliar, peso fresco radicular, número de raíces laterales** y además se efectuó una descripción macroscópicamente de las micorrizas formadas.

### A. Variable de Micorrización:

El porcentaje de micorrización, se obtuvo mediante un conteo del número de raíces cortas formadas en las raíces laterales y raíz principal, y un conteo del número de raíces cortas micorrizadas, utilizando la siguiente formula para calcular el porcentaje por planta:

$$\% M = (r m / r c) \times 100$$

% M = Porcentaje de micorrización.

r m = Número de raíces cortas micorrizadas

r c = Número de raíces cortas.

### B. Variables de Respuesta Crecimiento:

**Altura de la planta y Longitud radicular.** La altura se obtuvo desde el hipocótilo hasta la copa, mientras que la longitud radicular se obtuvo desde el hipocótilo hasta la cofia, con el fin de comparar el crecimiento de las plantas inoculadas y la plantas control.

### C. Variables de Respuesta Desarrollo:

**Peso fresco foliar y radicular,** Se tomó por separado el peso del área foliar de la planta y el peso del sistema radicular, comparando el peso producido en las plantas inoculadas y plantas control.

**Número de raíces laterales:** También se contaron el número de raíces laterales formadas, para determinar los efectos de la micorrización en la parte radicular de la planta.

#### **D. Descripción Macroscópica de las Micorrizas:**

Una vez desarrolladas las micorrizas en las plantas inoculadas se procedió a describirlas mediante el uso de un microscopio - estereoscópico. Se utilizó una guía para la descripción morfológica (37) y la tabla de colores de Methuen (38), anotando características tales como estado, forma, color, aspecto, tamaño, presencia de cordones miceliares y rizomorfas.

#### **6.8 ANÁLISIS DE DATOS.**

A las variables de respuesta cuantitativas se les efectuó un análisis de varianza, auxiliado por el programa Statistical Analysis System (SAS) y así determinar diferencias significativas entre las dosis evaluadas y el tratamiento control. Posteriormente se efectuó una prueba múltiple de medias Tukey al 5% de significancia, con el propósito de determinar la dosis con mayor infectividad micorrizica y su efectividad en el incremento de tamaño y desarrollo de las plantas de pino en contenedor.

#### **6.9 MANEJO DEL EXPERIMENTO.**

Para el correcto manejo de las plantas experimentales en el invernadero de la Facultad de Agronomía, se tomaron en cuenta los siguientes factores:

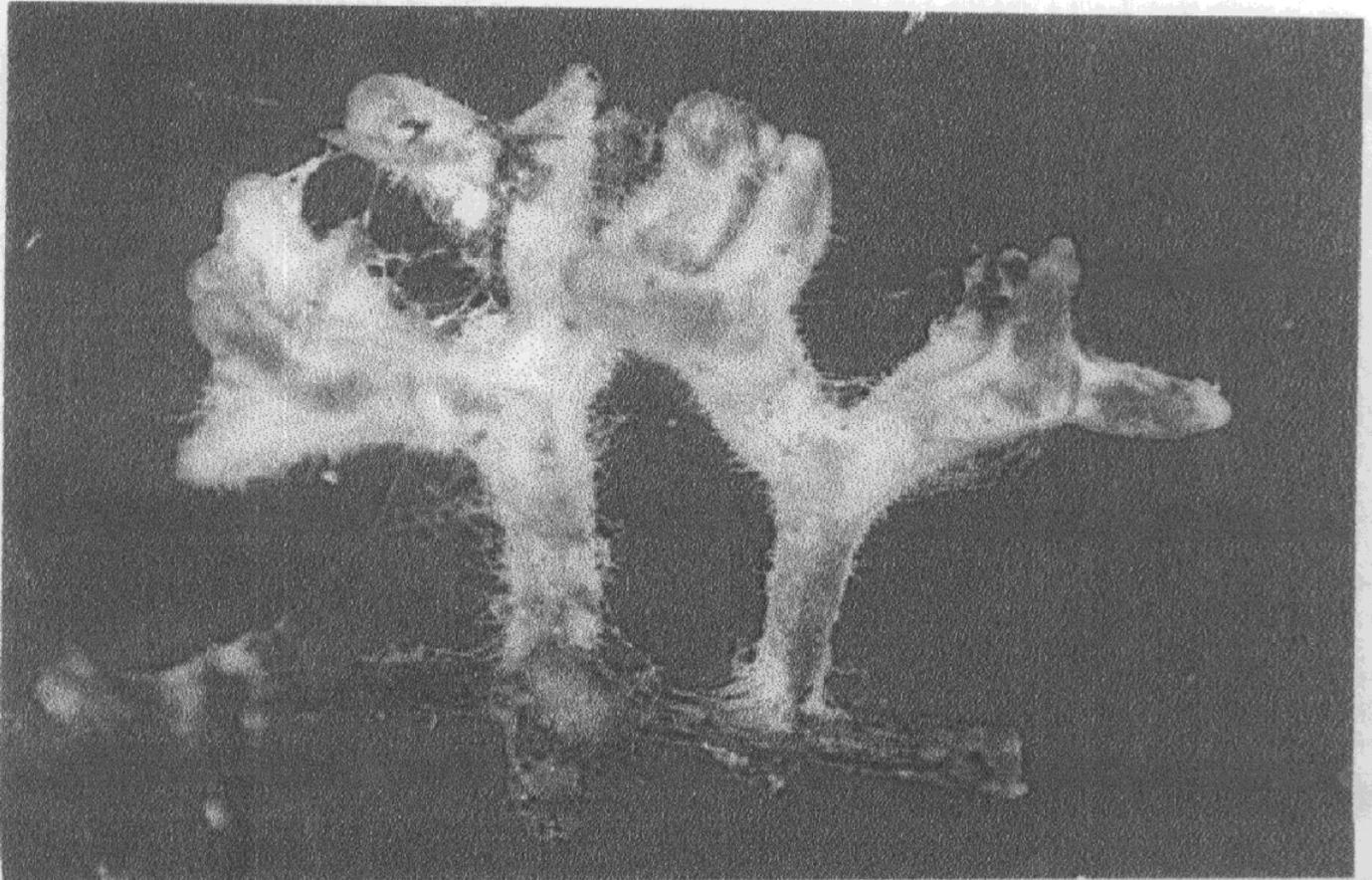
1. Riego: Se efectuó de forma periódica, con intervalo de 2 a 3 días, utilizando una regadera de mano y evitando salpicaduras entre bandeja para no provocar contaminación entre tratamientos.
2. Fertilización: Se realizó con fertilizantes quelatados tales como: 20-10-20 (Peter Profesional M-77) y una fuente de micro nutrientes (STEM Peter Profesional). La dosis de fertilizante utilizada fue 3.6 gr. de 20-10-20 + 0.24 gr. micro nutrientes, disueltos en dos litro de agua. El fertilizante se aplicó por aspersion, efectuándose la primera aplicación a los 15 días de germinadas las plantas, y las siguientes aplicaciones se efectuaron a intervalos de 15 días, hasta cumplirse 20 semanas. La utilización de turba (Peat Moos) como sustrato fue un factor determinante para la aplicación de fertilizantes sobre las plantas en vivero debido a la poca disponibilidad de nutrientes que este posee.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 7.1 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA Y MORFOLOGÍA DE LAS MICORRIZAS PRODUCIDAS ARTIFICIALMENTE EN PLANTAS DE PINO.

