

C I C L O L E C T I V O
S O B R E E L T E M A

"TECNICAS DE INVESTIGACION EN MICORRIZA"

ORGANIZADO POR

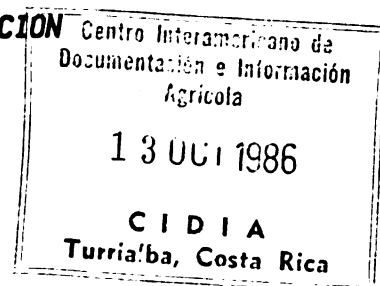
FUNDACION INTERNACIONAL PARA LA CIENCIA "FIC"

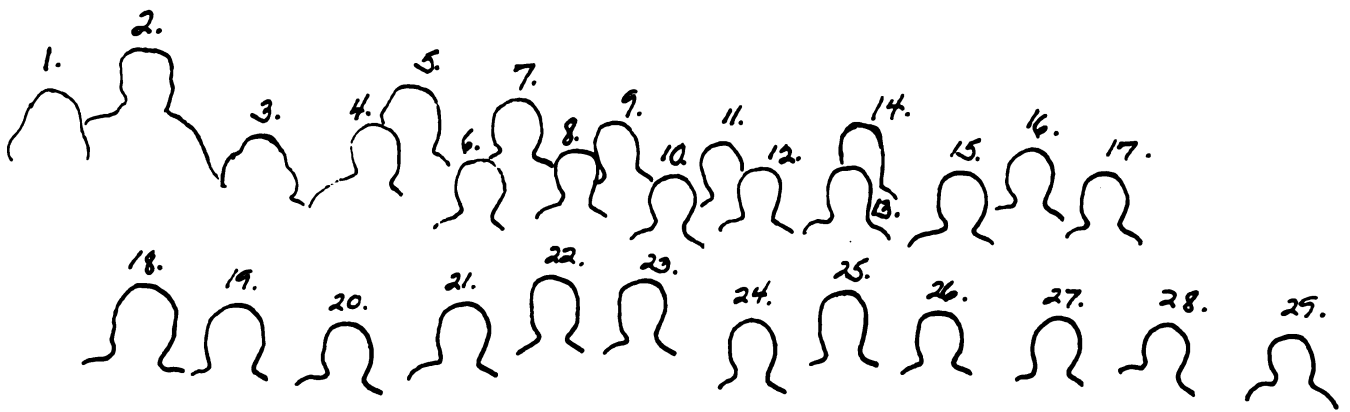
EN COLABORACION CON EL

**CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION
Y ENSEÑANZA (CATIE)**

TURRIALBA - COSTA RICA

18 AL 28 DE SEPTIEMBRE DE 1985





- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1. Silvia Toro | 16. Fernando Borie |
| 2. Ricardo Herrera | 17. Adelaida Chaverri |
| 3. Flory Pereira | 18. Sonia Gonzalez |
| 4. Jacques Gaillard | 19. Maria Ofelia Orozco |
| 5. Ewald Sieverding | 20. Rita Maria Alfaro |
| 6. Maria Isabel Rojas | 21. Edgar Viquez |
| 7. José Miguel Barea | 22. Isabel Alvarez |
| 8. Nilades Bouza | 23. Cecilio Puga |
| 9. Ricardo Russo | 24. Patricia M. de Saco |
| 10. Carmen Ida Infante | 25. Guisela Cuenca |
| 11. David Hayman | 26. Amilcar Gutierrez |
| 12. Elvira Busch | 27. Manuel Quintos |
| 13. Anális Morón | 28. Roberto Ferrer |
| 14. Ricardo Berbara | 29. Bernabé Alvarado |
| 15. Lucia Varela | |



I N D I C E

Introducción	Jacques Gaillard, Fundación Internacional para la Ciencia (FIC)	1
Programa	3
Lista de Participantes	11

CEREMONIA DE INAUGURACION

Alocución a cargo del Dr Eric Cataño, CATIE.....	17
Alocución a cargo del Dr Luis Fournier, CONICIT...	18
Alocución a cargo de Jacques Gaillard, FIC.....	21

SESION I

I:1	David Hayman: "Introducción al estudio de las micorrizas"	25
-----	-----------------------------------------------------------------	----

SESION II

II:1	Ewald Sieverding: "Taxonomía y características de las endogonaceas"	29
II:2	Isabel Alvarez: "Aislamiento y cultivo de hongos ectomicorrícicos"	31
II:3	Sonia González: "Estudios sobre las asociaciones micorrícicas en <u>Glycine Max</u> (L.) Merr, y <u>Pinus Elliottii Engelm</u> "	39
II:4	Ricardo Berbara: "Infección micorrícica en 8 especies de leguminosas usadas como abono verde" ..	55
II:5	Fernando Borie: "Fósforo orgánico y micorrizas 'VA' en suelos volcanicos de Chile"	65

SESION III

- III.1 David Hayman: "Ecología y distribución de endo-
micorrizas85
- III:2 José Miguel Barea: "Interacción de los hongos
formadores de MVA con microorganismos beneficio-
sos del suelo, especialmente con *Rhizobium* spp. ...91
- III:3 Silvia Toro: "Estudio sobre la presencia de los
hongos formadores de MVA en la caña de azúcar
(*Saccharum* spp.) en el Valle del Cauca, Colombia ..93
- III:4 Bernabé Alvarado: "Asociación micorrícica de los
hongos *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp. con *Euca-
lyptus saligna*"107
- III:5 Adelaida Chaverri: "Ensayo de inoculación de
plántulas de Roble Copey (*Quercus Copeyensis*
Muller) con suelo micorrícico en condiciones de
invernadero (Resultados preliminares)"111

SESION IV

- IV:1 Isabel Alvarez: "Producción y manejo de inóculo.
Técnicas de inoculación con MEC"131
- IV:2 Ewald Sieverding: "Interacción de los hongos MVA
con microorganismos patógenos y efectos de los
pesticidas"137
- IV:3 Manuel Quintos: "Inoculación de *Pisolithus*
tinctorius en la producción de plántulas de
pino en el Estado de Durango, México"139
- IV:4 Lucia Varela: 1. "Potencial de micorrización de
algunos suelos marginales del Estado de Oaxaca,
México"143
2. "Identificación de hongos MVA aislados de algunos
suelos marginales"147
- IV:5 Carmen Ida Infante: "Estudio de la asociación MVA
Rhizobium en *Phaseolus vulgaris*, L. (frijol común)
.....151

SESION V

V:1	José Miguel Barea: "Ensayos de invernadero previos a experiencias de campo y ensayos de campo propiamente dichos"	161
V:2	David Hayman: "Principios y metodología para la producción de inóculo y técnicas de inoculación en el campo de MVA"	163
V:3	Ricardo Herrera: 1. "Estrategia nutricional de los bosques tropicales: La estera radical y las micorrizas VA".....	167
	2. "Método para determinar la biomasa de micelio extramático VA"	197
V:4	Nilades Bouza: "Perspectivas para la utilización de las MVA en el cultivo de los cítricos en Cuba"	209
V:5	Ewald Sieverding: "Resultados de la investigación en el CIAT, sobre la utilización práctica de la MVA"	235
V:6	Isabel Alvarez: "Aplicaciones de las MEC en la práctica forestal"	237

