

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

EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBIOTICA DE CEPAS DE HONGOS ECTOMICORRICICOS
FRENTE A HONGOS INCITANTES DEL MAL DEL TALLUELO BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO EN PINO (*Pinus oocarpa*)

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



EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA, MAYO DE 2001

DL
01
+ (1977)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

Ing. Agr. EFRAIN MEDINA GUERRA

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO

Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera

VOCAL PRIMERO

Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello

VOCAL SEGUNDO

Ing. Agr. Manuel de Jesús Martínez Ovalle

VOCAL TERCERO

Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa

VOCAL CUARTO

Prof. Abelardo Caal Ich

VOCAL QUINTO

Br. José Baldomero Sandoval Arriaza

SECRETARIO

Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada

GUATEMALA, MAYO DE 2001

Guatemala, mayo de 2001

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

Distinguidos miembros:

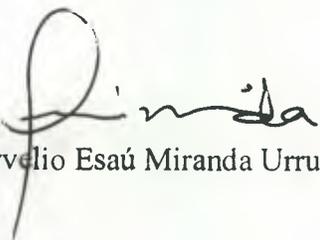
De acuerdo con las normas establecidas por la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

**EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBIOTICA DE CEPAS DE HONGOS
ECTOMICORRICICOS FRENTE A HONGOS INCITANTES DEL MAL DEL TALLUELO BAJO
CONDICIONES DE LABORATORIO EN PINO (*Pinus oocarpa*)**

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,


Sarvelio Esaú Miranda Urrutia

ACTO QUE DEDICO

A:

mis padres Alvaro Esaú Miranda (QEPD) y Clara Luz Urrutia (QEPD), a quienes llevo siempre en mi mente y corazón.

mi abuelo Sarvelio Miranda Pinto, a quien quiero como padre, gracias por su apoyo en todo momento.

mis hermanos William, Yaneth y Susi con mucho cariño.

los que quiero como hermanos Pedro, Felix, Octavio y Beto.

mi esposa María con mucho amor.

mis tías Pilar y Zoila, con especial cariño.

mi familia en General.

mis amigos.

TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS

GUATEMALA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

MIS CATEDRATICOS UNIVERSITARIOS

MIS ASESORES

MI FAMILIA

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios por todas sus bondades.

al Ing. Agr. Msc. Edil Rodríguez Quczada por su orientación y colaboración.

los licenciados Roberto Flores Arzú y Osberth Morales por su ayuda incondicional.

todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización de esta tesis

todas las personas que contribuyeron de una u otra forma en mis estudios. Mil gracias.

INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
1. INTRODUCCION	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEORICO	3
3.1. MARCO CONCEPTUAL	3
3.1.1. Definición de Micorrizas	3
3.1.2. Tipos de Micorrizas	3
3.1.3. Ectomicorrizas	3
3.1.4. Variabilidad en las especies ectomicorrícicas	5
3.1.5. Factores que afectan el desarrollo de las ectomicorrizas	5
3.1.6. Ectomicorrizas en Interacción con otros microorganismos	6
3.1.7. Beneficios de las Ectomicorrizas	6
3.1.8. Beneficios al transplantar plantas micorrizadas	7
3.1.9. Enfermedad del mal del talluelo	7
3.1.10. Prevención y Control del mal del semillero	8
3.1.11. Antibiosis	9
3.1.12. Producción antibiótica en cultivos puros	9
3.1.13. Control Biológico	10
3.1.14. Inoculación de Ectomicorrizas	11
3.1.15. Fuentes de Inóculo Ectomicorrífico	11
3.1.16. Preparación del Inóculo	12
3.1.17. Densidad y Cantidad del Inóculo	12
3.1.18. Procedimiento de Inoculación	13
3.1.19. Substratos para incrementar el inóculo	13
3.1.20. Evaluación de los semilleros	14
3.2. MARCO REFERENCIAL	15
3.2.1. Ubicación de la Investigación	15
3.2.2. Clima y Zona de vida	15
3.2.3. Cepas Ectomicorrícicas	15
3.2.3.1. <i>Suillus</i> spp.	16
3.2.3.2. <i>Laccaria</i> spp.	16
3.2.3.3. <i>Scleroderma</i> spp.	16
3.2.3.4. <i>Pisolithus tinctorius</i>	17
3.2.4. Hongos Causantes del mal del talluelo	17
3.2.4.1. <i>Rhizoctonia</i> spp.	17
3.2.4.2. <i>Fusarium</i> spp.	18
3.2.5. Descripción de <i>Pinus oocarpa</i> Schiede	18
4. OBJETIVOS	19
5. HIPOTESIS	20

INDICE DE CONTENIDO

	PAGINA
6. METODOLOGIA	21
6.1. Colecta del Inóculo	21
6.1.1. Distribución del Inóculo	21
6.2. Medios de Cultivo Utilizados	23
6.3. Desinfección y Germinación de Semillas	23
6.4. Diseño Experimental	24
6.4.1. Número de Unidades Experimentales	24
6.4.2. Modelo Estadístico	24
6.4.3. Tamaño de la Unidad Experimental	24
6.4.4. Tratamientos	25
6.4.4.1. Tratamientos efectuados en cajas de petri	25
6.4.4.2. Tratamientos efectuados en contenedor	26
6.5. Variables de Respuesta Evaluadas	27
6.6. Análisis de Datos	28
6.7. Manejo del Experimento	28
7. RESULTADOS	30
7.1 Características Morfológicas y Anatómicas de los hongos en las cajas de petri.	30
7.1.1. <i>Sclerotinia sp. pop.</i> más <i>Fusarium sp</i> y <i>Rhizoctonia sp.</i>	30
7.1.2. <i>Pisolithus tinctorius Pop.</i> más <i>Fusarium sp</i> y <i>Rhizoctonia sp.</i>	30
7.1.3. <i>Laccaria aff bicolor P.cielo</i> más <i>Fusarium sp</i> y <i>Rhizoctonia sp.</i>	31
7.1.4. <i>Suillus bovinus Toto.</i> más <i>Fusarium sp</i> y <i>Rhizoctonia sp.</i>	31
7.1.5. Descripción de Hongos Control	31
7.2. Características Morfológicas y Anatómicas de los hongos en plantas de pino en contenedores	33
7.2.1. Descripción de hongos control	33
7.3. Radio de Crecimiento	33
7.4. Areas de Inhibición	35
7.5. Porcentaje de Micorrización	37
7.6. Altura de plantas	38
7.7. Descripción de Lesiones	40
8. CONCLUSIONES	41
9. RECOMENDACIONES	42
10. BIBLIOGRAFIA	43
11. ANEXOS	45

INDICE DE CUADROS

No.	TITULO	PAGINA
1.	Tratamientos utilizados en cajas de petri y en contenedores.	25
2.	Características de los hongos ectomicorrícicos frente a <i>Fusarium sp</i> en cajas de petri.	32
1.	Características de los hongos ectomicorrícicos frente a <i>Rhizoctonia sp</i> en cajas de petri.	32
2.	Andeva para el radio de crecimiento de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo.	34
3.	Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre radio de crecimiento de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo.	34
4.	Andeva para el halo de inhibición de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con do hongos fitopatógenos y un testigo.	34
5.	Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre halo de inhibición de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo.	36
6.	Andeva para el porcentaje de micorrización en plantas de pino, inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.	41
7.	Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre porcentaje de micorrización de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo en plantas de pino.	42
8.	Andeva para la altura de plantas de pino inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.	44
9.	Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre altura de plantas de pino, inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.	44
12.	Combinación de los hongos para formar los tratamientos utilizados.	53

INDICE DE FIGURAS

No.	TITULO	PAGINA
1.	Inoculación de los discos micelares de hongos fitopatógenos y ectomicorrícicos en cajas de petri.	22
2.	Radio de crecimiento en cajas de petri de cuatro hongos ectomicorrícicos contra dos hongos fitopatógenos y un testigo.	35
3.	Área de inhibición en cajas de petri de cuatro hongos ectomicorrícicos frente a dos fitopatógenos y un testigo.	36
4.	Porcentaje de micorrización en <i>Pinus oocarpa</i> de cuatro cepas de hongos ectomicorrícicos y un testigo.	38
5.	Altura de plantas de <i>Pinus oocarpa</i> inoculados con cuatro cepas de hongos ectomicorrícicos e infectados con dos fitopatógenos y un testigo.	40

EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBIOTICA DE CEPAS DE HONGOS ECTOMICORRICICOS
FRETE A HONGOS INCITANTES DEL MAL DEL TALLUELO BAJO CONDICIONES DE
LABORATORIO EN PINO (*Pinus oocarpa* Schiede)

EVALUATION OF THE ANTIBIOTIC CAPACITY OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI AGAINST
"DAMPING OFF" FUNGI UNDER LABORATORY CONDITIONS IN PINE (*Pinus oocarpa* Schiede)

RESUMEN

Se ha encontrado que la enfermedad más frecuentemente asociada con los viveros es el mal del talluelo o "damping off" por su nombre en inglés (14). Esta enfermedad si no se controla a tiempo puede llevar a la destrucción de la planta en cualquiera de las tres fases que ataca: Pre-emergencia (en semilla), Post-emergencia (plántulas) y en plantas ya establecidas. Para un país como Guatemala, donde el 72.5 % del territorio es eminentemente de vocación forestal (5), encontrar técnicas de mejoramiento a nivel de vivero de plantas forestales, es una necesidad indispensable.

Una alternativa que puede ayudar a controlar el ataque del mal del talluelo en el cultivo de pino en vivero es la utilización de hongos ectomicorrícicos, los cuales mejoran el desarrollo de las plantas, haciéndolas más resistentes al ataque de enfermedades y sobreviven con mayor probabilidad al transplante.

Esta investigación consistió en evaluar la capacidad antibiótica de las cepas de hongos ectomicorrícicos *Pisolithus tinctorius* de Poptún, *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo y *Scleroderma* sp. de Poptún, frente a las cepas de hongos incitantes del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., realizado en condiciones de laboratorio y en invernadero con plantas de pino (*Pinus oocarpa* Schiede). Tanto las cepas de los hongos ectomicorrícicos, como los hongos fitopatógenos fueron colectados en distintas regiones del país, para tener representatividad de nuestras condiciones.

El trabajo consistió en dos etapas: la primera etapa a nivel de laboratorio y la segunda etapa en invernadero, con el objetivo de comprobar los resultados primarios. En la etapa de laboratorio se logró determinar antibiosis por parte de las cepas ectomicorrícicas *Pisolithus tinctorius* de Totonicapán y *Suillus bovinus* de Poptún ante las cepas de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. En la segunda etapa experimental no se

logró comprobar el efecto logrado en laboratorio ya que las plantas inoculadas con hongos ectomicorrícicos no resistieron al ataque del inóculo fitopatógeno, sin embargo se lograron obtener datos de mucho interés, como que todas las cepas fueron infectivas desarrollando micorrizas, obteniendo resultados positivos en diferencia de alturas de plantas con respecto a las plantas no micorrizadas, especialmente por parte de las cepas *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo y *Suillus bovinus* de Poptún.

1. INTRODUCCION

Ante la creciente demanda de insumos químicos en la agricultura, cada vez toma más importancia el enfoque biológico en el trato de los problemas del suelo. Dentro de este contexto, el estudio de las micorrizas es fundamental. Las extensiones micorrícicas incrementan el área de absorción de las raíces de 10 a 1000 veces, además de suprimir enfermedades y patógenos del suelo (23).

El territorio de Guatemala es de amplia vocación forestal, con el 21.4% apto para cultivos perennes y forestales, 37.4% para bosques productores y 14.1% para bosques protectores y vida silvestre (5). Debido a factores económicos, culturales y políticos la frontera agrícola ha crecido, junto a incendios, talas no controladas, consumo de leña y enfermedades forestales con la consecuente pérdida de bosques, por lo que se hace imperante la necesidad de encontrar técnicas de mejoramiento forestal a nivel local.

En nuestro medio la técnica de aplicación de hongos micorrícicos en plantas de vivero con el objetivo de desarrollar plantas más sanas y reducir el porcentaje de mortalidad debido a insuficiencias nutricionales y al ataque de enfermedades es una actividad que no se ha desarrollado.

