

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



TESIS DE GRADO

**RESPUESTA DEL PINO (*Pinus radiata* D. Don.) A LA APLICACIÓN DE SUELO
MICORRIZADO Y DOS TIPOS DE SUSTRATO EN ETAPA DE VIVERO EN LA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE COTA COTA – LA PAZ**

LADY GABRIELA CUBA VARGAS

La Paz – Bolivia

2014

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**RESPUESTA DEL PINO (*Pinus radiata* D. Don.) A LA APLICACIÓN DE SUELO
MICORRIZADO Y DOS TIPOS DE SUSTRATO EN ETAPA DE VIVERO EN LA
ESTACIÓN EXPERIMENTAL DE COTA COTA – LA PAZ**

*Tesis de Grado presentado como requisito
parcial para optar el título de
Ingeniero Agrónomo*

LADY GABRIELA CUBA VARGAS

Asesor:

Ing. Luis Goitia Arze

Revisores

Ing. Ph.D. Abul Kalam Kurban

Ing. Felix Rojas Ponce

Ing. Windson July Martinez

Aprobada

Presidente tribunal Examinador

2014

CONTENIDO GENERAL

	Pág.
Dedicatoria.....	I
Agradecimientos.....	II
Indicé General.....	III
Indicé de Figuras.....	VII
Indicé de Tablas.....	VIII
Indicé de Gráficos.....	IX
Indicé de Cuadros.....	X
Resumen.....	XI
Summary.....	XIII



DEDICATORIA

A mis padres quienes me dieron la oportunidad de venir a este mundo y desde ese momento se han dedicado en cuerpo y alma a mí. Este trabajo es de ustedes en él se refleja mi esfuerzo y dedicación, tal vez sea poco en comparación de todo lo que ustedes me han dado. Los quiero mucho.

A mis hermanos Eddy J.P. y Cristian por darme tanta alegría y cariño. Ellos son uno de los motivos por el cual mi esfuerzo aumenta cada día más.

A mi tío Armando quien siempre ha estado pendiente y me ha apoyado en todo

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme dado sabiduría y salud para lograr mis objetivos, le doy gracias por estar conmigo en todo momento y permitirme concluir satisfactoriamente este trabajo.

A la Universidad Mayor de San Andrés por darme la oportunidad de ingresar y realizar uno de mis mayores sueños, el concluir mis estudios, brindándome una excelente formación profesional y con una amplia gama de conocimiento.

A la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Agronomía por abrirme las puertas de sus instalaciones y formar parte de ellas, ofreciéndome aulas y laboratorios donde pude adquirir cada uno de los conocimientos que me hicieron ser una mejor persona dentro del ámbito profesional, guiándome por el camino correcto.

A todos los Docentes a quienes admiro y respeto, por haberme instruido en mis materias, gracias por todo su apoyo incondicional a lo largo de estos 5 años de estudio, los cuales me enseñaron el compromiso y la importancia de ser un Ing. Agrónomo.

Agradezco a mi asesor Ing. Luis Goitia quien colaboro con su experiencia y apoyo para realizar esta tesis.

A los revisores: Dr. Abul Kalam, Ing. Felix Rojas y al Ing. Windson July. Por los consejos, comentarios y sugerencias para mejorar esta tesis.

A mis papas por todo su esfuerzo, esmero y dedicación, con el único afán de que cada día sea una mejor persona y logre cada uno de mis sueños.

A mis amigos quienes de alguna forma colaboraron con este trabajo, en especial a Heydi, Fernando y Braulio por su ayuda incondicional.

Muchas Gracias.

INDICÉ GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	2
1.2. Justificación.....	3
2. OBJETIVOS.....	4
2.1. Objetivo General.....	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
2.3 Hipótesis.....	4
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Distribución y ecología.....	5
3.2 Clasificación taxonómica.....	6
3.3 Descripción botánica.....	7
3.4 Plagas y enfermedades.....	8
3.5 Aspectos silviculturales.....	8
3.6 Características de la madera.....	9
3.7 Micorrizas.....	10
3.8 Clasificación de micorrizas.....	11
3.8.1 Endomicorrizas o micorriza Vesiculo-Arbusculares (VAM).....	11
3.8.2 Ectomicorrizas.....	13
3.9 Beneficios de la simbiosis micorrízica.....	14
3.10 Métodos de inoculación en viveros.....	15
3.10.1 Con suelo de bosque o suelo micorrizado.....	15
3.10.2 Con suelo proveniente de las bolsas.....	16
3.10.3. Con suelo proveniente de las platabandas.....	16
3.10.4 Con plantas bien micorrizadas.....	16

3.10.5 Con cuerpos fructíferos de hongos micorrizogenos	17
3.10.6 Con inoculante preparado en laboratorio	18
3.11 Micorrización en las plantas.....	19
3.11.1 Verificación de ectomicorrizas.....	20
3.12 Factores que afectan el desarrollo micorrizico	21
3.12.1 Desarrollo de raíces.....	21
3.12.2 Fertilización.....	21
3.12.3 Riego	22
3.12.4 Sustrato	22
3.12.5 Temperatura	23
3.12.6 Plaguicidas	23
3.13 Hongo de los pinos	24
3.13.1 Descripción taxonómica	24
3.13.2 Descripción macroscópica	25
3.13.3 Ecología.....	26
3.14 Sustrato	26
3.15 Características del sustrato.....	26
3.15.1 Tierra agrícola.....	26
3.15.2 Arena	27
3.15.3 Tierra negra	27
3.15.4 Turba	27
3.15.5 Mezcla del sustrato	27
4. LOCALIZACIÓN	28
4.1. Ubicación geográfica	28
4.2. Características de la zona de estudio	29
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30

5.1. Materiales	30
5.1.1 Material biológico	30
5.1.1.1 Semilla	30
5.1.1.2 Suelo micorrizado	31
5.1.2 Materiales de laboratorio.....	32
5.1.3 Equipos.....	32
5.1.4 Materiales de campo.....	32
5.1.5 Materiales de gabinete.....	33
5.2. Metodología	33
5.2.1 Procedimiento experimental.....	33
5.2.2 Diseño experimental	33
5.2.2.1 Tratamientos	34
5.2.3. Modelo lineal.....	34
5.2.3.1 Croquis de experimento	35
5.2.4 Inoculación de micorrizas con suelo de bosque	35
5.2.5 Análisis micológico del suelo micorrizado	35
5.2.6 Análisis de calidad de la semilla.....	38
5.2.6.1 Porcentaje de germinación.....	38
5.2.6.2 Porcentaje de pureza	38
5.2.6.3 Porcentaje de Humedad	39
5.2.6.4 Número de semillas por kilogramo	39
5.2.7 Preparación del sustrato	40
5.2.8 Siembra	41
5.3 Variables de respuesta	42
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	43
6.1. Características climáticas	43

6.1.1 Precipitación	43
6.1.2 Temperatura	44
6.2 Análisis de calidad de semillas.....	44
6.2.1 Porcentaje de germinación	44
6.2.2 Porcentaje de Pureza, Número de semillas / kilogramo y % Humedad	45
6.3 Análisis del suelo micorrizado	46
6.3.1 Suelo del bosque de pinos.....	46
6.3.2 Análisis del suelo de los tratamientos	46
6.4 Altura de planta.....	48
6.5 Diámetro del tallo	51
6.6 Longitud de la raíz principal	55
6.7 Peso Húmedo de la raíz.....	55
6.8 Peso húmedo de la parte aérea.....	56
6.9 Peso seco de la raíz	60
6.10 Peso seco de la parte aérea	64
7. CONCLUSIONES	67
8. RECOMENDACIONES	69
9. BIBLIOGRAFIA.....	70

INDICÉ DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de <i>P. radiata</i>	7
Figura 2. Características botánicas del <i>P. radiata</i>	8
Figura 3. Relación entre un hongo y una raíz de una planta huésped para formar una asociación micorrízica.....	11
Figura 4. Endomicorriza.....	12
Figura 5. Ectomicorriza.	14
Figura 6. Beneficios de un pino micorrizado	15
Figura 7. Métodos de aplicación para la asociación de raíces con el hongo micorrizico ...	19
Figura 8. Ectomicorriza <i>Martellia medlockii</i> en <i>Pinus contorta</i>	21
Figura 9. Hongo de los pinos	25
Figura 10. Ubicación de la zona de estudio	28
Figura 11. Semillas de <i>Pinus radiata</i>	30
Figura 12. Características para la extracción del suelo micorrizado.....	31
Figura 13. Extracción del suelo micorrizado.....	32
Figura 14. Croquis del experimento	35
Figura 15. Análisis micológico del suelo	37
Figura 16. Germinación de <i>Pinus radiata</i>	38
Figura 17. Semilla pura de pino radiata	39
Figura 18. Muestras para realizar el contenido de humedad.....	39
Figura 19. Número de semillas / kilogramo	40
Figura 20. Preparación del sustrato	41
Figura 21. Remojo de las semillas de pino.....	41
Figura 22. Variables de respuesta	42
Figura 23. Colonias de hongos	46
Figura 24. Hongos ectomirrizicos en el suelo	47

INDICÉ DE TABLAS

Tabla 1. Norma a seguir para la germinación del <i>Pinus radiata</i>	38
Tabla 2. Resultados del % G	45
Tabla 3. Número de colonias de hongos.....	46
Tabla 4. Análisis de varianza altura de planta.....	48
Tabla 5. Altura de planta, prueba Duncan para el factor B.....	49
Tabla 6. Altura total de planta para la interacción sustratos con niveles de suelo micorrizado.	50
Tabla 7. Análisis de varianza de efectos simples para la altura de planta	50
Tabla 8. Análisis de varianza diámetro de tallo	52
Tabla 9. Prueba Duncan para determinar el mejor sustrato para el diámetro de tallo	52
Tabla 10. Totales de diámetro (mm) para la interacción sustratos con niveles de suelo micorrizado.	53
Tabla 11. Análisis de varianza de efectos simples para el diámetro de tallo	54
Tabla 12. Análisis de varianza para la longitud de raíz	55
Tabla 13. Análisis de varianza para el peso húmedo de la raíz.....	56
Tabla 14. Análisis de varianza para el peso húmedo de la parte aérea	57
Tabla 15. Totales del peso húmedo de la parte aérea para la interacción de los factores..	57
Tabla 16. Análisis de efectos simples para la interacción sustratos entre niveles de suelo micorrizado para el peso húmedo de la parte aérea.	58
Tabla 17. Análisis de varianza para el peso seco de la raíz.....	60
Tabla 18. Prueba Duncan para el peso seco de la raíz.....	61
Tabla 19 Totales del peso seco de la raíz para la interacción de los factores	62
Tabla 20. Análisis de efectos simples para la variable peso seco de la raíz.....	62
Tabla 21. Análisis de varianza para el peso seco de la parte aérea.....	64
Tabla 22. Totales del peso seco de la parte aérea para la interacción de los factores.....	65
Tabla 23. Análisis de efectos simples para el peso seco de la parte aérea	65

INDICÉ DE GRÁFICOS

Grafico1. Distribución de la precipitación	43
Gráfico 2. Distribución de la temperatura	44
Grafico 3. Análisis de calidad de la semilla	45
Grafico 4. Número de colonias para cada tratamiento	47
Gráfico 5. Altura de plantas micorrizadas comparadas con el control	49
Grafico 6. Efecto de la interacción del sustrato con los diferentes niveles de suelo micorrizado para la altura de planta	51
Grafico 7. Diámetro del tallo de las plantas micorrizadas comparadas con el control	53
Grafico 8. Efecto de la interaccion para el diámetro de tallo.....	54
Grafico 9. Efecto de la interacción de los sustratos con los niveles de suelo micorrizado, para el peso húmedo de la parte aérea.....	59
Grafica 10. Peso húmedo de la parte aérea de las plantas micorrizadas comparadas con el control.....	60
Gráfico 11. Efecto de la interacción de los sustratos con los niveles de suelo micorrizado, para el peso seco de la raíz	63
Grafico 12. Peso seco de la raíz de las plantas micorrizadas comparadas con el control. ..	63
Grafico 13. Efecto de la interacción de los niveles de suelo micorrizado con los sustratos para el peso seco de la parte aérea.....	66
Grafica 14. Peso seco de la parte aérea de las plantas micorrizadas comparadas con el control.....	66

INDICÉ DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades de la madera	9
Cuadro 2. Características de la semilla.....	30
Cuadro 3. Tratamientos	34

RESUMEN

En la mayoría de los países latinoamericanos, el problema de la deforestación es cada vez mayor, por lo que se ve necesario incrementar los esfuerzos para contrarrestar esta situación. Una de las técnicas que se están utilizando para solucionar este problema es el uso de hongos micorrícicos para el mejoramiento de las plantas con las que se reforestará. Esta técnica se conoce como micorrización, la cual consiste en lograr la unión entre diversas especies de hongos y el sistema radicular de las plantas. En esta relación simbiótica el hongo se beneficia al obtener alimento y cobijo en la planta y esta se beneficia al obtener mayor cantidad de nutrientes provenientes del suelo, que le proporciona el hongo infectante.

El propósito de este trabajo fue evaluar la respuesta del pino radiata frente a la aplicación de diferentes niveles de suelo micorrizado y dos tipos de sustrato para la etapa de vivero.

Para poder realizar la micorrización en las plántulas de pino, se escogió el método de inoculación por medio del suelo del bosque donde se utilizaron cuatro niveles b1, b2, b3 y b4 con 0, $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$ partes respectivamente y dos sustratos (1 Arena, 1 Turba, 1 Tierra del lugar) y (1 arena, 2 turba, 1 tierra del lugar). Para la investigación se utilizó un diseño completamente al azar factorial (dos factores de estudio), teniendo ocho tratamientos con cuatro repeticiones, los resultados obtenidos fueron realizados mediante un análisis de varianza, prueba Duncan, 0.05 y para comprobar la interacción se realizó un análisis de efectos simples. Los parámetros evaluados fueron altura, diámetro de tallo, longitud de raíz, peso fresco de la raíz y de la parte aérea, peso seco de la raíz y parte aérea.

Según los resultados obtenidos se mostraron significancia para algunas variables de respuesta donde se mostró que los niveles de suelo micorrizado b3 y b4 permiten obtener mejores resultados en la altura, peso seco de la raíz y peso seco de la parte aérea. Así mismo se vio que los significancia en la interacción para los niveles de suelo micorrizados y los sustratos.

Al comparar las plantas micorrizadas frente al control mostraron tener valores altos frente a aquellas que no contenían el inoculo, mostrando así que las micorrizas tienen un efecto en las plantines de pino.

Summary

In most Latin American countries, the problem of deforestation is increasing, so it is necessary to increase efforts to counter this. One of the techniques that are being used to solve this problem is the use of mycorrhizal fungi for improving plant you will be reforested. This technique is known as mycorrhizae, which is to achieve union between different species of fungi and the root system of the plants. In this symbiotic relationship, the fungus benefits by obtaining food and shelter on the ground and this is beneficial to get more nutrients from the soil, which gives you the infecting fungus. The purpose of this study was to evaluate the response of radiata pine over the application of different levels of soil mycorrhiza and two types of substrate for the nursery stage. To perform mycorrhization in pine seedlings, inoculation method was chosen by the forest floor where four were used to level b1, b2, b3 and b4 0, ½, 1, 1½ parts respectively and two substrates (1 Sand, 1 Turba, 1 soil the place) and (1 sand, 2 turba, 1 soil the place). Design was used completely factorial randomized (two-factor study) for research, taking eight treatments with four replications, the results were performed by analysis of variance, Duncan test, 0.05 to test the interaction analysis was performed simple effects. The parameters evaluated were height, stem diameter, root length, fresh weight of root and aerial part dry weight of roots and aerial parts. According to the results significant for some response variables where it was shown that levels of soil mycorrhiza b3 and b4 it possible to obtain better results in high, dry root weight and dry weight of aerial parts were. Also it was seen that the significance in the interaction for levels of mycorrhizal soil and substrates.

When comparing mycorrhizal plants compared to the control were shown to have high values versus those containing no inoculum, showing that mycorrhizae have an effect on pine seedlings.

1. INTRODUCCIÓN

Los pinos tienen gran importancia ecológica, económica y social en todo el mundo, siendo un componente que influye en los procesos funcionales del ecosistema prestando servicios ambientales (agua, oxígeno, recreación, captura de carbono), además de ser un hábitat, es fuente de alimento para la fauna silvestre, tienen un valor económico, ya que son fuente de madera, leña, pulpa, resina, semillas y otros productos (Ramírez *et al.*, 2005, citado por Gómez, 2013).

Varias plantas forestales se han adaptado a condiciones de deficiencia de nutrientes y toxicidad utilizando diferentes estrategias, como la asociación con otros organismos, como con las micorrizas, el cual es una simbiosis entre hongos del suelo y las raíces. Estos hongos han coevolucionado con las plantas a tal grado que un grupo de ellos (los vesículo arbusculares), no pueden completar su ciclo de vida sin la asociación con las plantas, mientras que otras especies de hongos formadores de ectomicorrizas solo pueden formar asociación con una sola especie de planta. Por otro lado, aun en condiciones de alta fertilidad del suelo, muchas especies de plantas no crecen normalmente sin la asociación con estos hongos (Salas, 2004)

Existen diferentes tipos de micorrizas, pero dos tipos sobresalen: la endomicorriza en la cual las hifas especializadas de los hongos penetran la corteza de la raíz; el otro tipo de asociación es la ectomicorriza, llamada así porque el hongo crece alrededor de la raíz, se caracterizan por la presencia de un manto de hifas que recubre las puntas de las raíces más finas y una red de hifas entre las células epidérmicas o corticales conocida como red de Hartig, una de sus características es presentar cuerpos fructíferos (Gómez, 2013).

Martínez (2009), menciona que la raíz micorrizada tiene ventajas sobre la raíz sin micorriza, debido a que el micelio externo del hongo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales e introducen a la planta agua y minerales presentes en el suelo como el N, P, K, Ca, S, Zn, Cu, etc. en su sistema vascular también estimula sustancias reguladoras de crecimiento, protege la raíz de la planta de ciertos patógenos, aumentan la tolerancia a la sequía y a posibles elementos tóxicos presentes en el suelo como aluminio y manganeso.

Es de destacar que existen varias especies de hongos generadores de ectomicorrizas, que son a su vez productores de setas comestibles, las cuales representan una importante fuente de ingresos de muchas áreas, generalmente marginales. De datos obtenidos en trabajos realizados en esta temática se puede destacar que la producción de hongos puede aportar una mayor rentabilidad de las plantaciones de *Pinus radiata*, pudiendo decir que con la colecta de hongos, la productividad de un bosque de pino se puede incrementar en un 30% cuando en este se encuentran algunos hongos comestibles como *Boletus edulis*, otorgando una mayor atracción en la inversión en forestación y un mayor beneficio social. (Dans *et al*, 1999).

1.1. Antecedentes

Las micorrizas son aliados de las plantas ya que estos pueden ayudar a la superación de situaciones críticas debido al estrés hídrico, carencias nutricionales alteraciones en la estructura y desequilibrio del suelo. Además que puede ayudar a que las plantas trasplantadas a lugar definitivo puedan tener mayor probabilidad de sobrevivencia, llevándonos al éxito o fracaso de la forestación o reforestación.

La inoculación de árboles de importancia forestal con hongos micorrízicos representa una importante herramienta en la producción de plantas en vivero. Según Carrera y López (2004), mencionan que la obtención de resultados positivos de micorrización para las especies fúngicas ectomicorrízicas evaluadas confirma la compatibilidad de las mismas para la formación de ectomicorrizas con *Pinus greggii* y *Pinus patula*, así como la efectividad de la técnica aplicada.

Se ha demostrado que las especies forestales cuyas raíces no son micorrizadas, no pueden sobrevivir en los suelos en los cuales no se presenta una población natural de hongos. La relación simbiótica permite entonces a las plantas invadir localidades pobres o degradadas y, a su vez mejorar la capacidad de estas para sustentar otras plantas que demandan más en su crecimiento (Zalles, 1988).

Según el Servicio Forestal, Caza y Pesca español (2004) “se ha llegado a la conclusión de que la inoculación de hongos debe ser una práctica habitual en cualquier vivero, comercial o no, como factor de calidad de las producciones y como

elemento corrector de desequilibrios producidos por inadecuadas prácticas culturales, teniendo en cuenta siempre que la especie fúngica a utilizar sea adecuada para el destino definitivo de las plantas”.