#### 7.1.1 *Laccaria aff bicolor* más *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endly *Pinus hartwegii* Lindl.

Se obtuvieron micorrizas juveniles y adultas bien desarrolladas, de color blanco violeta a violeta pálido  $17^{2-3/A}$  (38), que después de 30 segundos cambiaban a un color beige blanquecino a amarillo pálido  $3^{3/A-B}$  hasta un beige blanquecino naranja  $8^{2/A}$ . Hubo micorrizas simples y con ramificaciones dicotómicas simples, con superficie lisa y con micelio de aspecto lanoso compacto,. La longitud total de las micorrizas para *Pinus rudis* y *Pinus hartwegii* varió de 1.8 mm hasta 3.5 mm, mientras que para *Pinus ayacahuite* alcanzó una longitud de 1.5 – 4 mm. El diámetro de las micorrizas para las tres especies de pino fue cercano a los 0.9 mm en la base, 0.5 mm en la base de las ramificaciones y 0.3 - 0.2 mm en las puntas. La raíz principal siempre estuvo recubierta por micelio de color blanquecino translúcido; la mayor parte de las micorrizas se formaron en la parte media y baja de las raíces secundarias en dosificación menor o igual a 1:10; sin embargo, cuando la dosificación fue mayor a 1:8 las micorrizas se distribuyen perfectamente en toda la raíz, ver fotografía 1.



Fotografía 1: Micorrizas de *Laccaria aff bicolor* formadas en raíces de plantas de pino.

### 7.1.2 *Suillus aff brevipes* más *Pinus rudis* End y *Pinus hartwegii* Lindl.

Se formaron micorrizas juveniles y adultas bien desarrolladas, de color blanquecino brillante hasta un beige amarillento a blanco <sup>2/A</sup> (38), con ramificaciones de tipo coraloide, de aspecto liso recubiertas por micelio de aspecto lanoso fibriloso. Las micorrizas presentaron una longitud de 1.5 mm hasta 4 mm. con diámetros que variaron entre 0.5 - 0.4 mm en la base y 0.3 mm en las ramificaciones. La raíz principal, estaba recubierta por un micelio de aspecto fibriloso - lanoso de color blanquecino a beige. Las micorrizas se formaron en la parte media de las raíces laterales, y algunas en la parte baja de la raíz. En las agrupaciones coraloideas siempre se observó abundante micelio recubrente, ver fotografía 2.



Fotografía 2: Micorrizas de *Suillus aff brevipes* formadas en raíces cortas de plantas de pino.

## 7.2 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS CONTROL.

### 7.2.1 Características de Plantas de *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl no inoculadas.

Las plantas mostraron un desarrollo foliar adecuado pero un desarrollo radicular deficiente, con escasa formación de raíces laterales y cortas. En planta de *P. ayacahuite*, aunque a simple vista se observó un tamaño ligeramente menor a las micorrizadas, las pruebas estadísticas indicaron que no hubo diferencia significativa.

### 7.3 PORCENTAJE DE MICORRIZACIÓN.

La simbiosis mutualista entre raíz y planta da como producto la micorriza, éstas se forman principalmente en las raíces cortas y absorbentes del sistema radicular (27). Para determinar el porcentaje de micorrización debe hacerse efectivo el conteo del total de raíces cortas formadas en las raíces. Las raíces cortas se diferencian de las raíces micorrizadas por la formación de una cubierta miceliar o manto que las envuelve. A continuación el cuadro 2 muestra los porcentajes de micorrización producidos por *Laccaria aff bicolor* en plantas de pino y en el cuadro 3 los producidos por *Suillus aff brevipes*.

Cuadro 2: Prueba de medias (Tukey), porcentaje de micorrización de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>		
	DOSIS	Media (%)	Agrupamiento	Media (%)	Agrupamiento	Media (%)	Agrupamiento
	1:8	71.35	A	74.93	A	66.252	A
	1:10			69.66	B	56.59	B
	1:12			68.81	B	54.57	B
	1:16	67.204	A	66.11	B	52.808	B
	1:32	43.928	B	40.92	C	52.214	C

Cuadro 3: Prueba de Medias (Tukey), porcentaje de micorrización en plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>		
	DOSIS	Media (%)	Agrupamiento	Media (%)	Agrupamiento	Media (%)	Agrupamiento
	1:4	0.00	A	29.76	A	20.056	A
	1:8	0.00	A	00.00	B	00.00	B
	1:16	0.00	A	00.00	B	00.00	B
	Control	0.00	A	00.00	B	00.00	B

El hongo *Laccaria aff bicolor* manifestó mejor infectividad respecto a *Suillus aff brevipes* en la producción de micorrizas de plantas en contenedor. La dosis de inóculo de *Laccaria* más efectiva fue 1:8, observándose que el porcentaje de micorrización disminuye con la cantidad de inóculo disponible en el sustrato. Sin embargo la dosis de 1:16 produjo un porcentaje estadísticamente similar a la dosis 1:8, lo cual reduce la cantidad de inóculo y beneficia económicamente la producción de planta micorrizada. Pera et al (27, 28) afirma reportó la misma efectividad a diversas dosis con *Laccaria laccata* y *L. bicolor*. En el caso de la cepa *Laccaria aff bicolor* utilizada en este experimento, se muestra un comportamiento diverso, lo cual puede deberse a características genéticas o del medio ambiente.