En este trabajo se estudió y analizó la capacidad de antibiosis de los hongos ectomicorrícicos *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, *Suillus bovinus* de Tonicapán, *Pisolithus tinctorius* de Poptún y *Scleroderma* sp de Poptún, creciendo en competencia directa en cajas de petri con los hongos incitantes del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., con el fin de medir antibiosis hacia los últimos. Así también se realizó un experimento con los mismos hongos ectomicorrícicos inoculados en plantas de *Pinus oocarpa* en contenedor, observando producción de micorrizas, crecimiento y antibiosis hacia los inóculos fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Tanto las cepas de hongos ectomicorrícicos como las fitopatógenas utilizadas fueron recolectadas en diferentes áreas de la república de Guatemala.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad más frecuentemente asociada con los viveros es el mal de semillero, "damping off" (14). Esta enfermedad si no se controla a tiempo, destruye por completo a las plántulas, ya que no sólo ataca en una fase de pre-emergencia, sino que lo hace inmediatamente en la post-emergencia y una última fase que ataca en plantas ya establecidas. Las plantas tienen por sí mismas un mecanismo de simbiosis con las micorrizas que podría ayudar en el ataque de los fitopatógenos. Mediante la micorrización controlada en vivero se consiguen sistemas rizosféricos más potentes, los que proporcionan mayor vigorosidad a la plántula, con incremento de su altura, calibre del tallo y número de ramificaciones; además el sistema radical es difícilmente más atacado por patógenos (6).

En nuestro medio no se ha experimentado y no existen estudios sobre el efecto antibiótico de hongos micorrícicos sobre hongos fitopatógenos productores del mal del talluelo en pino, tampoco se ha profundizado en la utilización de técnicas científicas que ataquen esta enfermedad y logren la producción de planta forestal de calidad a nivel de vivero. Por otra parte, es de vital interés conocer si por medio del uso de los hongos micorrícicos se logra una mayor resistencia por parte de las plantas de pino contra los hongos fitopatógenos para así recomendar su uso en viveros y mejorar la producción de plantas sanas.

3. MARCO TEORICO

3.1 MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. Definición de Micorrizas

La palabra micorriza literalmente significa "hongos de las raíces" y define la íntima asociación entre las raíces de las plantas y los hongos especializados del suelo, los hongos micorrícicos. Casi todas las plantas sobre la tierra forman algunos tipos de micorriza, y con algunas excepciones, la mayor parte de las especies arbóreas de los bosques forman micorrizas (22).

Las micorrizas al parecer mejoran el crecimiento de la planta al aumentar la superficie de absorción del sistema radicular; al absorber selectivamente y al acumular ciertos nutrientes, especialmente el fósforo; al solubilizar y hacer disponibles para la planta algunos minerales normalmente insolubles; al permitir que las raíces alimentadoras funcionen por más tiempo; y al hacer que las raíces alimentadoras sean más resistentes a la infección que ocasionan algunos hongos del suelo tales como *Phytophthora*, *Pythium* y *Fusarium*. En general se considera que la simbiosis que se establece entre una planta hospedera y un hongo micorrizal beneficia igualmente a ambos organismos. Hasta donde se sabe, las micorrizas no producen enfermedad, pero la ausencia de ellas en ciertos campos ocasiona achaparramiento cuando a dichas plantas se les suministra el hongo adecuado (1).

3.1.2. Tipos de Micorrizas

Todos los hongos formadores de micorrizas pertenecen a la División Eumycota y Subdivisión Zygomycotina (6). Las micorrizas se han venido clasificando en base a su estructura y morfología en endomicorrizas y ectomicorrizas, los otros tipos de micorrizas que existen son las *Endomicorrizas* denominadas "vesículo-arbusculares", y las *Ectendomicorrizas* que constituyen una etapa intermedia entre los otros dos tipos de micorrizas (1).

3.1.3. Ectomicorrizas

Estas raíces comúnmente son hinchadas y en algunas combinaciones que se establecen entre el hongo y su hospedero se encuentran considerablemente más bifurcadas en las raíces no-micorrizales. Las ectomicorrizas se forman principalmente en árboles forestales debido a los basidiomycetes que forman setas y bejines y a varios ascomicetes. Las esporas de los hongos ectomicorrizales se forman sobre el suelo y son diseminadas por el viento. Las hifas de estos hongos frecuentemente producen un "manto fungoso"

estrechamente entretregido en torno a las raíces nutricias y dicho manto tiene un grosor que varía desde el diámetro de una a dos hifas hasta como de 30 a 40. Dichos hongos penetran también en las raíces, pero sólo crecen en torno a las células corticales, reemplazando parte de la lámina media entre las células y formando la denominada red de Harting. Las ectomicorrizas son de color blanco, café, amarillo, negro, etc., dependiendo del color del hongo que se desarrolle sobre la raíz (1).

Estas ectomicorrizas desarrollan en corto tiempo una masa de raíces, de forma opuesta a lo largo de la raíz principal. En efecto cuando la raíz desarrolla meristemo lateral y comienza a formarse tejido leñoso, las micorrizas no tardan en formarse. Las ectomicorrizas pueden reconocerse fácilmente por la forma característica de envoltura del hongo o el manto de tejido que la forma. Cuando una ectomicorriza es seccionada y examinada internamente con microscopio, podemos ver la segunda gran característica: el crecimiento intercelular de los hongos entre las células epidermales y corticales que forman la red de Harting. Las características principales para su identificación son:

- a. Típicamente infladas y carecen de pelos radicales.
- b. El manto del hongo o la vaina es usualmente de diferente color de las raicillas; algunos mantos son de colores brillosos o blancuzcos.
- c. El micelio del hongo o las hifas separadas a menudo crecen fuera del tejido del manto, dando apariencia algodonosa.
- d. Cuando maduran ramifican típicamente varias veces en patrones regulares e irregulares.
- e. Las raicillas no micorrícicas no se hinchan y están cubiertas con pelos radicales, y para muchos tipos de coníferas se ramifican (22).

En las micorrizas ectotróficas se han incluido aquellas en las cuales el hongo, normalmente de micelio tabicado, forma un manto que rodea la raíz. El desarrollo del hongo en el interior de la corteza es intercelular, dando un aspecto de red. Este tipo de micorriza está muy extendido en las especies forestales (19).

Los tipos de raíz ectomicorrícicas en pino a menudo se ramifican dicotómicamente en complejas estructuras. En otras plantas las estructuras pueden ser cilíndricas simples a complejas, pinadas, coraloides o incluso forma de tubérculos. La cantidad de micelio emanado es otra característica importante para un diagnóstico. La apariencia estructural de las ectomicorrizas es funcional dependiendo del hongo y la planta. Incluso un mismo hongo puede variar su apariencia estructural en varias plantas diferentes (22).

3.1.4. Variabilidad en las especies ectomicorrícicas

Las especies micorrícicas difieren significativamente en su habilidad para estimular su crecimiento en plantas hospederas. Esto puede ser debido a diferentes grados de infección, debido al tamaño de esporas, más hifas externas, más nutrientes eficientes obtenidos relacionados con una mejor afinidad de iones, ó más rápida traslocación de elementos nutritivos esenciales (22).

3.1.5. Factores que afectan el desarrollo de las Ectomicorrizas

a. *Desarrollo de las raíces:* La mayoría de las raíces laterales de coníferas que se plantan en contenedores crecen hacia las paredes del contenedor, una vez que topan siguen hacia abajo paralelo a la pared del contenedor en sus primeros 10 a 15 cms. Esta forma de crecimiento desalienta la iniciación de laterales secundarias.

b. *Fertilizantes:* Las micorrizas son extensiones del sistema de raíces de las plantas, estas extraen nutrientes y agua del suelo y lo trasloca hacia el hospedero. Las plantas responden a la formación micorrítica mas fuertemente en suelos de baja fertilidad. De ahí que la mayoría de los hongos micorrícicos son adaptados a condiciones infértiles de suelos del bosque. Aunque las aplicaciones foliares de NPK no son rutinariamente usadas en contenedores de semilleros en plántulas de roble recibiendo NPK foliar tuvo incremento de *Pisolithus tinctorius*, comparado con plántulas que se les aplicó NPK soluble (22).

c. *Agua:* Ya sea mucha o poca agua reduce la formación de raíces (17). Uno de los síntomas de exesos de irrigación es la formación de raíces delgadas y débiles, lo cual opaca las raíces no-micorrícicas y provoca deficiencia de pelos radiculares. Estas raíces acuosas actúan como esponjas gigantes y rapidamente captan agua y nutrientes solubles. Esto provoca deficiencia de raíces necesarias para la formación micorrizal (20). Las raíces acuosas se ha observado que se mueren y descomponen rápido luego del transplante (22).

d. *Crecimiento Medio:* La apariencia física y química de la media influye en el éxito de inoculación micorrítica. El tamaño de los poros, el pH (óptimo y tolerancia) afectarán directamente no solo la formación micorrítica, sino la distribución (17).

e. *Temperatura:* Como con el pH, las ectomicorrizas tienen rangos de tolerancia óptima para la temperatura. El crecimiento medio variará con temperaturas entre los 0 - 38 grados centígrados (18).

f. *Pesticidas:* Los pesticidas causan una multitud de reacciones complejas en estos organismos. Generalizaciones acerca de los pesticidas deben ser cuidadosamente recomendados. Por ejemplo los pesticidas que afectan a las micorrizas y su desarrollo pueden afectar los resultados de crecimiento de las plantas ya sea mejorándolas o empeorándolas (22).

3.1.6. Ectomicorrizas en Interacción con otros Microorganismos

Las ectomicorrizas y organismos que causan enfermedades en las raíces de las plantas tienen muchos aspectos en común, aún cuando sus efectos en las plantas son opuestos. Ambos tipos de infección involucran íntimamente el tejido suculento de las raíces de los hospederos. Los propágulos infectivos (hifas y esporas) de los hongos ectomicorrícicos en el suelo son estimulados por las raíces hospederas a infección simbiótica y eventualmente transforman dichas raíces en órganos duales en las que las células corticales son envueltas en la net-hifa Hartig, e aislada del contacto directo con el suelo por el manto fungal. Durante la síntesis y mantenimiento de las ectomicorrizas, la simbiosis de las plantas hospederas y los hongos responden fisiológicamente a la infección simbiótica. Similarmente, propágulos infectivos de patógenos de las raíces (*Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*) son químicamente estimulados por las raicillas y patogénicamente infectan esos tejidos ramificándose entre el meristemo, cortex primario y ocasionalmente tejidos vasculares, causando limitada o necrosis extensiva (20).

Un patógeno infectando una raíz no micorrícica se encuentra primero con suculento, células con delgadas paredes epidermales. En la mayor parte de los casos, las células corticales benéficas no tienen una segunda capa, si un patógeno infecta y destruye esta raíz antes que se de la infección de un hongo ectomicorrícico, una ectomicorrícica no puede ser formada. Así si el hongo ectomicorrícico infecta y transforma la raicilla en una ectomicorriza antes que una infección patogénica, los tejidos de esta raíz transformada no son largamente vulnerables al ataque por el patógeno, los patógenos que atacan una ectomicorriza se encuentran con una densa red de hifas (manto fungoso) y con células corticales rodeadas por la matriz hifal de la red Hartig. Investigaciones han demostrado que las ectomicorrizas son física y químicamente alteradas por lo que pueden resistir infecciones de hongos patógenos agresivos y por lo mismo, funcionan como murallas biológicas a la infección en raíces de las plantas (20).

3.1.7. Beneficios de las Ectomicorrizas

Schenk (20), recopiló la mayoría de las investigaciones que se habían realizado hasta 1978, acerca del efecto de varias especies de micorrizas sobre la severidad de enfermedades patogénicas en algunas plantas; en el 58 % de los casos registran una disminución en la severidad de las enfermedades, en el 24 % no hubo cambio y en el 18 % de los casos un aumento en la severidad.

Napier (14), establece que las micorrizas protegen contra hongos patógenos. Esto se debe a la presencia del micelio alrededor y dentro de la raíz, el cual crea una barrera física a la invasión de la misma por estos patógenos. Además, las micorrizas producen antibióticos, los cuales protegen las raíces cortas sin micorrizas en la misma plántula.

El beneficio principal es mejorar la eficiencia de absorción de agua y nutrientes. La hinchazón de las raíces cortas aumenta considerablemente su área superficial mejorando así su capacidad de absorber nutrientes. Además pueden convertir varias sustancias (minerales y orgánicas) en formas más fácilmente absorbidas por las plántulas. En un caso con *Pinus strobus* se notó que las plántulas con micorrizas absorbieron 234 % más Fósforo, 119 % más Potasio y 86 % más Nitrógeno que las plántulas no infectadas. En plántulas con micorrizas bien desarrolladas, casi el 100 % de los nutrientes provenientes del suelo son absorbidas por las mismas (20).