1.2. Justificación

Se ha visto que la aplicación de micorrizas ayuda en gran manera al crecimiento y desarrollo de las plantas por lo que es pertinente realizar estudios que permitan conocer de qué forma las micorrizas pueden favorecer al *Pinus radiata*.

Las micorrizas proporcionan muchos beneficios a las plántulas y a los árboles adultos, especialmente en la obtención del agua y los nutrientes. Por lo que es necesario investigar el grado de dependencia de las micorrizas con los plantines en el período antes de llevarlos a lugar definitivo.

La inoculación con suelo micorrizado en los plantines de pinos de vivero, puede inducir un mayor incremento de las raíces producto de la simbiosis con el hongo, lo cual puede servir para obtener beneficios en cuanto al crecimiento y desarrollo en períodos adversos y de mayor vulnerabilidad; brinda además, protección a la planta, debido al incremento de la absorción de agua y nutrientes del suelo debido a la actividad simbiótica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Evaluar la respuesta del *Pinus radiata* a la aplicación de diferentes niveles de suelo micorrizado y dos tipos de sustrato en etapa de vivero.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar el nivel de suelo micorrizado adecuado para la producción de plantines micorrizados de *Pinus radiata* en la fase de vivero.
- Comparar el efecto en el crecimiento de los plantines de *Pinus radiata* inoculados con micorrizas frente a los plántines sin inóculo.
- Explicar el efecto de la interacción del suelo micorrizado con los sustratos en el crecimiento y desarrollo de los plantines.

2.3 Hipótesis

Los diferentes niveles de suelo micorrizado y el tipo de sustrato no influyen en el proceso de crecimiento y desarrollo en las plántulas de *Pinus radiata*.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Distribución y ecología

Según Nina (1990) el pino es un árbol difundido en Bolivia y es preferido por las comunidades debido a su rápido crecimiento, las características de su madera y su versatilidad de adaptación a los diferentes ecosistemas.

País de origen: Se sitúa en Estados Unidos sobre las costas arenosas de California, con tres pequeños núcleos en Swanton, Cambria y Monterrey. Actualmente se halla difundido de forma artificial por el sur oeste de Europa, Nueva Zelanda, Chile, El Cabo y el sur oeste de Australia (Menéndez, J. 2009).

Se cultiva en Bolivia hasta 2800 msnm. y en Ecuador hasta 3700 m. de altitud. En Argentina se cultiva en Córdoba desde 600 m. a 1200 sobre el nivel del mar, en las exposiciones al este de las sierras del sur de la provincia (Nina, 1999).

Temperaturas: Este pino se adapta a climas templados en donde se registre temperaturas medias de 14 °C y mínimas absolutas de -7 grados centígrados.

Si bien es poco exigente, esta especie debe cultivarse en zonas con atmosferas de alta humedad relativa. No debe olvidarse que se trata de un árbol que crece naturalmente en una región marítima con escasa variación de temperatura, con verano poco cálido e invierno seco. Muy resistentes a los fríos, la temperatura mínima absoluta no debe ser inferior a -7 °C no tolera temperaturas elevadas siendo muy sensible a calores fuertes (Nina, 1999).

Precipitación: De 350 a 1000 mm, presentando ataques de hongos en zonas húmedas. La precipitación influye mucho en las condiciones vegetativas de este pino, si bien ha demostrado no ser muy exigente, requiere lluvias superiores a los 1000 mm anuales, con preferencia durante el invierno (Nina, 1999).

Suelo: Prefiere areno-arcilloso, profundos de 40 a 60 cm permeable. Además crece en cualquier tipo de suelos siempre que sean permeables aireados y bien drenados. En terrenos de secano prospera muy bien con riegos adecuados, a pesar de haber logrado como árbol de ornamento y como especie forestal de gran difusión. Las deficiencias de boro y zinc causan una reducción en la intensidad de crecimiento. En

Nueva Zelandia se mencionan doce variedades de micorriza y su presencia también ha sido notada en Chile, si bien no han sido identificadas todavía (Nina, 1999).

Los suelos que son ácidos o muy ácidos, la mayoría profundos, franco arenoso de buena permeabilidad, por lo menos hasta que se presenta la capa arcillosa característica de muchos de sus pinares. Se le da mucha importancia a la profundidad a la que se encuentra esta capa arcillosa, ya que ejerce un papel crítico en la existencia de este bosque en sitios secos. Dicha capa impide que el agua se infiltre lejos, manteniendo la humedad todo el año a disposición del árbol. La profundidad óptima para dicha capa se estima entre 50 cm y 85 cm, suficiente para el sistema radical superficial de este pino. En la superficie de dicha capa arcillosa, ligeramente penetrable por las raíces, se dan condiciones ideales de humedad y de pH para una buena proliferación de micorrizas que permiten al pino una buena captación de agua y nutrientes (Wikisilva, 2014).

En su área natural, una característica importante del suelo bajo este pinar es la gruesa capa de hojarasca y residuos orgánicos que acumula en su superficie, sobre todo en los mejores sitios. Puede alcanzar grosores entre 8 cm y 15 cm y puede retener varias veces su peso en agua. Su parte inferior, descompuesta, origina un rico humus en el que se desarrollan numerosas raicillas (Wikisilva, 2014).

3.2 Clasificación taxonómica

Rojas (1996), clasifica al pino insigne de la siguiente manera:

Reino	: Vegetal
División	: Spermatophyta
Subdivisión	: Gymnosperma
Clase	: Pinopsida
Orden	: Pinales
Familia	: Pinaceae
Nombre científico	: <i>Pinus radiata</i> D. Don.
Nombre común	: Pino, Pino insigne, Pino de Monterrey



Figura 1. Árbol de *P. radiata* (Fuente, propia)

3.3 Descripción botánica

Árbol: Alcanza de 25 a 30 m de alto, cuando joven tiene la forma de un candelabro, para ir adquiriendo una forma redonda con fuertes ramas.

En plantaciones forestales adquiere porte estrecho y ramas delgadas dirigidas hacia arriba. Tronco derecho, cilíndrico y de libre ramaje; corteza agrietada de color gris oscuro. En cuanto al crecimiento en Cochabamba, el Incremento Corriente Anual (ICA) es de 20 m³/ha/año, con un raleo del 50 % favorece al ICA en diámetro, área basal y volumen por árbol. El Incremento Medio Anual (IMA) en una altura para edades entre 6 a 23 años es de 0.93 a 1 m/año. El crecimiento medio en diámetro es aproximadamente de 0.8 centímetros (Nina, 1999).

Hojas: Reunidas en hacecillos de tres hojas de color verde claro cuando nuevas; con el tiempo se tornan de una tonalidad verde oscuro que se distingue muy bien del verde de los otros pinos.

Fruto: Son ovals cónicos de consistencia leñosa, de color amarillo castaño, reunidos en grupos de dos a cinco, sésiles o cortamente peciolados, con un pedúnculo corto, curvo y grueso de forma simétrica, grueso en la cabeza y en el medio adelgazados hacia la extremidad y curvos en la base; persisten en la planta durante varios años (Nina, 1999).

Semilla: De 6 a 9 mm de longitud por 4 a 6 mm de ancho con alas delgadas tres veces su largo; el tegumento presenta superficie áspera de color pardo. De 20000 a

35000 semillas/kg, con un 60% a 80% de poder germinativo, pudiéndose almacenar durante tres a cuatro años (Nina, 1999).



Figura 2. Características botánicas del *P. radiata* (Aguirre, 2013)

3.4 Plagas y enfermedades

En las zonas interandinas se han encontrado taladros en los brotes terminales, en Argentina se han descrito severos ataques de *Rhyacionia buoliana* en brotes terminales, y de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora citophthora* en los viveros, Chile y Brasil *Diploia pinea* (Nina, 1999).

3.5 Aspectos silviculturales

Según Nina (1999), para la siembra las semillas deben remojar durante cuatro días antes de la siembra o se coloca en cámaras frías durante cuatro semanas.

Vivero: El almacigo es al voleo y germina entre 12 a 28 días con un porcentaje final de 30% a 50% de plantas.

Plantación: Se plantan a distintos distanciamientos según la finalidad (2 x 2 m) cuando la planta tiene 25 cm de alto, de cinco meses de edad. La fecha de plantación es de noviembre a enero, los raleos tempranos son aconsejables a fin de mantener las plantaciones más sanas (Nina, 1999).

3.6 Características de la madera

El pino radiata tiene una madera versátil apta para diversos usos industriales. La madera del pino de Monterrey presenta un alto grado de homogeneidad y un buen comportamiento mecánico, a pesar de que el tamaño de su anillo de crecimiento sea superior a 6,5 mm de media. En las zonas de buen crecimiento se obtiene un alto porcentaje de madera de albura, de color claro, situada hacia el exterior. Es la que se requiere en los usos de mayor valor (Vinuela, 2013).

Tiene un bajo porcentaje de corteza referido al volumen total (14,5 % de media). La madera de pino insigne es muy fácil de trabajar y ofrece valores idóneos para la penetración de útiles cortantes, clavos y tornillos. Tiene una estabilidad aceptable ante la hinchazón y merma producida por la humedad. La duración natural de la madera es baja pero se puede tratar con facilidad (Fernández y Sarmiento, 2004).

PROPIEDADES DE LA MADERA	
Color	La albura es de color blanco, con transición gradual a duramen amarillo pálido, aumentando su intensidad a marrón muy pálido.
Veteado	Suave con líneas longitudinales oscuras.
Grano	Recto.
Textura	Fina.
Olor	Característico a madera resinosa, fragante cuando esta seca
Sabor	Ausente o no distintivo.
Brillo	Medio.

Durabilidad	No es resistente al ataque de hongos e insectos. Posee una duración en uso exterior de un año.
Trabajabilidad	Fácil trabajabilidad, defectos muy leves en el cepillado y moldeo. Secado fácil y lentamente, presentando deformaciones leves.

Cuadro 1. Propiedades de la madera (Vinueza, 2013).

3.7 Micorrizas

Las micorrizas (mico = hongo; rhiza = raíz) son asociaciones benéficas entre hongos no patógenos altamente especializados, que habitan en el suelo y que entran en simbiosis junto con las raíces secundarias de los árboles (Zalles, 1988).

La simbiosis es una forma de asociación entre dos seres vivos que resulta en provecho recíproco. Un ejemplo típico son: a) Los líquenes = algas + hongos. b) Nódulos o bacterias fijadoras de nitrógeno = raíces de las leguminosas + bacterias del género *Rhizobium*. c) Micorrizas = raíces secundarias + hongos.

Los hongos infectan simbióticamente las raíces secundarias y los pelos absorbentes de algunas especies de árboles, aprovechando de ellos el agua y los nutrientes y facilitando a ellos, simultáneamente los mismos (Zalles, 1988).

Existen diferentes tipos de micorrizas que se diferencian en base a su estructura y funcionamiento, así como por los hongos responsables de su formación. En la mayoría de ellas, el hongo coloniza las raíces y desarrolla una red de hifas externas o cordones de hifas, que se extienden a partir de la raíz e incrementan la superficie de contacto entre la planta y el suelo (Barea *et al.*, 2005 citado por Gómez 2013).

Este micelio externo actúa como un sistema radical complementario, de extraordinaria importancia para la adquisición de agua y nutrientes para la planta, sobre todo fósforo y nitrógeno del suelo, que son los elementos más importantes y difíciles de asimilar, pero también se ha confirmado que elementos como el potasio, calcio, azufre, zinc, cobre, etc., son absorbidos por las células fúngicas y trasladados a la planta simbiote. Asimismo, la producción de fitohormonas; ácido indolbutírico (AIB) y ácido indol-3-acético (AIA), para beneficio de la planta y ofrece cierta protección frente a patógenos del suelo, por otra parte, este tipo de hongos mejoran la estructura de los suelos (Gómez, 2013).

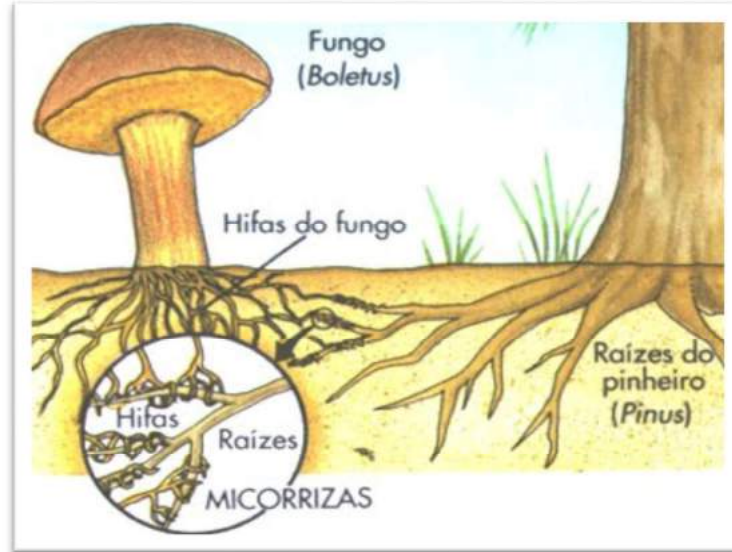


Figura 3. Relación entre un hongo y una raíz de una planta huésped para formar una asociación micorrízica (Rodríguez y Olivares, 2008).

3.8 Clasificación de micorrizas

Son varios los tipos de micorrizas que se distinguen, actualmente todos ellos basados en las características de la infección y en los organismos mutualistas que la establecen Harley y Smith (1987), reconocen hasta siete tipos, pero a efectos prácticos se clasifican en dos grandes tipos de micorrizas que se basa en la interrelación de los filamentos del hongo con las células de las raíces: en ectomicorrizas y endomicorrizas (Reyes, 2004).

3.8.1 Endomicorrizas o micorriza Vesículo-Arbusculares (VAM)

Zalles (1988), señala que las hifas de este tipo de hongo penetran al interior de las células corticales, de ahí su nombre endomicorrizas (por adentro). Este tipo de hongo no presenta manto miceliar y además carece de cuerpos de fructificación visibles en el suelo. La determinación de la presencia de endomicorrizas es difícil sin la ayuda de un microscopio. Estas ocurren en raíces de *Acer*, *Platanus*, *Fraxinus*, *Cupresus*, *Populus* y *Junglans*.

Este tipo presenta vesículas, estructuras en forma de balón, usualmente compuesto de lípidos que almacenan energía. Así mismo, tienen otra estructura los arbusculos

que se encuentran finamente ramificadas, son intracelulares de vida corta debido a que se desintegran en el suelo cuando muere la raíz, estos arbusculos sirven para el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta huésped. las micorrizas VAM forman esporas relativamente grandes de 30 a 900 μm de diámetro, solitarias o en grupos sobre el suelo, debido a su tamaño y ubicación, estas esporas no pueden ser diseminadas por el viento como la mayoría de las pequeñas esporas de los hongos ectomicorrizógenos, por ello su desplazamiento es principalmente mediante procesos de movimiento del suelo; pequeños insectos y animales que también pueden comérselas y diseminar las esporas a través de sus heces (Castellano y Molina 1989).

Aparecen en plantas de interés agrícola como ser en; trigo, maíz, legumbres, verduras, naranjos, manzanos, ciruelos, plataneras, tomillos, romeros, etc. (Castellano y Molina 1989).

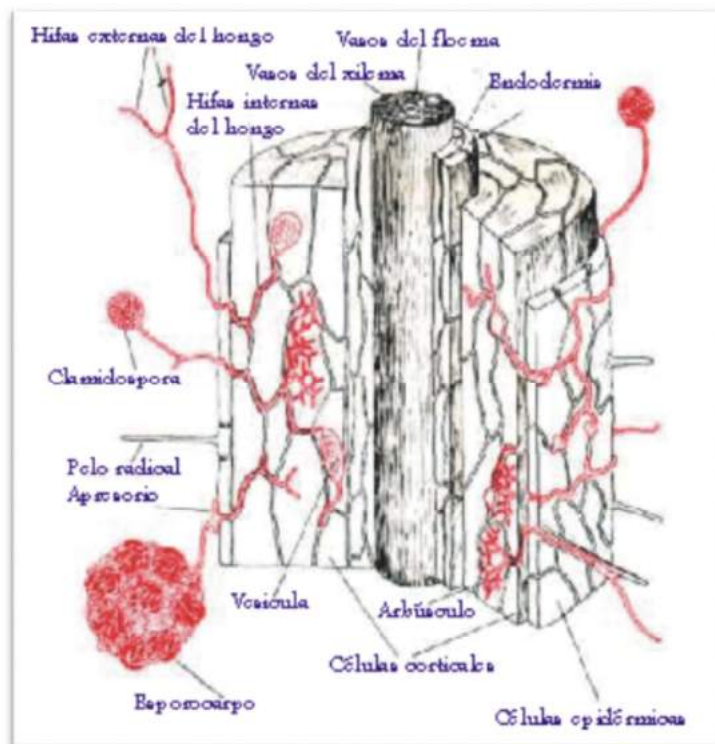


Figura 4. Endomicorriza. (Vacacela, sf)

3.8.2 Ectomicorrizas

Las ectomicorrizas se forman después que las esporas o filamentos del hongo entran en contacto e invaden las raíces absorbentes en crecimiento activo. La fuente de las esporas son los hongos que crecen en el suelo al pie de los árboles (Reyes, 2004).

En las Ectomicorrizas las hifas del micelio del hongo no penetran en las células de la planta sino que originan una envoltura que rodea las raíces del cual salen algunas hifas que se introducen entre las células de la raíz (Red de Hartig). El hongo presenta un micelio septado hasta formar la micorriza (Reyes, 2004).

Rodean con una densa capa de micelios, las partes más finas de la raíces, hasta envolverlas por completo, incluso por el ápice vegetativo de la misma raíz. Son principalmente los Basidiomicetos los hongos que establecen ectomicorrizas. En estas asociaciones hay poca especificidad del hongo con el huésped. Aparecen en pinos, robles sauces y nogales (Reyes, 2004).

Las ectomicorrizas se desarrollan en las raíces cortas y activas en vez de las raíces laterales estructurales, largas y de consistencia leñosa. En efecto una vez que la raíz desarrolla un meristemo lateral y se inicia la formación de tejido leñoso, las micorrizas pueden no seguirse formando (Reyes, 2004).

Las ectomicorrizas pueden ser fácilmente reconocidas por la característica cubierta fúngica o manto que envuelve a las raíces activas; a menudo el micelio fúngico, o crecimiento de moho en forma de fibra, puede ser visto emergiendo directamente del manto y colonizando el suelo o el sustrato de enraizamiento (Castellano y Molina 1989).

Cuando una ectomicorriza es seccionada y su anatomía interna es examinada bajo el microscopio, es posible ver la segunda característica principal de las ectomicorrizas: el crecimiento intercelular del hongo entre las células epidérmicas y corticales, que forma la red de Hartig (Figura 5), En el interior de esta extensiva zona de contacto entre hongo y células radicales, es donde se realiza el intercambio de los nutrientes y el agua entre el hongo y el hospedante; el hongo trae y libera los nutrientes y el agua hacia su hospedante, recibiendo a cambio azúcares y otros productos de la

fotosíntesis generados por la planta. Los hongos que forman las ectomicorrizas son principalmente los Basidomicetes y los Ascomicetes (Castellano y Molina 1989).