Las inoculaciones con la cepa *Suillus aff brevipes* resultaron poco infectivas y produjeron pocas micorrizas en las plantas de pino experimentales, incluso a una dosis alta de 1:4. La infectividad de esta cepa puede estar relacionada con su capacidad de supervivencia entre el período comprendido entre la inoculación del sustrato y la formación de raíces cortas. Pera (27) y Pera et al (28), en investigaciones efectuadas con diversas especies de hongos micorrícicos, encontró que las cepas de *Suillus* utilizadas no lograron infectar las plantas crecidas en contenedor, a pesar de ser un excelente hongo micorrícico de plántulas de pino. Menciona que la escasa o nula efectividad de los inóculos miceliar de *Suillus* por él utilizados, podría relacionarse con una baja capacidad del hongo para sobrevivir en forma saprofitica, en el período que comprende la inoculación del sustrato y la formación

de las primeras raíces micorrizables. En la figura 1 se observa la diferencia producida en el porcentaje de micorrización por cepa en cada especie de pino inoculada.

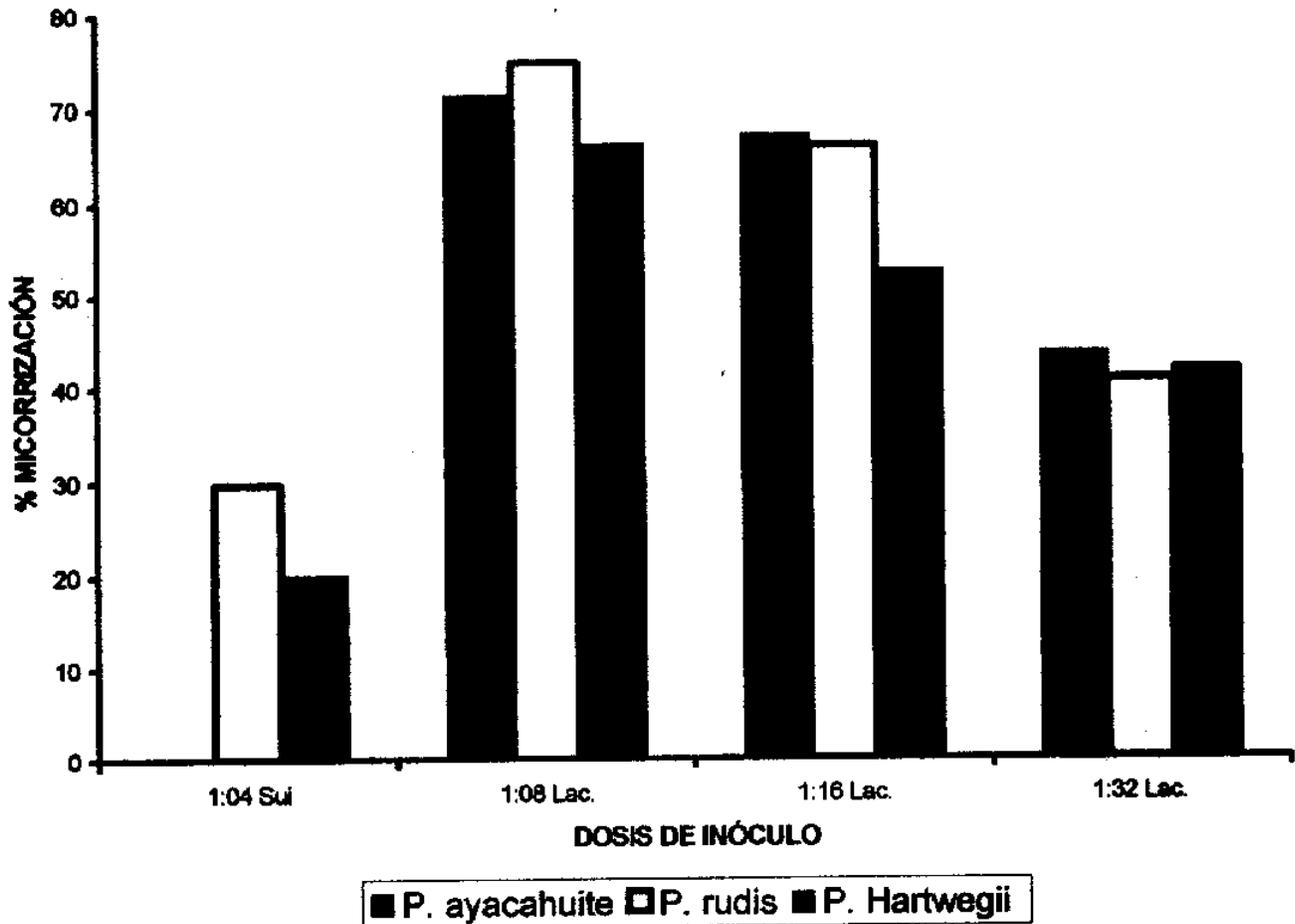


Figura 1: Porcentaje de micorrización producido a diferentes dosis de inóculo en plantas de pino.

#### 7.4 CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE PINO.

Según Pera et al (28), los efectos de la micorrización en el crecimiento de las plantas durante la fase de vivero no son significativos, ya que la planta puede absorber por las raíces todo lo que necesita sin necesidad del hongo. El efecto beneficioso del hongo ectomicorrícico se manifiesta principalmente en campo, donde la planta se ve sometida a condiciones diversas y a veces adversas.