3.1.8. Beneficios al Transplantar Plantas Micorrizadas

La prueba crítica de beneficio de inoculación micorrízica se da en el desarrollo de la plántula, luego de ser plantada en el campo definitivo. Sin hacer caso de como la inoculación micorrizal afecta al crecimiento en semillero, la planta debe establecerse y crecer una vez es transplantada. La inoculación micorrizal en semillero puede inducir no incrementar el crecimiento de plantas en semillero, pero le dará a las plantas una mejor opción de sobrevivir o de crecer mejor una vez transplantada (10).

3.1.9. Enfermedad del mal del talluelo

La enfermedad más frecuentemente asociada con los viveros es el mal de semillero, comúnmente conocido como mal o caída de los almácigos, o mal del tallo y también popularmente conocido en la literatura castellana por el término en inglés "damping off" (14).

La enfermedad ocurre en distintas etapas del desarrollo de la plántula, afectando tanto a coníferas como a latifoliadas. Los pinos y los eucalyptus por ejemplo, son muy susceptibles a la enfermedad. Se han identificado más de 30 especies de hongos causantes de este problema. Muchas veces los hongos pueden vivir por largo tiempo en el suelo como parásitos o saprófitos y cuando las condiciones ambientales son favorables pueden llegar a convertirse en patógenos. Los géneros más frecuentes responsables del mal son: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia*. Por lo general el mal del semillero se divide en diferentes clases según la etapa de desarrollo de la plántula al momento del ataque:

a. *Pre-emergente*: Incluye la pudrición de la semilla antes del desarrollo de la radícula y el ataque a ésta por el hongo durante el proceso de germinación, o sea que el hipocótilo y los cotiledones no llegan a salir de la superficie del suelo. Esta clase de enfermedad es difícil de diagnosticar por que no hay síntomas claros que indiquen su presencia, pero se puede sospechar su existencia cuando ocurre una pobre germinación. Normalmente los restos de las semillas atacadas se descomponen rápidamente y no es posible encontrarlas en el suelo después de corto tiempo (14).

b. *Post-emergente*: Esta forma de la enfermedad es la más frecuentemente asociada con el nombre de mal de semillero. Es un problema muy común y relativamente fácil de observar e identificar, suele afectar las plántulas en el período inmediatamente después de la germinación (3-4 semanas). Muchas veces la plántula está aún en etapa de cotiledones antes de aparecer las hojas primarias, estando todavía el epispermo unido a los cotiledones. El hongo invade el hipocótilo al nivel del suelo o inmediatamente bajo éste. El tallo a la altura del cuello de la raíz se estrangula y presenta un estado de descomposición, ocasionando el doblamiento en la plántula (su caída). Después del doblamiento la parte superior del hipocótilo juntamente con sus cotiledones pueden presentar apariencia normal, pero 24-48 horas más tarde se descomponen completamente y desaparecen (14).

c. *Mal del semillero, Pudrición de Raíces*: Este tipo de ataque puede ocurrir aún varios meses después de que las semillas han germinado y las plántulas han desarrollado tejido leñoso en los tallos y las raíces. Es frecuente que las especies de los hongos que causan la forma post-emergente también sean responsables de la pudrición de las raíces. Las partes aéreas de las plántulas atacadas se caracterizan por los siguientes síntomas:

- Clorosis (acículas u hojas amarillentas) que generalmente afecta primero las acículas superiores.
- Parte Superior del tallo y yema apical se marchitan poniendose color castaño y finalmente mueren.
- Descoloración del follaje inferior causada por el ataque de un patógeno secundario que está aprovechando el estado débil de la plántula con el mal (14).

3.1.10. Prevención y Control del mal del Semillero

Por lo general en los viveros se disponen de dos métodos básicos en la protección contra enfermedades: técnicas culturales y el control químico (14).

Los factores de mayor importancia que inciden en la aparición del mal de semillero en el vivero forestal son:

- a. Humedad excesiva.
- b. El pH alto del suelo y/o del agua de riego.
- c. Niveles altos de materia orgánica en el suelo.
- d. El uso de fertilizante nitrogenado durante e inmediatamente después del periodo de germinación.
- e. Siembra muy profunda de la semilla.
- f. Temperaturas altas.
- g. Daños físicos a la plántula.

- h. Mala circulación del aire sobre los bancales.
- i. Limpieza del vivero.

Es importante destacar que la humedad excesiva y el alto pH del suelo son indudablemente los factores más importantes y uno de los dos casi siempre contribuye, por lo menos en parte, al desarrollo de la enfermedad. La mayoría de los hongos patógenos se desarrollan con más facilidad bajo condiciones alcalinas, o sea con un pH alto. Desde este punto de vista el pH del suelo no debería sobrepasar el 6 y el pH del agua el 8 (14).

3.1.11. Antibiosis

Estrictamente es antagonismo, mediado por metabólicos específicos o no específicos de origen microbial, incluyendo agentes líticos, enzimas, componentes volátiles y otras sustancias tóxicas. Además significa un antagonismo general entre microorganismos y el término ha sido aplicado por ejemplo a la competición por nutrientes en la rizosfera. La selección de potenciales antagonistas por el comportamiento de dos diferentes cultivos en un medio artificial no garantiza un aplicable control biológico de una enfermedad en plantas; los potenciales antagonistas deben además poseer componentes de la rizosfera, y deben ser capaces de producir metabólicos activos bajo condiciones naturales. Es más apropiado buscar antagonistas bajo condiciones naturales en donde una enfermedad no está progresando tan rápido como se esperaba. A pesar de muchos años de investigación la explotación de antibiosis raramente ha sido llevado a niveles comerciales (3).

3.1.12. Producción Antibiótica en Cultivos Puros

Componentes antifungosos, antibacteriales, son producidos por más de cien especies de hongos ectomicorrícicos. Desde que los hongos causan la mayoría de enfermedades en las raíces de árboles hospederos de micorrizas se han descrito algunos métodos usados para detectar los componentes antifungosos. En un simple método, el hongo ectomicorrícico es desarrollado en una caja de petri contenido en un volumen estandarizado de un medio de agar apropiado. Los hongos patógenos a prueba son colocados de uno a seis centímetros de distancia donde se encuentra colocada la colonia simbiótica. Inóculo del patógeno en mención se coloca en una similar localidad en cajas de petri del mismo medio de agar, pero sin el simbiótico; y los dos cultivos son incubados lo suficiente para que el patógeno en prueba crezca en los contenedores la distancia inicialmente separada por los dos hongos en los dos cultivos (20).

El tiempo de incubación para especies de *Pythium* y *Phytophthora* es de tres a seis días (13). Si los hongos ectomicorrícicos producen un agar difusible inhibidor de crecimiento que afecta el patógeno a prueba, una aguda y medible zona de inhibición debería separar las dos colonias. Algunos patógenos pueden crecer entre el micelio de las ectomicorrícicas y morfológicamente cambian ambos organismos. Estos cambios pueden ser observados por examinación directa al microscopio. Una de las limitantes de esta técnica es que el pH del medio de cultivo para 0.5 a 1 cm. de avance de la ectomicorriza frecuentemente se torna ácido. Este cambio de pH puede afectar el crecimiento del patógeno y puede ser malinterpretado como un efecto antibiótico (20).

Los antibióticos producidos por hongos ectomicorrícicos pueden también ser detectados en varios medios líquidos. Si el antibiótico es agar difusible, un volúmen del medio líquido en donde el hongo ectomicorrícico ha crecido puede ser puesto en otra difusión (seis a ocho milímetros de diámetro se remueve del agar) de un apropiado medio de agar (8). Después de la incubación, las zonas de inhibición pueden ser medidas. Esta técnica puede ser modificada en varias formas. Por ejemplo, en el plato que contiene el agar con el cultivo a prueba, en vez de una parte del inóculo del patógeno a prueba bien puede ser inoculado con una suspensión de zoosporas del patógeno. Zonas de inhibición del crecimiento micelial de el patógeno en el agar pueden medirse o las zoosporas introducidas pueden examinarse bajo un microscopio para detectar posible inhibición de la germinación de zoosporas (20).

Los inhibidores en las ectomicorrizas pueden ser antibióticos producidos directamente por los hongos simbióticos o antibiosis producida por los hospederos como resultado de la estimulación por la infección del hongo (22).

3.1.13. Control Biológico

Definido como la reducción de una cantidad de inóculo o enfermedad producida por un patógeno, realizado por o a través de uno o más organismos que no sean humanos. Un control biológico consciente en agricultura, reorganiza los mecanismos de interacción entre un patógeno y un microorganismo comensal, buscando modificar el equilibrio entre las poblaciones. El medio ambiente puede ser manipulado engrandeciendo el control natural biológico y/o organismos antagónicos pueden ser introducidos y mantenidos con tecnología apropiada.

Algunas estrategias para reconocer y caracterizar el control biológico cuando ocurre, son los siguientes:

- a. Ausencia de enfermedades donde el patógeno ha sido introducido.
- b. Ausencia de enfermedades donde el patógeno está presente.

- c. El patógeno declina en monocultivos.
- d. Tratamiento físico-químico afecta el antagonismo o crecimiento del patógeno.
- e. Recuperación de micoparásitos por medios encebados (3).

Desde el punto de vista ecológico, el control biológico es la acción de parasitoides, depredadores o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo en un promedio más bajo que el que existiera en su ausencia. Desde el punto de vista de su campo de acción, el control biológico: es el estudio y utilización de parasitoides, depredadores o patógenos en la regulación de las densidades de las poblaciones del huésped (3).

3.1.14. Inoculación de Ectomicorrizas

En las especies de *Pinaceae* y *Fagaceae*, las cuales incluyen la mayor parte de especies coníferas y robles, requieren de ectomicorrizas para sobrevivir y crecer en ecosistemas naturales. Esto fue convincentemente demostrado en áreas de reforestación en la Unión Soviética y Estados Unidos (12). La inoculación de ectomicorrizas ha provocado beneficios en una amplia variedad de circunstancias, en diversos sitios, reforestando en áreas recién cortadas, en áreas quemadas y en la introducción de plantas exóticas (10).

Un programa de inoculación en viveros debe tener objetivos claros:

- Reducción en la extracción del porcentaje de plantillas enfermas.
- Incremento en el grosor del tallo o dirección de crecimiento en el semillero o en el campo.
- Protección contra patógenos.
- Rápida colonización micorrizal para prevenir achaparramiento.
- Incrementar la posibilidad de sobrevivencia de las plantas (22).

3.1.15. Fuentes de Inóculo Ectomicorrífico

El suelo, las esporas y el micelio vegetativo son las tres principales fuentes de inóculo de las ectomicorrizas para plantas de vivero (22).

- a. *Inóculo de Suelo*: Históricamente el suelo como inóculo tomado de árboles con micorriza benéfica ha sido usado extensivamente, especialmente en países desarrollados (12).
- b. *Inóculo de Esporas*: Esporas o cuerpos fructíferos macerados de hongos ectomicorríficos proveen buen inóculo (1). Marx (9), en un estudio inoculando *Pisolithus tinctorius* en especies de pino tuvo éxito en el Sur-Oeste de los USA. Este ha funcionado bien para plantas de semillero y en el transplante de pinos y robles.

c. *Inóculo de Micelio*: En los últimos años, muchas investigaciones se han concentrado en la producción y utilización de cultivo puro de inóculo de un hongo ectomicorrícico seleccionado. Básicamente, un cultivo puro de un hongo en particular es obtenido aislando el material fungoso (germinación de esporas) o tejido vegetativo extraído a un medio especial, donde luego crece bajo condiciones asépticas y produce inóculo (22).

3.1.16. Preparación del Inóculo

Varias formas de preparación del inóculo, incluyendo inóculo del suelo (esporas, suelo, hifas y raíces infectadas con micorriza) y esporas han sido usadas en investigaciones endomicorrícicas. Ferguson (4) considera que el inóculo del suelo es considerado como el más rápidamente infectivo aún más que las esporas, posiblemente por el gran número de propágulos infectivos presentes (hifas externas, fragmentos micorrícicos de raíces y esporas) y asociadas a la microflora del suelo que puede favorecer la germinación de esporas.

El mismo Ferguson (4), reportó que cuando se usó inóculo de suelo y esporas en un similar rango de esporas para inocular raíces en grama, las raíces fueron infectadas más rápidamente y subsecuentemente la producción de esporas fue mayor cuando se usó el inóculo del suelo, más que el inóculo de esporas. Inóculo con suelo seco y restos frescos (raíces micorrizadas, esporas y microflora asociada) ha sido exitosamente usada en experimentos de campo y de vivero.