SESION VI

VI:1	David Hayman: "Interacciones planta-hongo-suelo"	245
VI:2	José-Miguel Barea: "Fisiología de la simbiosis MVA"	249
VI:3	Maria Ofelia Orozco: "Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical"	251
VI:4	Roberto Ferrer: "Dependencia micorrícica de <u>Hibiscus elatus</u> Sw. y <u>Cedrela mexicana</u> M.J. Roem cultivadas en condiciones de vivero"	272
VI:5	Amílcar Gutiérrez: "Situación actual de la investigación en micorriza en Guatemala y perspectivas futuras"	285

SESION VII

- VII:1 **Gisela Cuenca:** "Las micorrizas VA del cafeto (Coffea arábica) y su papel en el ciclo de nutrientes en un cultivo de café bajo sombra" 291
- VII:2 **Rita María Alfaro:** "Insectos parásitos de hongos micorrícicos"303
- VII:3 **María Isabel Rojas:** "Variación temporal de biomasa de carpóforos en un robledal de montaña en Costa Rica (datos preliminares)"309
- VII:4 **Cecilio Puga:** "Efecto de micorrizas vesículo-arbuscular en la competencia de maíz y maleza en Panamá"327
- VII:5 **Flory Ruth Pereira:** "Influencia de la micorrización VA y de Rhizobium sobre Cajanus cajan (L.) Millps (Frijol Gandul)"347
- VII:6 **Analís Morón:** "Efecto de la adición de fosfato sobre el crecimiento y nutrición de Solanum sp y el establecimiento de la micorriza VA".....357

SESION VIII

- VIII:1 **Patricia Moreno:** "Efecto de la inoculación de micorrizas de tipo vesículo-arbuscular en el crecimiento y nutrición de papa (Solanum sp.)361
- VIII:2 **Ricardo A. Herrera:** "Las micorrizas VA como ayuda para la repoblación forestal en Cuba"377
- María Valvés:** "Sobrevivencia y crecimiento de pinos con ectomicorriza específica después de tres años en un sitio altamente erosionado"409
- Discurso de Clausura**
Jacques Gaillard, Secretario Científico de la
Fundación Internacional para la Ciencia (FIC)
.....425

INTRODUCCION

La Fundación Internacional para la Ciencia "IFS", seleccionó la investigación sobre micorrizas como una área de estudio prioritaria, cuando dió comienzo a su programa de becas en 1974.

Se han otorgado más de sesenta becas a investigadores en el campo de Reforestación y Micorrizas durante el periodo de 1974 a 1984.

Debido al frecuente aislamiento y difíciles condiciones de trabajo enfrentadas por algunos investigadores, la IFS no solo provee ayuda financiera, sino que también se organizan cursos de trabajo como el Ciclo Lectivo sobre el tema Técnicas de Investigación en Micorriza, organizado por la IFS en colaboración con el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza "CATIE, Turrialba, Costa Rica, del 18 al 28 de septiembre de 1985.

Este Informe Provisional presenta todos los trabajos presentados durante el evento. El contexto de estos documentos son diferentes, dependiendo de la experiencia relativa de cada participante. Las charlas dadas por los Asesores Científicos están presentadas en forma resumida, conteniendo referencias.

El tiempo disponible para este evento fue dividido entre disertaciones de los Asesores Científicos y presentaciones de proyectos de investigación de los participantes, principalmente durante las mañanas, dedicando las tardes a las prácticas. Se dedicó mucho tiempo, así mismo, tanto a discusiones entre participantes, como a discusiones entre estos y los asesores.

Se organizó una excursión de dos días, durante la cual se visitó tres diferentes bosques de roble, un robledal, una turbera, y un páramo, cerca al Cerro de la Muerte, con el objeto de recolectar muestras a usarse durante las prácticas. Se realizaron también visitas al Parque Nacional del Volcán Poás y a la Reserva Biológica de Carara, y un descanso bien merecido en el Hotel Jacó Beach en la Costa del Pacífico. Tuvimos, así mismo, una muy interesante gira de campo por el CATIE, realizada durante el último día del ciclo lectivo.

El evento tuvo mucho éxito en diferentes aspectos. Posiblemente el más importante es la interacción mutua entre los participantes y los asesores, así como las diferentes discusiones que permitieron que cada participante exponga en detalle los problemas confrontados en su trabajo de investigación, recibiendo de este modo sugerencias y guía invaluable de los asesores científicos. Otro muy importante resultado es la formación de la Sociedad Latinoamericana de Micorrizólogos, y la elección de su primer Presidente, hecho que permitió cerrar con broche de oro el evento.

Es de esperar que esta reunión científica sirva para incrementar el número de becarios latinoamericanos de la IFS en el campo de la investigación sobre micorrizas, y que de esta forma se promueva el desarrollo de esta nueva ciencia en la América Latina.

Se hace llegar los sinceros agradecimientos a los asesores científicos por el entusiasmo voluntario en el trabajo que se les encomendó, y por su valiosa contribución al éxito del evento. Así mismo, al CATIE y a sus miembros por toda la colaboración en la organización local del evento, y finalmente a Elvira Busch por su activo aporte al desarrollo del mismo y a la preparación de esta edición que ahora presentamos.

Jacques Gaillard

P R O G R A M A

CICLO LECTIVO SOBRE EL TEMA
" TECNICAS DE INVESTIGACION EN MICORRIZA "

Organizado por la Fundación Internacional para la Ciencia
"IFS" en colaboración con el Centro Agronómico Tropical de
Investigación y Enseñanza (CATIE)

TURRIALBA, COSTA RICA 18-28 Septiembre de 1985

Martes 17	Llegada de los participantes
Miércoles 18	
7:30 - 8:00	Presentación de los participantes
8:00 - 9:15	Ceremonia de apertura
	Dr. Eric Cataño CATIE
	Dr. Luis Fournier CONICIT
	Dr. Gerardo Budowski CATIE
	Ing. Jacques Gaillard Secretario Científico IFS
9:15 - 9:45	Receso y café
9:45 - 10:00	Presentación del CATIE Dr. Germán A. Sánchez.
10:00 - 10:30	Presentación general del curso José Miguel Barea
10:30 - 11:30	Introducción al estudio de las micorrizas. David Hayman
11:30 - 13:00	Almuerzo: Cafetería CATIE
13:00 - 15:00	Prácticas: "Extracción, cuantifi- cación e identificación de espor- ras"
15:00 - 15:30	Receso y café

15:30 - 17:00

Prácticas: (Continuación)

18:00

Cena: Club Internacional CATIE

Jueves 19

7:30 - 8:30

Taxonomía y características de
las endogonaceas
Ewald Sieverding

8:30 - 9:30

Aislamiento y cultivo de hongos
ectomicorrícicos
Isabel Alvarez

9:30 - 10:00

Receso y café

10:00 - 10:45

"Estudios sobre las asociaciones
micorrícicas en Glycine max (L)
Merr. y Pinus elliotii Engelm"
Sonia González

10:45 - 11:30

"Infección micorrícica en ocho
especies de leguminosas usadas
como abono verde"
Ricardo Barbara

11:30 - 13:00

Almuerzo: Cafetería CATIE

13:00 - 13:45

"Fósforo orgánico y micorrizas
'VA' en suelos volcánicos de
Chile"
Fernando Borie