##### 7.4.1 Altura de plantas inoculadas con *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.

La altura de la planta es un factor que se ha constituido primordial para determinar el crecimiento de la planta; mediante esta condición se establece la edad idónea para el trasplante a campo definitivo. La altura de la planta se midió desde el hipocótilo hasta el meristemo apical. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, para determinar diferencias significativas, y una prueba múltiple de medias de Tukey al 5%, la cual se presenta en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 4: Prueba de medias (Tukey), altura de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor* a diferentes dosis.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite.</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii.</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm).	Agrupamiento
1:8	100.00	A	66.00	A	125.00	A
1:10			66.20	A	119.20	B
1:12			69.40	A	117.60	B
1:16	96.40	A	70.20	A	128.80	A
1:32	89.80	A	69.20	A	116.20	B
Control	86.50	A	48.50	B	97.25	C

Cuadro 5: Prueba de medias (Tukey), altura de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes* a diferentes dosis.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite.</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii.</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm).	Agrupamiento
1:4	88.56	A	74.70	A	134.60	A
1:8	85.36	A	71.34	B	116.20	B
1:16	83.98	A	69.55	B	115.40	B
Control	72.36	B	53.56	C	96.80	C

El inóculo de *Laccaria* produjo un incremento en la altura de las plantas micorrizadas. En *Pinus ayacahuite* el incremento fue de hasta 13.5 mm respecto al control y de 17.50mm y 27.75mm para *P. rudis* y *P. hartwegii* respectivamente; sin embargo, el análisis estadístico indica que los efectos entre dosis y plantas no inoculadas son similares.

Las plantas inoculadas con *Suillus aff brevipes* a una dosis de 1:4, también mostraron mejor altura que las plantas control, produciéndose hasta un incremento de 16.2 en *Pinus ayacahuite*, 21.5 en *P. rudis* y 37.2 en *P. hartwegii*. Las diferencias en crecimiento pueden no sólo deberse a la micorrización sino a otros factores tales como la fertilización y manejo del vivero.

#### 7.4.2 Longitud radicular de plantas inoculadas con *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.

El crecimiento de la raíz principal de las plantas es importante para el anclaje y absorción de nutrientes, factores que contribuyen a la adaptabilidad después del trasplante y determinan su desarrollo en campo definitivo. En este trabajo se midió la longitud de la raíz principal desde el hipocótilo hasta el meristemo radical (cofia) de cada una de las plantas experimentales para determinar el efecto que pudo ejercer la micorrización en su elongación y desarrollo. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, determinando diferencias significativas, y una prueba múltiple de medias Tukey al 5%, la cual se presenta en los cuadros 6 y 7.

Cuadro 6: Prueba de medias (Tukey), longitud de la raíz principal de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite.</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii.</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento
1:8	125.00	A	126.60	A	115.00	A B
1:10			123.80	A	110.80	A B
1:12			124.40	A	110.80	A B
1:16	114.40	B	125.40	A	118.20	A
1:32	110.40	B	116.20	B	112.20	A B
Control	102.75	C	104.00	C	109.50	C

Cuadro 7: Prueba de Medias (Tukey), longitud de la raíz de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento
1:4	112.36	A	107.80	A	124.80	A
1:8	110.25	A	104.73	B	112.80	B
1:16	108.34	A	105.56	B	113.40	B
Control	101.22	B	89.78	C	110.00	B

En plantas de *Pinus ayacahuite* inoculadas con *Laccaria aff bicolor*, la longitud de la raíz se incrementó hasta 22.25 mm, 22.6mm en *P. rudis* y 8.7mm en *P. hartwegii*. Se observó que la presencia del hongo micorrícico influyó en la elongación radicular de las plantas inoculadas mientras que las plantas control mostraron el menor tamaño y desarrollo. La elongación es producto de la presencia de metabolitos que se producen en la simbiosis micorrícica. En pruebas de micorrización en cultivo puro, en tubos o frascos de vidrio, las plantas sin inocular han mostrado desarrollo radicular deficiente comparado a plantas micorrizadas ( 27). Esto comprueba que la micorrización es efectiva y fundamental para el mejoramiento de la planta de vivero y plantaciones forestales.

Las plantas inoculadas con *Suillus aff brevipes* también mostraron un crecimiento relativamente mayor que las plantas control. El mayor efecto se observó en la dosis 1:4, encontrándose una diferencia de 11.14 mm en plantas de *Pinus ayacahuite*, 18.02 mm en *P. rudis* y 14.8 mm en *P. hartwegii*. El resto de las dosis ( 1:8 y 1:16), también aumentaron la longitud de las raíces aunque en menor grado. Un factor que ha facilitado el desarrollo radicular de estas plantas ha sido el sustrato de turba-vermiculita, ya que permite un mejor intercambio catiónico en las raíces respecto a otros sustratos.

### 7.8 DESARROLLO DE LAS PLANTAS DE PINO.

Según Hatch, citado por Pera (27), las plantas micorrizadas no sólo son mayores en tamaño a las no micorrizadas, sino que contienen mayor cantidad de los principales nutrientes por unidad de masa. En ellas se aumenta la absorción de macro nutrientes y disminuye la toxicidad a algunos elementos, de modo que se mejora el desarrollo foliar y radicular de las plantas micorrizadas.

#### 7.5.1 Peso fresco del área foliar de plantas inoculadas con *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.

Algunas plantas inoculadas pueden manifestar diferencias o similitudes en cuanto a su crecimiento, sin embargo el peso es determinante para valorar el desarrollo de dos plantas de la misma altura. A continuación se presentan los cuadros 8 y 9, que muestran las diferencias en peso fresco de las plantas inoculadas y sin inocular.