3.1.17. Densidad y cantidad del Inóculo

Investigadores micorrícicos han definido la infección o "potencial del inóculo" en términos de la densidad del inóculo en: gramos del suelo con inóculo o número de esporas por unidad de suelo, masa o área, planta o recipiente. Estudios de la influencia de micorrizas en la infección, esporulación y crecimiento en el hospedero ha provocado conflictos por los diferentes e incomparables resultados obtenidos. La dinámica de esporulación, colonización y crecimiento micorrizal sugiere: a) el grado de ataque y esparcimiento de la infección parece ser un mayor factor que afecta la estimulación del hospedante; b) altas densidades de inóculo están a menudo asociados con altos niveles de infección. Además bajas concentraciones de esporas pueden proveer teóricamente suficiente inóculo, por lo que se recomienda de 300-500 esporas en contenedores de 500 grs. de suelo y aproximadamente 10,000 esporas por metro cuadrado de área a plantar, para asegurar una rápida colonización (20).

El Doctor Ferrera Cerrato recomienda modificar la técnica recomendada por Marx (10), utilizando un disco de sacabocado miceliar por posición en cajas de petri y cinco discos de agar miceliar en la inoculación de ectomicorrizas y fitopatógenos en plantas en contenedores.

3.1.18. Procedimiento de Inoculación

Jackson, et al (7), estudió diferentes métodos para inocular maíz y encontró que depositando el inóculo 5 cms abajo de la semilla fue superior que poner el inóculo al rededor de las semillas o en bandas a lo largo de la misma. Para el caso de el trebol blanco, 2 cms abajo de la semilla fue la mejor postura para obtener infección micorrícica.

Menge (11), encontró que poniendo el inóculo abajo de la semilla de cítricos o aplicandolo en banda a lo largo de la semilla se podrá obtener excelentes resultados siempre que sea a 2.5 cms de distancia.

Distribuir el inóculo a lo largo de la semilla, también puede dar excelentes resultados, especialmente si la cantidad de inóculo es limitante. Esta misma puede hacerse de 2 a 5 cms de distancia de la semilla (20).

3.1.19. Substratos para incrementar el inóculo

La hexosa y d-glucosa es usada por la mayoría de hongos ectomicorrícicos. Por lo tanto este azúcar debe ser incluido como el principal medio de carbono en medios sintéticos y como el principal medio suplementario en substrato sintético (20). Generalmente se utiliza MNM, Palmer y Hauskaylo y PDA con papa deshidratada. La producción de inóculo vegetativo usa como substrato una mezcla de vermiculita, turba y MNM líquido. La vermiculita y turba son tamizadas para eliminar las partículas de tamaño inferior a 0.5 cms. Las proporciones a usar son 2:1 vermiculita-turba (23).

Para producir grandes cantidades de inóculo vegetativo de un hongo, se utiliza turba/vermiculita, la cual tiene ventajas económicas y funcionales. Entre sus principales características se encuentran:

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

La turba procede del musgo *Sphagnum* sp. y no tiene ningún fertilizante añadido. Este tipo de turba tiene una gran capacidad de retención de agua y es la más adecuada para su utilización como sustrato de contenedores (15).

La vermiculita es un material micáceo que se expande a altas temperaturas (1100 grados centígrados), formando unas partículas que encierran pequeñas cavidades de aire. Químicamente es un silicato de magnesio, aluminio y hierro hidratado. Cuando está expandida es muy ligera y posee (100-140 kg x m³) 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-vermiculita se realiza en la proporción 1:1 (v:v) con lo que se han obtenido buenos resultados en el desarrollo de la mayoría de especies coníferas; el pH final de la mezcla es de 5.5, favorable para el crecimiento de la mayoría de hongos ectomicorrícicos (24).

3.1.20. Evaluación de los Semilleros

Los semilleros deben ser evaluados después de que han sido plantados. Durante la etapa juvenil del semillero y las fases de rápido crecimiento, la nutrición mineral especialmente Nitrógeno es extremadamente alto. Esta gran disponibilidad de Nitrógeno soluble inhibirá la extensión del hongo. No es común observar proliferación de micelio y formación de micorrizas en las primeras fases de implantación del semillero. Las micorrizas pueden ser distinguidas de los patógenos por presencia de micelio visible circundando la raíz y por la falta de podredumbre (22).

3.2 MARCO REFERENCIAL

3.2.1 Ubicación de la Investigación

La investigación en sus dos fases de laboratorio y de vivero, se efectuó en los laboratorios y viveros de la facultad de Agronomía y la facultad de Farmacia y Ciencias Químicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC- Zona 12 de la Ciudad de Guatemala.

3.2.2 Clima y zona de vida

Según el mapa de zonas de vida al nivel de reconocimiento de la República de Guatemala, a escala 1:600,000; publicado por el Instituto Nacional Forestal, la ciudad de Guatemala se encuentra dentro de la zona de vida: Bosque Húmedo Subtropical templado (Bh-st) (19).

Las condiciones climáticas del vivero son las siguientes:

- Temperatura media anual: 18.30 grados centígrados
- Humedad relativa media: 75.9 %
- Insolación promedio: 6.65 horas / día
- Radiación: 0.33 cal/cm²/min

3.2.3 Cepas Ectomicorrícicas utilizadas

Taxonomía

<u>Género</u>	<u>Familia</u>	<u>Orden</u>	<u>Clase</u>
- <i>Laccaria</i>	Tricholomataceae	Agaricales	Basidiomycotina
- <i>Suillus</i>	Boletaceae	Agaricales	Basidiomycotina
- <i>Scleroderma</i>	Sclerodermataceae	Sclerodermatales	Basidiomycotina
- <i>Pisolithus</i>	Sclerodermataceae	Sclerodermatales	Basidiomycotina

3.2.3.1. *Suillus bovinus* de Totonicapán.

Cuerpo fructífero hemisférico, convexo, margen primero envuelto y después destendido, diámetro de 3-15 cms. Imenóforo de tallo medianamente corto, cutícula separable con dificultad, poros angulares,

irregulares, colores en el tallo. Tallo sinuoso, alargado debajo del sombrero y obtuso en la base, a menudo se entrelaza con otros, de colores en el sombrero, adornados de fibras más oscuras y amarillo a anaranjadas en la parte alta. La base está cubierta de hifas miceliares rosadas. Carnoso en el fruto aunque más duro en el tallo, un poco elástico después endurece con la maduración, amarillo pálido a fulvo anaranjado en la base, con el cocimiento se vuelve de una tonalidad violeta. Olor ligero, ácido dulce, similar a *Scleroderma*. Comestible pero poco apetecible debido al olor. Estos hongos fueron colectados en la aldea Panquix Totonicapán.

3.2.3.2. *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo.

El píleo tiene un diámetro de 20-45 mm, convexo a plano convexo, de color naranja a café rojizo pálido 8 7/D 8), aunque en ejemplares adultos se manifiesta un color café naranja pálido 8 5/C, en ejemplares más jóvenes el color es pálido. La cutícula es desprendible. El contexto es de color blanco violeta 16 5/C bajo ésta; el margen recto a decurvado, con borde ondulado entero y la superficie es seca y fibrosa. 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 estípite tiene 40-50 mm de longitud de 4-6 mm de diámetro en el ápice, 6-9 mm en la base, cilíndrico a un poco ensanchado en la base, superficie fibrilosa, de color café a 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 estípite. Este hongo fue colectado en la aldea Tzichin, Todos Santos Huehuetenango.

3.2.3.3 *Scleroderma* sp. de Poptún.

Cuerpo fructífero de diámetro a lo largo de 39-65 mm y a lo ancho de 30-40 mm, forma hemisférica, el más grande se presenta algo aplanado en la superficie. Cubierta de color amarillo mostaza 4 6/B al centro con manchas de color claro 4 4/A, textura de la cubierta aterciopelado (tomentosa) a acrolado en ejemplares más maduros. Pegado al suelo a través de una masa gruesa de especie de raíces semejantes al algodón color blanco amarillento. La leva al momento de abrir presenta un color rojizo en ejemplares jóvenes es de color grisáceo 6 4-2/E. peridium blanco rosáceo de 1 mm de grosor, en la base hasta 4 mm en ejemplares jóvenes. En ejemplares adultos posee 1.5 mm de grosor en la parte superior en la base hasta 5 mm y en los lados hasta 3 mm de grosor. Gleba con esporas de color grisácea 6 1-2/E en jóvenes, en la base color blanquesino a café rojizo con aspecto polvoriento. Esporas de color café vistas en fresco solo con agua.

Con NaOH la cutícula se torna color café, inmediatamente café rosado en peridium. Después de 30 minutos las esporas se tornan color verduzco. Estos hongos fueron colectados en el bosque Kaibil, Poptún Petén.

3.2.3.4 *Pisolithus tinctorius* de Poptún.

El carpóforo mide de 50-300 mm de alto y 40-200 mm de ancho. Se presenta como un cuerpo esférico alargado con la base más o menos radial sumergido en la tierra. La corteza (peridio) más suave. La pared exterior es delgada y pronto se vuelve quebradiza. La parte de arriba del carpóforo al exponer la gleba contiene cientos de peridioles como semillas, pequeños de 2-4 mm de longitud de alargados a ovals, que se desintegran gradualmente cambiando a una masa polvorosa de esporas cafés de alargadas a ovals o circulares. La porción baja del cuerpo fructífero consiste de una base fibrosa con micelio verde amarillento. Volva ausente. Estos hongos fueron colectados en Poptún Petén.

3.2.4 Hongos del Mal del talluelo utilizados

3.2.4.1 *Rhizoctonia* sp.

Este patógeno vive principalmente en forma de micelio, es incoloro cuando pasa por su etapa juvenil pero que se torna amarillo o de color café claro conforme madura. El micelio consta de largas células y produce ramificaciones que crecen casi en ángulos rectos con respecto a la hifa principal, se estrechan ligeramente a nivel de la bifurcación y poseen un septo cerca de ella. Las características de la ramificación comúnmente son los únicos medios disponibles para identificar al hongo como *Rhizoctonia* en ciertas condiciones, el hongo produce ramilletes de células cortas, anchas, de forma oval o triangular y que se asemejan a esclerocios, las cuales funcionan como clamidosporas, o en todo caso, dichos ramilletes se desarrollan en pequeños esclerocios de color café a negro y dispuesto en forma laxa.

Existen distintas razas del hongo con diferentes preferencias por sus hospederos, óptimo de temperatura, etc.. El hongo se propaga con lluvia, el riego o el riego por inundación, sí como con los órganos de propagación infectados o contaminados. Con respecto a la mayoría de las razas del hongo, la temperatura óptima para que se produzca la infección se encuentra cerca de los 15 a 18 grados centígrados, pero algunas razas muestran una mayor actividad a temperaturas mucho más altas, a más de 35 grados centígrados. La enfermedad es más severa en suelos que son moderadamente húmedos que en suelos que son secos o se encuentran inundados. La infección de las plantas jóvenes es más severa cuando el crecimiento de la planta es lento, debido a las condiciones ambientales adversas para su desarrollo (1).

3.2.4.2 *Fusarium* sp.

Este hongo produce dos tipos de conidios sobre esporodoquios, microconidios constituidos por una o dos células y los típicos macroconidios del tipo de *Fusarium* que constan de 3 a 9 células (por lo común, de 4 a 5), ligeramente encorvados y con extremos más o menos terminados en punta. *Fusarium* produce también clamidosporas de pared gruesa y constituidas por una o dos células, las cuales sobreviven a las sequías y a bajas temperaturas. El hongo puede vivir sobre los tejidos vegetales muertos e invernar en forma de micelio o esporas en las semillas o en tejidos muertos e infectados. Las esporas son fácilmente diseminadas por el viento, equipo agrícola, el agua, por contacto, etc., de ahí que el hongo se encuentre ya en forma de micelio o esporas en muchos suelos.

El control de las pudriciones que ocasiona *Fusarium* en raíces, tallos, cormos y otros órganos se lleva a cabo, en los invernaderos, mediante la esterilización del suelo y el uso de órganos vegetativos sanos, pero aún no se dispone de métodos de control adecuados para dichas enfermedades en el campo (1).