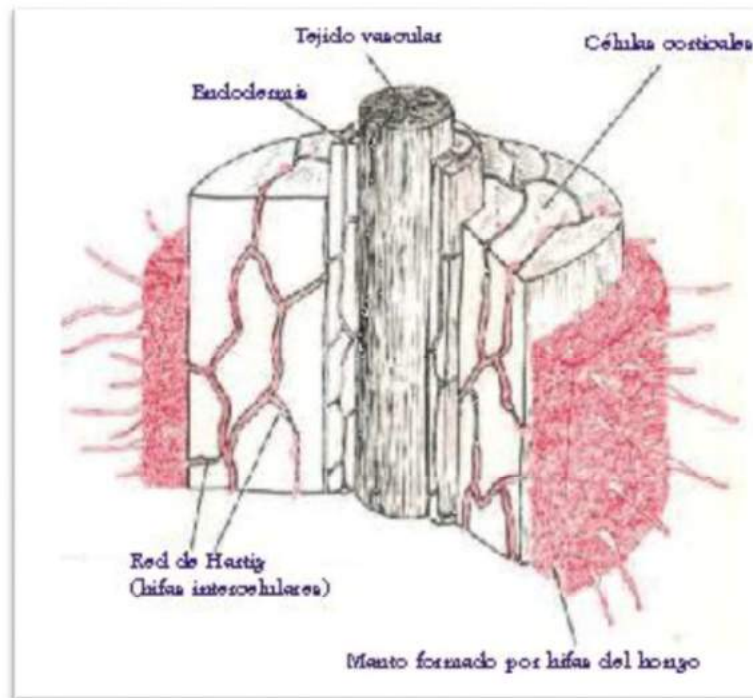


Figura 5. Ectomicorriza. (Vacacela, sf)

3.9 Beneficios de la simbiosis micorrízica

Los beneficios de la asociación simbiótica que se obtienen entre la planta y el hongo son muchos. La función principal, es que la planta va a suministrarle la fuente de carbohidratos, derivado de la fotosíntesis y un nicho ecológico. Mientras el hongo por su parte, le imparte otros beneficios como son: absorber agua y nutrientes minerales, especialmente el fósforo, nitrógeno, potasio, calcio, magnesio, zinc y cobre, absorbidos de la solución del suelo por medio de las hifas, mejora la agregación del suelo, incrementa la tasa fotosintética, reduce la proporción raíz: desarrolla la parte aérea, aumenta la actividad microbiológica del suelo y la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas, aumenta la resistencia a plagas, estrés ambiental y son los mediadores de muchas de las acciones e interacciones de la micro flora y micro fauna que ocurren alrededor de las raíces (Gómez, 2013).

De esta forma, la planta es capaz de fotosintetizar más deprisa y su producción de biomasa aumenta de forma considerable. Además, de los beneficios nutricionales,

también produce diversas hormonas como auxinas, citoquininas y otros compuestos, que influyen positivamente en el desarrollo de las plantas (Gómez, 2013).

También existen otros mecanismos benéficos donde las micorrizas protegen la raíz de la planta de ciertos patógenos existentes en el suelo, produciendo algunos compuestos fungistáticos y antibióticos que pueden eliminar el patógeno. Otra función de gran relevancia de las micorrizas es tener una mayor tolerancia a condiciones adversas como sequías o heladas (Blanco y Salas 1997, citado por Gómez, 2013).

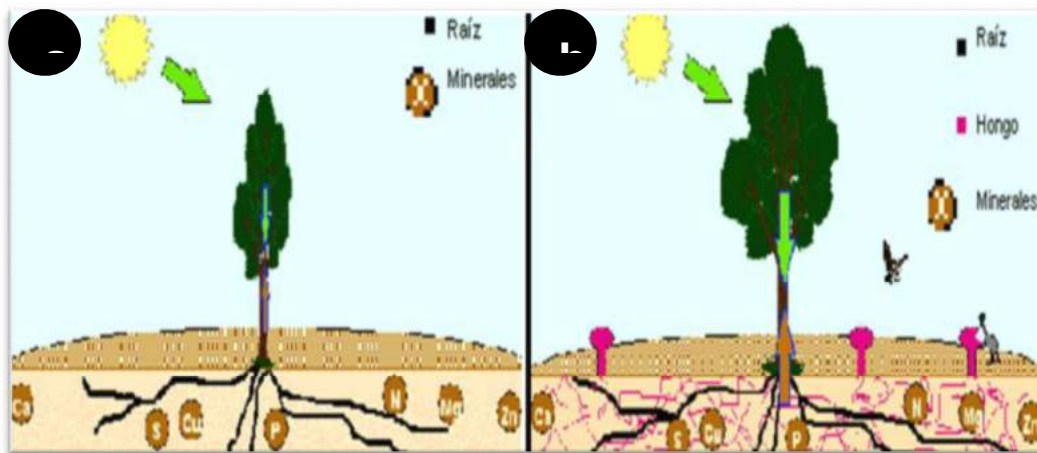


Figura 6. Beneficios de un pino micorrizado; a) no micorrizado, b) micorrizado (Castellano y Molina 1989)

3.10 Métodos de inoculación en viveros

Para Vásquez (s.f.), los viveros necesitan de micorrización, para tal fin se describen los métodos utilizados:

3.10.1 Con suelo de bosque o suelo micorrizado

Consiste en extraer la tierra de la parte superficial de un rodal o bosque de la misma especie que estamos produciendo en vivero: en esta tierra habrán cuerpos fructíferos. Micelios, esporas de hongos micorríticos, raicillas micorrizadas, las que lógicamente sirven de inóculo. Esta tierra estando en vivero, se debe mezclar con el sustrato de repique (que se utiliza para llenar las bolsas), cuidando que no se seque

demasiado. La proporción será 10 partes de sustrato de repique, para una parte de suelo de bosque (Vásquez, s.f.).

Para inocular las platabandas para producción a raíz desnuda, se mezcla el suelo de bosque con la tierra de la superficie de la platabanda, cuidando que el suelo de bosque no se quede expuesto al sol; una vez micorrizadas las platabandas, ya no será necesario repetir la inoculación en campañas posteriores (Vásquez, s.f.).

3.10.2 Con suelo proveniente de las bolsas

El suelo proveniente de la bolsa donde ha crecido una buena planta sin duda está llena de micelios de hongos micorrizogenos, esta tierra la mezclamos con el sustrato de repique que sirve para llenar las bolsas, utilizando las mismas proporciones del método anterior (Vásquez, s.f.).

3.10.3. Con suelo proveniente de las platabandas

A las platabandas se las inocula una sola vez, luego el suelo está bien micorrizado y vivo en micelio de hongos benéficos. Por tanto se utiliza la tierra de las platabandas para inocular el sustrato de repique y las platabandas de un vivero nuevo (Vásquez, s.f.).

3.10.4 Con plantas bien micorrizadas

Se utilizan de preferencia para micorrizar viveros donde se producirán plantones a raíz desnuda.

Consiste en plantar plantones bien micorrizados en la hilera central y a lo largo de toda la platabanda, a distancias de 1 a 2 m.; las plántulas se repican en sus respectivas líneas alrededor de las plantas grandes, ya que sin duda éstas poseen gran cantidad de micorrizas; por esta razón se desarrollan rápidamente, proliferando sus raíces y como consecuencia se multiplican los micelios de los hongos (Vásquez, s.f.).

De esta manera los plantones grandes micorrizan a los plantones pequeños, quedando los hongos en el suelo, micorrizando el vivero. Terminada la campaña de producción, se extraen las plantas grandes que fueron colocadas en línea central,

cuidando que sus raicillas queden en el vivero; de esta manera se mejora la eficiencia de la inoculación (Vásquez, s.f.).

3.10.5 Con cuerpos fructíferos de hongos micorrizogenos

Generalmente en época de lluvias se desarrollan en el bosque los cuerpos fructíferos o carpóforos de hongos micorrizicos. Se recolectan estos hongos micorrizicos y se ponen a secar bajo sombra a temperaturas no mayores de 30 °C, una vez secos se tritura o muele aplicándolos al substrato de repique como si se tratara de un fertilizante: se debe cuidar que los pedacitos de hongos no queden en la superficie (Vásquez, s.f.).

Algunas especies de *Boletus* deben ser tratadas tomando ciertas precauciones debido a que se descomponen rápidamente, para dicho fin se elimina la piel que cubre el sombrerito, se pone a secar al medio ambiente y bajo techo (nunca en estufas); luego se los tritura muy fácilmente (Vásquez, s.f.).

Esta forma de inoculación con cuerpos fructíferos y esporas es muy práctica y positiva ya que se agrega al suelo hongos seleccionados y puros. Si los cuerpos fructíferos no son aplicados inmediatamente se los guarda en bolsas plásticas debidamente cerradas, y la solución de esporas en frascos, que se guardan en un refrigerador a 4 – 5 grados centígrados (Vásquez, s.f.).

Las esporas o cuerpos de fructificación macerados de algunos hongos macromicetes, sclerodermatales y trufas (y falsas trufas) ectomicorrízicas, proporcionan buen inoculó. Las trufas (Ascomicetes) y las falsas trufas (Basidiomicetes), referidas ambas como trufas de ahora en adelante, resultan excelentes para esto, dado que sus cuerpos reproductores principalmente de tejido que sostiene esporas y sus cuerpos de fructificación pueden ser bastante grandes (Vásquez, s.f.).

Para preparar la inoculación por esporas, los cuerpos reproductores recién recolectados son enjuagados con agua corriente para remover el suelo adherido o la materia orgánica, posteriormente se cortan en pequeños trozos (de 1 a 3 cm) y finalmente se agrega agua potable a presión por un espacio de 2 a 3 minutos, hasta que las partes queden completamente licuadas. La consistencia final es similar a la

malteada de chocolate espesa Se ha encontrado que no es necesario purificar la suspensión ya que se encuentran microorganismos benéficos tanto dentro como en el exterior de los cuerpos reproductores maduros de varios hongos ectomicorrízicos. Debe de fomentarse este tipo de organismos y no excluirlos. Las concentraciones de esporas dentro de la suspensión resultante son determinadas mediante un hemacitómetro (contador de células sanguíneas) y es almacenada bajo refrigeración en completa oscuridad hasta que vaya a ser usada. Se recomienda utilizar esporas frescas siempre que sea posible Las esporas son aplicadas luego de la siembra, ya sea mediante una regadera común o a través del sistema de riego (Castellano y Molina, 1989).

3.10.6 Con inoculante preparado en laboratorio

Es el medio más científico, aunque el más costoso; permite agregar al suelo hongos específicos, de comprobada eficiencia y completamente puros. El personal especializado de un laboratorio aísla al hongo a partir de cuerpos fructíferos de los hongos o a partir de raicillas micorrizadas. Para ello utiliza técnicas especiales en caldos de cultivos enriquecidos con nutrientes, vitaminas, azúcares, etc. Una vez aislado el hongo en cajas petri, es colocado en sustratos especiales, dentro de frascos u otros recipientes apropiados donde se desarrolla (Vásquez, s.f.).

La aplicación del inoculante se puede hacer directamente al hoyo que se practique en la bolsa en cantidad que oscile entre 0,5, 1 ó 2 gr.; o bien este inoculante se mezcla con el sustrato de repique, se tendrá cuidado que los rayos solares no sean tan fuertes porque destruyen los micelios del hongo, por lo que es preferible realizar esta operación en día nublado, o bien mezclar el inoculante con el sustrato de repique en un ambiente libre de luz intensa (Vásquez, s.f.).

El micelio vegetativo que se ha desarrollado dentro del frasco se incorpora al sustrato de repique, mezclando como si se tratara de un fertilizante; se entierra colocando unos granitos del sustrato junto a la raíz de la plantita (en bolsa o a raíz desnuda); la colocación se realiza enterrando en las interlineas de la platabanda a raíz desnuda, como si se tratara de fertilizante, finalmente mezclando en la tierra sirve para tapar el hoyo que se abre para repicar la plántula (Vásquez, s.f.).

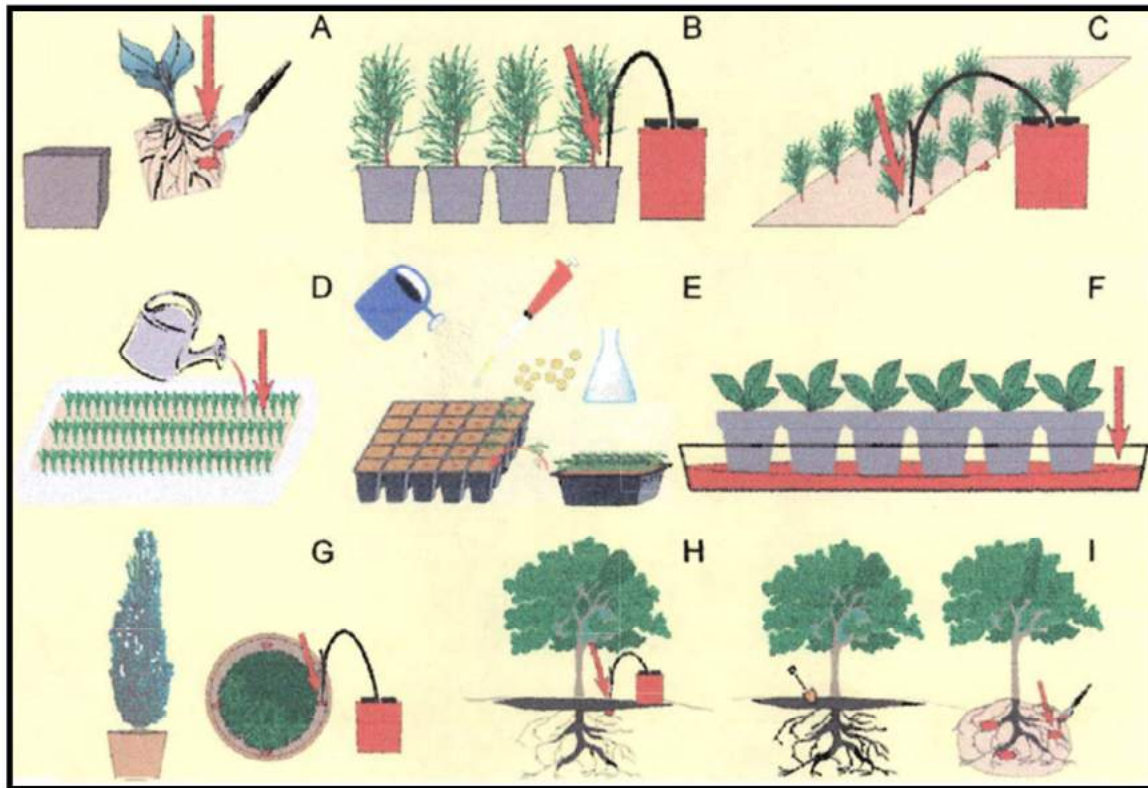


Figura 7. Métodos de aplicación para la asociación de raíces con el hongo micorrizico

- A.-Inoculación directa a las raíces de cada contenedor.
- B.-Inoculación por inyección en cada contenedor mediante bombas de aspersión.
- C.-Inoculación por inyección directa al suelo a cada plántula.
- D.-Inoculación por riego en contenedores de poliestirero.
- E.-Inoculación esporal o vegetativa por riego, pipeta o directa en contenedor de plástico.
- F.-Inoculación por Inmersión de contenedores a una suspensión de esporas de hongos ectomicorrízicos.
- G.-Inoculación por inyección directa a plantas maduras en la superficie de grandes contenedores.
- H.-Inoculación por inyección directa a las raíces del suelo de árboles maduros.
- I.-Inoculación directa en la raíz durante el transplante.

3.11 Micorrización en las plantas

Durante las fases de rápido crecimiento juvenil, la nutrición mineral, especialmente con nitrógeno, es extremadamente alta, esta elevada disponibilidad de fertilizante soluble puede inhibir la mayoría de los hongos en alguna medida. Es común observar la proliferación de micelios y la formación de micorrizas durante el inicio de la etapa de endurecimiento de las plantas (Castellano y Molina, 1989).

Las micorrizas pueden ser distinguidas de los hongos patógenos por la presencia de micelios visibles que rodean la raíz y la ausencia de descomposición

Para evaluar el desarrollo ectomicorrízico, es necesario remover primeramente la planta de su contenedor y lavar cuidadosamente el sistema radical, a fin de remover todo el sustrato. Colocar las raíces en un recipiente (de una a dos pulgadas de profundidad), el cual ha sido parcialmente llenado con agua corriente. Distribuir cuidadosamente distribuir el sistema radical a fin de que los pelos absorbentes de las raíces sean claramente visibles. De esta forma las micorrizas pueden ser evaluadas mediante la observación de las raíces sumergidas, usando un microscopio estereoscópico que pueda magnificar el objetivo de 5 a 15 veces (Castellano y Molina, 1989).

3.11.1 Verificación de ectomicorrizas

Castellano y Molina (1989), indican que las ectomicorrizas pueden ser difíciles de reconocer al inicio, pero con un poco de práctica los encargados de la producción en el vivero pueden rápidamente distinguir entre raíces absorbentes con ectomicorrizas (fig. 8). Las ectomicorrizas de las especies forestales latifoliadas no son fácilmente visibles como lo son en las coníferas. Las siguientes características clave podrán guiar su reconocimiento:

1. Las ectomicorrizas son típicamente estructuras gruesas (hinchadas) y carecen de pelos absorbentes.
2. El manto del hongo o cubierta es usualmente de un color diferente al de los pelos absorbentes; algunos mantos son de colores vivos o blanco puro.
3. El micelio del hongo o la ramificación de las hifas comúnmente se desarrollan fuera del tejido que compone al manto, dando una apariencia algodonosa.
4. Las ectomicorrizas maduras comúnmente ramifican varias veces en patrones regulares e irregulares.
5. Las raíces alimentadores no micorrizadas no son gruesas, usualmente están cubiertas de pelos absorbentes, y para muchas de las especies de coníferas se presentan sin ramificaciones.



Figura 8. Ectomicorriza *Martellia medlockii* en *Pinus contorta*. (Castellano y Molina 1989).

3.12 Factores que afectan el desarrollo micorrizico

3.12.1 Desarrollo de raíces

Las raíces laterales primarias de las coníferas que son producidas en contenedor, comúnmente crecen hacia las paredes del contenedor para posteriormente descender 10 a 15 cm de forma paralela a estas. Este crecimiento inhibe la formación de las raíces laterales secundarias; muchas de las raíces continúan esta tendencia de crecimiento después de que han sido plantadas en campo. En el terreno de plantación, la parte superior del perfil del suelo (10 a 15 cm – 4 a 6 pulgadas) usualmente tiene grandes cantidades de oxígeno, humedad y disponibilidad de nutrientes, lo cual es propicio para una gran actividad microbiana. Para asegurar el establecimiento de las plantas una vez plantadas, es deseable que las raíces absorbentes y las micorrizas puedan explorar las capas superficiales del suelo (Castellano y Molina 1989).

3.12.2 Fertilización

Las micorrizas y los hongos micorrízicos son extensiones del sistema radical de las plantas; extraen los nutrientes y agua del suelo y los transportan hacia su hospedante. Las plantas responden a la formación de micorrizas más fuertemente en

suelos de baja fertilidad. La mayoría de los hongos micorrízicos están adaptados a condiciones de baja fertilidad de suelos forestales. Muchos hongos micorrízicos no crecen bien en sustratos artificiales, que continuamente son saturados con altas cantidades de fertilizantes solubles o mejorados con fertilizantes de lenta liberación. La inhibición micorrízica debido a los altos niveles de fertilización, más la carencia de propágulos de hongos micorrízicos en los sustratos artificiales, representan el mayor reto para los programas de manejo de micorrizas (Castellano y Molina 1989).

Debido a que las diferentes especies de hongos micorrízicos responden de manera distinta a la fertilización, se pueden utilizar hongos adaptados a las condiciones de fertilidad en el vivero, o la aplicación de fertilizantes puede ser modificada para promover la colonización de hongos deseables pero sensibles a la fertilización (Castellano y Molina 1989).

3.12.3 Riego

Tanto el exceso como la escasez de agua reducen la formación de las raíces absorbentes, especialmente en las especies de *pseudotsuga* y *piceas*. Muchos viveros riegan sus plantas diariamente a punto de saturación todos los días, un síntoma de riego excesivo es la formación de “raíces de agua”, las cuales son gruesas, carnosas, y de color opaco, carentes de micorrizas y de pelos absorbentes. Este tipo de raíces actúan como grandes esponjas que rápidamente absorben el agua y los nutrientes solubles, estas carecen de las raíces activas que son necesarias para la formación micorrízica y esencialmente no son funcionales para la absorción de agua y nutrientes en el sitio de plantación. Se ha observado que las “raíces de agua” mueren y se descomponen rápidamente una vez que la planta ha sido plantada en campo (Castellano y Molina 1989).

3.12.4 Sustrato

Las características físicas y químicas del sustrato influirán en el éxito de los programas de inoculación micorrízica. El tamaño de los poros, su distribución y su pH (niveles óptimos y tolerancia), afectarán en forma directa no sólo la formación de raíces absorbentes y su distribución, también el desarrollo ectomicorrízico. Un sustrato compactado no sólo inhibirá la formación de raíces absorbentes, sino que

también inhibirá la extensión de raíces laterales y activas. El alto porcentaje de musgo (turboso) en la mayoría de los medios de crecimiento, afecta sus propiedades físicas y químicas, esto en su pH. De observaciones en campo se infiere que algunos hongos micorrízicos prefieren suelos con alto contenido de materia orgánica (por ejemplo, residuos de madera en descomposición con pH=4), mientras que otros crecen mejor en suelos minerales con poca materia orgánica (por ejemplo, áreas recientemente incendiadas, con pH=7), (Castellano y Molina 1989).