Cuadro 8: Prueba de medias (Tukey), peso fresco del área foliar de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>	
	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento
1:8	0.32	A	0.3160	A	0.35	A
1:10			0.2720	B	0.2740	B
1:12			0.238	B	0.2380	C
1:16	0.2980	A	0.266	B	0.2500	B C
1:32	0.2640	A	0.242	B	0.1920	D
Control	0.1775	B	0.13	C	0.075	E

Cuadro 9: Prueba de Medias (Tukey), peso fresco área foliar de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite.</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii.</i>	
	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento
1:4	0.352	A	0.32	A	0.378	A
1:8	0.288	A	0.278	B	0.298	B
1:16	0.266	A	0.26	B	0.260	B
Control	0.183	B	0.17	C	0.176	C

El cuadro 8 muestra que la cepa *Laccaria aff bicolor* fue eficaz en el incremento del peso fresco de las plantas experimentales. En algunas hubo una ganancia neta de hasta 0.1425 gr., equivalente a 77.77% del peso fresco de plantas sin inocular. En esta prueba se encontró que la concentración de inóculo fue proporcional a la ganancia en peso fresco aéreo de las plantas, lo que significa que al haber una mayor cantidad de inóculo y luego de micorrizas se aumenta paralelamente la absorción de agua y nutrientes por parte de la planta.

Las plantas inoculadas con *Suillus aff brevipes* también resultaron efectivas en el aumento de peso fresco de las plantas de pino experimentales; sin embargo, al igual que con *Laccaria* la concentración de inóculo y por ende de micorrizas, fue determinante en la ganancia de dicho peso. Las plantas sin inocular mostraron el peso fresco más bajo, casi la mitad del peso de las plantas con mayor cantidad de micorrizas.

#### 7.5.2 Peso fresco del sistema radicular de plantas inoculadas con *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.

La calidad del sistema radicular es importante para incrementar la supervivencia y el crecimiento de las plantas después de su trasplante al campo. La calidad depende de la forma de la raíz, del número de ramificaciones laterales y de la abundancia de raíces cortas fisiológicamente activas. Lamentablemente este es un factor que comúnmente no se toma en cuenta en la producción de planta forestal en nuestro país y que lleva al mal desarrollo de plantas en campo. En este estudio se midió el peso fresco de la raíz de las plantas experimentales, para determinar diferencias entre dosis de inóculos y la eficacia de los mismos en comparación con plantas sin inocular. Posteriormente a los datos se les efectuó un análisis de varianza, observando que existían diferencias significativas. A continuación se presentan los cuadros 10 y 11 donde se muestran las diferencias entre las diferentes dosis y el peso radicular de las plantas.

Cuadro 10: Prueba de medias (Tukey), peso fresco radicular de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite.</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii.</i>	
	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento	Media (gr.)	Agrupamiento
1:8	0.18	A	0.16	A	0.18	A
1:10			0.13	B	0.15	B
1:12			0.116	B	0.13	B C
1:16	0.17	A	0.136	B	0.14	B C
1:32	0.14	A	0.116	B	0.11	C
Control	0.092	B	0.055	C	0.03	D

Cuadro 11: Prueba de Medias (Tukey), peso fresco del área radicular de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento
1:4	0.195	A	0.21	A	0.178	A
1:8	0.189	A	0.13	B	0.142	B
1:16	0.167	A	0.13	B	0.128	B
Control.	0.094	B	0.05	C	0.032	C

En los cuadros 10 y 11 se observa que al igual que en los precedentes, la concentración de mayor cantidad de inóculo y por tanto de micorrizas fue determinante para la ganancia en peso fresco de la raíz de las plantas. El peso radicular incluyó, lógicamente, el peso de la raíz principal, de las raíces secundarias o laterales, pelos radiculares y micorrizas. Las plantas control produjeron raíces más delgadas y menos desarrolladas al no contar con los beneficios de los metabolitos fúngico-micorrícicos. Parladé (26) y Pera (27) han obtenido resultados semejantes, en las plantas control, en pruebas realizadas en España con diversos tipos de pino y cepas de hongos.

### 7.5.3 Número de raíces laterales de plantas inoculadas con *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*.

Las raíces laterales son parte fundamental de la planta para la absorción y el anclaje, además de ser la región en la cual se produce la infección micorrícica, debido a que aquí se desarrolla el mayor número de raíces cortas fisiológicamente activas, importantes para el desarrollo del hongo en la raíz. El número de raíces laterales se determinó con el fin de establecer diferencias en el desarrollo de las plantas inoculadas y plantas control. Posteriormente se efectuó un análisis de varianza donde se encontró que existían diferencias significativas entre la dosis evaluadas y, finalmente, para determinar a qué dosis se produjeron los mejores resultados, se efectuó una prueba múltiple de medias Tukey al 5%, la cual se presenta en los cuadros 12 y 13.

Cuadro 12: Prueba de medias (Tukey), número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>	
	Media (No.)	Agrupamiento	Media (No.)	Agrupamiento	Media (No.)	Agrupamiento
1:8	8	A	8.60	A	10.00	A
1:10			7.80	B	9.20	A
1:12			8.40	A	9.40	A
1:16	6.8	A	8.20	A	10.40	A
1:32	6.40	A	4.40	C	5.40	B
Control	4.75	B	3.00	D	5.50	B

Cuadro 13: Prueba de Medias (Tukey), número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*

ESPECIE	<i>Pinus ayacahuite</i>		<i>P. rudis</i>		<i>P. hartwegii</i>	
	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento	Media (mm)	Agrupamiento
1:4	6.32	A	8.57	A	10.80	A
1:8	5.78	A	6.77	B	6.20	B
1:16	5.22	A	6.36	B	6.00	B
Control.	4.18	B	3.00	C	5.40	B

Como puede observarse en los cuadros 12 y 13, la producción de un mayor número de raíces laterales fue proporcional a la dosis de inóculo aplicado. Con *Laccaria* en la dosis 1:8 el número de raíces cortas fue duplicado respecto al control, situación casi similar con el inóculo de *Suillus*. Se asume que el hongo micorrícico estimuló la producción de las raíces laterales, debido a que éste proporciona a la planta vitaminas y produce compuestos reguladores del crecimiento vegetal como auxinas, citoquininas, etileno y giberelinas.