13:45 - 15:30

Prácticas: "Extracción, cuantifi-
cación e identificación de esporas"

15:30 - 16:00

Receso y café

16:00 - 17:30

Prácticas: (Continuación)

18:30

Cena: Club Internacional CATIE

Viernes 20

7:30 - 8:30

Ecología y distribución de endo-
micorrizas
David Hayman

8:30 - 9:30	Interacción de los hongos formadores de MVA con microorganismos beneficiosos del suelo, especialmente <u>Rhizobium</u> spp. José Miguel Barea
9:30 - 10:00	Receso y café
10:00 - 10:45	"Estudio sobre la presencia de los hongos formadores de micorriza VA en la caña de azúcar (<u>Saccharum</u> spp.) en el Valle del Cauca, Colombia" Silvia Toro
10:45 - 11:30	"Asociación micorrícica de los hongos <u>Hygrophorus</u> sp. y <u>Pisolithus</u> sp. con <u>Eucalyptus saligna</u> " Bernabé Alvarado
11:30 - 13:00	Almuerzo: Cafetería CATIE
13:00 - 13:45	"Ensayo de inoculación de plántulas de roble copey (<u>Quercus copeyensis</u> Muller) con suelo micorrícico en condiciones de invernadero (resultados preliminares)" Adelaida Chaverri
13:45 - 15:45	Prácticas: "Tinción de raíces y valuación de la infección"
15:45 - 16:15	Receso y café
16:15 - 17:30	Prácticas: (Continuación)
18:30	Cena: Club Internacional CATIE
Sábado 21	Excursión
06:00	Salida del CEE
06:15	Desayuno Restaurante La Garza Turrialba
07:00	Salida hacia Cerro de la Muerte
09:00 - 12:00	Trabajo de campo
12:00 - 13:00	Almuerzo en el sitio de trabajo

13:00 - 16:00	Visita al volcán Poás
17:00 - 20:00	Salida al Hotel Jaco Beach
21:00	Cena
Domingo 22	
07:30	Desayuno en el Hotel Jaco Beach
08:30	Trabajo con asociaciones de sol/playa/mar/otros...
13:00	Almuerzo en el Hotel
14:00 - 17:00	Visita a la Reserva Biológica "Carara"
17:00	Salida hacia Hotel Irazú
20:00	Cena en el Hotel Irazú
21:30	Regreso al CATIE
Lunes 23	
7:30 - 8:30	"Producción y manejo de inóculo. Técnicas de inoculación con MEC" Isabel Alvarez
8:30 - 9:30	"Interacción de los hongos MVA con microorganismos patógenos y efectos de los pesticidas" Ewald Sieverding
9:30 - 10:00	Receso y café
10:00 - 10:45	"Inoculación de <u>Pisolithus tinctorius</u> en la producción de plántulas de pino en el Estado de Durango, Mexico" Manuel Quintos Escalante
10:45 - 11:30	"1. Potencial de micorrización de algunos suelos marginales del Estado de Oaxaca, Mexico" "2. Identificación de hongos MVA aislados de algunos suelos marginales" Lucía Varela

11:30 - 13:00 Almuerzo: Cafeteria CATIE

13:00 - 13:45 "Estudio de la asociación micorrí-
cica vesículo-arbuscular Rhizobium
en Phaseolus vulgaris, L. (Frijol
común)
Carmen Ida Infante

13:45 - 15:45 Prácticas: "Tinción de raíces y
evaluación de la infección"
(cont.)

15:45 - 16:15 Receso y café

16:15 - 17:30 Prácticas (Continuación)

19:00 Cena: Club Internacional CATIE

Martes 24

7:30 - 8:30 "Ensayos de invernadero previos
a experiencias de campo y ensayos
de campo propiamente dichos"
Jose Miguel Barea

8:30 - 9:30 "Principios y metodologías para la
producción de inóculo y técnicas
de inoculación en el campo de MVA"
David Hayman

9:30 -10:00 Receso y café

10:00 -10:45 "1. Estrategia nutricional de los
bosques tropicales: La estera
radical y las micorrizas VA"
"2. Método para determinar la
biomasa de micelio extramático
vesículo-arbuscular"
Ricardo A. Herrera

10:45 -11:30 "Perspectivas para la utilización
de las micorrizas VA en el cultivo
de los cítricos en Cuba"
Nilades Bouza

11:30 -13:00 Almuerzo: Cafetería CATIE

13:00 -14:00 "Resultados de la investigación en
el CIAT, sobre la utilización
práctica de la MVA"
Ewald Sieverding

14:00 -15:00 "Aplicaciones de las MEC en la
práctica forestal"
Isabel Alvarez

15:00 -15:30 Receso y café

15:30 -17:30 Discusión general sobre las apli-
caciones prácticas de las micorri-
zas

19:00 Cena: Club Internacional CATIE

Miércoles 25

7:30 - 8:30 "Interacciones planta-hongo-suelo"
David Hayman

8:30 - 9:30 "Fisiología de la simbiosis MVA"
José Miguel Barea

9:30 -10:00 Receso y café

10:00 -10:45 "Micorrizas VA, micelio estramá-
trico y otras poblaciones micro-
bianas asociadas a troncos en des-
composición en un bosque tropical"
María Ofelia Orozco

10:45 -11:30 "Dependencia micorrícica de
Hibiscus glatus Sw. y Cedrela
mexicana M. J. Roem cultivadas
en condiciones de vivero"
Roberto Luis Ferrer

11:30 -13:00 Almuerzo: Cafeteria CATIE

13:00 -13:45 "Situación actual de la investiga-
ción en Micorriza en Guatemala y
perspectivas futuras"
Amílcar Gutiérrez

13:45 - 15:15 Prácticas: Exámen del material pro-
pio de los participantes

15:15 - 15:45 Receso y café

15:45 - 17:00 Prácticas (Continuación)

18:00 Cena: Club Internacional CATIE

Jueves 26

- 8:00 - 8:20 "Las micorrizas VA del cafeto (*Coffea arábica*) y su papel en el ciclo de nutrientes en un cultivo de café bajo sombra" Gisela Cuenca
- 8:20 - 8:50 "Insectos parásitos de hongos micorrícicos" Rita María Alfaro
- 8:50 - 9:10 "Variación temporal de biomasa de carpóforos en un robledal de montaña en Costa Rica (datos preliminares)" María Isabel Rojas
- 9:10 - 9:30 Receso y café
- 9:30 - 10:30 "Efecto de micorrizas vesículo-arbuscular en la competencia de maíz y maleza en Panamá" Cecilio Puga
- 10:30 - 11:00 "Influencia de la micorrización VA y de *Rhizobium* sobre *Cajanus cajan* (L.) Millps (Frijol Gandul) Flory Ruth Pereira
- 11:00 - 11:30 "Efecto de la adición de fosfato sobre el crecimiento y nutrición de *Solanum* sp y el establecimiento de la micorriza VA" Análís Morón
- 11:30 - 13:00 Almuerzo: Club Internacional
- 13:00 - 16:00 Práctica y/o discusiones entre participantes y Asesores disertantes
- 16:00 - 16:30 Receso y café
- 16:30 - 18:00 Prácticas y/o discusiones (Contin.)
- 19:00 Cena: Club Internacional CATIE

