

ANÁLISIS Y COMENTARIOS

ENDOMICORRIZAS EN VIVEROS

*Susana Schweizer*¹

1. Generalidades

Las raíces de las plantas forman asociaciones simbióticas mutualistas con dos tipos de microorganismos: bacterias y actinomicetos fijadores de nitrógeno (N), principalmente en leguminosas y hongos micorrícicos (micorrizas). Son muy pocas las familias botánicas donde hay especies que no forman micorrizas, tales como las crucíferas, quenopodiáceas y ciperáceas (Barea 2001). Los hongos micorrícicos son habitantes naturales de los suelos, pero su población ha disminuido con el tiempo, fundamentalmente a causa de las prácticas agrícolas y el empleo de plaguicidas (Sieverding 1991). Además la distribución de los hongos en el suelo no es uniforme y hay sitios donde la concentración es muy baja o las cepas presentes son ineficientes. Es en estos casos donde se obtendrían los máximos beneficios al introducir especies seleccionadas.

Hay una íntima relación y dependencia entre los dos simbioses que permite el crecimiento y la sobrevivencia. El hongo encuentra un hábitat biológico protegido, se beneficia de las sustancias carbonadas que le proporciona la planta y a la vez le ayuda en la absorción de nutrimentos, especialmente de los menos móviles, tales como P, NH₄, Zn, Mo, Cu y otros microelementos (Alarcón y otros 2000; Bago y otros 2001). Todas las plantas obtienen beneficios de esta asociación, pero en el caso de la mayoría de las especies arbóreas, con raíces gruesas y pocos pelos absorbentes, la dependencia es mayor (Ferrera-Cerrato y González 1998; Alarcón y Ferrera-Cerrato

2003). El micelio externo de los hongos micorrícicos junto con otros organismos del suelo contribuyen a la sostenibilidad del sistema, ayudan a la estabilidad de los agregados y mantienen la estructura del suelo (Barea 2001).

La más abundante en la naturaleza es la asociación que forman las plantas con los hongos Zygomycetos del orden de los glomales, llamada endomicorriza arbuscular. El hongo (HMA) coloniza la corteza de la raíz sin causar daño y llega a ser parte integrante de ese órgano. La asociación se considera un componente esencial de la sostenibilidad del suelo y se la relaciona con el ciclaje directo de nutrientes (Barea 2001); se cree que puede haber paso de elementos a través de hifas de los HMA desde el material en descomposición hacia la raíz de las plantas micorrizadas (Corredor 1991; Rivera y Guerrero 1995).

En vivero, la práctica de desinfectar los sustratos de crecimiento afecta negativamente la presencia y efecto de los propágulos micorrícicos, por lo que la inoculación con cepas altamente efectivas y competitivas de hongos micorrícicos es de vital importancia para la nutrición de estas plantas (Sieverding 1991; Schweizer y Salas 2005).

2. Efectos

Se ha documentado un incremento en supervivencia, crecimiento y capacidad productiva de la planta cuando está micorrizada.

El aumento del volumen de suelo explorado por la raíz debido al micelio externo mejora la búsqueda y absorción de

¹ Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), Costa Rica.

agua y sales minerales. La inoculación produce además la estimulación del enraizamiento y del crecimiento de las plántulas, la reducción de los requerimientos externos de P y de otros nutrientes; el aumento de la resistencia de las plantas al ataque de patógenos que afectan a la raíz; la tolerancia a condiciones ambientales adversas y la disminución del porcentaje de muerte al realizar el trasplante al campo. Induce la precocidad en el desarrollo, producción uniforme y mayor productividad con menor uso de insumos (Sieverding 1991; Barea 2001; Molina y otros 2005). Los máximos beneficios de la micorrización sólo podrán obtenerse después de una cuidadosa selección de planta, hongo y sustrato.

3. Métodos de inoculación

El método más común consiste en el uso de inoculante con suelo, esporas y raíces a la siembra o al trasplante desde los semilleros a los contenedores o bolsas en vivero. También se pueden sumergir las raíces en una suspensión de agua con raíces cortadas finamente. La inoculación puede hacerse con una especie fúngica o mezcla de ellas. En el caso de los cultivos in vitro se utilizan esporas del hongo previamente desinfectadas. Hay experiencias positivas en inoculación con micorrizas de plantas micropropagadas en condiciones in vitro y post in vitro. Es necesaria una combinación óptima de los simbioses.

4. Factores a considerar

- I. Cantidad, calidad y efectividad del inóculo.
- II. Combinación óptima planta- hongo.
- III. Factores edáficos.
- IV. Aplicación de fertilizantes, especialmente fertilización fosfatada.
- V. Calidad y métodos de desinfección de sustratos.
- VI. Uso de pesticidas alternativos.
- VII. Prácticas culturales.