3.2.5 Descripción de *Pinus oocarpa* Schiede

Tiene una gran distribución en Guatemala, se le encuentra de la frontera de México hasta las fronteras de El Salvador y Honduras, formando rodales puros o entre mezclados con *Quercus* spp., o asociado con otras especies de pino. Regularmente ésta variedad de pino se encuentra distribuida en los departamentos de Huehuetenango, Totonicapán, Quiché, Chimaltenango, Guatemala, Baja Verapaz, Progreso, Zacapa, Jalapa, Chiquimula, Santa Rosa y Jutiapa. Esta variedad crece en altitudes que varían entre los rangos de 500 - 2750 msnm., se encuentran localizados en las zonas de vida bosque húmedo subtropical y bosque húmedo montano bajo. Se establece en suelos áridos, secos y pobremente desarrollados (21).

Por otra parte Barrera (2), agrega que su copa es ordinariamente amplia y redonda en árboles adultos, reducida y alargada en árboles jóvenes, fascículos ordinariamente de cinco agujas, raras veces de 3 ó 4, con numerosos conos solitarios o en grupos de 3, de forma oval, con una longitud de 4 a 10 centímetros.

4. OBJETIVOS

1. Evaluar la capacidad antibiótica de los hongos ectomicorrícicos *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, *Scleroderma* sp. de Poptún y *Pisolithus tinctorius* de Poptún en competencia directa en cajas de petri frente a hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp., bajo condiciones de laboratorio, midiendo radio de crecimiento y áreas de separación entre los hongos.

2. Evaluar la capacidad antibiótica y de protección radicular de los inóculos ectomicorrícicos *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de puerta del cielo, *Scleroderma* sp. de Poptún y *Pisolithus tinctorius* de Poptún en plantas de *Pinus oocarpa* Schiede en contenedor, contaminados con hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.

5. HIPOTESIS

1. Las diferentes cepas de hongos ectomicorrícicos *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, *Scleroderma* sp. de Poptún y *Pisolithus tinctorius* de Poptún inoculadas en cajas de petri, frente a hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. producirán similares efectos en radio de crecimiento y área de separación por antibiosis.

2. Las diferentes cepas de hongos ectomicorrícicos *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, *Scleroderma* sp. de Poptún y *Pisolithus tinctorius* de Poptún inoculadas en plantas de *Pinus oocarpa* Schiede en contenedores, contaminadas con hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. producirán similares efectos en porcentaje de micorrización, altura de plantas y desarrollo de lesiones.

6. METODOLOGIA

6.1 COLECTA DE INOCULO

El inóculo de los hongos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. incitantes del mal del talluelo se colectaron en época lluviosa directamente de plántulas de *Pinus oocarpa* Schiede enfermas con mal del talluelo, colectándose mayormente aquellas recién germinadas, con síntomas de amarillamiento foliar, marchitez y con poca o nula probabilidad de sobrevivencia. Se transportaron en hieleras completas de raíz y tallos, colocándose en papel encerado para evitar la disecación del micelio y fueron almacenados a temperaturas constantes de 5 grados centígrados en refrigeradora, donde se obtuvo un material adecuado sin descomposición vegetal para proceder con la identificación, siguiendo las técnicas modificadas, sugeridas por Agrios (1), donde a partir de trozos de material vegetal de raíz se mantuvieron en cajas de petri con medio de cultivo PDA, estas se almacenaron en incubadora a 25 grados centígrados durante 25 días.

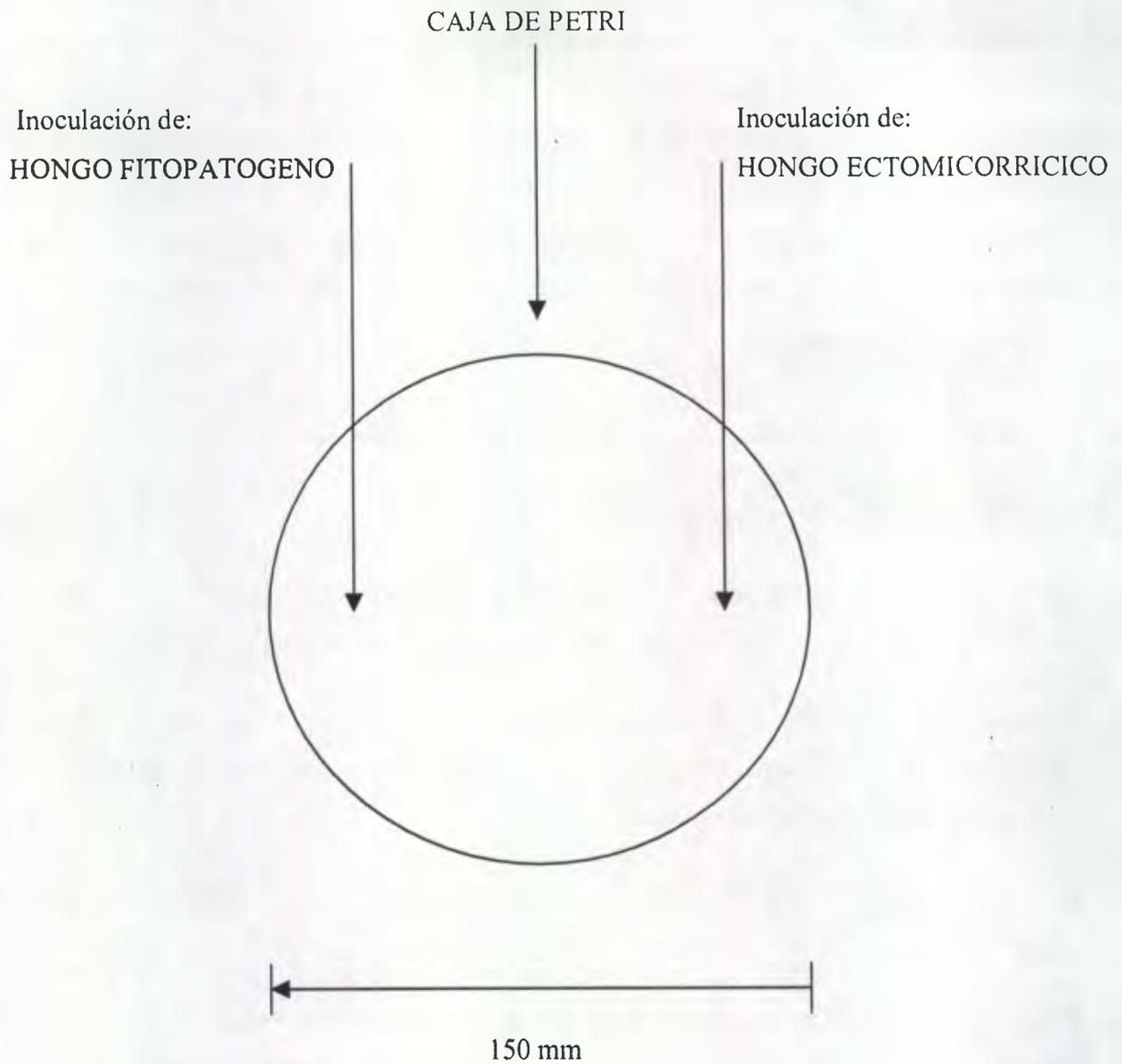
6.1.1 Distribución del Inóculo en Cajas de Petri y en Contenedores

1. Experimento realizado en cajas de petri

- a. Tomando en cuenta las medidas de asepsia necesarias se extrajo en una campana de flujo utilizando la técnica del sacabocado, un disco de 5mm de diámetro de cultivo micelar de los hongos ectomicorrícicos.
- b. Se inoculó el disco micelar cerca del borde de una caja de petri de medidas 150mm X 15mm conteniendo como medio de cultivo PDA. Esta caja fue dividida con una línea en el centro, para que sirviera de guía en las posiciones de los discos miceliarios.
- c. Se realizaron cuatro repeticiones de cada tratamiento, y se almacenaron en una incubadora a temperatura constante de 25 grados centígrados por un período de tiempo de 30 días.
- d. Transcurridos los 30 días de crecimiento de los hongos ectomicorrícicos se procedió a inocular los hongos fitopatógenos en las cajas de petri con los hongos ectomicorrícicos, utilizando la misma técnica de siembra ya mencionada.
- e. Se inoculó en el extremo posterior de las posiciones ectomicorrícicas según la línea marcada, de acuerdo a la distribución experimental utilizada (ver figura 1).

f. Se distribuyeron al azar. Se dejaron crecer por un período de tiempo de 5 días y se tomaron datos.

Figura 1. Inoculación de los discos micelares de hongos fitopatógenos y hongos ectomicorrizicos en cajas de petri.



2. Experimento realizado con Plántulas en contenedores

- a. Se esterilizaron frascos de vidrio de 1000 cc, conteniendo 500 cc de mezcla turba/vermiculita (80:20 v/v) humedecida con solución mineral, para ser utilizados como contenedores.
- b. Se transplantaron a los contenedores plantas de pino germinadas asepticamente y cultivadas en turba/vermiculita humedecida estéril.
- c. Una vez establecidas las plantas en los contenedores, se procedió a inocularles 5 discos micelares de 5 mm de diámetro de las cepas de hongos ectomicorrícicos creciendo activamente en la placa de agar, según la distribución experimental.
- d. Ya inoculadas las plántulas de pino con el hongo ectomicorrícico, se colocaron en un invernadero, donde se les aplicó un sistema de riego.
- e. Se dejó desarrollar el hongo ectomicorrícico por 10 semanas, con el fin de que se estableciera la simbiosis con las raíces de las plantas de pino.
- f. Transcurridas las 10 semanas se inoculó 3 discos micelares de 5 mm de diámetro creciendo activamente en agar de los hongos fitopatógenos, a cada contenedor según la distribución del diseño experimental.
- g. Se colocaron nuevamente en el invernadero por un período de tiempo de 7 días.
- h. Se establecieron cuatro repeticiones para cada tratamiento evaluado. Se distribuyeron al azar.

6.2 MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS

- a. El medio de cultivo utilizado para el desarrollo de los hongos, así como para la experimentación en las cajas de petri, fue el conocido como PDA (Papa, Dextrosa, Agar), agar agua y agar jugo V8, medio que cumple con las condiciones de ser un excelente substrato para la producción de micelio y proporciona además condiciones adecuadas de pH, temperatura y humedad, en condiciones de laboratorio (20).
- b. El medio de cultivo turba/vermiculita, es también un medio que presta condiciones ideales para cultivo y germinación de plantas, dada la facilidad con que puede esterilizarse.

6.3 DESINFECCION Y GERMINACION DE SEMILLAS

Las semillas de *pinus oocarpa* Schiede, provenientes de una temperatura a 4 grados centígrados, fueron limpiadas superficialmente en agua corriente en circulación durante 10 horas, eliminándose las semillas en flotación (vanas) y se procedió a la desinfección superficial de las restantes mediante la inmersión en alcohol (H₂O₂) al 30% durante 2 minutos. Ya desinfectadas se procedió a lavarlas con

suficiente agua destilada estéril a 120 grados centígrados durante 15 minutos para eliminar el desinfectante y se sembraron asepticamente en los contenedores con turba-vermiculita estéril.

6.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló bajo condiciones homogéneas, por lo que se utilizó un diseño experimental completamente al azar.

6.4.1 Número de Unidades Experimentales

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

$n = t \times r$, donde:

$n =$ unidades experimentales

$t =$ tratamientos

$r =$ repeticiones

6.4.2 Modelo estadístico

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

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

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

donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta de la ij -ésima unidad experimental

U = Efecto de la media general

A_i = Efecto de la i -ésima modalidad del factor hongos ectomicorrícicos

B_j = Efecto de la j -ésima modalidad del factor hongos fitopatógenos

AB_{ij} = Efecto de la interacción entre los factores hongos micorrícicos y hongos fitopatógenos.

E_{ij} = Efecto del error experimental de la ij -ésima unidad experimental

6.4.3 Tamaño de Unidad Experimental

- Cada caja de petri inoculada con los hongos ectomicorrícicos y los hongos fitopatógenos representa una unidad experimental.
- Cada contenedor plástico con una plántula de pino inoculada con los hongos ectomicorrícicos y fitopatógenos representa una unidad experimental.

6.4.4 TRATAMIENTOS

Los tratamientos utilizados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en cajas de petri y en contenedores.