Viernes 27

- 8:00 - 9:00 "Efecto de la inoculación de micorrizas de tipo vesículo-arbuscular en el crecimiento y nutrición de papa (*Solanum* sp.) Patricia Moreno
- 9:00 - 10:00 "Las micorrizas VA como ayuda para la repoblación forestal en Cuba" Ricardo A. Herrera
- 10:00 - 12:00 Gira de campo por el CATIE
 - Parada 1: Cafetal con sombra de de Poró (*Erythrina poeppigiana*)
 - Parada 2: Cacaotal con sombra de Inga spp.
 - Parada 3: Colección de Pejibaye (*Bactris gasipaes*)
 - Parada 4: Poró asociado con maíz
 - Parada 5: Experimentos de producción de biomasa de *Erythrina poeppigiana* y unidad de cabras
 - Parada 6: "Multiple cropping" con *Gliricidia sepium* y *Erythrina poeppigiana*
 - Parada 7: Experimento central de "La montaña"
 - Parada 8: Visita al "Turrialtico" con vista panorámica del Valle Turrialba
- 12:00 - 13:30 Almuerzo: Club Internacional
- 13:30 - 16:30 Discusiones entre participantes y Asesores disertantes en laboratorio
- 16:30 -17:00 Ceremonia de Clausura
- 17:00 -19:30 Redacción de estatutos. Revisión y elección del presidente de la Asociación Latinoamericana de Micorrizólogos
- 20:00 Cena de Clausura: Club Internacional CATIE

CICLO LECTIVO SOBRE

"TECNICAS DE INVESTIGACION EN MICORRIZA"

organizado por la FUNDACION INTERNACIONAL PARA LA CIENCIA "IFS" en colaboración con el CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (CATIE)

TURRIALBA, COSTA RICA 18-28 SEPTIEMBRE DE 1985

LISTA DE PARTICIPANTES Y TITULO DE EXPOSICION

ARGENTINA

Sonia GONZALEZ
Departamento de Microbiología
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Casilla de Correo 25
1712 Castelar
BUENOS AIRES

"Estudios sobre las asociaciones micorrizicas en Glycine max (L) Merr. y Pinus elliottii Engelm"

BRASIL

Ricardo BERBARA
Universidad Federal Rural do Rio de Janeiro
Departamento de Solos - Kilometro 47
Antiga Rodovia Rio-Sao Paulo
Seropédica - CEP 23460
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

"Infección micorrizica en ocho especies de leguminosas usadas como abonos verdes"

CHILE

Fernando BORIE B.
Facultad de Ingeniería
Universidad de la Frontera
Casilla 54-D
TEMUCO

"Fósforo orgánico y micorrizas 'VA' en suelos volcánicos de Chile"

COLOMBIA

Silvia TORO TRUJILLO
Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT
Apartado Aéreo 6713
CALI, Valle

"Estudio sobre la presencia de los hongos formadores de micorriza vesículo-arbuscular en la caña de azúcar (Saccharum spp) en el Valle del Cauca, Colombia"

Bernabé ALVARADO Z.
Instituto nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente "INDERENA"
MEDELLIN

"Asociación micorrizica de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. con Eucalyptus saligna"

COSTA RICA

Adelaida CHAVERRI
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional
HEREDIA

"Ensayo de inoculación de plántulas de roble Copey (Quercus Copeyensis Muller) con suelo micorrizico en condiciones de invernadero (resultados preliminares)

Rita Maria ALFARO R.
Fundación de Parques Nacionales
Apartado 103 Plaza González Víquez
SAN JOSE

"Insectos parásitos de hongos micorrizicos"

Maria Isabel ROJAS R.
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional
HEREDIA

"Variación temporal de la biomasa de carpóforos en un robledal de montaña en Costa Rica (datos preliminares)

Carmen Ida INFANTE M.
Escuela de Biología
Universidad de Costa Rica
San Pedro de Montes de Oca
SAN JOSE

"Estudio de la asociación micorrizica vesículo-arbuscular Rhizobium en Phaseolus vulgaris, L. (Frijol común)

COSTA RICA (CONT.)

Flory R. PEREIRA P.
Escuela de Biología
Universidad de Costa Rica
SAN JOSE

"Influencia de la micorrización vesículo-arbuscular y de Rhizobium sobre Cajanus cajan (L.) Millsp (Frijol gandul)"

CUBA

Ricardo A. HERRERA P.
Instituto de Botánica
Academia de Ciencias de Cuba
Calzada del Cerro 1257
Cerro, HAVANA 6

1. "Las micorrizas vesículo-arbusculares como ayuda para la repoblación forestal en Cuba"
2. "Estrategia nutricional de los bosques tropicales: La estera radical y las micorrizas VA"
3. "Método para determinar la biomasa de micelio extramático vesículo-arbuscular"

Maria Ofelia OROZCO
Instituto de Botánica
Academia de Ciencias de Cuba
Calzada del Cerro 1257
Cerro, HAVANA 6

"Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical"

Roberto Luis FERRER S.
Instituto de Botánica
Academia de Ciencias de Cuba
Calzada del Cerro 1257
Cerro, HAVANA 6

"Dependencia micorrícica de Hibiscus elatus Sw. y Cedrela mexicana M.J. Roem cultivadas en condiciones de vivero"

Nilades BOUZA S.
Estación Experimental de Cítricos
Ministerio de la Agricultura
Torrientes, MATANZAS

"Perspectivas para la utilización de las micorrizas vesículo-arbusculares en el cultivo de los cítricos en Cuba"

GUATEMALA

Amilcar GUTIERREZ ALVAREZ
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos
Apartado Postal 1545
GUATEMALA

"Situación actual de la investigación en Micorriza en Guatemala y perspectivas futuras"

MEXICO

Manuel QUINTOS ESCALANTE
Laboratorio de Microbiología
Instituto Politécnico Nacional
CIIDIR-IPN-Unidad
Hidalgo No. 120
Vicente Guerrero, DURANGO

"Inoculación de Pisolithus tinctorius en la producción de plántulas de pino en el Estado de Durango, México"

Lucía VARELA
Departamento de Microbiología
Instituto Politécnico Nacional
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
MEXICO 17, D.F.

1. "Potencial de micorrización de algunos suelos marginales del Estado de Oaxaca, México"
2. "Identificación de hongos MVA aislados de algunos suelos marginales"

PANAMA

Cecilio PUGA
Smithsonian Tropical Research Institute
Casilla de Correo 2072
BALBOA

"Efecto de micorrizas vesicular-arbuscular en la competencia de maíz y malezas en Panamá"

PERU

Analís MORON
Universidad Nacional "Federico Villarreal"
La Apacheta 284 San Miguel
LIMA

"Efecto de la adición de fosfato sobre el crecimiento y nutrición de *Solanum* sp y el establecimiento de la micorriza vesículo-arbuscular"

Patricia MORENO de SACO
Departamento de Biología
Universidad Nacional Agraria
Apartado 456
La Molina
LIMA

"Efectos de la inoculación de micorrizas de tipo vesículo-arbuscular en el crecimiento y nutrición de papa (*Solanum* sp)"

VENEZUELA

Gisela CUENCA
Centro de Ecología
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas IVIC
Apartado 1872
CARACAS 1010-A

"Las micorrizas vesículo-arbusculares del cafeto (*Coffea arabica*) y su papel en el ciclo de nutrientes en un cultivo de café bajo sombra"

PARTICIPANTE DE MEXICO PRESENTE MEDIANTE EL ENVIO DE SU MANUSCRITO, QUIEN ESTUVO IMPOSIBILITADA DE ASISTIR AL CICLO LECTIVO POR RAZONES DE FUERZA MAYOR

Maria VALDES
Departamento de Microbiología
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Apartado Postal 4-780
MEXICO D.F.