En vivero es usual pregerminar las semillas en suelo o sustratos esterilizados y después transplantar las plántulas a contenedores o bolsas plásticas, cuando ellas han desarrollado las primeras hojas y algunas raíces. La mejor época para la inoculación suele ser a la siembra o cuando se produce la germinación; también puede realizarse con éxito al momento del trasplante (González y otros 1998). La dosis de aplicación puede variar según la especie del hospedante, siendo un valor medio 400 esporas de HMA por planta. Algunos autores recomiendan de 20 a 40 ml de suelo-inóculo; otros de 1 a 10 g de inóculo que contenga más de 20 esporas/ gramo (Sieverding 1991; Alarcón y Ferrera-Cerrato 2003; Salas y Blanco 2000).

La producción de inóculo de HMA tiene diversas limitaciones. Se debe considerar que los HMA son simbioses obligados. Para crecer y multiplicarse necesitan la presencia de una planta hospedera "trampa". Además, el sustrato de crecimiento que se use para la planta debe permitir una abundante producción de propágulos infectivos (sobre todo esporas y micelio) capaces de provocar la micorrización. Hamel (1996) indica que para el establecimiento de cultivos trampa se puede utilizar suelos nativos; sugiere la mezcla de 2:1 (arena: suelo) y establece una duración del proceso que va de cuatro a cinco meses hasta máximo los ocho meses.

Aunque se conoce que, en el caso de las micorrizas, no hay especificidad estricta entre los organismos simbioses, los efectos entre distintas cepas de hongos son muy diferentes en cuanto a grado de colonización de la raíz y, sobre todo, en la respuesta de la planta a la inoculación; existen «preferencias» o una mejor afinidad compatibilidad entre determinadas parejas hongo/ planta. Por estos motivos es muy importante realizar una selección previa de los ecotipos del hongo más apropiados para la variedad de planta y que beneficien el posterior desarrollo del cultivo. Varios autores hacen hincapié en la necesidad de estudiar el comportamiento

de las poblaciones nativas adaptadas a cada zona en particular (Barea 2001; Salas 2004). Los HMA se pueden comportar de manera diferente según las especies hospederas. El desarrollo de la micorriza puede afectarse además por factores abióticos como propiedades físico-químicas del suelo o variaciones climáticas, factores bióticos como el tipo de comunidad vegetal, interacciones con otros organismos y prácticas antrópicas como niveles de fertilización, tipo de sustrato usado para crecimiento de las plantas y métodos de desinfección de esos sustratos (Molina y otros 2005; Salas 2004). El proceso de inoculación implica determinar las condiciones y técnicas culturales que permitan una óptima manifestación de los efectos buscados (Barea 2001).

5. Modelo de aplicación de endomicorrizas en viveros

Para lograr éxito en la inoculación micorrízica de plantas de vivero, es necesario contar con un inóculo probado, altamente infectivo y capaz de promover el crecimiento, nutrición y sanidad a las plantas.

Se puede producir inóculo en forma masiva de un HMA conocido, dejándolo crecer en asociación con una planta hospedante, para después usar el suelo y las raíces como inóculo. Este procedimiento se llama "cultivo en maceta". En general, las esporas de un HMA específico se obtienen primeramente del suelo natural, se enriquecen por cultivos sucesivos en condiciones controladas, se separan, identifican y esterilizan (pueden usarse también complejos de varios HMA) y se incorporan en un sustrato esterilizado en el que se desarrollará una planta hospedante. A medida que la planta crece, forma micorrizas con el HMA, el que se extiende en el medio de crecimiento y produce abundantes esporas que pueden usarse como inóculo o, más comúnmente todo el sustrato con micelio, esporas y raíces finamente cortadas se usa como inóculo.

El modelo a seguir (Brundrett y otros, 1996; González y otros, 1998), se resume en la Figura 1. Se deben tomar en cuenta los factores mencionados en el punto 4.

A. Obtención de propágulos micorrízicos:

Los hongos micorrízicos se pueden encontrar en los más variados suelos y climas de la tierra. Se puede recoger propágulos tanto de suelos (esporas) como de raíces (hifas, vesículas, arbusculos). Para encontrar la mayor cantidad y diversidad es necesario tomar porciones de suelo cerca de las plantas, que incluyan la zona rizosférica. Se debe considerar que la densidad de población presenta variaciones amplias entre sitios, dependiendo de su uso previo; además se tendrá mayor posibilidad de éxito si se consiguen propágulos de zonas con características edafológicas y ambientales similares a donde se establecerán posteriormente las plantas micorrizadas.