Tratamiento	Código	Descripción
T1	F + Scl	<i>Fusarium sp.</i> más <i>Scleroderma sp.</i> Poptún.
T2	F + Sui	<i>Fusarium sp.</i> más <i>Suillus bovinus</i> Totonicapán.
T3	F + Pis	<i>Fusarium sp.</i> más <i>Pisolithus tinctorius</i> Poptún
T4	F + Lac	<i>Fusarium sp.</i> más <i>Laccaria aff. Bicolor</i> Puerta del cielo
T5	R + Scl	<i>Rhizoctonia sp.</i> más <i>Scleroderma sp.</i> Poptún
T6	R + Sui	<i>Rhizoctonia sp.</i> más <i>Suillus bovinus</i> Totonicapán
T7	R + Pis	<i>Rhizoctonia sp.</i> más <i>Pisolithus tinctorius</i> Poptún
T8	R + Lac	<i>Rhizoctonia sp.</i> más <i>Laccaria aff. bicolor</i> Puerta del cielo
T9	T	Testigo

6.4.4.1 Tratamientos efectuados en cajas de petri

- *Scleroderma sp.* de Poptún más *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*

Se inoculó un disco micelar de *Scleroderma sp.* de Poptún, transcurridos 30 días se inoculó un disco micelar de *Fusarium sp.* y de *Rhizoctonia sp.* según la distribución experimental, se dejó desarrollar durante otros 5 días y se tomaron datos.

- *Pisolithus tinctorius* de Poptún más *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*

En este tratamiento se inoculó un disco micelar de *Pisolithus tinctorius* de Poptún, transcurridos 30 días se inoculó otro disco micelar de cultivo fitopatógeno *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*, según la distribución experimental, se dejó crecer por cinco días y se tomaron datos.

- *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo más *Fusarium sp.* y *Rhizoctonia sp.*

Como en los otros tratamientos se inoculó un disco de agar miceliar de *Laccaria aff bicolor* de Puerta del cielo, se dejó desarrollar por 30 días y se le inoculó un disco miceliar de hongo fitopatógeno *Rhizoctonia sp.* y *Fusarium sp.*, según la distribución experimental, se realizaron 4 repeticiones, se dejaron crecer por cinco días y se tomaron datos.

- *Suillus bovinus* de Totonicapán más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Se inoculó en la caja de petri un disco miceliar de *Suillus bovinus* de Totonicapán, se dejó crecer por 30 días, luego se le inoculó otro disco miceliar fitopatógeno de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., según la distribución experimental, se dejó crecer por cinco días y se tomaron datos.

- Hongos Control (testigos)

Este tratamiento consistió en inocular por separado en cada caja de petri, un disco de cultivo miceliar de hongo ectomicorrícico *Suillus bovinus* de Totonicapán., *Scleroderma* sp. de Poptún, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo y *Pisolithus tinctorius* de Poptún, así como de los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., dejándolos crecer sin competencia por 35 días a los ectomicorrícicos y por cinco días a los fitopatógenos y se tomaron datos.

6.4.2.2 Tratamientos realizados con plantas de *Pinus oocarpa* Schiede en contenedor

- *Scleroderma* sp. de Poptún más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Se inocularon 5 discos miceliar del hongo *Scleroderma* sp. de Poptún, a las plántulas en contenedores, transcurridas 10 semanas se les incubó tres discos de hongo miceliar fitopatógeno *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., se distribuyeron al azar. Se dejaron desarrollar los fitopatógenos por 7 días y se tomaron datos.

- *Pisolithus tinctorius* de Poptún más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

A las plántulas de pino en contenedor se les incubó cinco discos de hongo ectomicorrícico *Pisolithus tinctorius* de Poptún, se dejó crecer por 10 semanas, posteriormente se les contaminó con tres discos de hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., se dejó desarrollar por 7 días y se tomaron datos.

- *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Se inocularon 5 discos miceliar del hongo *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo a las plántulas en contenedores, transcurridas 10 semanas se les incubó tres discos de hongo miceliar fitopatógeno *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., se distribuyeron al azar. Se dejaron desarrollar los fitopatógenos por 7 días y se tomaron datos.

- *Suillus bovinus* de Totonicapán más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

A las plántulas de pino en contenedor se les incubó cinco discos de hongo ectomicorrícico *Suillus bovinus* de Totonicapán, se dejó crecer por 10 semanas, posteriormente se les contaminó con tres discos de hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp., se dejó desarrollar por 7 días y se tomaron datos.

- Testigo (sin inóculo)

Este tratamiento consistió en dejar crecer plantas de *Pinus oocarpa* Schiede en contenedores con medio de cultivo turba-vermiculita (80/20 v.v.). No se les contaminó con hongo ectomicorrícico ni hongo fitopatógeno. Se realizaron cuatro repeticiones y se distribuyeron al azar. Se tomaron los datos junto a los otros tratamientos después de transcurridas las 11 semanas.

6.5 VARIABLES DE RESPUESTA EVALUADAS

Una vez transcurrido el tiempo estipulado para la experimentación a las cajas de petri y las plantas en contenedores se les midió las siguientes variables: Radio de crecimiento de los hongos en las cajas de petri, halos de inhibición entre los hongos competidores en las cajas de petri, porcentaje de micorrización en las plantas de pino, descripción macroscópica de las lesiones provocadas por los fitopatógenos, altura de plantas.

A. Descripción macroscópica de los hongos

Cuando los hongos se desarrollaron en las cajas de petri, se procedió a describirlos mediante el uso del microscopio y el estereoscopio, anotando características de estado, color, aspecto, forma.

B. Variable de Respuesta Radio de Crecimiento

Se realizó una medición del radio de crecimiento de cada uno de los hongos dentro de la caja de petri, a partir de la posición inoculada, con el fin de comparar el radio de crecimiento de los hongos en competencia con respecto a los hongos control.

C. Variable de Respuesta Areas de inhibición

A las áreas de inhibición producidas por la competencia del crecimiento entre los dos hongos en las cajas de petri, se les midió y describió recalando en la forma que tomó el halo inhibido.

D. Variable de Respuesta de Micorrización

El porcentaje de micorrización se obtuvo mediante un conteo del número de raíces cortas formadas en las raíces laterales y raíz principal de la planta de pino, así como un conteo de raíces cortas micorrizadas, utilizando la siguiente fórmula 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

E. Variable de Respuesta altura

Con el fin de evaluar el desarrollo de las plantas micorrizadas se midió la altura de la planta desde la cofia hasta la copa. Medición que se realizó después de que las plantas estuvieron 11 semanas en el invernadero.

F. Variable de Respuesta Lesiones ocasionadas

Se observaron y describieron macroscopicamente las lesiones ocasionadas por los hongos fitopatógenos al cuello de las plantas de pino, auxiliado por un microscopio y el estereoscopio, describiendo características tales como forma, color, aspecto, tamaño.

6.6 ANALISIS DE DATOS

A las variables de respuesta cuantitativas, se les efectuó un análisis de varianza, auxiliandose en el programa Statistical Analysis System (SAS), y así determinar diferencias significativas entre los hongos evaluados y el tratamiento control, efectuandoles una prueba múltiple de medias Tuckey al 5% de significancia.

6.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para las dos fases del experimento se tomaron todas las medidas de asepsia en el manejo de materiales, además se contó con el apoyo de materiales de laboratorio, así también se consideraron los siguientes factores: El riego se efectuó con una frecuencia de 2 a 3 días y la Fertilización con fertilizantes quelatados (20-10-20) y una fuente de micronutrientes, disueltos en dos litros de agua, aplicándose por

aspersión la primera a los 15 días de germinada la planta y luego periódicamente cada 15 días hasta cumplir las 11 semanas.

7. RESULTADOS

7.1 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y ANATOMICAS DE LOS HONGOS PRODUCIDOS ARTIFICIALMENTE EN CAJAS DE PETRI

7.1.1 *Scleroderma* sp. de Poptún más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Se obtuvo micelio ectomicorrícico abundante, esponjoso, de color café oscuro, el cual obtuvo un desarrollo radial entre 52 mm a 54 mm, el medio de cultivo PDA fue favorable al crecimiento.

Después de 30 días los tratamientos fueron contaminados con posturas de miceliales de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Se dejaron desarrollar por cinco días. El desarrollo micelial de *Fusarium* sp. fue esponjoso-algodonoso de color blanquecino con un tono rosa en el centro de la colonia cuando madura, logrando una longitud radial de hasta 53 mm. *Rhizoctonia* sp. desarrolló micelio blanco de crecimiento radial, con longitud radial de hasta 53 mm. Tanto las puntas del micelio de *Fusarium* sp. como *Rhizoctonia* sp. se entrelazaron con el micelio de *Scleroderma* sp. de Poptún, no dejando un claro halo de separación entre las colonias cultivadas (ver cuadro 2).

7.1.2 *Pisolithus tinctorius* de Poptún más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Se obtuvo micelio ectomicorrícico abundante, esponjoso, elevado, de color blanco amarillento, desarrollando una longitud radial de 53 mm hasta 58 mm.

Después de 30 días los tratamientos fueron contaminados con posturas de miceliales de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Se dejaron crecer por cinco días. El desarrollo micelial de *Fusarium* sp. fue esponjoso-algodonoso de color blanquecino con un tono rosa en el centro de la colonia cuando madura, logrando una longitud radial de 43 mm hasta 47 mm. *Rhizoctonia* sp. desarrolló micelio blanco de crecimiento radial, con longitud radial de 41 mm hasta 48 mm. *Pisolithus tinctorius* de Poptún inhibió a los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. ya que su desarrollo fue mayor y más agresivo, produciendo además entre ellos un evidente halo de separación (ver cuadro 2).

7.1.3 *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

De los cultivos ectomicorrícicos el más agresivo en su desarrollo fue *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, se obtuvo micelio ectomicorrícico abundante, esponjoso, de color violáceo tenue, con crecimiento miceliar dentro del medio, desarrollo longitudinal 52 hasta 58 mm.

Después de 30 días los tratamientos fueron contaminados con posturas de miceliares de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Se dejaron crecer por cinco días. El desarrollo miceliar de *Fusarium* sp. fue esponjoso-algodonoso de color blanquecino con un tono rosa en el centro de la colonia cuando madura, logrando una longitud radial de 53 a 55 mm. *Rhizoctonia* sp. desarrolló micelio blanco de crecimiento radial, con longitud radial de 51 a 53 mm. Tanto las puntas del micelio de *Fusarium* sp. como *Rhizoctonia* sp. se entrelazaron con el micelio de *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, creciendo ambos hongos activamente uno sobre otro sin inhibirse (ver cuadro 2).

7.1.4 *Suillus bovinus* de Totonicapán más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Suillus bovinus de Totonicapán presentó un desarrollo longitudinal de 54 a 57 mm. se obtuvo micelio ectomicorrícico abundante, achatado, de color café a rojizo.

Después de 30 días los tratamientos fueron contaminados con posturas de miceliares de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. se dejaron desarrollar por cinco días. El desarrollo miceliar de *Fusarium* sp. fue esponjoso-algodonoso de color blanquecino con un tono rosa en el centro de la colonia cuando madura, logrando una longitud radial de 48 a 51 mm. *Rhizoctonia* sp. desarrolló micelio blanco de crecimiento radial, con longitud radial de 48 a 50 mm. El hongo ectomicorrícico *Suillus bovinus* de Totonicapán inhibió el desarrollo de *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. creando un halo de separación entre las colonias (ver cuadro 2).

7.1.5 Descripción de los hongos control

Todos los hongos crecieron y se desarrollaron libremente en la caja de petri, con desarrollos más acelerados y colonias miceliares más sanas. Este tratamiento presentó mayor longitud radial de crecimiento y no hubo inhibición ya que no tuvieron competencia.

A continuación se presentan los cuadros 2 y 3 con resumen de las características más importantes observadas en cuanto a datos de crecimiento y observaciones por competencia entre los hongos.

Cuadro 2. Características de los hongos ectomicorrícicos frente a *Fusarium* sp. en cajas de petri.

Hongos	Micelio	Color	Crecimiento
<i>Scleroderma</i> sp. de Poptún	abundante/esponjoso	café oscuro	52-54 mm
<i>Fusarium</i> sp.	esponjoso/algodonoso	blanquecino/tono rosa	53 mm
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop.	abundante/elevado	blanco/amarillento	53 mm
<i>Fusarium</i> sp.	esponjoso	blanquecino/tono rosa	43-47 mm
<i>Laccaria</i> aff. <i>bicolor</i> de P.cielo	abundante/esponjoso	violáceo tenue	52-58 mm
<i>Fusarium</i> sp.	esponjoso	blanco/tono rosa	53-55 mm
<i>Suillus bovinus</i> de Toto.	achatado	café a rojizo	54-57 mm
<i>Fusarium</i> sp.	esponjoso/algodonoso	blanquecino/tono rosa	48-51

Cuadro 3. Características de los hongos ectomicorrícicos frente a *Rhizoctonia* sp. en cajas de petri.