La compactación del sustrato no parece eliminar el crecimiento del hongo, pero reduce marcadamente la formación de raíces absorbentes, las cuales son necesarias para la colonización ectomicorrízica. El sustrato en el contenedor deberá proporcionar una adecuada porosidad para el intercambio de oxígeno, el cual promoverá un crecimiento vigoroso tanto de las raíces, como del hongo. Se recomienda seleccionar aquellos hongos que crecen mejor sobre un amplio intervalo de pH del sustrato, para la inoculación en vivero (Castellano y Molina 1989).

3.12.5 Temperatura

Así como con el pH, los hongos ectomicorrízicos tienen intervalos de tolerancia a temperaturas. Las temperaturas del sustrato en los contenedores pueden variar ampliamente, desde los 0 °C (32 °F) durante el invierno o en el almacenamiento antes de la plantación, hasta los 38 °C (100 °F) durante el verano. Algunos hongos micorrízicos pueden tolerar esta amplia fluctuación de temperaturas durante el período de producción, pero otros no (Castellano y Molina 1989).

3.12.6 Plaguicidas

Para Castellano y Molina (1989), los plaguicidas provocan una multitud de reacciones complejas sobre organismos objetivo y no objetivo. Las generalizaciones sobre las reacciones a los plaguicidas deben abordarse con precaución. Por ejemplo, los plaguicidas que afectan a los hongos micorrízicos o su desarrollo, pueden influir de manera positiva o negativa el crecimiento de las plantas.

Esterilizantes. Los sustratos artificiales generalmente son considerados “esencialmente estériles”, por lo tanto, los esterilizantes normalmente no son utilizados en los viveros que producen en contenedor. Sin embargo, debido a

recientes problemas con enfermedades en las raíces, algunos viveristas han comenzado a esterilizar tanto el medio de crecimiento como los contenedores. Las mezclas a base de (bromuro de metilo y cloropicicrin) son esterilizantes efectivos, y bajo condiciones óptimas de aplicación, casi pueden eliminar de los sustratos tratados tanto los organismos benéficos como los perjudiciales (Castellano y Molina 1989).

Fungicidas. La mayoría de los fungicidas son selectivos para ciertos grupos de hongos, los tiazoles pueden erradicar a zigomicetes, pero son menos perjudiciales o incluso estimulantes a la mayoría de los Basidiomicetes y Ascomicetes.

Puesto que las micorrizas VA (vesículo arbusculares) son Zigomicetes. Los tiazoles pueden ser los fungicidas a elegir para aquellos viveros que producen plantas hospedantes con ectomicorrizas (pináceas), (Castellano y Molina 1989).

Herbicidas. La interpretación de los resultados de ensayos con herbicidas es difícil, dado que los efectos sobre la planta hospedante pueden afectar indirectamente a los hongos micorrízicos (Castellano y Molina 1989).

Insecticidas y nematicidas. De manera general, altas concentraciones de insecticidas o nematicidas inhiben el crecimiento de los hongos en condiciones de cultivo puro (Castellano y Molina 1989).

3.13 Hongo de los pinos

3.13.1 Descripción taxonómica

Según Hibbett *et al* (2007), clasifica al hongo de los pinos de la siguiente manera:

Dominio	: Eukarya
Reino	: Fungi
División	: Basidiomycota
Subdivisión	: Agaromycotina
Clase	: Agaricomycetes
Orden	: Boletales
Familia	: Boletaceae
Nombre científico	: <i>Boletus pinophilus</i> Pilát & Dermek 1973
Nombre común	: Hongo de los pinos, boleto del pino



Figura 9. Hongo de los pinos

3.13.2 Descripción macroscópica

Sombrero: Cutícula de color marrón rojizo -caoba- uniforme, lisa, y de difícil separación de la carne. Como es habitual en los boletus es de forma hemiesférica que evoluciona a plano convexa, llegando a medir hasta 30 cm. de diámetro. Margen decurvado que se convierte en plano y excedente en la madurez (Cuesta y Jiménez sf.).

Himenio: Está compuesto por tubos casi libres, separables de la carne. Primeramente son de color blanco, luego amarillentos, pasando rápidamente a amarillo verde oliva. Poros redondos del mismo color que los tubos (Cuesta y Jiménez sf.).

Pie: Muy grueso, sólido y muy ventrudo hacía la base, tanto que en muchos casos supera en diámetro al sombrero. De color parecido al del sombrero pero más claro, decorado con una retícula de mallas poligonales de tonos cremas a rojos en el ápice, y más diluida en el resto (Cuesta y Jiménez sf.).

Carne: Consistente, espesa, blanca, debajo de la cutícula de tonos vinosos. Olor y sabor agradables, dulces y perfumados. Una vez desecado el olor es mucho más intenso (Cuesta y Jiménez sf.).

3.13.3 Ecología

Aparece en primavera y verano con lluvia, y fundamentalmente en otoño. Como su nombre indica, nacen en bosques de pinos aunque a veces también en hayedos. Tienen predilección por los pinos mayores, siendo rara su aparición en pinares jóvenes (Cuesta y Jiménez sf.).

3.14 Sustrato

El sustrato debe contener una buena relación en la composición de arena, tierra vegetal y tierra del lugar, variando de acuerdo a las especies y al lugar. Debe tomarse en cuenta la disponibilidad de los materiales pudiendo sustituirse algún componente con varias opciones, como por ejemplo, lama (limo), cascarilla de arroz, corteza de árboles, turba, tierra negra, etc. (Delgado *et.al.* 2005)

El sustrato debe ser homogéneo presentar un buen drenaje y una buena retención de humedad. Tiene como función proporcionar a las plantas sostén mecánico a la vez permite que las raíces se desarrollen de forma adecuada proporcionándoles aire, agua y principalmente nutrientes, condiciones que requiere la planta para su crecimiento (Lucero, 2007).

El sustrato puede ser de distinta composición, por ejemplo: tierra negra 60% y arena 40%; arena 50% - aserrín 50%; tierra negra 25% - arena 25% - compost 25 por ciento (Zalles, 1988 citado por Lucero, 2007).

3.15 Características del sustrato

3.15.1 Tierra agrícola

Es un componente que es de formación natural, es la capa superior de acumulación de la materia orgánica y lenta descomposición con diferente valor nutricional (Lucero, 2007).

3.15.2 Arena

La arena está caracterizada por la granulometría que va desde 20 a 200 micrones, es generalmente suelta, porosa y estéril. El contenido de nutrientes es bajo y sus valores de pH tienden a ser alcalino (Lucero, 2007).

Ferreira (1985), indica que se prefieren sustratos arenosos que tenga un buen drenaje para la germinación de la semilla. Otros sustratos inertes como la vermiculita, que es un material misaceo desintegrado, también es recomendable.

3.15.3 Tierra negra

Es un componente de formación natural, es la capa superior de acumulación de la materia orgánica y lenta descomposición con diferentes valor nutricional, proveniente de regiones de altura, con composición generalmente de arcilla y materia orgánica, cuyo color es café oscuro o negro, con valores de pH ácidos. La tierra negra presenta una textura arcillosa, con bajo porcentaje de materia orgánica, con un porcentaje de humedad de 32,37% (Zalles, 1988).

3.15.4 Turba

Zalles (1988), menciona que la formación de turba obedece a un proceso natural y es mayormente bajo el agua, es decir en condiciones anaeróbicas y de baja temperatura donde la vegetación acuática, musgo, pastos y otras plantas van acumulándose y descomponiéndose lentamente.

3.15.5 Mezcla del sustrato

Tarima (1996), indica la mezcla utilizada para el sustrato de vivero debe ser de textura liviana, suelta de color negro o bastante oscura estar limpia y libre de impurezas. Además que pueda desmenuzarse a mano o pulverizarse en una zaranda; y más que todo de be ser rica en elementos nutritivos.

4. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo de investigación se llevo a cabo desde el mes de diciembre, teniendo una duración de tres meses(2013 – 2014), realizándose el trabajo en los predios de la a estación experimental de Cota Cota, de la Facultad de Agronomía.

4.1. Ubicación geográfica

IGM, (2007) citado por Quisbert (2009), menciona que la Estación Experimental de Cota Cota dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, se encuentra ubicada a 15 Km al sudoeste de ciudad a una altura de 3445 m. s. n. m, latitud Sud $16^{\circ}32'04''$ y longitud Oeste $68^{\circ}03'44''$.

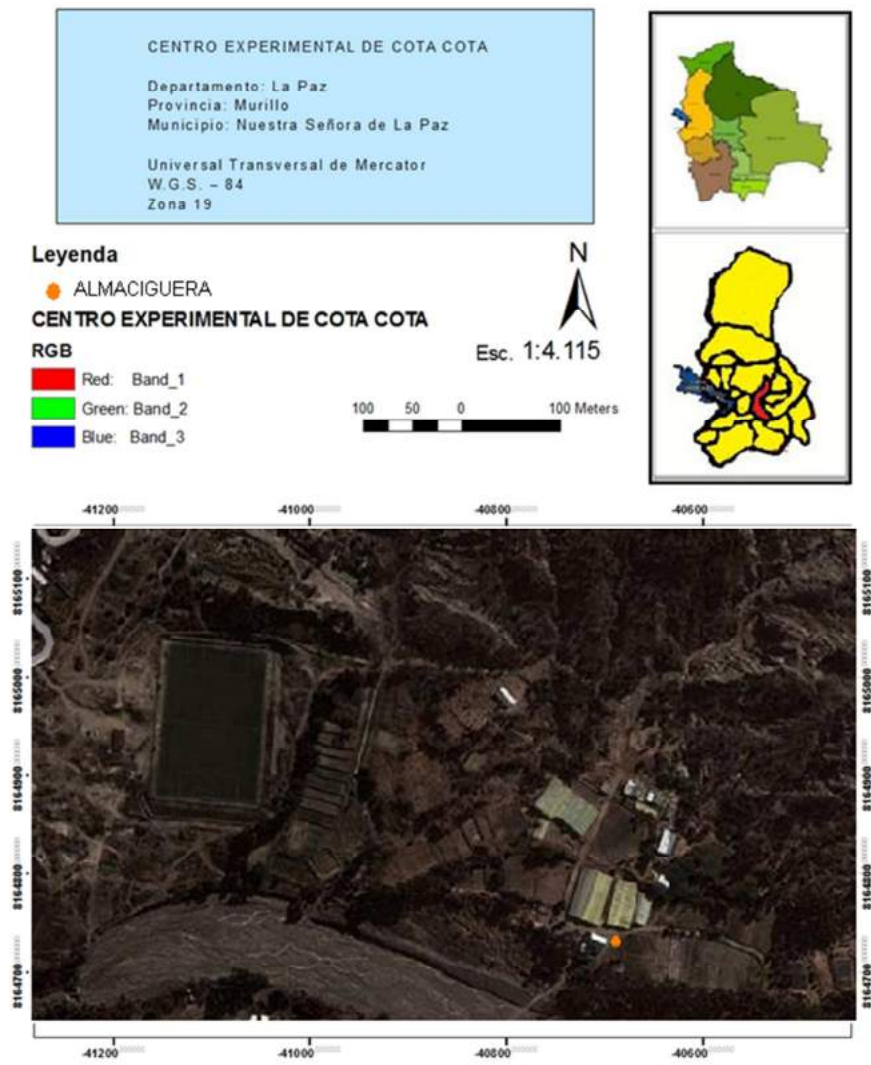


Figura 10. Ubicación de la zona de estudio

4.2. Características de la zona de estudio

Las condiciones agroclimáticas son de cabecera de valle; los veranos son calurosos y la temperatura de 21°C en la época invernal la temperatura puede bajar hasta -3°C, en los meses de agosto y noviembre se presentan vientos fuertes con dirección Este, la temperatura media es de 13,5°C con una precipitación media de 400 mm, las heladas se manifiestan en 15 días de los años con temperatura por debajo 0°C, la humedad relativa es 46 % (Quisbert, 2009).

Durante los meses de junio a septiembre, se presentan las temperaturas más bajas, con temperaturas mínimas que están por debajo de los 0 °C. El promedio de precipitación es de 753,2 mm. Los meses de diciembre, enero, febrero y marzo, corresponden al periodo de lluvias más alto, los meses de escasa precipitación corresponden a abril, mayo, junio, julio y agosto, correspondientes a meses áridos (Zeballos, 2000).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

5.1.1 Material biológico

5.1.1.1 Semilla

Para la investigación se compró 250 gr de semilla de *Pinus radiata* D. Don (figura 11) las cuales fueron compradas de BASFOR (centro de semillas forestales), la información de la semilla se detalla en el siguiente cuadro.

Característica de la semilla			
Especie	: <i>Pinus radiata</i>	Fecha de análisis	: 02/10/2012
Procedencia	: Concepción - Chile	% Germinación	: 75
Latitud	: 36°46'22" S	% Pureza	: 99
Longitud	: 73°03'47" O	Viabilidad	: 20800
m.s.n.m.	: 12 - 1000	Semillas/kg	: 27800
Tratamiento: Remojo en agua normal durante 24 horas.			

Cuadro 2. Características de la semilla



Figura 11. Semillas de *Pinus radiata*

5.1.1.2 Suelo micorrizado

El suelo micorrizado fue recolectado por las áreas cercanas al laboratorio de Dasonomía y Silvicultura (Cota Cota), donde existe la presencia de un bosque de pinos que contiene las especies: Pino radiata y Pino pseudoestrobis entre otros (anexo 1), en este se buscaron arboles de *Pinus radiata* con buenas características (figura 12. 1), además de ello se buscaron los cuerpos fructíferos alrededor del pino (figura 12.2) para de ahí extraer el suelo micorrizado.



Figura 12. Características para la extracción del suelo micorrizado; 12,1 pino con un buen desarrollo; 12.2 cuerpos fructíferos al pie del árbol de pino

Los cuerpos fructíferos que se encontraron alrededor de los arboles de pino seleccionados pertenecían al hongo de los pinos (*Boletus pinophilus.*), el cual es un hongo ectomicorrizico.

Una vez halladas las características principales se procedió a extraer el suelo micorrizado, retirando la capa superior hacia una lado que era la materia orgánica que produjo el pino como ser restos de hojas, corteza, etc. (fig. anexo 3). Posterior a ello se empezó a extraer el suelo que había alrededor del pino, considerando el diámetro de la copa.

Para extraer el suelo se tomó una profundidad de 10 cm puesto que a mayor profundidad hay menos probabilidad de encontrar raicillas micorrizadas y por ende suelo micorrizado, para ello también se extrajo las raicillas más delgadas del pino (fig. 13) puesto que están en contacto con los hongos. Este suelo extraído se pasó por un cernidor, con el fin de eliminar las partículas de mayor tamaño como ser la grava, piedras, etc.



Figura 13. Extracción del suelo micorrizado

5.1.2 Materiales de laboratorio

El material de laboratorio que se utilizó durante la investigación fue: cajas petri, balanza analítica, balanza de precisión, autoclave, probeta, peseta, balón de 1000 ml, papel filtro, mortero varilla, hornilla, frascos de 200 ml, tips, mechero bunsen, pipeta, micropipeta, agua destilada, papa dextrosa agar (PDA), alcohol y antibiótico.

5.1.3 Equipos

Para el análisis de hongos en el suelo se utilizó: cámara de flujo laminar y cámara de incubación, para la obtención de la materia seca se usó la mufla.

5.1.4 Materiales de campo

Los materiales que se usaron para la preparación del vivero y preparación del sustrato fueron las siguientes: Wincha de 50 m, pala, picota, rastrillo, machete,

estacas, flexometro, pita, carretilla, pala de jardinería, nylon, formol al 40 % malla semisombra, baldes de 20 l, agua potable, guantes de goma, cámara fotográfica, tablero de anotaciones, cuaderno de registros, regla milimétrica, vernier, bolsas de polietileno, arena, turba, tierra del lugar, lápices, bolígrafos y marbetes.

5.1.5 Materiales de gabinete

Para ello se utilizó material de escritorio, computadora, hojas de registro de datos impresora y calculadora.

5.2. Metodología

5.2.1 Procedimiento experimental

La presente investigación se llevó a cabo en el periodo agrícola 2013 – 2014 en condiciones ambientales de campo.

El trabajo de investigación se realizó en dos etapas; la primera en laboratorio, donde se hizo análisis en la semilla, el otro estudio realizado en laboratorio fue para verificar la existencia de hongos en el suelo.

La segunda etapa consistió en la distribución de los tratamientos en base al diseño completamente al azar factorial (2 factores de estudio), la preparación del sustrato, la observación y toma de datos de acuerdo a las variables de respuesta que nos ayudaran aprobar o rechazar la hipótesis planteada.

5.2.2 Diseño experimental

El diseño experimental que se aplicó, fue el Diseño Completamente al Azar (DCA) factorial, con dos factores de estudio. Por lo tanto un arreglo factorial es aquel en que intervienen dos o más factores, considerando como factor al estímulo representado por más de dos niveles. Se utilizó este diseño debido a que los arreglos factoriales son de importancia práctica, ya que permite el estudio de un estímulo como tal y su respuesta combinatoria respecto de otras condiciones, dando así información más completa, aun cuando los efectos interaccionados no sean significativos (Rodríguez del Ángel, 1991).

5.2.2.1 Tratamientos

El factor A esta conformado por dos sustratos y el factor B compuesto de cuatro niveles de suelo micorrizado, la combinación de ambos factores generan los diferentes tratamientos que se detallan a continuación:

Factor A Sustratos	Factor B Suelo micorrizado	Tratamientos
Ar+ T +TL (1:1:1)	0 partes de micorriza	$a_1b_1 = T_1$
	½ parte de micorriza	$a_1b_2 = T_2$
	1 parte de micorriza	$a_1b_3 = T_3$
	1½ partes de micorriza	$a_1b_4 = T_4$
Ar + T + TL (1:2:1)	0 partes de micorriza	$a_2b_1 = T_5$
	½ parte de micorriza	$a_2b_2 = T_6$
	1 parte de micorriza	$a_2b_3 = T_7$
	1½ partes de micorriza	$a_2b_4 = T_8$

Cuadro 3. Tratamientos; (Ar = Arena; T = Turba; TL = Tierra del lugar)

5.2.3. Modelo lineal

Según Rodríguez del Ángel (1991), El modelo lineal aditivo del Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

- Y_{ijk} = Una observación
- μ = Media poblacional
- α_i = Efecto del i – esimo nivel del factor A
- β_j = Efecto del j – esimo nivel del factor B
- $\alpha_i\beta_j$ = Efecto del i – esimo nivel del factor A, con el j – esimo nivel del factor B
- ε_{ijk} = Error experimental

5.2.3.1 Croquis de experimento

Las características del área experimental, como la distribución de los tratamientos se muestran en la figura 14.