B. Multiplicación de los hongos micorrízicos (HMA)

Las diferentes muestras de suelo y raíces colonizadas recogidas se multiplican en macetas con suelo estéril, utilizando cultivos "trampa", que deben ser micotróficos, de crecimiento rápido y con buena producción de raíces (pastos, sorgo, maíz). Cuenca y otros (2003) recomiendan que estas plantas sean compatibles con un amplio rango de HMA, de fácil manejo de semilla y tolerantes a plagas y enfermedades. Las plantas "trampa" se dejan crecer de tres a cinco meses, se pueden dejar secar para mayor producción de esporas y, por último se desecha la parte aérea, se cortan las raíces en trozos de aproximadamente 1 cm y se incorporan al suelo que contiene la maceta. La mezcla de suelo, raíces y esporas de HMA constituye el inóculo posterior. Esto implica tener una gran diversidad de especies a probar; cada ciclo tarda entre cuatro y seis meses.

C. Aislamiento, selección y caracterización

Después de la multiplicación de los hongos, se procede a la separación de esporas con base en características morfológicas y se desarrollan cultivos puros (cepas) o de complejos (varias cepas). Cada uno de estos aislamientos se inocula en diferentes plantas huéspedes, para realizar la selección de los hongos de acuerdo con los intereses (promoción del crecimiento, protección contra patógenos, engrosamiento del tallo, vigor). Para comparar la eficacia de los hongos en condiciones controladas se realizan bioensayos en invernadero, bajo condiciones similares a la realidad (suelos de diferentes zonas caracterizados, distintos sustratos, entre otras) y los aislamientos seleccionados deben probarse en condiciones de vivero y con la planta huésped que interese, antes de su propagación masiva. Es aconsejable seleccionar hongos tolerantes a un amplio rango de condiciones. Otra variable que es importante determinar es la infectividad de cada cepa. Para esto se mide por observación microscópica la colonización temprana de las raíces con HMA (60 días de la siembra), realizando tinción previa con azul de tripano o Negro Clorazol E (Brundrett y otros 1996). Para obtener un inóculo altamente infectivo de un nuevo aislamiento, se recomienda realizar varios ciclos de cultivos en macetas con plantas huéspedes inoculadas. De esta manera el desarrollo de un inóculo de buena calidad de un nuevo aislamiento de hongos micorrícicos puede llevar varios años.

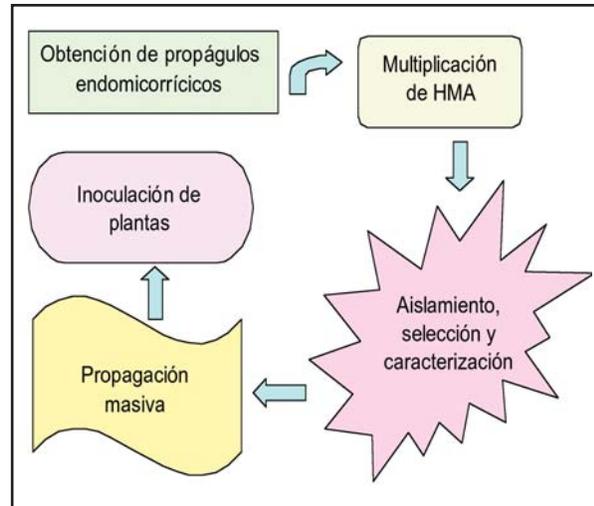


Figura 1. Pasos a seguir para la inoculación con micorrizas de plantas en viveros.

D. Propagación masiva

Después del proceso de selección, se procede a realizar la propagación masiva de los hongos para su aplicación. La producción estará de acuerdo con las necesidades del productor. Se pueden utilizar las mismas plantas “trampa” recomendadas para el proceso de multiplicación. Si estas plantas tienen capacidad de rebrote, ayudan al mantenimiento continuo del inóculo. Posteriormente, es importante realizar pruebas de control de calidad al inóculo.

E. Inoculación de plantas

Los beneficios de micorrizar pueden ser grandes o pequeños, dependiendo de las propiedades de la planta, el hongo y el suelo. Una de las medidas es la dependencia micorrícica de la planta huésped. Plantas con menor producción de raíces finas y pelos absorbentes (arbóreas) se verán más favorecidas con la asociación. Pueden obtenerse mayores beneficios si se incorpora el inóculo a la siembra. El establecimiento de plantas en viveros y almácigos facilita la introducción de hongos micorrícicos efectivos. La mayoría de los árboles (frutales y forestales) cumplen con esta condición y la inoculación puede realizarse en los semilleros y reforzarse en

el momento de trasplante, utilizando pequeñas cantidades de inóculo.