## 8. CONCLUSIONES.

- 8.1 Las características anatómicas y morfológicas de las micorrizas formadas en las plantas de pino evaluadas en contenedor de las especies de pino evaluadas, son similares a las encontradas en condiciones naturales.
- 8.2 Se demostró la capacidad infectiva de los inóculos miceliares de *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes* en la formación de micorrizas sobre plantas de *Pinus ayacahuite Ehr*, *P. rudis Endl* y *P. hartwegii Lindl*.
- 8.3 Las cepas micorrícicas de *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes*, son eficaces en el incremento del crecimiento y desarrollo de las plantas *Pinus ayacahuite Ehr*, *P. rudis Endl* y *P. hartwegii Lindl*. en contenedor.
- 8.4 El inóculo de *Laccaria aff bicolor*, produjo su mejor infectividad a una dosis de 1:8; sin embargo, la dosis 1:16 es estadísticamente similar en la formación de micorrizas y beneficio a la anterior. La utilización de la dosis 1:16 permite un ahorro significativo en cuanto a insumos para la producción de inóculo vegetativo.
- 8.5 El inóculo miceliar de *Suillus aff brevipes* produjo baja infectividad sobre las plantas de pino experimentales, lo cual pudo deberse a cambios en su comportamiento micorrícico por la manipulación en condiciones de laboratorio.
- 8.6 El crecimiento y desarrollo de las plantas de pino inoculadas fue determinado por la concentración de inóculo disponible en el sustrato, aumentando a una mayor concentración de inóculo.
- 8.7 Las especie de pino que mejor se comportaron fueron *Pinus rudis Endl* y *P. hartwegii Lindl*, produciéndose mayor crecimiento y desarrollo de las plantas con respecto a plantas de *P. ayacahuite Ehr*.

## 9. RECOMENDACIONES.

- 9.1 Utilizar para la producción de planta forestal micorrizada las especies *Pinus rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl con inóculo miceliar de *Laccaria aff bicolor* a una dosis de 1:16 ya que produce efectos positivos en el crecimiento y desarrollo de las plantas, sin requerir grandes cantidades de inóculo.
- 9.2 Realizar estudios de producción de inóculo de *Suillus aff brevipes* que promuevan la adaptabilidad de esta cepa fúngica a condiciones de laboratorio y manejo en el vivero.
- 9.3 Efectuar pruebas de micorrización, utilizando el método de inoculación por esporas para la cepa fúngica de *Suillus aff brevipes* y determinar su efectividad.
- 9.4 Continuar los estudios de micorrización en *Pinus ayacahuite* Ehr, *P. rudis* Endl y *P. hartwegii* Lindl. con las cepas *Laccaria aff bicolor* y *Suillus aff brevipes* aisladas, ya que se trata de hongos comestibles, los cuales podrían emplearse como una alternativa alimenticia y comercial en las partes altas de montaña de Guatemala.
- 9.5 Realizar investigaciones con diversos hongos micorrícicos para la reforestación efectiva de las zonas altas de Guatemala y zonas con problemas de escasez de inóculo natural.

## 10. BIBLIOGRAFÍA.

1. BLANCO, F.; SALAS, E. 1997. Micorrizas en agricultura, contexto mundial e investigaciones realizadas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense. (C.R.)* 21(1) 55 – 67.
2. BONFANTE, P.; GIOVANETTI, M. 1989. Le micorrize. Italia, Ed. Piccin. Quaderni di Biología 10. 46 p.
3. BRANZANTI, B.; ZAMBONELLI, A. 1988. Influenza della micorrizzazione su semenzali di *Pinus pinea* allevati in contenitore. *Ricerca. (Italia)* no. 4: 53 – 56.
4. BRANZANTI, B.; ZAMBONELLI, A. 1992. La micorrizzazione del pino come técnica selvicoltura. Italia, Regione Emilia Romagna. Assessorato Agricoltura e Alimentazione. p. 245 – 257.
5. CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIONES Y ENSEÑANZA, (C.R.) 1996 Nota técnica sobre manejo de semilla forestales. Boletín Informativo no. 12. 2 p.
6. CRUZ, J. R. DE LA. 1982. Clasificación de las zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
7. CRUZ, U. 1990. Cultivo in vitro y caracterización de micelio de basidiomicetos ectomicorrizogenos. Tesis Doctoral. México, Universidad Autónoma de México, Facultad de Ciencias. 123 p.
8. FERRERA, R. 1997. Ecología y manejo de las micorrizas en reforestación: Documento básico. México, Colegio de Postgraduados, Sección de Microbiología. 15 p.
9. FITTER, A.; GARBAYE, J. 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil (France)* 159:123 – 132.
10. FLORES, R. 1998. Ectomicorrizas y su importancia en reforestación: Documento Básico. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 18 p.
11. FLORES, R.; BRAN, M.; BERDÚO, E. 1999. Hongos ectomicorrícicos asociados a *Abies guatemalensis*, *Pinus rudis* y *P. ayacahuite* en la sierra de los Cuchumatanes y su aprovechamiento en la producción de planta forestal micorrizada fase III. Documento básico. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. 23 p.
12. GUATEMALA, PLAN DE ACCIÓN FORESTAL PARA GUATEMALA. 1996. El rol de la reforestación comunitaria en el desarrollo de Guatemala. Guatemala. Boletín Informativo no. 3. 11 p.
13. JEFFRIES, P. 1997. Use of mycorrhizae in agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology (United States of America.)* 5(4): 319– 357 p.
14. HIATT, H.A. 1994 Container shape controls root system configuration of ponderosa pine. Denver, United States of America, s.n. 25 p.
15. LAPEYRIE, F. 1990. The role of ectomycorrhizae in calcareous soil by symbiocalcicole, woody plants. *Ann Sci. For. (France)* 21:579 – 589.
16. LEMUS, M. 1991. Desarrollo de 3 cepas de hongos ectomicorrícicos (*Laccaria bicolor*) sobre medios de cultivo a base de espirulina. Tesis Doctoral. México, Universidad de Tlaxcala. 83 p.