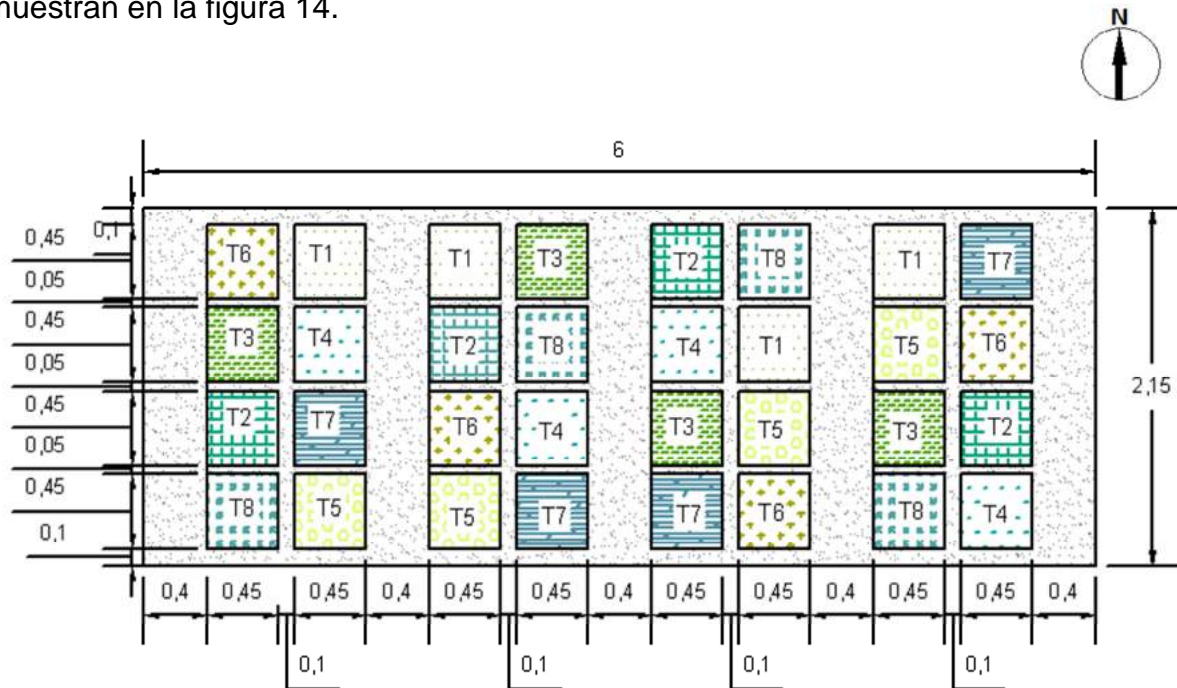


Figura 14. Croquis del experimento

Área total: 12,90 m²

Área total en pasillos: 4,3 m²

Área Neta; 8,60 m²

5.2.4 Inoculación de micorrizas con suelo de bosque

El método utilizado para la inoculación de la micorriza se realizó mediante el suelo de bosque, el procedimiento para la extracción del suelo se explicó anteriormente.

5.2.5 Análisis micológico del suelo micorrizado

Este análisis se realizó con el objetivo de ver la presencia de los hongos micorrizicos en el suelo, en donde se siguieron los siguientes pasos:

Preparación del medio de cultivo PDA

Para la preparación de este medio de cultivo papa dextrosa agar se utilizó 200 g de papa, 15 g agar, agua destilada y antibiótico (ampicilina).

Primero se hizo cocer la papa en trozos en una olla por un lapso de 10 minutos, posterior a ello se paso por un papel filtro de manera que solamente se utilizo el liquido de la papa, luego se incorporó el agar, el antibiótico para evitar que salieran las bacterias y por último se coloco el agua destilada aforando en el balón hasta llegar a 1 l, esta preparación se llevo al autoclave para esterilizar la preparación por un lapso de 15 minutos.

El medio de cultivo es vaciado en cajas petri previamente esterilizadas, esto se deja gelificar por un tiempo al interior de la cámara de flujo laminar para evitar la contaminación.

Preparación de la solución del suelo

Para sembrar los hongos del suelo, fue necesario diluir el mismo en agua destilada dos veces.

Se diluye 1g del suelo en 100 ml de agua destilada previamente esterilizada y fría, para diluirlo se abre una parte del frasco, el suelo es echado al interior y rápidamente se procede a cerrar, enseguida se procede a agitar la solución. Para la segunda dilución se trabaja al interior de la cámara de flujo laminar, se saca de la primera dilución 1000 µl y este se diluye en 99 ml teniendo de esta forma un segundo frasco del cual se extraerá la solución para la siembra.

Para la segunda dilución (10^{-2}) se saco del frasco 200 µl, diluyéndolo en 99 ml de agua destilada previamente esterilizada, este procedimiento se realiza las veces que sean necesarias.

Estas diluciones se realizan con el fin de que en el momento en el que se realice la siembra y esta sea incubada, después de un lapso mínimo de 48 horas puedan ser contadas las colonias formadas, y si se tuviera muchas colonias la preparación tendría que seguirse diluyendo hasta que uno pueda contar las colonias formadas.

Siembra de los hongos

Una vez obtenida la dilución, en este caso la segunda (el segundo frasco obtenido 10^{-2}) se procede a trabajar al interior de la cámara de flujo laminar con asepsia, una vez que el medio de cultivo a gelificado se abre cuidadosamente el frasco con la

dilución a utilizar (10^{-2}) y con ayuda de la micropipeta se saca 200 μl y este es vaciado de manera uniforme en la caja petri, con ayuda del aza de vidrio el liquido que contiene los hongos del suelo es disperso por toda la caja petri en forma de z.

Incubación

Después de haber realizado la siembra la caja petri es llevada a la incubadora por un lapso de 48 horas a una temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ y después de las 48 h se empieza a contar el número de colonias formadas.

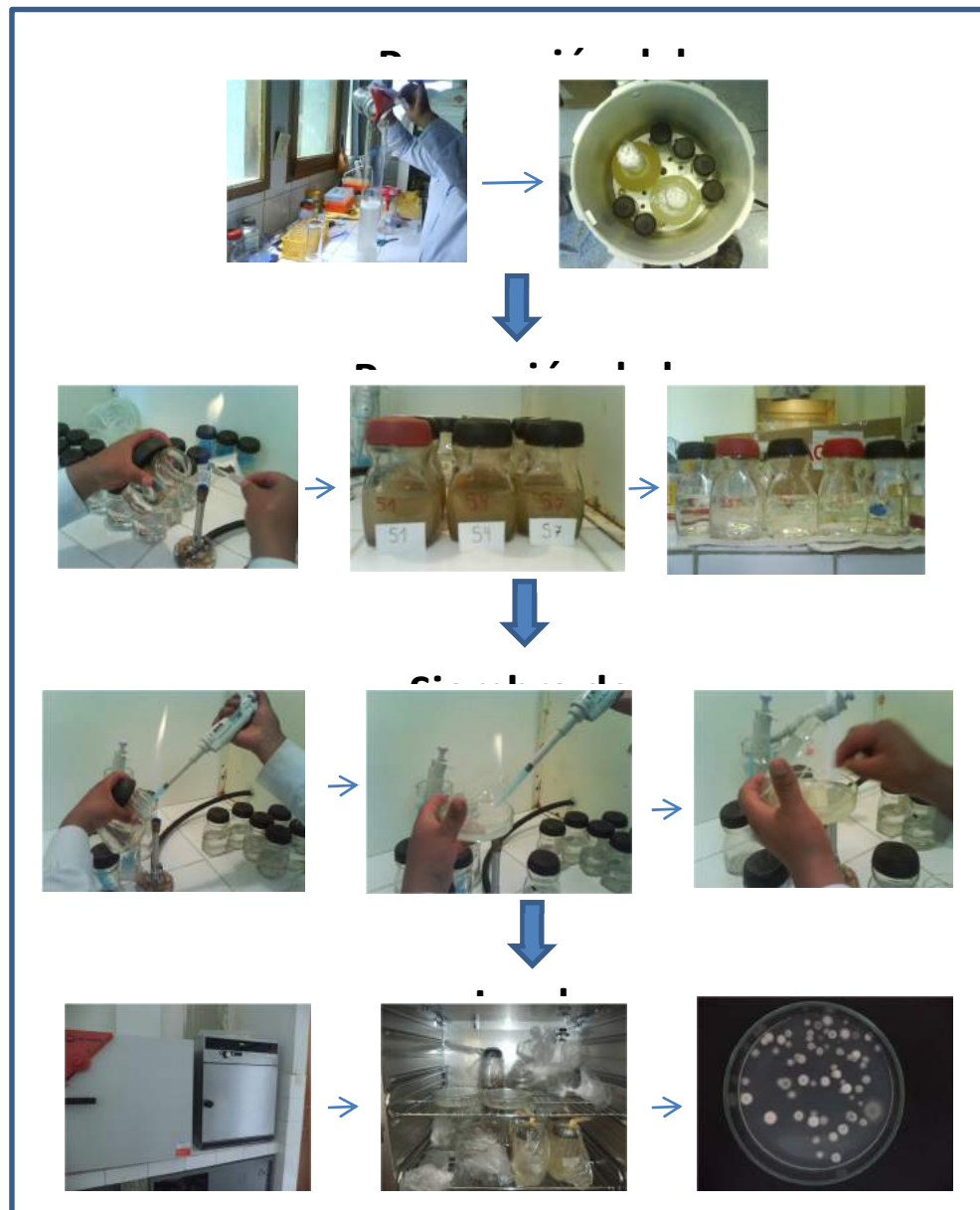


Figura 15. Análisis micológico del suelo

5.2.6 Análisis de calidad de la semilla

Debido a que las semillas presentaban la información necesaria en su etiqueta, se realizó el estudio del porcentaje de germinación, número de semillas por kilogramo, pureza y contenido de humedad siguiendo las normas ISTA (International Rules for Seed Testing, 2008) para corroborar los datos de la etiqueta.

5.2.6.1 Porcentaje de germinación

Para este análisis se siguieron los pasos que indica la norma.

Species	Substrate	Temperatura (°C)	First count (d)	Final count (d)
<i>Pinus radiata</i>	Top of paper	20	7	28

Tabla 1. Norma a seguir para la germinación del *Pinus radiata*

Para ello se colocaron 30 semillas con tres repeticiones las cuales fueron sembradas sobre papel, la evaluación se hizo a 28 días ya que para la primera evaluación (7días) no se contaba con semillas germinadas.

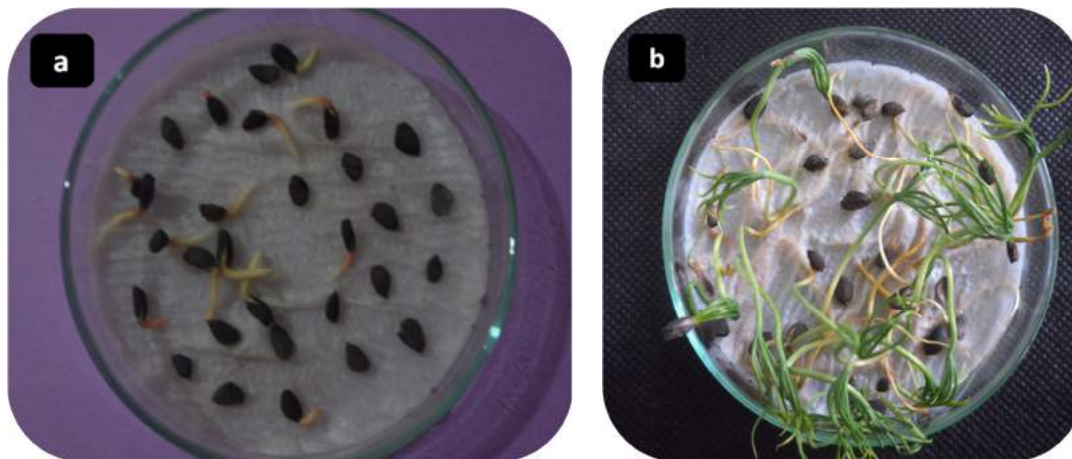


Figura 16. Germinación de *Pinus radiata*; a) a los 15 días, b) a los 28 días

5.2.6.2 Porcentaje de pureza

Para determinar el porcentaje de pureza para las semillas, se peso 10 gramos, del cual se quitaron restos como ser ramas, o todo aquello que no era la semilla, incluso

aquellas semillas que tenían menos del 50 % de su estructura, ya que estas cuentan como impureza



Figura 17. Semilla pura de pino radiata

5.2.6.3 Porcentaje de Humedad

El contenido de humedad se realizó pesando 5 g de semilla según las normas ISTA, esta cantidad se colocó en pocillos de aluminio (envases de aluminio de crema névea de 10 cm de diámetro, (fig. 18), realizando dos repeticiones, el siguiente paso fue llevar las muestras a la mufla a una temperatura de 105 °C por un lapso de 17 horas.

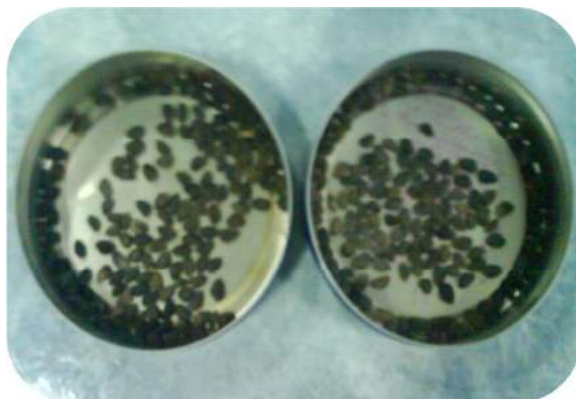


Figura 18. Muestras para realizar el contenido de humedad

5.2.6.4 Número de semillas por kilogramo

Según las normas ISTA indica que para determinar el número de semillas por kilogramo, se debe contar 100 semillas y estas deben ser pesadas (fig. 18), este trabajo debe realizarse 4 veces, es decir cuatro repeticiones con el fin de disminuir el error.

Una vez concluido este procedimiento los resultados encontrados fueron promediados para de ahí obtener el resultado final.



Figura 19. Número de semillas / kilogramo

5.2.7 Preparación del sustrato

Una vez que se obtuvo cada componente del sustrato como ser la arena, turba y tierra del lugar se procedió a desinfectar con formol al 40% diluyéndolo en agua con una relación de un litro de formol por cada 25 litros de agua, esta preparación se dispersó sobre cada componente del sustrato con la ayuda de una regadera para hacerlo de una manera uniforme, realizado este paso se procedió a taponarlo con un nylon durante 3 días para obtener una mejor desinfección (figura 20.1). Antes de hacer el uso de dichos componentes se procedió a dejarlos orear con el fin de que el olor a formol desaparezca y para que este no perjudique al desarrollo de los hongos micorrizicos.

La preparación del sustrato se realizó de acuerdo a cada tratamiento establecido mezclándolo con el nivel de suelo micorrizado respectivo para cada tratamiento ver figura (20.2), cabe aclarar que el suelo micorrizado se trajo un día antes que se realice la mezcla con el sustrato, debido a que este contiene los hongos micorrizicos, por esta razón el suelo no fue desinfectado. Ya que de haberlo hecho los hongos habrían muerto.



Figura 20. Preparación del sustrato; 19.1 desinfección de la turba; 19.2 Mezcla del sustrato

5.2.8 Siembra

La siembra se realizó una vez que las bolsas de polietileno estuvieron preparadas con el tratamiento correspondiente y ordenadas en el área de estudio. Además, se humedeció el sustrato para realizar la siembra, la medida de la bolsa de polietileno que se utilizó fue de 10 cm x 18 cm.

Antes de realizar la siembra la semilla fue remojada en agua normal por un lapso de 24 horas del cual se desecharon las semillas que flotaban (fig.21), se colocaron 2 semillas por cada bolsa a la profundidad del doble de la semilla (fig. ver anexo 4), una vez concluida la siembra se regó con la ayuda de una regadera para brindarles a las semillas la humedad necesaria para su desarrollo.



Figura 21. Remojo de las semillas de pino

5.3 Variables de respuesta

Altura de plantines: Con el fin de evaluar el desarrollo de los plantines micorrizados se midió la altura del plantin desde el cuello de la raíz hasta la punta del ápice vegetativo, esto con la ayuda de una regla metálica. Medición que se realizó después de 30 días de haber realizado la siembra

Diámetro del tallo: Con un vernier digital se tomó el diámetro del tallo del plantin.

Longitud de la raíz principal: Para medir la longitud de la raíz se procedió a sacar el plantin cuidadosamente de la bolsa para no dañar la raíz, una vez obtenida la raíz, se midió con una regla desde el cuello de la raíz, hasta la cofia.

Peso húmedo: Con una balanza analítica se pesaron por separado las siguientes partes de la planta:

- Parte aérea: se pesó únicamente la parte foliar.
- Parte radicular: se pesó únicamente la parte de la raíz.

Peso seco: Se procedió de manera idéntica al peso húmedo, con la diferencia de que los plantines se secaron en una mufla a 65 °C por un lapso de 48 horas.

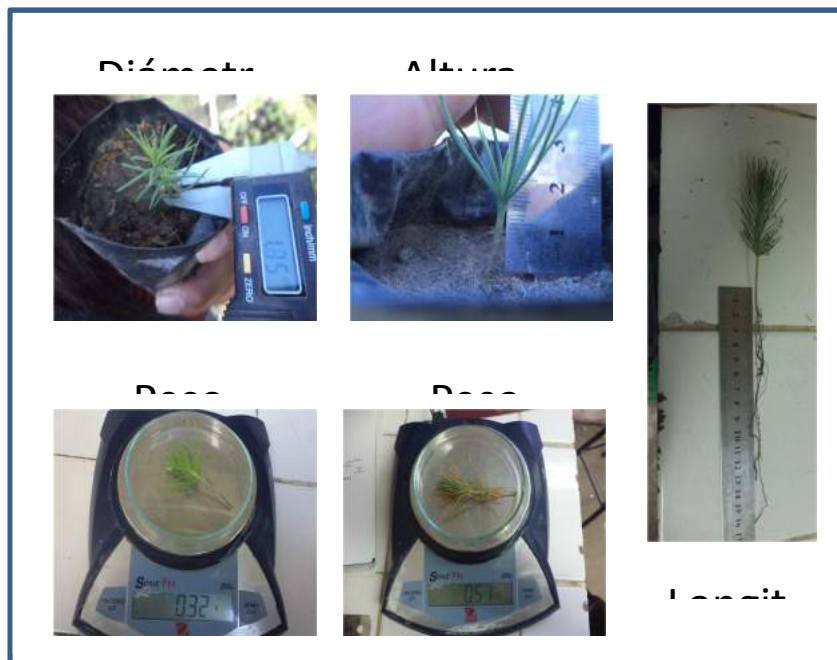


Figura 22. Variables de respuesta

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Características climáticas

6.1.1 Precipitación

Las lluvias que se presentaron durante los meses de investigación, fueron variadas, siendo el mes de diciembre en el que se registró la mayor precipitación con 99,9 mm, seguido por el mes de enero con 94,2 mm mientras que la precipitación más baja fue registrada en el mes de marzo teniendo una precipitación de 43,1 mm, en el grafico 1 se muestra la precipitación pluvial que se presentó durante los meses de investigación.

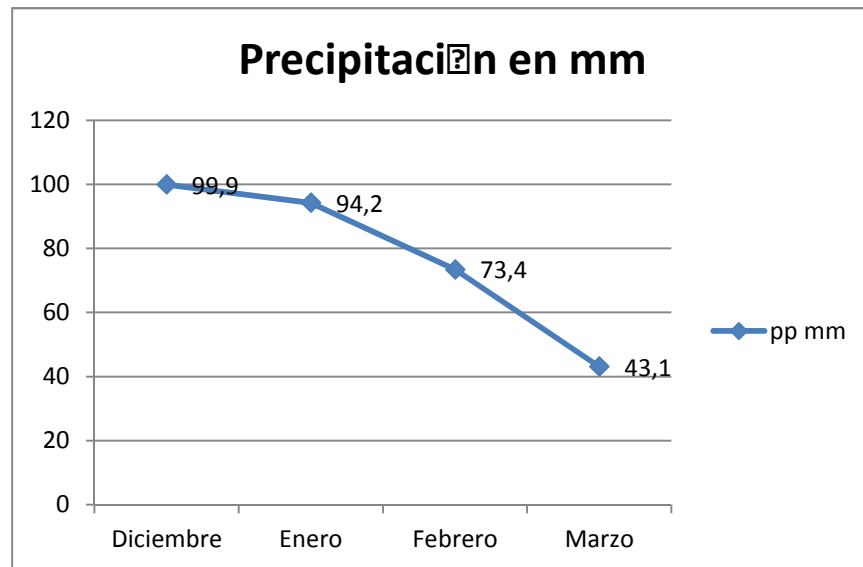


Grafico1. Distribución de la precipitación

La cantidad de precipitación que se presentó durante los meses que duró la investigación, fue exagerada en los dos primeros meses donde se observó gran humedad en el sustrato en especial en el mes de enero donde las plantulas de pino comenzaron a emerger y algunos comenzaron a podrirse por el exceso de humedad por lo que se vio necesario tapar con nylon transparente la parte superior del área de estudio, esto con el fin de que la humedad del sustrato disminuya, teniendo una precipitación de 70,2 mm para el mes mencionado, siendo la precipitación necesaria para el pino radiata de 350 a 1000 mm anuales (Nina, 1999). Mientras que en el mes

de diciembre no se cubrió con nylon debido a que se comenzó el trabajo de investigación a mediados de este mes, teniendo una precipitación de 40,2 milímetros.

6.1.2 Temperatura

Las temperaturas registradas para los meses de estudio se muestran en el gráfico 2 donde se observa la temperatura máxima, mínima y el promedio.