"Sobrevivencia y crecimiento de pinos con ectomicorriza específica después de tres años en un sitio altamente erosionado"

ASESORES CIENTIFICOS Y DISERTANTES INVITADOS

Isabel ALVAREZ
Consejería de Agricultura y Pesca
Centro de Experimentación Agraria
Villaviciosa
ASTURIAS, España

José Miguel BAREA
Estación Experimental del Zaidin
Departamento de Microbiología
Profesor Albareda 1
Apartado 419
GRANADA, España

David HAYMAN
Soil Microbiology Department
Rothamsted Experimental Station
Harpenden, HERTS
Inglaterra

Ewald SIEVERDING
Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT
Apartado Aéreo 6713
CALI, Colombia

REPRESENTANTES DEL CATIE

Carlos Saenz
Sub-Director CATIE
Turrialba, Costa Rica

Germán A. Sánchez
CATIE
Turrialba, Costa Rica

PARTICIPANTES DEL CATIE - PROYECTO ERYTHRINA

Ricardo Russo
Edgar Viquez
Lori Payne

REPRESENTANTES DE LA SECRETARIA DE LA IFS

Jacques Gaillard
Secretario Científico

Elvira Busch
Asistente

**DISCURSO DE APERTURA A CARGO DE ERIC CATANO
ASISTENTE EJECUTIVO DEL CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE
INVESTIGACION Y ENSEÑANZA (CATIE)**

El Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza me encomendó presentarles la más cordial bienvenida al Ciclo Lectivo sobre Técnicas de Investigación en Micorrizas.

En el CATIE vemos con placer el facilitarles el poder reunirse para hablar, intercambiar ideas y aprender sobre un tema tan actual como es el estudio de las micorrizas. Hoy por hoy el interés general deja de concentrarse en las actividades simbióticas como solución a los limitantes de Nitrógeno, y empezamos a comprender que dentro de la compleja problemática de la agricultura, el fósforo también podría tener una solución de bajo costo, si se llega a manipular los hongos micorrízicos en forma eficiente y real.

Es importante comprender que nuestros países requieren soluciones para hoy, no para mañana. Ustedes, nosotros, tenemos una responsabilidad histórica con nuestros pueblos, de forjar un mañana bueno y bondadoso, que debió existir ayer. Esto implica que nuestros esfuerzos deben estar dirigidos a investigaciones que puedan generar soluciones a corto plazo, de fácil aplicabilidad y al alcance de nuestros pueblos.

Esperamos que tengan una estadía agradable y que ustedes puedan aprender tanto de nosotros como nosotros de ustedes. Queremos que su paso por el CATIE sea activo, que al final del Ciclo podamos presentar a nuestras conciencias un balance positivo y triunfos generales.

**PARTICIPACION DEL DR. LUIS A. FOURNIER O. EN REPRESENTACION
DEL CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y
TECNOLOGICAS DE COSTA RICA "CONICIT" EN EL ACTO DE
INAUGURACION DEL TALLER SOBRE TECNICAS DE INVESTIGACION EN
MICORRIZAS**

Damas y Caballeros:

Es para mí muy honroso y satisfactorio representar al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Costa Rica en este importante evento internacional, el Taller sobre Técnicas de Investigación en Micorrizas. Considero que es este un momento propicio para hacer algunas reflexiones sobre el papel que juega la investigación en el desarrollo integral de las naciones. En especial, deseo referirme a la investigación en relación con los países tropicales del Tercer Mundo.

Existe un grupo bastante considerable de planificadores y de investigadores que consideran que en los países en vías de desarrollo, la investigación debe estar orientada a la solución de problemas prácticos y que para estos países es un lujo la investigación científica y que ésta debe realizarse sólo en los países desarrollados. Por otra parte, hay otro grupo minoritario que opina que la investigación tiene justificación por sí misma, como la búsqueda de la verdad y en esto siguen las palabras del célebre poeta latino, Virgilio, que están grabadas en una pared del vestíbulo del edificio principal de esta institución, el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza "CATIE", que dicen así: "Felix qui potuit rerum cognoscere causas".

Yo personalmente considero que se debe tomar una posición intermedia y estoy plenamente convencido que nuestros países deben realizar tanto investigación científica y tecnológica, claro está, que ésta debe estar orientada a la búsqueda de soluciones a los muchos problemas que aquejan a nuestras sociedades. Esto no quiere decir tampoco, que se deba coartar la vocación de algunos cuya investigación científica no muestre con claridad objetivos de carácter social o económico, es necesario no poder valladares al pensamiento, esto es a todas luces peligroso.

El caso que nos ocupa en esta reunión, las micorrizas, es precisamente un buen ejemplo de un tema en que la investigación básica es fundamental para poder desarrollar una tecnología que permita obtener resultados prácticos en el campo. Y así como éste podríamos citar numerosos ejemplos de problemas que deben ser investigados de una manera integral y en que la ciencia y tecnología, como partes constitutivas de un proceso, la búsqueda del conocimiento, puedan contribuir al bienestar de nuestros pueblos.

Otro aspecto que quisiera recalcar y que de nuevo puede ilustrarse muy bien con el ejemplo de las micorrizas, es la necesidad de formar grupos interdisciplinarios de investigación. El gran dinamismo con que se genera el conocimiento en la época contemporánea, limita mucho la existencia del investigador solitario, el "sabio naturalista" de otras épocas y hace necesario que especialistas de diversas disciplinas aúnen esfuerzos en la búsqueda de soluciones a nuestros problemas. Así en el caso de las micorrizas, podemos ver como trabajan en conjunto taxónomos, fisiólogos, micólogos, agrónomos, forestales y muchos otros especialistas, tratándo de dilucidar esta interesante y sutil relación entr las plantas superiores y los hongos, de cuyo pleno conocimiento se puede derivar en última instancia muchos beneficios prácticos.

Para concluir, al desearles el mayor de los éxitos en este evento, quisiera citar un pensamiento del Dr. José María Castro madriz, fundador de la República de Costa Rica, quien hace más de 140 años, a raíz del establecimiento de la Universidad de Santo Tomás, primera universidad que se fundó en este país, dijo:

"Triste del país que no tome a las ciencias por guía en sus empresas y trabajos. Se quedará postergado, vendrá a ser tributario de los demás y su ruina será infalible, porque en la situación actual de las sociedades modernas, la que emplea más sagacidad y saber, debe obtener ventajas seguras sobre las otras".

Muchas gracias.

DISCURSO DE INAUGURACION
JACQUES GAILLARD

Fundación Internacional para la Ciencia "IFS"

Como representante de la Fundación Internacional para la Ciencia, tengo el placer de darles la bienvenida a este Ciclo Lectivo sobre Técnicas de Investigación en Micorrizas.