En los semilleros, el inóculo se puede mezclar con el sustrato de germinación o colocar en un surco por debajo de las semillas. En caso de los contenedores o bolsas que se usan para el trasplante en vivero, el método más común es colocar de 1 a 5 g de inóculo en el orificio hecho en el sustrato de crecimiento para el trasplante. También pueden introducirse las raíces en una suspensión de agua, raíces finamente cortadas y suelo-inóculo antes del trasplante. Cuando se trata de plántulas micro-propagadas, se deben inocular con esporas esterilizadas.

Uno de los problemas en la propagación y mantenimiento de los hongos micorrícicos es su condición de heterótrofos obligados. El inóculo compuesto de esporas, suelo donde se desarrolló la planta huésped y segmentos de raíces colonizados, puede mantenerse viable por un período aproximado de un año, almacenado en un recipiente con cierre hermético. Se puede guardar: refrigerando el inóculo húmedo a 4°C o seco al aire, en un lugar fresco.

Si bien la inoculación directa en campo, por la cantidad de inóculo necesaria es prácticamente imposible, el uso de la tecnología micorrícica en semilleros y viveros puede ser altamente redituable y amigable con el ambiente.

AGRADECIMIENTO

A la Ing. Rocío Bejarano por su colaboración en la corrección del trabajo y por sus acertadas sugerencias.

LITERATURA CONSULTADA

- Alarcón, A; González-Chávez, M.C.; Villegas-Monter, A. 2000. Efectos de hongos micorrizógenos arbusculares en la dinámica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa cv. Fern obtenidas por cultivo in vitro. *Terra* 18: 211-218.
- Alarcón, A; Ferrera-Cerrato, R. 2003. Aplicación de fósforo e inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en el crecimiento y estado nutricional de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq. *Terra* 21 (1): 91-99.
- Bago, B; Pfeffer, P; Schachar-Hill, Y. 2001. Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis? *New Phytology* 149: 4-8.
- Barea, J.M. 2001. Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas. (en línea). Granada, España. Consultado 18 feb. 2004. Disponible en <http://www.csic.es/asociaciones>.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T.; Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) Monograph 32, 374 p.
- Corredor, G. 1991. Micorrizas arbusculares: Aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas. *Plant and Soil* 137: 267-274.
- Cuenca, G; De Andrade, Z; Lovera, M. 2003. Preselección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la Gran Sabana. Estado de Bolívar, Caracas, Venezuela. *Ecotrópicos* 16(1): 27-40.
- Ferrera-Cerrato, R.; González, MC. 1998. La simbiosis micorrícica en el manejo de los viveros de cítricos. In: Ferrera-Cerrato, R.; Pérez-Moreno, J. 1998. Manejo de agro-sistemas sostenibles. Textos Universitarios. Universidad Veracruzana. México, p 37-63.
- González Chavez, C.; Ferrera-Cerrato, R.; Pérez Moreno, J. 1998. Biotecnología de la micorriza arbuscular en fruticultura. Universidad Autónoma de Tlaxcala y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 131 p.

- Hamel, C. 1996. Manejo básico de la micorriza arbuscular MA con énfasis en suelos degradados. Medellín, Instituto de Ciencias Naturales y Ecología (ICNE), Universidad Nacional de Colombia, Colombia. 180p.
- Molina, M; Mahecha, L; Medina, M. 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Rev. Col. Cienc. Pec. 18 (2): 162-175).
- Rivera, E; Guerrero, E. 1995. Ciclaje directo de nutrientes a través de endomicorriza. ¿Un complemento del proceso de mineralización? S.N.T.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular - arbuscular mycorrhiza management in tropical agro-systems. Technical Cooperation - Federal Republic of Germany. Eschborn, 371 p.
- Salas, E. 2004. Las micorrizas y su importancia para el manejo y conservación de los árboles del trópico. PDF. 11 p. Consultado el 16 de mayo de 2006. Disponible en: www.una.ac.cr/inis/docs.
- Salas, E; Blanco, F. 2000. Selección de plantas hospederas y efecto del fósforo para la producción de inóculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares por el método de cultivo en macetas. Agronomía Costarricense 24 (1): 19-28.
- Schweizer, S; Salas E. 2005. Inoculación de Citrus volkameriana y Citrumello swingle con hongos micorrizógenos (HMA) bajo técnicas diferentes de desinfección de sustrato. Alcances Tecnológicos. Año 3, No 1: 35-46.