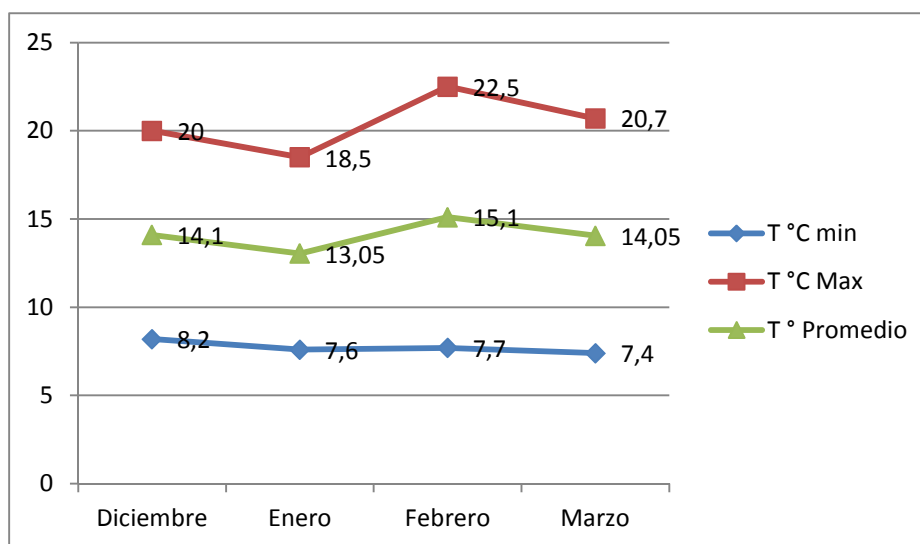


Gráfico 2. Distribución de la temperatura

La temperatura máxima fue registrada en el mes de febrero con 22.5 °C mientras que la temperatura mínima era de 7,4 °C para el mes de marzo. La temperatura promedio que se observó durante la investigación fue de 14.1 °C, que según Nina (1999), el pino puede desarrollarse muy bien en temperaturas promedio de 14 grados centígrados.

6.2 Análisis de calidad de semillas

6.2.1 Porcentaje de germinación

Mediante la aplicación de las normas ISTA (2008), usada para la germinación de semillas de *Pinus radiata* se obtuvo una germinación del 73 %, bajando su germinación un 2 % en comparación del resultado obtenido por BASFOR (2012), este resultado se debe a la disminución de la viabilidad en la semilla debido al tiempo de almacenamiento, haciendo que esta semilla disminuya en su porcentaje de germinación.

Repetición	% G	Promedio del % G
I	66	73
II	80	
III	73	

Tabla 2. Resultados del % G; % G = porcentaje de germinación

Según los datos obtenidos en laboratorio se muestran diferencias en cuanto a los datos de la etiqueta de la semilla, siendo diferente en la germinación y número de semillas por kilogramo como se muestra en el grafico 3.

6.2.2 Porcentaje de Pureza, Número de semillas / kilogramo y % Humedad

En los resultados se puede observar que el porcentaje de pureza no disminuyó, tanto en los análisis realizados el 2012 (BASFOR) y el 2014 los cual nos indica que la pureza no es afectada por el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, el resultado del número de semillas por kg es diferente siendo mayor el número de semillas obtenidas en laboratorio, para lo cual BASFOR debería realizar nuevamente su análisis para corroborar sus datos.

El contenido de humedad que se realizó a las semillas de pino reflejaron un resultado de 7.31% el cual es adecuado para su almacenamiento y se vio que esta humedad no afecta a la germinación de las semillas, puesto que los resultados de germinación fueron aceptables.

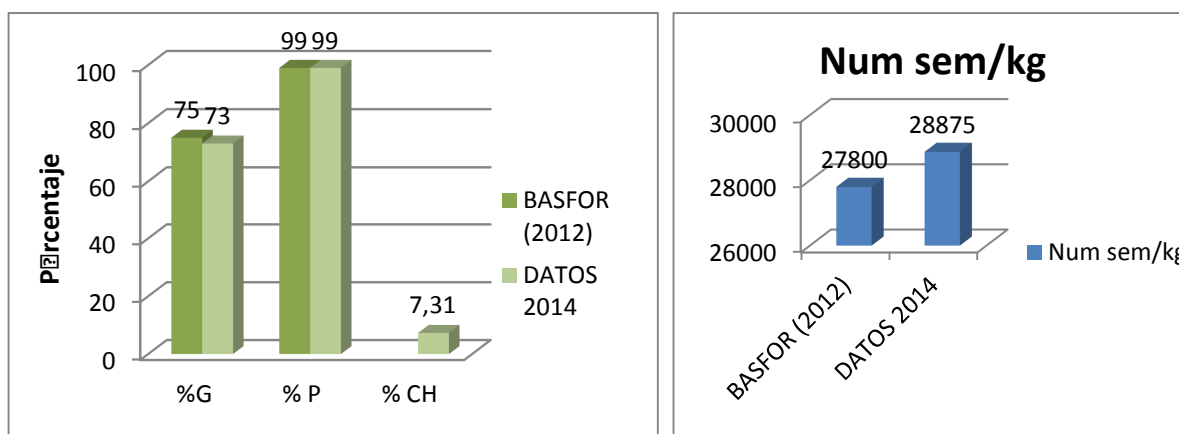


Gráfico 3. Análisis de calidad de la semilla

6.3 Análisis del suelo micorrizado

Este análisis fue realizado al inicio y al final del trabajo de investigación con el fin de verificar la presencia de los hongos micorrizicos, tanto en el suelo micorrizado como en los tratamiento en donde se aplicaron los diferentes niveles de suelo micorrizado.

6.3.1 Suelo del bosque de pinos

El resultado que se obtuvo para el análisis realizado a la muestra del suelo extraído del bosque de pinos se encontró la formación de 50 colonias como se muestra en la siguiente figura.

Repetición	N° colonias	Promedio
I	60	50
II	40	



Tabla 3. Número de colonias de hongos

Figura 23. Colonias de hongos

Al poder apreciar la formación de las colonias en el primer análisis realizado, se pudo evidenciar que la muestra del bosque de pinos contenía en promedio 50 colonias formadas para una dilución 10^{-2} , lo cual nos confirmó que la inoculación de los hongos micorrizicos pueden realizarse también por medio del suelo de bosque. Según Vásquez (sf.), en el suelo del bosque se puede encontrar Micelios, esporas de hongos micorrizicos, raicillas micorrizadas, las que lógicamente sirven de inóculo, y por ende se evidenció la presencia de los hongos.

6.3.2 Análisis del suelo de los tratamientos

De acuerdo a los datos obtenidos en el análisis micológico realizado a los diferentes tratamientos, se determinó que en los tratamientos uno y cinco no presentaron la formación de colonias de hongos, siendo este dato coherente puesto que estos tratamientos no contienen el suelo micorrizado, en cambio el tratamiento que presentó el mayor número de colonias formadas fue el tratamiento ocho con 17

colonias, mientras que el menor número de colonias formadas se registro para el tratamiento dos en donde solo se formaron cuatro colonias.

La siguiente grafica muestra que para el segundo sustrato utilizado (1Ar:2Turb:1TI) fue en el que se encontró una mayor número de colonias. Para Castellano y Molina (1989), algunos hongos micorrizicos prefieren suelos con alto contenido de materia orgánica, por lo que se ve que el segundo sustrato utilizado en los tratamientos T6, T7 y T8 mostraron una mayor cantidad de colonias. A continuación se muestra la formación de colonias de hongos para cada tratamiento.

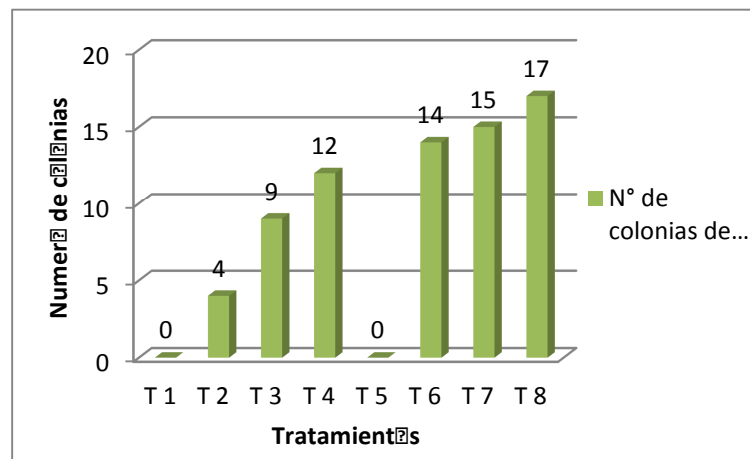


Grafico 4. Número de colonias para cada tratamiento

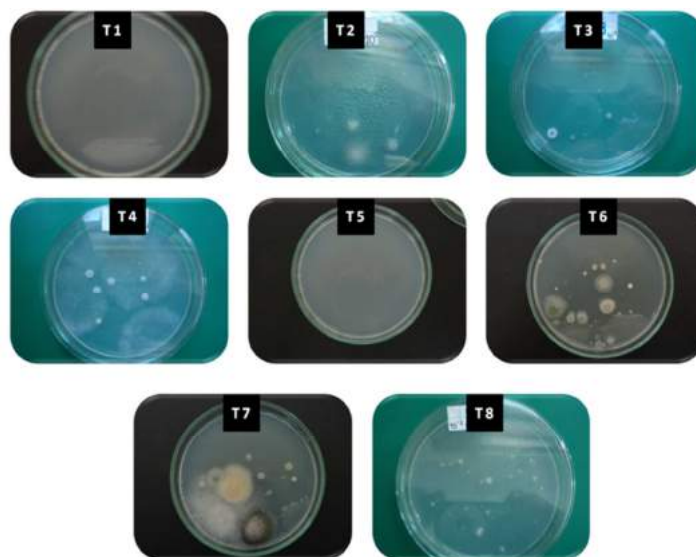


Figura 24. Hongos ectomirrizicos en el suelo

6.4 Altura de planta

Para determinar si los diferentes sustratos y niveles de suelo micorrizado presentaban una influencia sobre la altura de los plantines, se seleccionaron siete plantines por unidad experimental, para realizar con ayuda del Excel el respectivo análisis de varianza que se muestra a continuación en la siguiente tabla

Tabla 4. Análisis de varianza altura de planta

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,01	0,01	0,06 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	1,51	0,50	3,13 *	3,01	4,72
Interacción AxB	3	2,88	0,96	6,00 **	3,01	4,72
Error Exp.	24	3,84	0,16			
Total	31	8,24				

CV = 6.72 %

El análisis de varianza correspondiente a la altura de planta, mostró diferencias no significativas para el factor A (sustratos), mientras que en el factor B (niveles de suelo micorrizado) se encontró una diferencia significativa lo que indica que los diferentes niveles de suelo micorrizado utilizados producen diferentes alturas en los plantines.

A si mismo se encontró diferencia altamente significativa en la interacción de los sustratos con cada nivel de suelo micorrizado, lo cual lleva a concluir que los factores de estudio no eran independientes, es decir que cuando los sustratos en estudio cambian, los diferentes niveles de suelo micorrizado muestra un efecto en el comportamiento de la variable altura de planta.

En el análisis de varianza de altura de planta se vio significancia para los niveles de suelo micorrizado y su interacción. Para ello se realizó la respectiva prueba Duncan el cual permitió saber cuál fue el mejor nivel de suelo micorrizado.

Nivel	Media (cm)	Duncan ($\alpha = 0.05$)
$b_2 = \frac{1}{2}$	6.12	a
$b_3 = 1$	6.10	a b
$b_4 = 1\frac{1}{2}$	6.00	a b
$b_1 = 0$	5.59	c

Tabla 5. Altura de planta, prueba Duncan para el factor B

De la tabla 5 se puede mencionar que, los tratamientos con los niveles de suelo micorrizado b_2 , b_3 y b_4 (1/2, 1 y 1½ partes de suelo micorrizado) respectivamente presentaron promedios de altura de 6.12, 6.10, 6.00 de acuerdo al orden, los cual significa que dichos niveles no presentan diferencia estadística, mientras que el nivel b_1 obtuvo el menor promedio, debido a que este nivel no contiene suelo micorrizado.

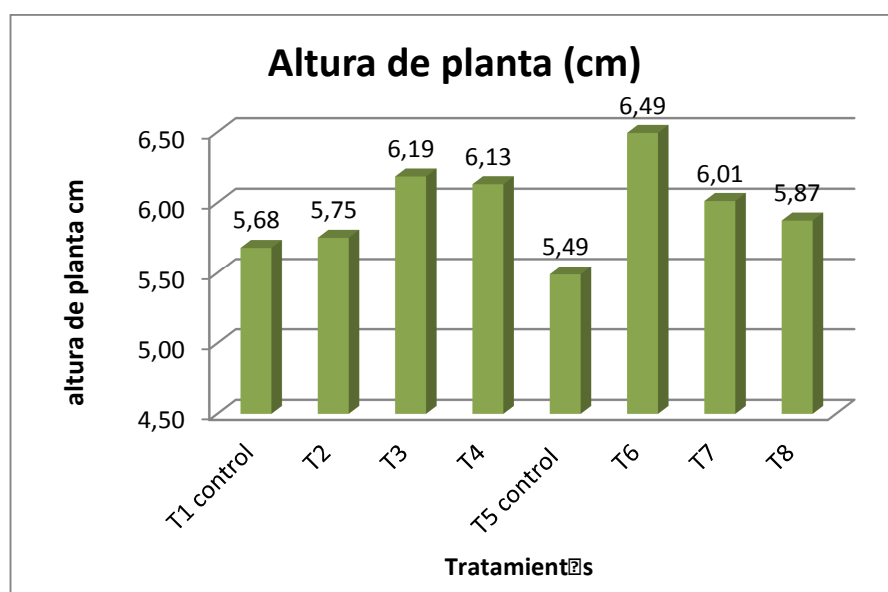


Gráfico 5. Altura de plantas micorrizadas comparadas con el control

En el gráfico 5 se puede comparar las diferencias que existe entre las plantas micorrizadas frente a las que no contienen el suelo micorrizado siendo los tratamientos T1 y T5, como se puede ver estos tratamientos obtuvieron los promedios de altura mas bajos.

Para establecer las diferencias presentes en el factor interacción sustrato por niveles de suelo micorrizado, se realizó el análisis de efectos simples.

Niveles de suelo micorrizado	Sustratos	
	(1Ar:1Turb:1TI)	(1Ar:2Turb:1TI)
$b_1 = 0$	22,73	21,96
$b_2 = \frac{1}{2}$	23,01	25,98
$b_3 = 1$	24,76	24,06
$b_4 = 1 \frac{1}{2}$	24,53	23,49

Tabla 6. Altura total de planta para la interacción sustratos con niveles de suelo micorrizado.

La construcción de una tabla de doble entrada (Tabla 6) para los totales de la interacción de los factores en estudio, nos permitió realizar el análisis de varianza para los efectos simples como se muestra en la siguiente tabla.

FV	GL	SC	CM	FC	FT (0.05)
Niveles dentro del primer sustrato B (a_1)	3	0.804	0.268	1.675	3.01 ns
Niveles dentro del segundo sustrato B (a_2)	3	2.070	0.690	4.313	3.01 *
Sustrato dentro del primer nivel A (b_1)	1	0.074	0.074	0.463	4.26 ns
Sustrato dentro del segundo nivel A (b_2)	1	1.103	1.103	6.894	4.26 *
Sustrato dentro del tercer nivel A (b_3)	1	0.061	0.061	0.381	4.26 ns
Sustrato dentro del cuarto nivel A (b_4)	1	0.135	0.135	0.844	4.26 ns
Error Experimental	24	3.84	0.160		

Tabla 7. Análisis de varianza de efectos simples para la altura de planta

Al realizar el análisis de efectos simples se encontró significancia estadística ente el segundo sustrato con los niveles de suelo micorrizado, es decir que hay diferencia entre los cuatro niveles de suelo micorrizado adicionado para el segundo sustrato. Así, también se encontró diferencia estadística entre sustratos dentro del segundo

nivel de suelo micorrizado, es decir que existe diferencias entre los dos diferentes sustratos para el nivel 2 (1/2 parte) de suelo micorrizado.

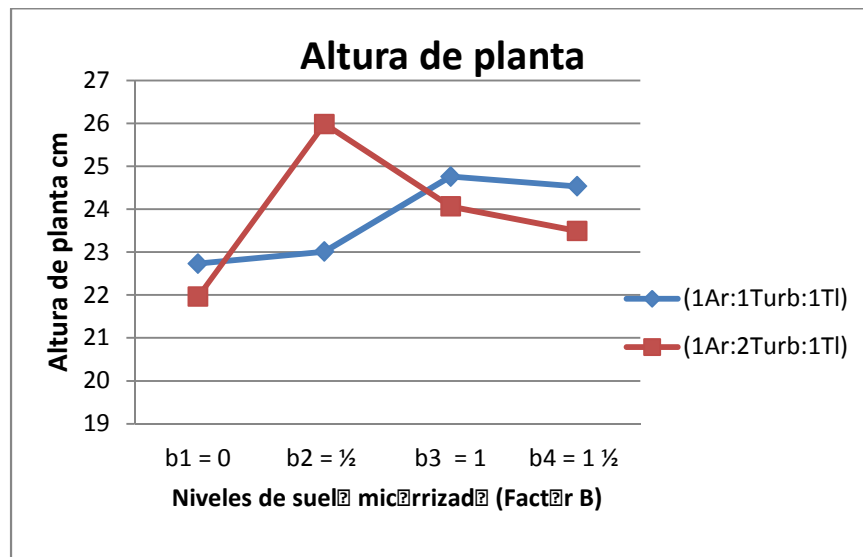


Grafico 6. Efecto de la interacción del sustrato con los diferentes niveles de suelo micorrizado para la altura de planta

Se puede apreciar que los niveles de factor B tienen un comportamiento diferenciado para los dos tipos de sustrato, donde el nivel 2 (1/2 parte) de suelo micorrizado presenta un comportamiento significativamente diferenciado para los dos sustratos utilizados, siendo el sustrato 1 (1Ar:1Turb:1TI) el que menor altura de plantin alcanzó, y siendo el sustrato 2 el que alcanzó una mayor altura.

Reyes (2004), menciona que el incremento de altura en las plantas micorrizadas está influenciado por el transporte de agua y nutrientes, lo cual nos indica que los diferentes niveles de suelo micorrizado y los sustratos permitieron obtener diferentes alturas.

6.5 Diámetro del tallo

Para ver si los sustratos y los niveles de suelo micorrizado mostraron algún efecto sobre el diámetro del tallo se hizo el análisis de varianza con las muestras recolectada por repetición y tratamiento, estos datos se reflejan en el siguiente análisis de varianza.

Tabla 8. Análisis de varianza diámetro de tallo

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,018	0,018	4,50 *	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	0,016	0,005	1,25 ns	3,01	4,72
Interacción AxB	3	0,039	0,013	3,25 *	3,01	4,72
Error Experimental	24	0,107	0,004			
Total	31	0,179				

CV = 4.65 %

Se llegó a determinar que existe diferencia significativa en el factor A (sustratos) y en la interacción A x B (sustratos por niveles de suelo micorrizado). Lo que quiere decir la aplicación de los diferentes sustratos tienen una influencia distinta sobre el diámetro de tallo. Así como también la interacción de los dos sustratos combinados con los cuatro niveles de suelo micorrizado permiten obtener diferentes diámetros.

Para determinar que sustrato fue mejor, se realizó la prueba Duncan que se presenta en la siguiente tabla.

Sustratos	Media (mm)	Duncan ($\alpha = 0.05$)
$a_1 = (1Ar:1Turb:1TI)$	1.39	A
$a_2 = (1Ar:2Turb:1TI)$	1.35	B

Tabla 9. Prueba Duncan para determinar el mejor sustrato para el diámetro de tallo

De acuerdo a la prueba de significancia realizada, el sustrato que mejor diámetro obtuvo fue el a_1 con una media de 1.39 mm, mientras que el sustrato que menor diámetro presentó fue el a_2 con una media de 1.35 mm, siendo recomendado el primer sustrato para obtener un mayor diámetro de tallo.

El diámetro de tallo, es un buen indicador del desarrollo total de una planta porque esta asegura que la planta posea un buen tallo para su sostenimiento y lograr su supervivencia a la hora de trasladarla del vivero al campo definitivo (Reyes, 2004).