Hongos	Micelio	Color	Crecimiento
<i>Scleroderma</i> sp. de Poptún	abundante/esponjoso	café oscuro	52-54 mm
<i>Rhizoctonia</i> sp.	abundante	blanco/radial	53 mm
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop.	abundante/elevado	blanco/amarillento	53 mm
<i>Rhizoctonia</i> sp.	esponjoso/radial	blanco	41-48 mm
<i>Laccaria</i> aff. <i>bicolor</i> de P. cie.	abundante/esponjoso	violáceo tenue	52-58 mm
<i>Rhizoctonia</i> sp.	esponjoso/radial	blanco	51-53 mm
<i>Suillus bovinus</i> de Toto.	achatado	café a rojizo	54-57 mm
<i>Rhizoctonia</i> sp.	esponjoso/radial	blanco	48-50 mm

7.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y ANATOMICAS DE LOS HONGOS PRODUCIDOS ARTIFICIALMENTE EN PLANTAS DE PINO

Una vez probada la capacidad antibiótica de algunos hongos ectomicorrícicos frente a hongos fitopatógenos, se utilizó la misma distribución experimental, esta vez en plantas de pino en contenedor. Las plantas de *Pinus oocarpa* Schiedegerminadas de una semana se les inoculó hongo ectomicorrícico de *Scleroderma* sp. de Pop., *Pisolithus tinctorius* de Pop., *Laccaria aff. bicolor* de P. del cielo y *Suillus bovinus* de Toto., con el fin de que produjeran simbiosis micorrícica. Transcurridas 10 semanas se procedió a infectarlas con los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. y se dejaron crecer por 7 días, de acuerdo a la siguiente distribución:

- A. *Scleroderma* sp. de Pop. más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.
- B. *Pisolithus tinctorius* de Pop. más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.
- C. *Laccaria aff. bicolor* de P. del cielo más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.
- D. *Suillus bovinus* de Toto. más *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.

Ninguna de las plantulas inoculadas con fitopatógenos sobrevivió al experimento, ya que presentaron los síntomas de la enfermedad mal del talluelo. Las hojas perdieron turgencia, se debilitaron, se tornaron de color verde claro al amarillo verdoso, defoliándose.

Las lesiones aparecieron entre la separación del tallo y raíz, de color canela a pardo rojizo, desarrollándose de afuera hacia adentro, con aspecto de cánceres profundos.

7.2.1 Descripción de las plantas control

Debido a que ninguna de las plantas testigo fueron inoculadas con hongos ectomicorrícicos o fitopatógenos, no existió presencia de micorrizas. No presentaron daños o lesiones ocasionadas por hongos fitopatógenos. Estas plantas presentaron menores rendimientos en altura.

7.3 RADIO DE CRECIMIENTO

El radio de crecimiento de dos hongos creciendo en competencia en las cajas de petri, nos permite conocer el antagonismo por parte de los hongos ectomicorrícicos hacia los hongos fitopatógenos inoculados. Se midió el radio de crecimiento de cada hongo. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, determinando diferencias significativas, el cual se presenta en el cuadro 4.

Cuadro 4. Andeva para el radio de crecimiento de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con 2 hongos fitopatógenos y un testigo.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	7	568.97	81.28	16.43	0.0001
Error	24	118.75	4.95		
Total	31	687.72			

Coefficiente de variación = 4.33

En el anterior análisis se observó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y se procedió a efectuar la prueba de TUKEY, que se muestra en el cuadro 5.

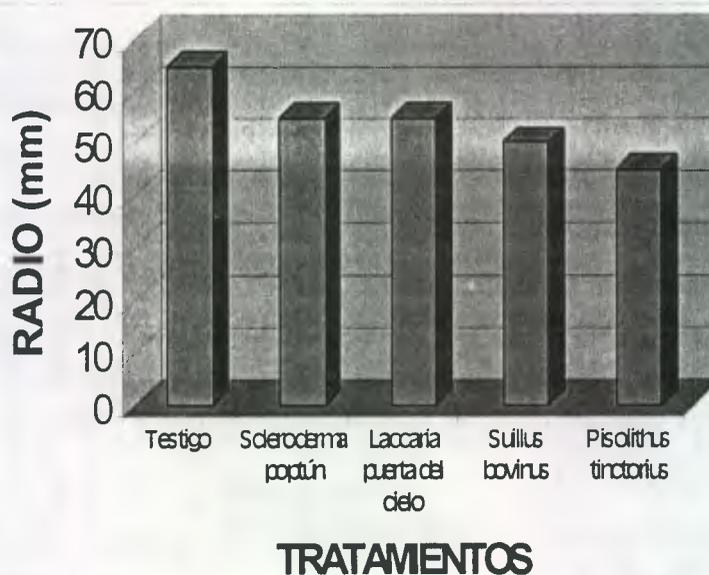
Cuadro 5. Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre radio de crecimiento de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo.

FITOPATOGENO	<i>Fusarium</i> sp		<i>Rhizoctonia</i> sp	
	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO
TRATAMIENTO				
Testigo (control)	65.25	A	66.10	A
<i>Scleroderma</i> sp. De poptún	55.25	B	55.25	B
<i>Laccaria</i> aff. <i>bicolor</i> de P.c.	55.13	B	55.20	B
<i>Suillus bovinus</i> de Toto.	50.25	C	50.05	C
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop	45.0	C	45.10	C

Según Thomas (22), los inhibidores en las ectomicorrizas pueden ser antibióticos producidos directamente por los hongos simbióticos o antibiosis producida por los hospederos como resultado de la estimulación por la infección del hongo.

Los hongos ectomicorrícicos *Scleroderma* sp. de Pop. y *Laccaria* aff. *bicolor* de P. del cielo, manifestaron mejor desarrollo en crecimiento en la competencia directa con *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. en cajas de petri, este desarrollo demuestra que no hubo antibiosis por parte de los inóculos ectomicorrícicos hacia los fitopatógenos. Mientras que *Suillus bovinus* de Toto. y *Pisolithus tinctorius* de Pop., obtuvieron un menor desarrollo, producido por la competencia directa ante los fitopatógenos *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. Por su parte el tratamiento control manifestó mayores valores de desarrollo, ya que creció sin competencia. Ver figura 2.

Figura 2. RADIO DE CRECIMIENTO EN CAJAS DE PETRI DE CUATRO HONGOS ECTOMICORRICICOS CONTRA DOS HONGOS FITOPATOGENOS Y UN TESTIGO.



7.4 AREAS DE INHIBICION

El radio de crecimiento de los hongos en las cajas de petri nos permite conocer el antagonismo por parte de los hongos ectomicorrícicos hacia los hongos fitopatógenos inoculados. En este tratamiento se midió el área (halo) de separación entre los hongos en competencia. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, determinando diferencias significativas, el cual se presenta en el cuadro 6.

Cuadro 6. Andeva para el halo de inhibición de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con do hongos fitopatógenos y un testigo.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	7	571.47	81.64	84.27	0.0001
Error	24	23.25	0.969		
Total	31	594.72			

Coefficiente de variación = 24.04

En el anterior análisis se observó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y se procedió a efectuar la prueba de TUKEY, que se muestra en el cuadro 7.

Cuadro 7. Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre halo de inhibición de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo.

FITOPATOGENO	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Rhizoctonia</i> sp.	
	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop	9.63	A	9.60	A
<i>Suillus bovinus</i> de Toto.	6.75	B	6.69	B
<i>Laccaria aff bicolor</i> P del c	0.0	C	0.0	C
<i>Scleroderma</i> sp. de Pop.	0.0	C	0.0	C
Testigo (control)	0.0	C	0.0	C

Antibiosis, estrictamente es antagonismo, mediado por metabólicos específicos o no específicos de origen microbial, incluyendo agentes líticos, enzimas, componentes volátiles y otras sustancias tóxicas (3). El inóculo ectomicorrícico *Pisolithus tinctorius* de Pop., presentó el halo más grande producido por la inhibición contra la competencia directa con *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp. en cajas de petri, le siguió en tamaño, pero siempre con índices de inhibición *Suillus bovinus* de Toto. Mientras que *Scleroderma* sp. de Pop. y *Laccaria aff bicolor* de Puerta del cielo, no obtuvieron una área específica de separación contra los fitopatógenos. Por su parte el tratamiento control no manifestó área de inhibición ya que creció sin competencia. Ver figura 3.

Figura 3. AREA DE INHIBICION EN CAJAS DE PETRI DE CUATRO HONGOS ECTOMICORRICICOS FRENTE A DOS HONGOS FITOPATOGENOS Y UN TESTIGO



7.5 PORCENTAJE DE MICORRIZACION

Napier (14), establece que las micorrizas protegen contra hongos patógenos. Esto se debe a la presencia del micelio alrededor y dentro de la raíz, el cual crea una barrera física a la invasión de la misma por estos patógenos. Además, las micorrizas producen antibióticos, los cuales protegen a las raíces cortas sin micorrizar en la misma plántula. Con el fin de establecer la capacidad infectiva y de protección radicular de la planta, se micorrizaron plántulas de *Pinus oocarpa*, las cuales se infectaron además con hongo fitopatógeno. Se estableció y contó las raíces cortas micorrizadas. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, determinando diferencias significativas, el cual se presenta en el cuadro 8.

Cuadro 8. Andeva para el porcentaje de micorrización en plantas de pino, inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	7	1009.0	144.14	25.63	0.0001
Error	24	135.0	5.66		
Total	31	1144.0			

Coeficiente de variación = 8.78

En el anterior análisis se observó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y se procedió a efectuar la prueba de TUKEY, que se muestra en el cuadro 9.

Cuadro 9. Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre porcentaje de micorrización de cuatro hongos ectomicorrícicos inoculados con dos hongos fitopatógenos y un testigo en plantas de pino.

FITOPATOGENO TRATAMIENTO	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Rhizoctonia</i> sp.	
	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO
<i>Suillus bovinus</i> de Toto	32.625	A	32.640	A
<i>Laccaria aff. bicolor</i> P.cie	32.375	A	32.390	A
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop.	22.375	B	22.360	B
<i>Scleroderma popún</i> de Pop	20.625	B	20.540	B
Testigo (control)	0.0	C	0.0	C

El hongo *Suillus bovinus* de Toto. y *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo manifestaron mejor infectividad en plántulas de *Pinus oocarpa* Schiede. La dosis de 5 discos de agar recomendados fueron suficientes para inocular a la planta con el hongo ectomicorrícico. Aunque *Pisolithus tinctorius* de Pop. y *Scleroderma* sp. de Pop. también desarrollaron su capacidad infectiva, los porcentajes obtenidos fueron

menores. El tratamiento testigo, el cual no se inoculó con los hongos ectomicorrícicos ni hongos fitopatógenos, no presentó micorrización ni ataque fitopatógeno. Ver figura 4.

Figura 4. PORCENTAJE DE MICORRIZACION EN *Pinus oocarpa* Schiede DE CUATRO ECTOMICORRICICOS FRENTE A DOS FITOPATOGENOS Y UN TESTIGO.



7.6 ALTURA DE PLANTAS

Las micorrizas al parecer mejoran el crecimiento de la planta al aumentar la superficie de absorción del sistema radicular; al absorber selectivamente y al acumular ciertos nutrientes, especialmente el fósforo; al solubilizar y hacer disponibles para la planta algunos minerales normalmente insolubles; al permitir que las raíces alimentadoras funcione por más tiempo; y al hacer que las raíces alimentadoras sean más resistentes a la infección que ocasionan algunos hongos del suelo (1). Ya que se estableció la micorrización con las plántulas, se les midió y comparó entre los diferentes tratamientos, incluyendo el testigo que no fue micorrizado. A los resultados se les efectuó un análisis de varianza, determinando diferencias significativas, el cual se presenta en el cuadro 10.

Cuadro 10. Análisis de varianza para la altura de plantas de pino inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F. Calculada	SIGNIFICANCIA
Tratamiento	7	4485.0	640.71	8.83	0.0001
Error	24	1741.0	72.54		
Total	31	6226.0			

Coefficiente de variación = 2.90

En el anterior análisis se observó que existieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y se procedió a efectuar la prueba de TUKEY, que se muestra en el cuadro 11.

Cuadro 11. Prueba de medias (Tukey) para la diferencia entre altura de plantas de pino, inoculadas con cuatro hongos ectomicorrícicos, dos hongos fitopatógenos y un testigo.