17. LEON, E. DE. 1998. Identificación de hongos micorrícicos en el bosque artificial y bosques naturales de la aldea Yulcheca, San Juan Ixcay, Huehuetenango. Investigación Inferencial. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro Universitario del Nor Occidente. 50 p.
18. LOPEZ M. 1994. Estudio de las interacciones entre población, suelo y vegetación de la aldea Tzichim, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 176 p.
19. MARTINES, M. 1948. Los pinos de México y Centroamérica. 2ed. México. Botas. 361 p.
20. MARX, D. 1982. El manejo de hongos micorrícicos y la introducción de especies de árboles exóticos: Documento básico. Estados Unidos de América, Departamento de Agricultura, Instituto para el Desarrollo y la Investigación Micorrícica. 50 p.
21. MARX, D. 1983. Mycorrhizae and feeder root diseases. E.E.U.U., United States of America Departure of Agriculture, Forest Ecology and Management. p 321 - 379.
22. MARX, D. 1985. Mycorrhizae of exotic tree in the peruvian andes and synthesis of ectomicorrhizae on mexican pines. Forestal Scientific (E.E.U.U.) 21(4):353 - 358.
23. MARX, D.; RUEHLE, J. 1991. Methods of studying nursery and field response of tree to specific ectomycorrhiza. Methods in Microbiology (E.E.U.U.) 23:385 - 411.
24. MIKOLA, B.; ZAMBONELLI, A. 1993. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. Texts and Treatise. Physiological Ecology (E.E.U.U.) 10:383 - 408.
25. O'DELL, D.; CASTELLANOS, M.; TRAPPE, J. 1986. Physiology and application of ectomycorrhizal fungi. USA, Departure of Agriculture, Forest Service. p. 379 - 409.
26. PARLADE, X. 1992. Técnicas de inoculación de abeto de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) con hongos ectomicorrícicos y su aplicación en reforestación. Tesis Doctoral. Barcelona, España, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias. 202 p.
27. PERA, J. 1992. Selección de hongos ectomicorrícicos de (*Pinus pinaster* Ait), para su aplicación en reforestación. Tesis Doctoral. España, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Biología. 178 p.
28. PERA, J.; ALVAREZ, I.; PARLADE, J. 1998. Eficiencia del inoculo miceliar de 17 especies de hongos ectomicorrícicos para la micorrización controlada de *Pinus pinaster*, *P. radiata* y *Pseudotsuga menziesii* en contenedor. Investigación Agraria. (España.) 7(1,2):140 - 153.
29. PICCI, G. 1994. Microorganismi, ambiente y produttivita agraria. Edagricole. (Italia.) no. 7: 13-37.
30. ROSSEAU, J.; SYLVA, D.; FOX, A. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient - absorbing surface of pine. New Phytophatology (E.E.U.U.) no. 128:639 - 644.
31. SADANANDAN, E. 1992. Competition for water and nutrients in forest. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (Australia.) 23:1955 - 1966.
32. SLANKIS, V. 1984. Soil factors influencing formation of mycorrhizae. Annual Review of Phytophatology. (Canada) 12 (3):437 - 453.
33. SIMMONS, CH.; PINTO, J.H.; TARAMO, J.M. 1959 Clasificación y reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala. Trad por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, ed. José Pineda Ibarra. 1,000 p.

34. TORRES, J. 1989. Aislamiento, identificación y evaluación de hongos ectomicorrícicos de *Pinus sp* de la cuenca del río Villa Lobos, Departamento de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 43 p.
35. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA. FACULTAD DE AGRONOMIA. 1996. La deforestación en Guatemala. Cuadernos Chac. 26 p.
36. URIZAR, M. 1999. Eficiencia en la producción de micorrizas y aumento de biomasa en plántulas de pino candelillo (*Pinus maximinoi*) con *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius* y *Scleroderma sp.* en contenedor. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 49 p.
37. VARMA, A. 1992 Mycorrhiza, structure, function molecular biology and biotechnology. . Germany , ed Springer Verlag. 730 p.
38. WANSCHER, J.; KORNERUP A. 1989. Methuen, handbook of colour. Great Britain, Ed Richard Clayd 251 p.



Vo. Bo. Guion De La Boca

**11. APÉNDICES.**



Fotografía 3 A: Cuerpos fructíferos de *Laccaria aff bicolor* colectados de bosques de regeneración natural, en la aldea Tzichim, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango.



Fotografía 4 A: Cuerpos fructíferos de *Suillus aff brevipes* colectados de bosques de regeneración natural, en la aldea Tzichim, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango.

Cuadro 14A: Análisis de varianza, porcentaje de micorrización de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	1078.14	3593.28	465.69	0.0001*	
	Error	11	84.979	7.716			
	Total	14	10865.028				6.60
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	22415.66	4483.013	82.18	0.0001*	
	Error	21	1145.60	54.55			
	Total	26	23560.66				6.72
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	12428.20	2485.64	26.69	0.0001*	
	Error	19	1769.80	93.1473			
	Total	24	14198.00				8.46

Cuadro 15A: Análisis de varianza, altura de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor* a diferentes dosis.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	305.40	101.80	3.02	0.075	
	Error	11	371.00	33.72			
	Total	14	676.40				6.32
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	881.90	176.38	11.50	0.0001*	
	Error	21	322.10	15.33			
	Total	26	1024.00				5.93
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	2343.49	469.898	45.47	0.0001*	
	Error	19	196.35	10.33			
	Total	24	2545.84				2.74

Cuadro 16A: Análisis de varianza, longitud de la raíz principal de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	526.18	175.39	23.20	0.0001*	
	Error	11	83.15	7.55			
	Total	14	609.33				2.48
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	1024.20	204.84	13.56	0.0001*	
	Error	21	317.20	15.10			
	Total	26	1341.40				3.18
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	234.04	46.80	4.88	0.0049*	
	Error	19	182.20	9.5894			
	Total	24	416.24				2.75