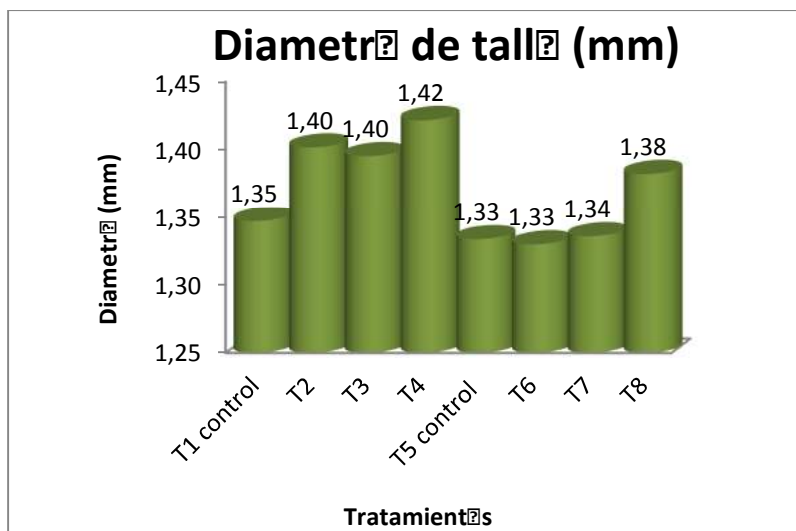


Grafico 7. Diámetro del tallo de las plantas micorrizadas comparadas con el control

T1, T2, T3 y T4 con el sustrato (1Ar:1Turb:1TI); T5, T6, T7, y T8 para el sustrato (1Ar:2Turb:1TI)

En el gráfico anterior se pudo observar que el T1 y T5 que son los controles, es decir los tratamientos que no contienen el suelo micorrizado se ve que fueron los tratamientos que obtuvieron los menores diámetros junto con el tratamiento seis y siete. Además, se ve una clara diferencia en los diámetros en relación a los sustratos utilizados en cada tratamiento.

Para determinar las diferencias presentes en la interacción de los factores en estudio se realizó el análisis de efectos simples para la variable diámetro de tallo.

Niveles de suelo micorrizado	Sustratos	
	(1Ar:1Turb:1TI)	(1Ar:2Turb:1TI)
$b_1 = 0$	5.39	5.34
$b_2 = \frac{1}{2}$	5.61	5.31
$b_3 = 1$	5.59	5.34
$b_4 = 1 \frac{1}{2}$	5.69	5.53

Tabla 10. Totales de diámetro (mm) para la interacción sustratos con niveles de suelo micorrizado.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la interacción se vio necesario la construcción de una tabla de doble entrada para los totales de la interacción de los

sustratos con los niveles de suelo micorrizado, para realizar el análisis de varianza de los efectos simples.

FV	GL	SC	CM	FC	FT (0.05)
Niveles dentro del primer sustrato B (a_1)	3	0.012	0.0041	1.00	3.01 ns
Niveles dentro del segundo sustrato B (a_2)	3	0.008	0.0030	0.75	3.01 ns
Sustrato dentro del primer nivel A (b_1)	1	0.0003	0.0003	0.075	4.26 ns
Sustrato dentro del segundo nivel A (b_2)	1	0.0113	0.0113	2.75	4.26 ns
Sustrato dentro del tercer nivel A (b_3)	1	0.0078	0.0078	2.00	4.26 ns
Sustrato dentro del cuarto nivel A (b_4)	1	0.0032	0.0032	0.75	4.26 ns
Error Experimental	24	0.107	0.0045		

Tabla 11. Análisis de varianza de efectos simples para el diámetro de tallo

Con el factor B en el eje de las x, se puede apreciar que los niveles del factor A tienen un comportamiento similar para los cuatro niveles del factor B. al realizar el análisis de los efectos simples, se encontró no significancia estadística entre los niveles de suelo micorrizado para los sustratos en estudio. Así mismo, tampoco se encontró diferencia estadística entre los sustratos dentro de los cuatro niveles del factor B, es decir que no hay diferencia para los tratamientos en estudio.

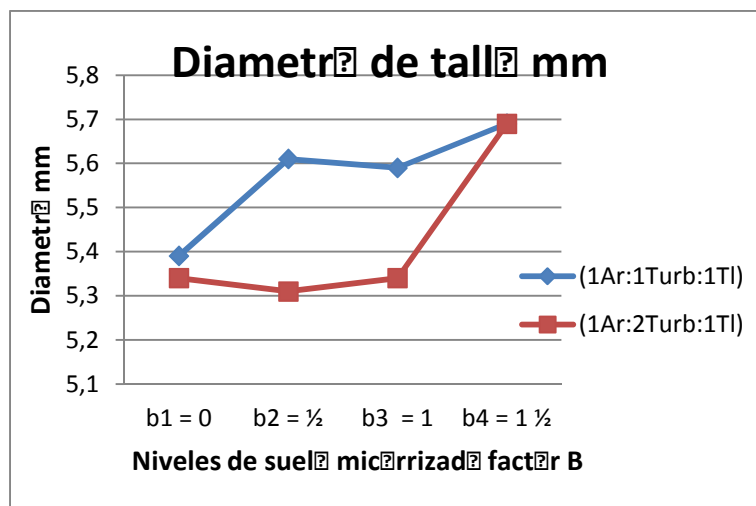


Grafico 8. Efecto de la interacción para el diámetro de tallo.

6.6 Longitud de la raíz principal:

Según el ANVA realizado para la variable longitud de raíz se pudo observar que en el resultado no existen diferencias significativas para los sustratos en estudio, así mismo no se mostró diferencias significativas para los niveles de suelo micorrizado y la interacción de ambos factores en estudio no tienen una influencia sobre la longitud de raíz, eso quiere decir que los tratamientos en estudio permiten obtener estadísticamente una longitud de raíz similar.

Tabla 12. Análisis de varianza para la longitud de raíz

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,45	0,45	0.07 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	9,60	3,20	0,47 ns	3,01	4,72
Interacción AxB	3	21,99	7,33	1,07ns	3,01	4,72
Error Experimental	24	164,76	6,87			
Total	31	196,80				

CV = 18.08 %

Reyes (2004), indica que las plantines que no son inoculados con micorrizas tienden a extender mas su sistema radicular para tratar de mejorar la absorción de nutrientes y agua del sustrato. Por lo tanto esto puede ser una razón por la que los resultados salieron no significativos para los tratamientos, debido aquellos plantines que no contenían el suelo micorrizado tuvieron que extender mas su raíz

6.7 Peso Húmedo de la raíz

El análisis de varianza correspondiente al peso fresco de la raíz del pino radiata, mostró diferencias no significativas para los factores sustratos (A) y niveles de suelo micorrizado (B), también se mostro que no existe diferencia significativa para la interacción A x B, los cual nos muestra que estadísticamente no existen diferencias entre los tratamientos es estudio, esto se refiere a que los diferentes tratamientos permiten obtener un similar peso húmedo en la raíz del pino

Tabla 13. Análisis de varianza para el peso húmedo de la raíz

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,01	0,010	1,67 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	0,01	0,003	0,50 ns	3,01	4,72
Interacción AxB	3	0,05	0,017	2,83 ns	3,01	4,72
Error Experimental.	24	0,14	0,006			
Total	31	0,21				

CV =14.76 %

Castellano y molina (1989), indican que uno de los factores que afectan al desarrollo de las raíces son los contenedores, debido a que estos no dejan crecer, ni desarrollar las raíces laterales, debido a que estas raíces crecen hacia el lado de las paredes de los contenedores. En nuestro caso al utilizar las bolsas de polietileno de alguna forma se pudo inhibir el desarrollo de las raíces laterales o secundarias lo cual afecto en la variable peso húmedo de la raíz,

6.8 Peso húmedo de la parte aérea

El análisis de varianza correspondiente al peso húmedo de la parte aérea, mostro diferencias no significativas para los factores en estudio (A y B). Sin embargo presento diferencias estadísticas para la interacción del factor A (sustratos) y el factor B (niveles de suelo micorrizado), eso quiere decir que cuando los diferentes sustratos son combinados con los niveles de suelo micorrizado permiten obtener un diferente peso húmedo de la parte aérea.

Tabla 14. Análisis de varianza para el peso húmedo de la parte aérea

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,02	0,02	2,00 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	0,08	0,03	3,00 ns	3,01	4,72
Interacción AxB	3	0,11	0,04	4,00*	3,01	4,72
Error Experimental.	24	0,26	0,01			
Total	31	0,47				

CV = 18.51 %

Como el resultado de la interacción mostró una diferencia significativa se vio necesario realizar un análisis de efectos simples, para determinar las diferencias que se presentan en el sustrato por los niveles de suelo micorrizado.

Niveles de suelo micorrizado	Sustratos	
	(1Ar:1Turb:1TI)	(1Ar:2Turb:1TI)
b ₁ = 0	1.92	1.99
b ₂ = ½	2.20	2.28
b ₃ = 1	1.76	2.21
b ₄ = 1 ½	2.32	2.57

Tabla 15. Totales del peso húmedo de la parte aérea para la interacción de los factores

La tabla de doble entrada permitió obtener el análisis de varianza para los efectos simples que se muestra en la siguiente tabla.

FV	GL	SC	CM	FC	FT (0.05)
Niveles dentro del primer sustrato B (a_1)	3	0.049	0.016	1.45	3.01 ns
Niveles dentro del segundo sustrato B (a_2)	3	0.043	0.014	1.27	3.01 ns
Sustrato dentro del primer nivel A (b_1)	1	0.001	0.001	0.09	4.26 ns
Sustrato dentro del segundo nivel A (b_2)	1	0.001	0.001	0.09	4.26 ns
Sustrato dentro del tercer nivel A (b_3)	1	0.025	0.025	2.27	4.26 ns
Sustrato dentro del cuarto nivel A (b_4)	1	0.008	0.008	0.73	4.26 ns
Error Experimental	24	0.260	0.011		

Tabla 16. Análisis de efectos simples para la interacción sustratos entre niveles de suelo micorrizado para el peso húmedo de la parte aérea.

Según los resultados obtenidos se puede apreciar que no existe diferencia significativa entre los niveles de suelo micorrizado frente a los sustratos, como también los sustratos no poseen un efecto con los niveles de suelo micorrizado.

Al ver la grafico 9 se observa líneas paralelas, eso quiere decir que no existe interacción entre los factores de estudio.

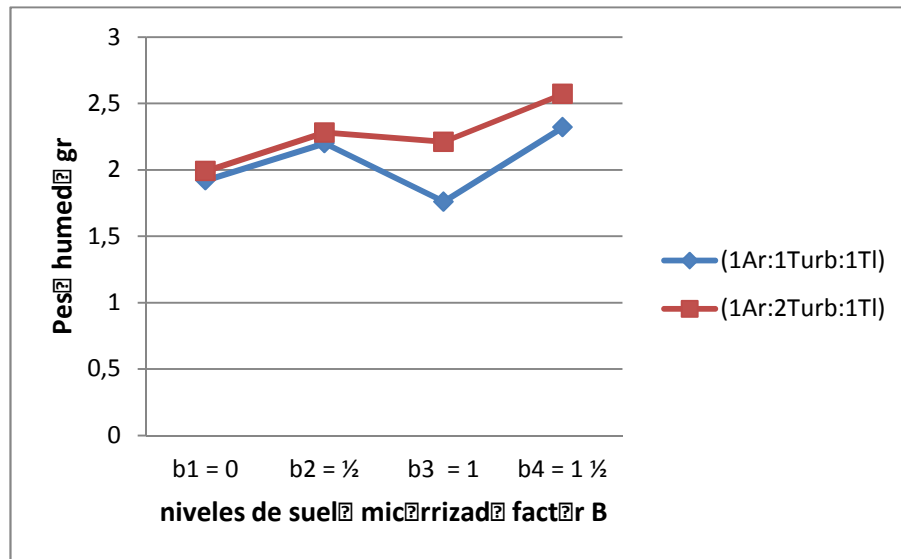
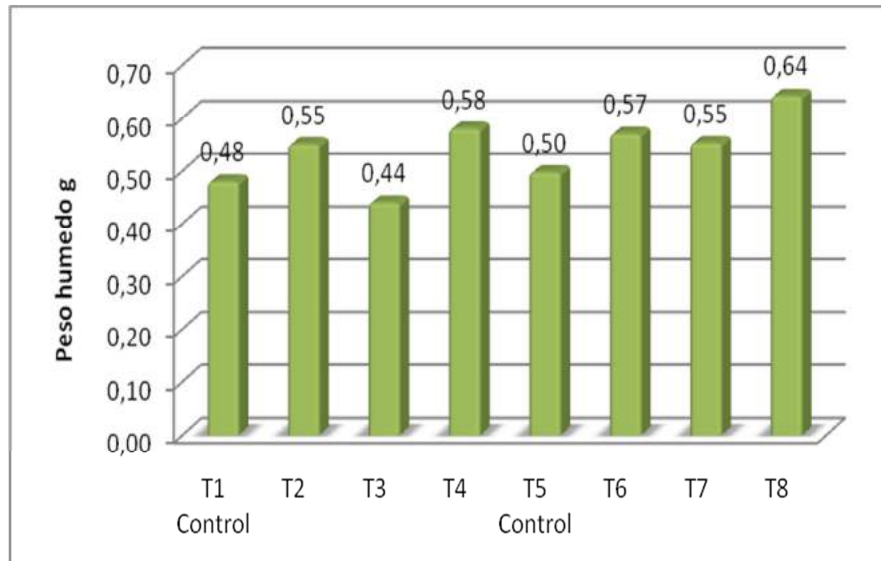


Grafico 9. Efecto de la interacción de los sustratos con los niveles de suelo micorrizado, para el peso húmedo de la parte aérea

Se puede observar que las plantas micorrizadas presentaron mayor peso húmedo, registrándose el mayor peso para el tratamiento ocho con 0.64 g seguido por el tratamiento cuatro con un peso de 0.58 g. estos pesos superan el valor encontrado en los tratamientos control, los cuales registraron un peso fresco de 0.48 g y 0.50 g para el T1 y T5 respectivamente.



Grafica 10. Peso húmedo de la parte aérea de las plantas micorrizadas comparadas con el control.

6.9 Peso seco de la raíz

En la siguiente tabla se muestra el análisis de varianza realizado para los datos obtenidos de la variable peso seco de la raíz.

Tabla 17. Análisis de varianza para el peso seco de la raíz

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0.0001	0.0001	3.33 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	0.0009	0.0003	10.00**	3,01	4,72
Interacción AxB	3	0.0010	0.0003	10.00**	3,01	4,72
Error Exp.	24	0.0006	0.00003			
Total	31	0.0026				

CV = 13.70 %

Según el análisis de varianza correspondiente al peso seco de la raíz, mostro diferencias altamente significativas para el factor B niveles de suelo micorrizado, indicando que los diferentes niveles de suelo micorrizado obtienen pesos secos

distintos en la raíz, así como también para la interacción de los factores en estudio lo cual nos lleva a concluir que los factores no eran independientes, es decir que cuando los sustratos cambian de nivel con el suelo micorrizado se ve un cambio en el peso seco de la raíz.

Debido a que existe alta diferencia estadística en los niveles de suelo micorrizado es preciso realizar la prueba Duncan (0.05) para establecer el mejor nivel a utilizar.

Nivel de suelo micorrizado	Media (g)	Duncan ($\alpha = 0.05$)
$b_4 = 1\frac{1}{2}$	0.046	A
$b_3 = 1$	0.043	A B
$b_2 = \frac{1}{2}$	0.038	B C
$b_1 = 0$	0.033	C

Tabla 18. Prueba Duncan para el peso seco de la raíz

De acuerdo a la prueba Duncan (0.05), se ha llegado a la conclusión de que el nivel b_4 y b_3 ($1\frac{1}{2}$, 1) respectivamente son similares, sin embargo estos niveles han obtenido los más altos pesos secos de la raíz con un promedio de 0.046 g para en cuarto nivel y 0.043 g para el tercer nivel, debido a que los tratamientos que contenían dichos niveles tenían una mayor probabilidad de ser inoculados por los hongos micorrizicos, final mente el nivel b_1 (0 partes de suelo micorrizado) obtuvo el peso seco más bajo con un promedio de 0.033 g este resultado se debe a que los tratamientos que no contenían suelo micorrizado y solamente el sustrato no se beneficiaron con la inoculación de los hongos benéficos y debido a ello no se mostró un mejor desarrollo en las raíces.

Al mostrar diferencias altamente significativas en la interacción de los sustratos por niveles de suelo micorrizado, lo cual nos lleva a concluir que los factores en estudio no eran independientes, eso significa que cuando los sustratos combinados con los diferentes niveles de suelo micorrizado permiten obtener diferente peso seco en la raíz.

Para ver las diferencias presentes en la interacción de los factores en estudio, se realizó el análisis de efectos simples.

Niveles de suelo micorrizado	Sustratos	
	(1Ar:1Turb:1TI)	(1Ar:2Turb:1TI)
$b_1 = 0$	0.14	0.12
$b_2 = \frac{1}{2}$	0.16	0.14
$b_3 = 1$	0.17	0.17
$b_4 = 1 \frac{1}{2}$	0.19	0.18

Tabla 19. Totales del peso seco de la raíz para la interacción de los factores

La construcción de una tabla de doble entrada para los totales de la interacción de los sustratos con los niveles de suelo micorrizado, nos permitirá realizar el análisis de varianza para los efectos simples.

FV	GL	SC	CM	FC	FT (0.05)
Niveles dentro del primer sustrato B (a_1)	3	0.0004	0.0001	3.33	3.01 ns
Niveles dentro del segundo sustrato B (a_2)	3	0.0005	0.0002	6.67	3.01 *
Sustrato dentro del primer nivel A (b_1)	1	0.0001	0.0001	3.33	4.26 ns
Sustrato dentro del segundo nivel A (b_2)	1	0.0001	0.0001	3.33	4.26 ns
Sustrato dentro del tercer nivel A (b_3)	1	0	0	0	4.26 ns
Sustrato dentro del cuarto nivel A (b_4)	1	0	0	0	4.26 ns
Error Experimental	24	0.0006	0.00003		

Tabla 20. Análisis de efectos simples para la variable peso seco de la raíz

Se puede apreciar que los sustratos tienen un comportamiento diferenciado para los cuatro niveles de suelo micorrizado, donde el sustrato 2 (1Ar:2Turb:1TI) presenta un comportamiento significativamente diferenciado en los diferentes niveles de suelo micorrizado, siendo el mayor peso seco de raíz el nivel 4 (1 ½ parte de suelo micorrizado) y el menor peso seco se obtuvo con el nivel 1 (0 partes) de suelo micorrizado.

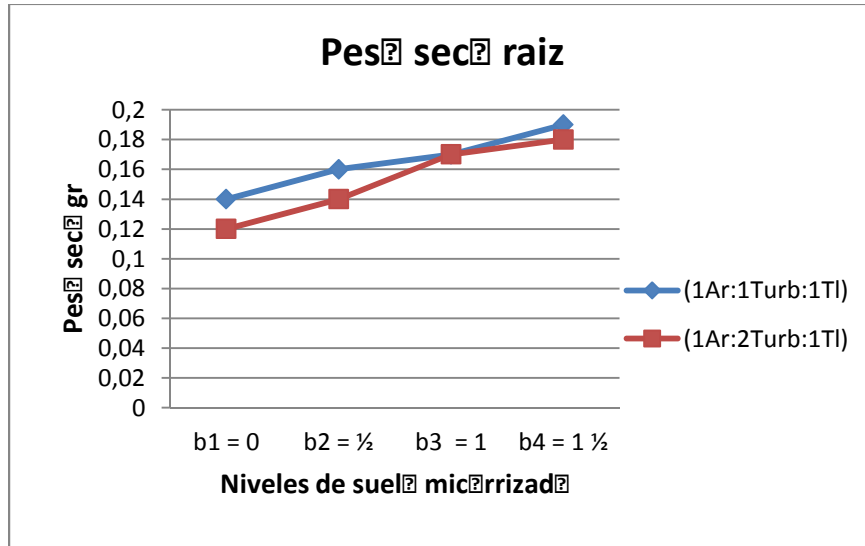


Gráfico 11. Efecto de la interacción de los sustratos con los niveles de suelo micorizado, para el peso seco de la raíz

En el grafico se puede apreciar que si existe interaccion para el segundo sustrato (1Ar:2Turb:1TI) frente a los diferentes niveles de suelo micorizado.