FITOPATOGENO	<i>Fusarium</i> sp.		<i>Rhizoctonia</i> sp.	
	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO	MEDIA (%)	AGRUPAMIENTO
<i>Laccaria aff. bicolor</i> de P cielo	331.75	A	332.1	A
<i>Scleroderma</i> sp. de Pop.	290.25	B	292.3	B
<i>Pisolithus tinctorius</i> de Pop.	286.38	B	286.90	B
<i>Suillus bovinus</i> de Toto.	285.63	B	285.68	B
Testigo (control)	265.0	C	268.0	C

Según Pera *et al.* (16), 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.

En este tratamiento se formaron básicamente dos grupos: *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo, manifestó el mayor rango de altura, superando a los otros tratamientos por un promedio de 45 mm en altura y en 66 mm al tratamiento testigo. Los tratamientos con hongo *Scleroderma* sp. de Pop., *Pisolithus tinctorius* de Pop. y *Suillus bovinus* de Toto., fueron muy parecidos en su desarrollo, siendo eso sí más altos que el tratamiento control en aproximadamente 20 mm. Ver figura 5.

Figura 5. ALTURA DE PLANTAS DE *Pinus oocarpa* INOCULADOS CON CUATRO HONGOS ECTOMICORRICICOS E INFECTADOS CON DOS FITOPATOGENOS Y UN TESTIGO.



7.7 DESCRIPCION DE LESIONES

Las lesiones aparecieron entre la separación del tallo y raíz, de color canela a pardo rojizo, desarrollándose de afuera hacia adentro, con aspecto de cánceres profundos. Al realizar un corte transversal de tallo en una lesión, muestra varias zonas decoloradas dispuestas en forma de anillo completo o interrumpido que consta de tejidos vasculares decolorados. Las lesiones estaban cubiertas por micelio de *Rhizoctonia* sp. incoloro en su etapa juvenil pero se tornó de color café claro conforme maduró. El hongo se propagó de forma agresiva dadas las condiciones de temperatura óptima en incubadora a 25 grados centígrados. *Fusarium* sp. se desarrolló agresivo, el cual en su madurez presentó un color blancuzco.

El ataque por parte de los hongos fitopatógenos inoculados fue agresivo, ya que los primeros síntomas se vieron rápidamente en la planta.

Es importante mencionar que las plantas inoculadas con el hongo ectomicorrícico tuvieron protección radicular debido a la presencia de micorrizas, sin embargo, fue a la separación entre tallo y raíz donde atacó el hongo ectomicorrícico.

8. CONCLUSIONES

1. Los hongos ectomicorrícicos *Pisolithus tinctorius* de Poptún y *Suillus bovinus* de Totonicapán formaron un halo de separación al crecer en competencia en cajas de petri frente a los hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.
2. Las plantas de *Pinus oocarpa* Schiede micorrizadas con *Pisolithus tinctorius* de Poptún y *Suillus bovinus* de Toto., *Laccaria aff. bicolor* de Pueta del cielo y *Scleroderma* sp. de Poptún no sobrevivieron al inóculo fitopatógeno incitante del mal del talluelo *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia* sp.
3. Se demostró la capacidad infectiva de los inóculos ectomicorrícicos *Pisolithus tinctorius* de Poptún, *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Pueta del cielo y *Scleroderma* sp. de Poptún, en la formación de micorrizas en plántulas de *Pinus oocarpa* Schiede en contenedor.
4. Los hongos ectomicorrícicos *Suillus bovinus* de Totonicapán, *Laccaria aff. bicolor* de Pueta del cielo, presentaron los mejores índices de infectividad en plantas de *Pinus oocarpa* Schiede, obteniendo mejores resultados en micorrización.
5. Las plantas de *Pinus oocarpa* Schiede micorrizadas con el hongo ectomicorrícico *Laccaria aff. bicolor* de Pueta del cielo, produjeron el mejor rendimiento en cuanto a altura de plantas.
6. Las cepas de hongos ectomicorrícicos que demostraron antibiosis en las cajas de petri, no demostraron los mismos efectos en las plantas de pino en contenedor.

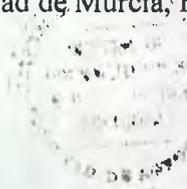
1. RECOMENDACIONES

1. Evaluar los rendimientos de plantas de *Pinus oocarpa* Schiede inoculadas con *Pisolithus tinctorius* de Poptún y *Suillus bovinus* de Totoncapán, bajo condiciones de campo.
2. Evaluar los rendimientos en *Pinus oocarpa* Schiede en distintas etapas de crecimiento de la planta, inoculadas con los hongos ectomicorrizicos *Scleroderma* sp. de Poptún, *Suillus bovinus* de Totoncapán, *Laccaria aff. bicolor* de Puerta del cielo y *Pisolithus tinctorius* de Poptún.

2. BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G.N. 1991. Fitopatología. México, Limusa. 530 p.
2. BARRERA, J. G. 1979. Aplicación del método Francés o de Hughes para la extracción de resina en *Pinus oocarpa* Schiede (pino colorado) en el municipio de Malacatancito, departamento de Huehuetenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 60 p.
3. DE BACH, P. 1968. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México, Continental. 949 p.
4. FERGUSON, J. J. 1981. Inoculum production and field application of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Ph. D. Dissertation. California, EE.UU., University of California, Riverside, 117 p.
5. GUATEMALA PLAN DE ACCION FORESTAL PARA GUATEMALA. 1996. El rol de la reforestación comunitaria en el desarrollo de Guatemala. Guatemala, PAFG. Boletín Informativo No. 3. 11.
6. HONRUBIA, M. et al. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. España, Universidad Murcia. 66 p.
7. JACKSON, N. E.; FRANKLIN, R. E.; MILLER, R. H. 1972. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and phosphorus content of three agronomic crops. Soil Sci. Amer. Proc. (EE.UU.) 36:64-67.
8. MARX, D. H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. Phytopathology (EE.UU.) 59 (2):153-163.
9. -----, 1970. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. V. Resistance of mycorrhizae to infections by vegetative micelium of *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology (EE.UU.) 60: 1472-1473.
10. -----, 1980. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practices. In: TROPICAL MYCORRHIZA RESEARCH. (EE.UU.) New York, Oxford University Press: p. 13-71.
11. MENGE, J. A., LEMBRIGHT, H.; JOHNSON, E.L.V. 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. Proc. Int. Soc. Citriculture. (EE.UU.) 1:129-132.
12. MIKOLA, P. 1970. Mycorrhizal inoculation in afforestation. International Review of Forest Research. (EE.UU.) 3: 123-196.

13. MORALES CAYAY, M.A. 1992. Efecto de cinco frecuencias sobre el rendimiento y Evapotranspiración del cultivo de zanahoria (*Daucus carota*. L.) en el valle central de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 82 p.
 14. NAPIER, I. 1985. Técnicas de viveros forestales con referencia especial a Centro América. Siguatepeque, Honduras, Escuela Nacional de Ciencias Forestales / Corporación Hondureña de Desarrollo Forestal. Publicación Miscelánea no. 5. 274 p.
 15. PARLADE IZQUIERDO, X. 1992. Técnicas de inoculación de abeto douglas (*Pseudotsuga menziensis*. (Mirlo) Franco) con hongos ectomicorrícicos y su aplicación en reforestación. Tesis Ph. D. España, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Biología. 202 p.
 16. PERA, J.; ALVAREZ, I.; PARLADE, J. 1998. Eficiencia del inóculo miceliar de 17 especies de hongos ectomicorrícicos para la micorrización controlada de *Pinus pinaster*, *P. radiata* y *Pseudotsuga menziensis* en contenedor. Investigación Agraria. (Española.) 7(1,2):140-153.
 17. RUARK, G.A.; MADER, D. L.; TATTAR, T.A. 1982. The influence of soil compaction and aeration on the root growth and figure of trees: a literature review, part 1. Arboriculture Journal. (EE.UU.) 6: 251-265.
 18. SAMSON, J.; FORTIN, J. A. 1986. Ectomycorrhizal fungi of *Carix laricina* and the interespecific and intraspecific variation in response to temperature. Canadian Journal of Botany. (EE.UU.) 64: 3020-3028.
 19. SANCHEZ, M. 1991. La simbiosis micorriza vesiculo-arbuscular (MVA) en soya *Glycine max* (L.) Merrill. Palmira, Colombia, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Boletín Técnico no. 2. 53 p.
 20. SCHENCK, N.C. 1982. Methods and principles of mycorrhizal research. Minnesota, EE.UU., The American Phytopatological Society. 244 p.
- CITADO POR: THOMAS, D. L. et al. 1993. The container tree nursery manual. Washington, DC., U.S. Department of Agriculture. Forest Service. Agriculture Handbook no. 674. v. 5, 171 p.
21. SPIEGELER, C. A. 1981. Comportamiento inicial de del *Pinus oocarpa* Schiede, asociado con cultivos anuales. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 110 p.
 22. THOMAS, D. L. et al. 1993. The container tree nursery manual. Washington, D.C., U.S. Department of Agriculture. Forest Service. Agriculture Handbook no. 674. v. 5, 171 p.
 23. TORRES J. A. 1989. Aislamiento, identificación y evaluación de hongos ectomicorrícicos de *Pinus* spp. de la cuenca del Rio Villalobos, departamento de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 43 p.
 24. TORRES MARTINEZ, P. 1992. Estudio de las ectomicorrizas de pino carrasco (*Pinus halapensis*. Miller). Tesis Ph. D. España, Barcelona, Universidad de Murcia, Facultad de Biología. 71 p.


 No. B°
 Miriam De La Roca

11. ANEXOS

Cuadro 12. Combinación de tratamientos de cuatro hongos ectomicorrizicos frente a dos hongos fitopatógenos incitantes del mal del talluelo en *Pinus oocarpa* Schiede.

TRATAMIENTO	HONGO ECTOMICORRIZICO	HONGO FITOPATOGENO
1	<i>Scleroderma</i> sp. de Poptún	<i>Fusarium</i> sp.
2	<i>Scleroderma</i> sp. de Poptún	<i>Rhizoctonia</i> sp.
3	<i>Suillus bovinus</i> de Totonicapán	<i>Fusarium</i> sp.
4	<i>Suillus bovinus</i> de Totonicapán	<i>Rhizoctonia</i> sp.
5	<i>Laccaria aff. bicolor</i> Puerta cielo	<i>Fusarium</i> sp.
6	<i>Laccaria aff. bicolor</i> Puerta cielo	<i>Rhizoctonia</i> sp.
7	<i>Pisolithus tinctorius</i> de Poptún	<i>Fusarium</i> sp.
8	<i>Pisolithus tinctorius</i> de Poptún	<i>Rhizoctonia</i> sp.
9*	<i>Scleroderma</i> sp. Poptún (testigo)	Xxx
10*	<i>Suillus bovinus</i> Toto (testigo)	Xxx
11*	<i>Laccaria aff. bicolor</i> Pcielo (testigo)	Xxx
12*	<i>Pisolithus tinctorius</i> Pop (testigo)	Xxx
13*	Xxx	<i>Fusarium</i> sp. (testigo)
14*	Xxx	<i>Rhizoctonia</i> sp. (testigo)

* (tratamientos adicionales a la estructura factorial)



FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA: "EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIBIOTICA DE CEPAS DE HONGOS
ECTOMICORRICIOS FRENTE A HONGOS INCITANTES DEL MAL DEL
TALLUELO BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO EN PINO (Pinus
ocarpa)".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: SARVELIO ESAU MIRANDA URRUTIA

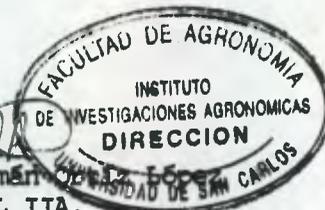
CARNET No: 8713114

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Gustavo Adolfo Alvarez Valenzuela
Ing. Agr. Alvaro G. Hernández Dávila
Ing. Agr. José Humberto Calderón Díaz

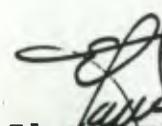
El Asesor y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha
cumplido con las Normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía
de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Ing. Agr. M.Sc. Edil René Rodríguez Quezada
A S E S O R


Dr. Ariel Abderramán López
DIRECTOR DEL IIA.



I M P R I M A S E


Ing. Agr. M.Sc. Edgar Osvaldo Bavaera
D E C A N O



cc:Control Académico
IIA.
Archivo
AO/prr.

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