Cuadro 17A: Análisis de varianza, peso fresco del área foliar de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	0.3788	0.01262	16.79	0.0002*	
	Error	11	0.0083	0.00075			
	Total	14	0.04616				10.71
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	0.054	0.01824	28.13	0.0001*	
	Error	21	0.0080	0.00038			
	Total	26	0.0622				3.18
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	0.12536	0.02507	88.55	0.0001*	
	Error	19	0.00538	0.00028			
	Total	24	0.1307				7.76

Cuadro 18A: Análisis de varianza, peso fresco sistema radicular de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	0.164	0.0054	14.59	0.0004*	
	Error	11	0.0041	0.00037			13.55
	Total	14	0.020				
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	0.01725	0.0034	14.54	0.0001*	
	Error	21	0.00497	0.00023			12.18
	Total	26	0.0222				
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	0.04314	0.0086	35.64	0.0001*	
	Error	19	0.00460	0.00024			13.32
	Total	24	0.04774				

Cuadro 19A: Análisis de varianza, número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con *Laccaria aff bicolor*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	13.65	4.55	10.54	0.0015*	
	Error	11	4.75	0.4318			10.59
	Total	14	18.40				
<i>P. rudis</i>	Dosis	5	98.20	19.64	31.25	0.0001*	
	Error	21	13.20	0.6285			11.09
	Total	26	111.40				
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	5	107.96	21.5920	43.64	0.0001*	
	Error	19	9.40	0.4947			8.62
	Total	24	117.36				

Cuadro 20A: Análisis de varianza, porcentaje de micorrización en plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Error	11	0.00	0.00			
	Total	14	0.00				
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	1627.114	542.37	573.26	0.0001*	
	Error	16	15.23	0.946			6.35
	Total	19	1642.25				
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	1508.41	502.80	584.18	0.0001*	
	Error	16	13.7713	0.8607			8.50
	Total	19	1522.18				

Cuadro 21A: Análisis de varianza, altura de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes* a diferentes dosis.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	305.40	101.80	3.02	0.075	
	Error	11	371.00	33.72			6.32
	Total	14	676.40				
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	3753.57	1251.19	70.49	0.0001*	
	Error	16	284	17.75			2.99
	Total	19	4037.57				
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	3573.75	1191.25	76.85	0.0001*	
	Error	16	248.00	15.50			3.40
	Total	19	3821.75				

Cuadro 22A: Análisis de varianza, longitud de la raíz principal de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	526.18	175.39	23.20	0.0001*	
	Error	11	83.15	7.55			
	Total	14	609.33				2.48
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	582.59	37.38	5.195	0.0001*	
	Error	16	598.08	37.38			
	Total	19	1180.67				11.40
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	640.95	213.65	5.20	0.106*	
	Error	16	656.80	41.050			
	Total	19	1297.75				5.55

Cuadro 23A: Análisis de varianza, peso fresco área foliar de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	0.3788	0.01262	16.79	0.0002*	
	Error	11	0.0083	0.00075			
	Total	14	0.04616				10.71
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	0.264	0.088	293.33	0.0001*	
	Error	16	0.0048	0.003			
	Total	19	0.2688				7.92
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	0.2376	0.07921	215.55	0.0001*	
	Error	16	0.0058	0.00036			
	Total	19	0.2435				7.72

Cuadro 24A: Análisis de varianza, peso fresco del área radicular de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	0.164	0.0054	14.59	0.0004*	
	Error	11	0.0041	0.00037			
	Total	14	0.020				13.55
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	0.045	0.015	82.75	0.0001*	
	Error	16	0.0029	0.00018			
	Total	19	0.0479				11.32
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	0.05828	0.01942	93.62	0.0001*	
	Error	16	0.003320	0.000207			
	Total	19	0.06160				12.00

Cuadro 25A: Análisis de varianza, número de raíces laterales de plantas de pino inoculadas con *Suillus aff brevipes*.

ESPECIE	F.V.	G.L.	$\Sigma$ Cuadrados	C.M	F.C.	SIGN.	C.V.
<i>P. ayacahuite</i>	Dosis	3	13.65	4.55	10.54	0.0015*	
	Error	11	4.75	0.4318			
	Total	14	18.40				10.59
<i>P. rudis</i>	Dosis	3	92.35	30.78	37.655	0.0001*	
	Error	16	13.08	0.82			
	Total	19	105.43				12.45
<i>P. hartwegii</i>	Dosis	3	93.00	31.00	33.51	0.0001*	
	Error	16	14.80	0.952			
	Total	19	107.80				5.60

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA



Ref. Sem. 027-2000

FACULTAD DE AGRONOMIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES  
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA: "EVALUACION DE LA EFICIENCIA MICORRICICA DE DOS  
CEPAS DE HONGOS, Laccaria aff bicolor Y Suillus  
aff brevipes, AISLADAS EN GUATEMALA, SOBRE  
PLANTAS DE Pinus ayacahuite Ehr, Pinus rudis  
Endl, Y Pinus hartwegii Lindl."

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: ELDER BALDEMAR BERDUO PRADO

CARNET No: 9114005

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Gustavo A. Alvarez Valenzuela  
Ing. Agr. Eugenio O. Orozco y Orozco  
Ing. Agr. Alvaro G. Hernández Dávila  
Ing. Agr. Adalberto B. Rodríguez G.

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. M.Sc. Edil R. Rodríguez Quezada  
A S E S O R

Lic. Roberto Enrique Flores Arzú  
A S E S O R



DIRECCION. M.Sc. Alvaro Hernández Dávila  
DIRECTOR DEL IIA.

IMPRIMASE



Ing. Agr. M.Sc. Edgar Dewalt Rivera  
D E C A N O

cc:Control Académico  
IIA.  
Archivo  
AH/prr

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.  
TEL/FAX (502) 476-9794  
e-mail: [ilusac.edu.gt](mailto:ilusac.edu.gt) § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>