Como es de conocimiento general, las asociaciones simbióticas entre raíces de plantas y hongos, las llamadas micorrizas, son de gran importancia para la nutrición y crecimiento de muchos árboles forestales frutales y plantas herbáceas agrícolas, como es conocido después de las primeras experiencias para introducir especies de plantas exóticas en nuevas áreas. En micorrizas existen una gran variedad de estructura morfológica y anatómica, así como de relaciones fisiológicas, dependiendo de la planta receptora, microorganismos asociados y condiciones ambientales. Una comprensión más profunda de la fisiología y ecología de tales asociaciones darían posibilidades más efectivas para la manipulación de estos sistemas por medio de, por ejemplo, inoculación artificial para facilitar el establecimiento de plantaciones, mejora de ritmos del crecimiento, nutrición y cosecha final. Así mismo, permitiría el crecimiento de árboles forestales y plantas agrícolas en suelos que en principio, no son apropiados para ello. Puesto que la micorriza puede mejorar en gran extensión la captación de fósforo por plantas, lo cual es de especial importancia en los trópicos donde el suelo es deficiente en fósforo, el resultado de estos trabajos de investigación puede influir el uso y eficiencia de fertilizantes tanto en agricultura como en forestación.

Por estas razones, la Fundación Internacional para la Ciencia IFS, seleccionó la investigación sobre micorrizas como una área de estudio prioritaria, cuando dio comienzo a su programa de becas en 1974. EL área fue ampliada en 1976 para abarcar, así mismo, problemas de reforestación en general.

Se han otorgado más de 60 becas a investigadores en el campo de Reforestación y Micorrizas durante el período de 1974 a 1984. Más de la mitad de estos becarios están en el Asia, una tercera parte en el Africa y el resto en Latinoamérica. Por medio de una campaña más intensa en Latinoamérica, la Fundación recibe más y más solicitudes de científicos de esta parte del mundo. Es nuestra esperanza, por cierto, que como resultado de este Ciclo Lectivo, se generen de entre los participantes, un número de solicitudes a la Fundación, incrementándose de este modo el número de becarios latinoamericanos en este campo científico. Dos tercios de los becarios llevan a cabo investigaciones sobre micorrizas, estando el interés igualmente dividido entre ecto y endomicorriza. Esta es una corriente reciente; hasta

1980 dominaba el interés por la investigación en ectomicorrizas. La mayor parte del trabajo en ectomicorrizas tiene relación directa o indirectamente con inoculación de pinos exóticos y otras especies forestales en viveros. Si se considera los esfuerzos realizados en los países en vías de desarrollo para reforestar suelos estériles o marginales, se deduce que esta línea de trabajo es de gran interés práctico. Muchos becarios están especialmente interesados en coníferas de fibra alargada. Se trabaja también en la selección del hongo apropiado para las condiciones ambientales del propio país. La meta es introducir especies eficientes, sin introducir patógenos al mismo tiempo, desarrollar técnicas prácticas de inoculación, y mejorar técnicas generales de manejo de viveros.

La mayoría de los proyectos sobre endomicorrizas son estudios sobre la asociación vesículo-arbuscular en plantaciones agrícolas y árboles tropicales. Estas plantaciones y árboles incluyen: cebada, tomates, berenjenas, frijoles, judías, mandioca, algodón, plantasoleaginosas, cacao y gomeros. La introducción de hongos de la endomicorriza eficientes y mejor adaptados en las prácticas agrícolas parece ser posible, tanto en micro-parcelas experimentales como en condiciones de campo, pudiendo proporcionar las bases aplicables a la investigación en micorrizas vesículo-arbusculares.

Cerca de 20 científicos trabajan en proyectos agroforestales. Estos estudian varios sistemas de administración de suelos en los que se cultivaron árboles junto con plantaciones agrícolas para optimizar y mantener plantaciones beneficiosas y estabilidad ecológica. Una vez establecidos estos sistemas tanto el fruto como el árbol deberán ser compatibles y complementarios. La investigación es muy necesaria para mejorar los ecosistemas marginales y empobrecidos.

El resto de los becarios conducen investigación forestal, incluyendo la de ecología del bosque húmedo, mejora genética de especies de árboles de rápido crecimiento, o de las técnicas de propagación vegetativa, reforestación en zonas secas y regeneración de bosques tropicales, después de operaciones de devastación y minería. La mayoría de estos proyectos están localizados en Africa.

Las becas otorgadas por la IFS son modestas (normalmente de no más de 10.000 dólares) que pueden ser otorgadas hasta por cuatro veces por becario. El solicitante debe ser respaldado por una institución en su país, la cual provee un salario y las facilidades necesarias de trabajo. Por lo tanto, los fondos de la Fundación son dedicados a la compra de los instrumentos básicos de investigación, como son equipos, materiales consumibles, literatura.

Debido al frecuente aislamiento y difíciles condiciones de trabajo enfrentadas por algunos investigadores, la IFS no solo provee ayuda financiera, sino que también se organizan talleres de trabajo y ciclos lectivos como en el que ahora participamos, y se realizan esfuerzos para coordinar con

Asesores Científicos que cooperan con la Fundación, visitas dedicadas a dar guía y consejos sobre los proyectos, en el mismo lugar donde se llevan a cabo.

Un evento de gran importancia para becarios activos en investigación sobre micorrizas fue la organización del Taller de Trabajo Internacional sobre Investigaciones en Micorriza Tropical, que se realizó en Kumasi, Ghana en 1978. La Dra. María Valdés y el Dr. Ricardo Herrera, dos de los becarios más antiguos de la IFS, presentes hoy en este Ciclo Lectivo, participaron en el taller en Kumasi. En esa oportunidad, como ahora contamos, con la presencia del Doctor David Hayman, asesor disertante de la Fundación. Ellos pueden ratificar el éxito obtenido en el evento en Kumasi, que sirvió para abarcar y consolidar el reciente conocimiento en la investigación sobre micorrizas en los trópicos, dando prospección al uso práctico de la micorriza y el papel que desempeña. Basándose en los trabajos presentados por becarios y asesores científicos de la Fundación, se publicó un libro bajo el título "Micorriza Tropical" editado por el Profesor P. Mikola en la Oxford University Press, en 1980.

Debido al número limitado de científicos dedicados a la investigación sobre micorrizas en los trópicos, se llegó a la conclusión de que aquellos que están cualificados deben recibir un entrenamiento adecuado para poder llevar a cabo con éxito la realización de su investigación. Se propuso, por lo tanto, la organización de cursos regionales de entrenamiento sobre técnicas de investigación en micorrizas. El primero de ellos efectuó en 1982 en colaboración con la University Pertanian Malaysia (UPM) dirigido a los científicos asiáticos.

El Ciclo Lectivo que hoy nos ocupa es el segundo, dirigido esta vez al Continente latinoamericano. Me alegra constatar que la mayor parte de la gente invitada ha contestado positivamente y se encuentra aquí hoy, en representación de varios países latinoamericanos.