Respecto al peso seco de la raiz, las plantas micorizadas presentaron un mayor peso seco en la raiz que las plantas control, el mayor valor se presento para el tratamiento cuatro con un peso seco de la raiz de 0.05 g mientras que el menor peso fue registrado para el tratamiento cinco con 0.03 g que es el tratamiento que no contiene suelo micorizado.

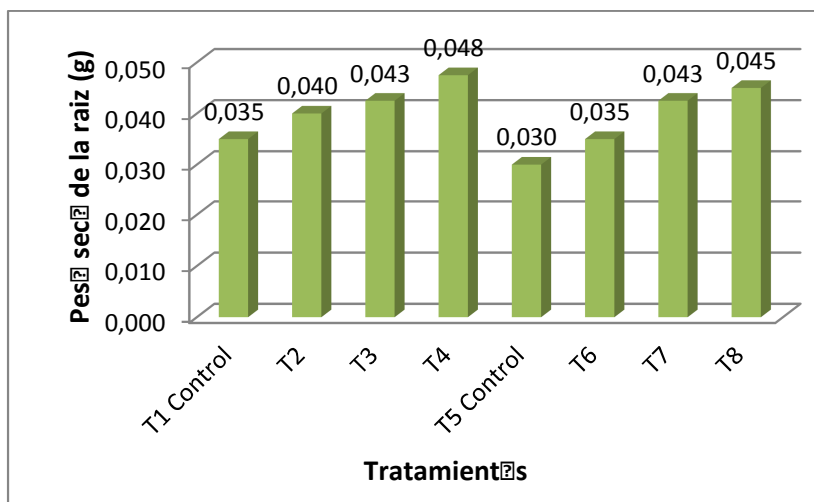


Grafico 12. Peso seco de la raiz de las plantas micorizadas comparadas con el control.

6.10 Peso seco de la parte aérea

En la siguiente tabla se muestra el análisis de varianza realizado para los datos obtenidos de la variable peso seco de la parte aérea.

Tabla 21. Análisis de varianza para el peso seco de la parte aérea

FV	GL	SC	CM	FC	FT	
					0,05	0,01
Sustratos (A)	1	0,002	0,0020	2,86 ns	4,26	7,82
Niveles de suelo micorrizado (B)	3	0,001	0,0003	0,43 ns	3,01	4,72
Interacción AxB	3	0,009	0,0030	4,29 *	3,01	4,72
Error Experimental	24	0,017	0,0007			
Total	31	0,029				

CV = 22.05 %

El análisis de varianza de la variable peso seco de la parte aérea, registro un coeficiente de variación del 22.05 %, indicando que los datos son confiables por encontrarse por debajo del 30 % que es el rango permitido (Ochoa, 2009).

Según los resultados obtenidos del presente análisis de varianza, nos indica que no existe diferencia significativa para los factores de estudio. Sin embargo en la interacción se observa que existe significancia, indicando que los sustratos con los niveles de suelo micorrizado permiten obtener diferentes pesos seco en la parte aérea, mostrando una dependencia entre los factores de estudio.

Al existir interacción entre los factores de estudio es preciso realizar una tabla de doble entrada que permitirá realizar el análisis de efectos simples.

Niveles de suelo micorrizado	Sustratos	
	(1Ar:1Turb:1TI)	(1Ar:2Turb:1TI)
$b_1 = 0$	0.43	0.47
$b_2 = \frac{1}{2}$	0.52	0.44
$b_3 = 1$	0.37	0.60
$b_4 = 1 \frac{1}{2}$	0.48	0.53

Tabla 22. Totales del peso seco de la parte aérea para la interacción de los factores A continuación se muestran los resultados obtenidos debido a la interacción, los cuales son reflejados en la tabla de análisis de efectos simples para la variable en estudio.

FV	GL	SC	CM	FC	FT (0.05)
Niveles dentro del primer sustrato B (a_1)	3	0.0032	0.0011	1.57	3.01 ns
Niveles dentro del segundo sustrato B (a_2)	3	0.0038	0.0013	1.85	3.01 ns
Sustrato dentro del primer nivel A (b_1)	1	0.0002	0.0002	0.28	4.26 ns
Sustrato dentro del segundo nivel A (b_2)	1	0.0008	0.0008	1.14	4.26 ns
Sustrato dentro del tercer nivel A (b_3)	1	0.0066	0.0066	9.43	4.26 *
Sustrato dentro del cuarto nivel A (b_4)	1	0.0063	0.0003	0.42	4.26 ns
Error Experimental	24	0.0170	0.0007		

Tabla 23. Análisis de efectos simples para el peso seco de la parte aérea.

Al realizar el análisis de los efectos simples se encontró no significancia estadística entre los niveles del suelo micorrizado para los sustratos, es decir que no hay diferencia entre los cuatro niveles de suelo micorrizado adicionado para cada sustrato, sin embargo, se encontró significancia estadística entre los sustratos dentro del tercer nivel del suelo micorrizado, es decir que existe diferencias entre los dos sustratos para el nivel tres (1 parte) de suelo micorrizado.

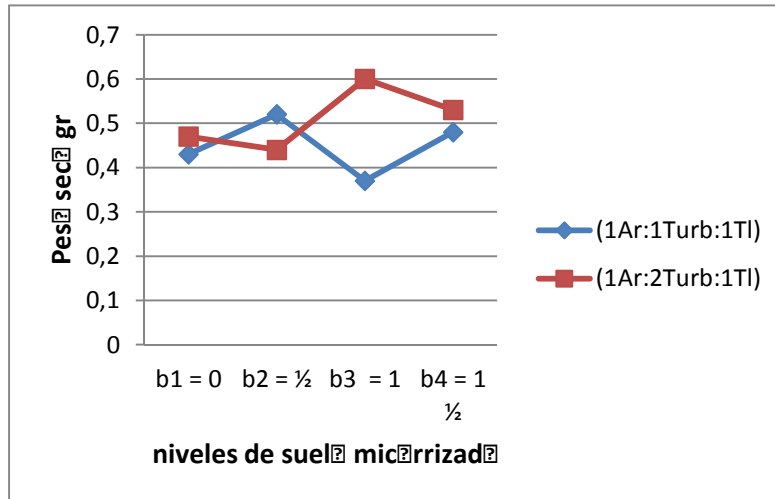
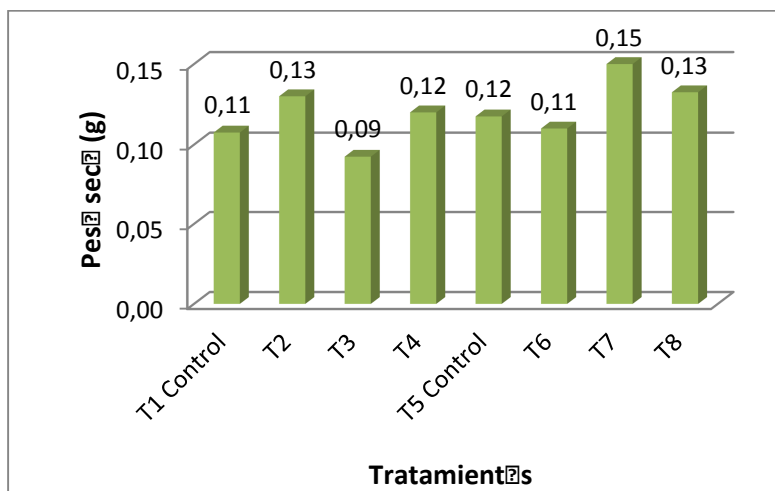


Grafico 13. Efecto de la interacción de los niveles de suelo micorrizado con los sustratos para el peso seco de la parte aérea

Respecto al peso seco de la parte aérea de las plantas micorrizadas, se observa que el mayor valor se encuentra para el T7 con un peso de 0.15 g, mientras que las plantas control T1 y T5 presentaron un peso seco de 0.11g, además el tratamiento tres fue el que registro el peso más bajo con 0.09 gramos.



Grafica 14. Peso seco de la parte aérea de las plantas micorrizadas comparadas con el control.

Debido a la cantidad de nutrientes absorbidos a través de las micorrizas y metabolitos que sintetizan en las mismas, las plantas mejoran su desarrollo foliar y radicular, manifestando así un aumento de peso en las mismas (Reyes, 2004).

7. CONCLUSIONES

En el trabajo de investigación acerca de la respuesta del pino radiata a la aplicación de diferentes niveles de suelo micorrizado y dos tipos de sustrato en etapa de vivero, se llegó a las siguientes conclusiones.

Se rechaza la hipótesis nula ya que los diferentes niveles de suelo micorrizado y los dos tipos de sustratos afectaron en el crecimiento y desarrollo de los plantines de pino radiata.

- Según el análisis realizado al suelo de bosque de pino radiata se pudo evidenciar la presencia de hongos micorrizicos tanto en el análisis de las muestras de suelo como también se pudo observar la presencia de carpóforos alrededor de los pinos que son indicadores de la presencia de ectomicorrizas.
- Respecto a los niveles de suelo micorrizado presentó diferencias significativas para algunas variables de respuesta, siendo recomendable utilizar los niveles $b_3 = 1$ y $b_4 = 1 \frac{1}{2}$ partes de suelo micorrizado donde ambos niveles no muestran diferencia estadística entre ellos según la prueba de significancia por lo cual ambos niveles producen un efecto similar en los plantines de pino.
- Los dos tipos de sustratos que se utilizaron no afectaron de manera significativa para las variables en estudio, a excepción de la variable diámetro de tallo, siendo para esta variable la mejor a utilizar el sustrato uno (1Ar:1Turb:1TI) con un promedio de 1.39 mm de diámetro.
- Al comparar las plantas micorrizadas frente aquellas que no contenían el inoculo, es decir sin el suelo micorrizado en la mayoría de las variables las plantas control mostraron tener la menor altura, diámetro, peso fresco de la parte aérea, peso seco de la raíz y parte aérea. Lo cual nos indica que las plantas micorrizadas mostraron un mejor crecimiento y desarrollo al compararlas con las plantas sin inocular.
- Para la interacción se vio que los factores de estudio son dependientes uno del otro, donde se vio que cuando los sustratos son combinados con los diferentes niveles de suelo micorrizado cambian su comportamiento para las

variables estudiadas. Mostrando en su mayoría mejores resultados al combinar el segundo sustrato (1Ar:2Turb:1TI) con el nivel $b_3 = 1$ y $b_4 = 1 \frac{1}{2}$ partes de suelo micorrizado.

- Para las variables longitud de raíz y peso húmedo de la raíz no se mostraron diferencias estadísticas para los factores en estudio, ni para su interacción. Lo cual puede deberse al diámetro de la bolsa ya que esto puede afectar al desarrollo de raíces secundarias y por ende a la micorrización, ya que los hongos micorrizicos prefieren las raíces secundarias por ser mas tiernas.

8. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones sobre el comportamiento de las micorrizas en plantas de pino a nivel de campo, para determinar su resistencia al trasplante.

Se recomienda realizar trabajos de investigación con diferentes métodos de inóculo para la producción de plantines de pino. Es recomendable realizar el tipo de inoculación por esporas, con los carpóforos que se encuentran debajo de los árboles adultos de pino, para ver si este método resulta mejor para la inoculación de plantines.

Incentivar a la incorporación de inóculos de hongos micorrizicos para la producción de plantines para la obtención de mejores resultados, tanto dentro del vivero como fuera de él, puesto que las plantas micorrizadas tiene una mayor probabilidad de sobrevivencia al trasplante. Además no solamente las micorrizas son propias para especies forestales sino también para frutales u hortalizas, solo que estas están más relacionadas con las endomicorrizas a diferencia de los pinos que se relacionan con ectomicorrizas.

9. BIBLIOGRAFÍA

AGUIRRE, 2013. Maderas Aguirre. Consultado el 18 de junio de 2014. Disponible en http://www.maderasaguirre.com/casetas/pino_insignis.jpg

ARTEAGA, G, Y., 2003. Diseños Experimentales, Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. La Paz – Bolivia, 80 p.

CARRERA, A., LÓPEZ, G., 2004. Manejo y evaluación de ectomicorrizas en especies forestales. Consultado el 19 de julio del 2013. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62910204>

CASTELLANO, M, y MOLINA, R., 1989. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. Volumen 5. Oregon – EEUU, 94 – 149 p.

CUESTA, J, Y JIMÉNEZ, J., sf, Guia Micologica, Boletus pinicola. (Consultado el 17 de septiembre de 2014). Disponible en: <http://www.amanitacesarea.com/boletus-pinicola.html>.

DANS, F; FERNANDEZ, F; ROMERO, A., 1999. Manual de selvicultura del Pino Radiata en Galicia. (Consultado en julio 2007). Disponible en: http://www.agrobyte.com/agrobyte/publicaciones/pinoradiata/cap1_1.html

DELGADO, et. al., 2005. Manejo de viveros forestales publicación FOSEFOR INTERCOOPERATION, COSUDE, La Paz – Cochabamaba – Bolivia. p1 – 20.

FERNÁNDEZ A. Y SARMIENTO A., 2004. El pino radiata. Manual de gestión forestal sostenible. Consultado el 22 de mayo de 2014. disponible en: http://www.jcyl.es/web/jcyl/binarios/548/281/PinoRadiata.pdf?blobheader=application%2Fpdf%3Bcharset%3DUTF-8&blobheadername1=Cache-Control&blobheadername2=Expires&blobheadername3=Site&blobheadervalue1=no-store%2Cno-cache%2Cmust-revalidate&blobheadervalue2=0&blobheadervalue3=JCYL_MedioAmbiente&blobnoche=true

FERREIRA, O., 1985. “Técnica de viveros forestales”. Escuela de Ciencias Forestales Cooperación Hondureña de desarrollo forestal. Publicación Miscelánea. N° 5 Siguateque – Honduras E.S.N.A.C.I.F.O.R. p. 43 – 44.

GOMEZ, F., 2013. Inoculación in vitro de ectomicorrizas comestibles asociados con *Pinus pseudostrobus* Lindl. y *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. Consultado el 19 de julio del 2013. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33024/1/gomezviveros.pdf>

HARLEY, J. SMITH. 1987. Mycorrhizal symbiosis. Academic, Londres, p 268–295.

HIBBETT, DS, M. Binder, JF Bischoff, el señor Blackwell, PF Cannon, la OE Eriksson, S. Huhndorf, T. James, Kirk PM, Lucking R., Lumbsch T., F. Lutzoni, Matheny PB, DJ Mclaughlin, MJ Powell, Pelirrojo S., CL Schoch, JW Spatafora, Stalpers JA, Vilgalys R., Aime MC, Aptroot A., R. Bauer, Begerow D., Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Y.-C. Dai, W. Gams, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G., Hosaka K., Humber RA, K. Hyde, Ironside JE, Kõljalg U., CP Kurtzman, K.-H. Larsson, R. Lichtwardt, J. Longcore, J. Miądlikowska, A. Miller, JM Moncalvo, S. Mozley-Standridge, Oberwinkler F., E. Parmasto, V. Reeb, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L., Sampaio JP, Schüßler A., J. Sugiyama, Thorn RG, Tibell L., WA Untereiner, C. Walker, Z. Wang, Weir A., M. Weiss, White MM, Winka K., Y.-J. Yao y Zhang N. 2007. Un alto nivel de la clasificación filogenética de los hongos. *Investigación Micológica* 111: 509-547.

ISTA,, (2008). Reglas internacionales para el análisis de semillas forestales, la ciencia y tecnología de semillas. Suplemento 21. 160 p.

QUISBERT Q.M., 2009. “Evaluación del manejo integral y parámetros productivos de pollos de engorde de la línea Ross en la estación experimental de Cota Cota”. Tesis de Grado para optar el título de licenciatura en Ingeniería Agronómica. Facultad de agronomía. UMSA. La Paz, Bolivia.

LUCERO, Z., 2007. “Efecto de tratamiento pregerminativos en la germinación y desarrollo de la Chacatea (*Dodonea viscosa*) bajo diferentes sustratos en vivero”. Tesis de licenciatura. Facultad de Agronomía, Carrera de Ingeniería Agronomía – UMSA, La Paz – Bolivia. p. 12 – 22.

MARTÍNEZ, L. B., (2009). Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. 44-54 p.

MENÉNDEZ, V, J., 2009. "Pinus radiata D. Don" Asturnatura.com en línea. Núm. 245, 28/11/2009. Consultado el 19 de junio de 2014. Disponible en <http://www.asturnatura.com/especie/pinus-radiata.html>

NINA, M., 1999. Especies Forestales Potenciales para Plantaciones en Bolivia. Edit. Sagitario. La Paz – Bolivia. 136 p.

OCHOA, R., 2009. Diseños experimentales. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. La Paz – Bolivia. 267p.

REYES, M., 2004. Síntesis de micorrizas en Pinus caribaea con cepas nativas de Pisolithus tinctorius y Scleroderma sp. En contenedor. Consultado el 19 de julio del 2013. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2264.pdf

RODRIGUEZ DEL ANGEL, J., 1991. Métodos de investigación pecuaria. Editorial Trillas. Universidad Antonio Narro. México. 208 p.

RODRÍGUEZ B, OLIVARES A., 2008. guía técnica de reconocimiento de micorrizas. Instituto de ciencias agropecuarias. Hidalgo – Mexico. 21pag.

ROJAS, F. 1996. Botánica sistemática. Texto de enseñanza. Universidad Mayor de San Andres. La Paz, Bolivia. 96 p.

SALAS, E. 2004. Las Micorrizas y su Importancia para el Manejo y Conservación de los Árboles, Universidad Nacional de Costa Rica. Consultado el 31 de julio de 2013. Disponible en: <http://www.una.ac.cr/inis/docs/suelos/Eduardo%20Salas.pdf>

SANTIAGO, M.; ESTRADA, A., 1999. Hongos ectomicorrizogenos y producción de inoculantes para plantas de interés forestal. Consultado el 18 de julio de 2013. Disponible en: http://www.cofupro.org.mx/cofupro/archivo/fondo_sectorial/Tlaxcala/13tlaxcala.pdf

SERVICIO FORESTAL PESCA Y CAZA., 2004. Asistencia técnica para la conservación y multiplicación de especies autóctonas, arbóreas y arbustivas y riveras. Consultado 28 de mayo del 2014. Disponible en: <http://pm2.actinavigation.com/facade/agralia/juntaex.es>

TARIMA, J. 1996. Manuales de vivero (Comunales y familiares), Centro de Investigación Agrícola Tropical. Santa Cruz – Bolivia, p. 81 – 85.

VACACELA, V., sf. Tipos de micorriza. Consultado el 20 de mayo del 2014, disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos-pdf2/tipos-micorrizas/tipos-micorrizas.pdf>

VASQUEZ, J. s.f. Manual silvo agropecuario producción y uso de hongos micorríticos. Tomo 7, fascículo 13.330

WIKISILVA, 2014. Silvicultur 07- Pinus radiata. Consultado el 19 de junio de 2014. Disponible en: <http://silvicultura.wikispaces.com/Pinus+radiata>

VINUEZA M., 2013. Ficha técnica N° 13 (Pinus radiata). Consultado el 17 de junio del 2014. Disponible en: <http://ecuadorforestal.org/fichas-tecnicas-de-especies-forestales/ficha-tecnica-no-13-pino-pinus-radiata/>

ZALLES, T., 1988. Manual anual del Técnico Forestal, Textos de Enseñanza de la Escuela Técnica Superior Forestal, ETSFOR, UMSS – GTZ, Cochabamba – Bolivia, Silvicultura. p. 135 – 139.

ZEBALLOS, M., 2000. Estudio de los cambios en la composición florística, cobertura vegetal y fenología a lo largo de un ciclo anual en el área permanente de Cota Cota – La Paz, tesis de licenciatura, Facultad de ciencias puras y naturales, Carrera de biología – UMSA. pág., 12 – 21.

ANEXO

Anexo 1. Bosque con especies de *Pinus radiata* y *Pinus. pseudostrobus*



Anexo 2. Cuerpos Fructíferos



Anexo 3. Recolección de suelo micorrizado



Anexo .4. Siembra y germinación del *P. radiata*



Anexo 5. Cuerpo fructífero en uno de los plantines



Anexo 6. Distribución de los tratamientos y muestreo



Anexo 7. Plantas de pino