Deseo terminar con este discurso de apertura, agradeciendo al Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza - CATIE, por recibir a la Fundación y a sus invitados y por poner a nuestra disposición sus instalaciones. Quiero dar las gracias a los Doctores Carlos Sáenz, Oscar Campos, Gerardo Budowski, (y al personal de trabajo del Proyecto Erythrina) y muy especialmente al Dr. Germán Sánchez, por haber tenido un papel activo en la preparación local de este evento. Deseo, así mismo, agradecer a los asesores presentes, quienes han dedicado mucho de su tiempo a la preparación de sus disertaciones y prácticas. Debo mencionar que siento sinceramente la ausencia de otro de nuestros asesores, el Dr. Valentín Furlan, quien se vio imposibilitado de asistir debido a razones familiares, pese al gran interés y cooperación demostrados.

Finalmente agradezco a la Sra. Elvira Busch su cooperación en la preparación de este Ciclo Lectivo. Ella

es la persona a quién les ruego dirigirse si tuvieran algún problema durante su estadía en Turrialba, y quién hará lo posible por ayudarles.

Espero sinceramente que la participación de todos ustedes en este Ciclo Lectivo que hoy inauguramos, contribuya al éxito de este.

Una vez más, bienvenidos a este evento, y mis mejores deseos para un buen aprovechamiento.

1. General Introduction

- this year is the centenary of mycorrhiza - word introduced by A.B. Frank in Germany in 1885
- several mycorrhizal meetings this year

2. Morphology/Anatomy

- 4 main types:

(i) ectomycorrhizas

- short, fat rootlets enveloped by fungal sheath
- Hartig net - intercellular network of hyphae
- hyphae extend into soil, sometimes form rhizomorphs
- range of shapes and colours

(ii) orchidaceous mycorrhizas

- infection in orchid protocorms
- intracellular hyphal coils

(iii) ericoid mycorrhizas

- intracellular hyphal coils in the fine hair-roots
- considerable mycelium outside the root

(iv) vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizas

- intracellular arbuscules (for nutrient exchange) and intercellular vesicles (for storage)
- intercellular longitudinal hyphae
- hyphal coils
- appressorium on root surface links internal and external mycelium
- mixed infections of more than one endophyte in nature
- sparse vesicle and hyphal development in some "non-hosts"

(i), (ii) and (iii) improve phosphate uptake; (iii) may also utilize organic N; (iv) utilizes extraradical, complex carbohydrate.

(i) mainly Coniferales, Fagaceae

(iv) most plant families

3. The Mycorrhizal Fungi

The true fungi, Eumycota, are divided into 5 groups, each of which contains mycorrhizal fungi:-

- | | | |
|--------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| generally aseptate | { | Mastigomycotina (zoospores) - <u>Pythium</u>
Zygomycotina (zygospores) - <u>Endogonaceae</u> |
| regularly septate | { | Ascomycotina (ascospores) - <u>Pezizella, Tuber,</u>
Basidiomycotina (basidiospores) - <u>Agaricales, Gasteromycetes, ...</u>
Deuteromycotina (conidia) - <u>Rhizoctonia (Basidio)</u> |

Pythium - limited - VAM reported in Allium spp and apple

Endogonaceae - Glomus, Gigaspora, Acaulospora, Sclerocystis, Entrophospora
- about 100 species form VA mycorrhiza

Pezizella ericae - ^{the} only species so far proved to form ericoid mycorrhiza

Agaricales (Amanita, Russula, Suillus,), Gasteromycetes (Pisolithus, ...), etc.
- 2 to 3 thousand species believed to form ectomycorrhiza

Rhizoctonia - (Fungi Imperfecti)-some strains form mycorrhiza with orchids.

Mycorrhizal fungi are mutualistic symbionts, generally considered to be advanced (balanced) parasites.

The mycorrhizal condition has probably evolved at several different times and places over the past 300 million years. Despite their taxonomic diversity, mycorrhizal fungi function similarly, mainly by enhancing ion uptake by plants. Some ecto and VA fungi can form mycorrhizas on the same plant.

There is little host-endophyte specificity (unlike the Rhizobium-legume symbiosis, for example).

4. Establishment of active mycorrhizal infections

(i) Activation of propagules

- germination of spores
- re-activation of infected root pieces
- mycelial network in soil

(ii) Penetration and initial infection of the host plant

- inoculum potential
- influence of host plant - exudates, tissue compatibility, little specificity
- environmental factors - temperature, light, fertilizers, pesticides, rhizosphere microflora

(iii) Spread of infection in roots

- 3-phase pattern - lag, rapid, constant
- never 100% infection - affected by root compatibility, growth rates, competition
- environmental factors

(iv) Functioning

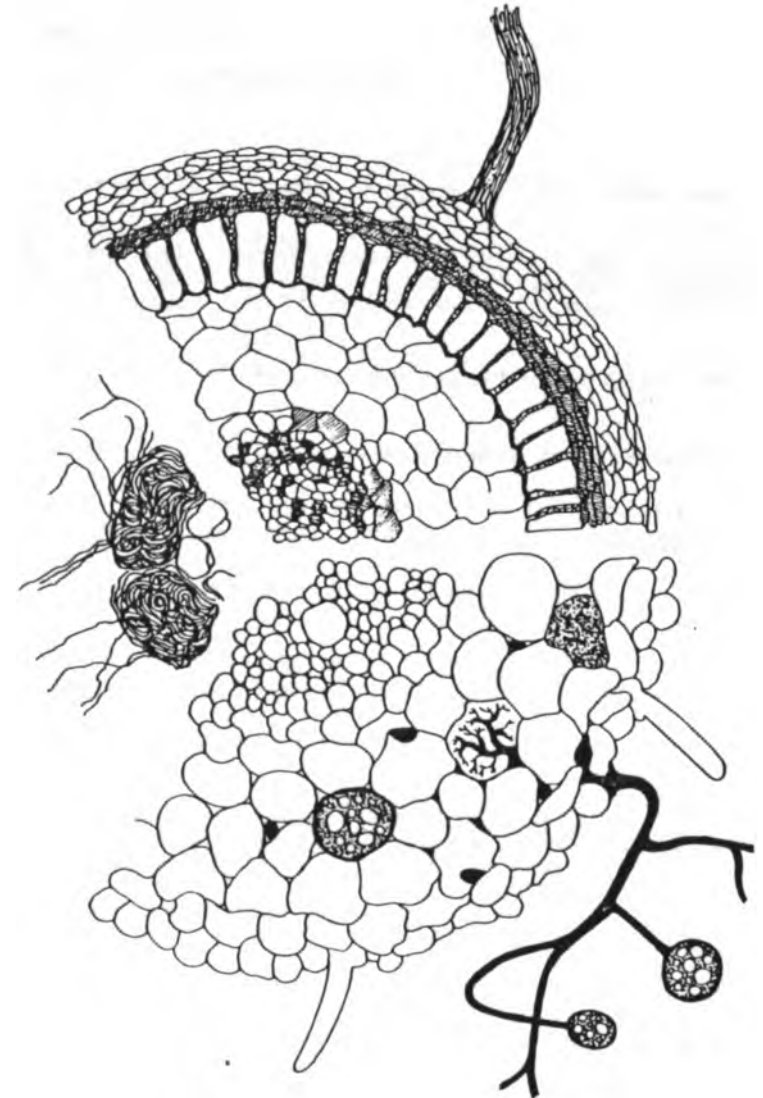
- speed of infection can directly determine the plant growth response
- fungal infectivity and effectiveness are not necessarily correlated

Mycorrhizal research is advancing rapidly in basic and applied areas, as will be described in subsequent lectures.

Mycorrhizal roots in transverse section

ecto-

ericoid



VA

TAXONOMIA Y CARACTERISTICAS DE LAS ENDOGONACEAS

**FOR
EWALD SIEVERDING
Centro Internacional de Agricultura Tropical
Apartado Aéreo 6713
Cali, Colombia**

RESUMEN

La familia Endogonaceae es la única en el orden Endogonales y comprende los géneros Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora, Glomus y Sclerocystis, comúnmente conocido como formadores de micorriza vesículo arbuscular (MVA) y también los géneros Endogone, Glaziella y Modicella que no forman MVA. Dado que hongos MVA no se pueden cultivar en medios artificiales, su taxonomía se basa en la morfología de sus esporas producidas asexualmente. Los mencionados 5 géneros se agrupan en dos grupos, según la morfología de la formación de sus esporas, así: a) Los géneros que producen clamidosporas como Glomus y Sclerocystis con 59 y 8 especies descritas respectivamente, y b) Los géneros que producen zigospotas como Acaulospora con 17 especies, Entrophospora con 2 especies y Gigaspora con 25 especies descritas cada uno.

Todos los géneros se diferencian entre sí por la forma típica de la hifa de soporte de la espora, sin la cual casi no es posible determinar y mucho menos la especie. La identificación de las distintas especies de cada género, se hace con base a las siguientes características morfológicas de las esporas: forma, diámetro, estructura superficial, estructura del citoplasma, número y grosor de las paredes, composición de las diferentes paredes, color de las paredes, la hifa de soporte (inclusive número, diámetro, color etc.), características del esporocarpo (formación, configuración, color, presencia de peridium, etc.), características de las células auxiliares en el caso de las especies del género Gigaspora. Todas las características de las esporas se usan por medio de las claves taxonómicas o las descripciones de cada especie, determinar el género y la especie.

Debe tenerse en cuenta que la multiplicación de hongos desconocidos antes de su clasificación permitirá determinar si en realidad es un hongo formador de micorriza vesículo arbuscular, además de que se dispondrá de más material, con una mayor variabilidad por el mismo ciclo fisiológico del hongo, así como también habrá material disponible aun para consultar a taxonomos.

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE HONGOS ECTOMICORRICICOS

por

ISABEL ALVAREZ
Centro de Experimentación Agraria
Villaviciosa, Asturias

RESUMEN

El propósito de la autora es proveer al lector con la descripción de los métodos más comúnmente usados en el aislamiento y cultivo de los hongos ectomicorrícicos y en la síntesis en cultivo puro de ectomicorrizas. Los métodos presentados aquí son los usados actualmente en el Forestry Science Laboratory, Corvallis, Oregon, por Dr. Trappe y sus colaboradores.

ABSTRACT

The purpose of the author is to provide the reader with a description of the most common methods used in the isolation and culturing of ectomycorrhizal fungi and in the pure culture synthesis of ectomycorrhizae. The methods presented here are those currently used in the Forestry Science Laboratory, Corvallis, Oregon, by Dr. Trappe and his collaborators.

AISLAMIENTO Y CULTIVO DE HONGOS ECTOMICORRICICOS

Aislamientos

Los hongos ectomicorrícicos pueden ser aislados a partir de ectomicorrizas, esporocarpos, rizomorfos, esclerotios u otras estructuras del hongo. En el proceso de aislamiento se deben observar las técnicas más estrictas de asepsia ya que al ser hongos de crecimiento muy lento el peligro de contaminación es muy alto. Cuando se desea obtener cultivos de hongos cuyo spectrum de asociaciones es desconocido es preferible aislar cultivos a partir de esporocarpos ya que éstos permiten la identificación del género y especie del hongo. El aislamiento a partir de ectomicorrizas tiene el inconveniente que la identificación posterior del hongo es sumamente difícil.

Esporocarpos. Los esporocarpos utilizables para aislamientos son los maduros y libres de larvas de insectos. Muestras de estos esporocarpos deben ser depositadas en un Herbarium para referencias futuras.

El aislamiento se hace de los tejidos internos que no han sido expuestos a contaminación. Para ello se hace un corte en la superficie limpia del esporocarpo (si tiene material adherido se quita con un pincel antes de ser el esporocarpo introducido en el laboratorio) y se abre haciendo presión. El tejido interno debe ser expuesto sin que haya tenido contacto con ningún objeto que pueda contaminarlo. Se cortan pequeños trozos de tejido (5 mm) con un bisturí esterilizado a la llama y frío y se transfieren a tubos de cultivo. Cuando se están haciendo cultivos de hongos que no han sido cultivados con anterioridad conviene usar tejidos de distintas zonas del esporocarpo. La experiencia posterior indicará cual es la mejor zona. En hongos con láminas el tejido encima de éstas suele ser la mejor zona y en hongos hipógeos suele ser el centro del esporocarpo. En los primeros aislamientos es también conveniente utilizar más de un medio de cultivo. Generalmente se usa MMN (Modified Melin Nokrans) (Molina y Palmer 1982) y PDA (Potato Dextrose Agar) (Lacy y Bridgman 1962). Por cada especie de hongo se hace entre 10 y 20 aislamientos de uno o más esporocarpos en cada tipo de medio de cultivo. Los tubos se dejan incubar a temperatura ambiente y a los 3-4 días se empiezan a observar en el estereomicroscopio. A los 7 días puede empezar a crecer el hongo micorrícico pero más frecuentemente éstos tardan entre 2 y 6 semanas en crecer. Las observaciones a los 3-4 días permiten identificar los tubos contaminados y éstos deberán ser eliminados del laboratorio sin ser abiertos en ningún momento para impedir su contaminación. Ocasionalmente los cultivos pueden estar contaminados con bacterias sin que la contaminación sea aparente. Para comprobarlo se transfiere un trozo de micelio a MMN líquido, el cual se enturbiará perdiendo su transparencia con el crecimiento de las bacterias. Para limpiar el cultivo de contaminación bacteriana se puede seguir algunas de las estrategias usadas frecuentemente por fitopatólogos. Una de ellas consiste en transferir el cultivo y bajar la temperatura de incubación a 10-15°C. Se transfieren las puntas de crecimiento del micelio a tubos nuevos y se repite el proceso, si es necesario, hasta eliminar la contaminación. Otras estrategias consisten en bajar el pH del medio de cultivo (3-5 gotas de 25% ácido láctico/100 ml de medio) o en añadirle antibióticos (estreptomicina, penicilina).

Se debe tener siempre mucho cuidado que no existan hongos contaminantes que estén enmascarados con el potencial hongo micorrícico. Solamente se deben considerar aquellos hongos aislados que ofrezcan la seguridad de ser el potencial hongo micorrícico. La certeza que el hongo aislado sea micorrícico se obtendrá con la síntesis de micorrizas en cultivo puro.

Ectomicorrizas. Para aislamiento se escogerán micorrizas limpias de partículas de suelo adheridas a su superficie. Se obtienen los mejores resultados con aquellas micorrizas que se forman dentro de pequeños trozos de madera existentes en el suelo forestal. Al no haber estado en contacto directo con el suelo se reduce considerablemente el riesgo de contaminación. Cuando se usan ectomicorrizas provenientes del bosque es necesario hacer un gran número de aislamientos ya que el éxito raramente es superior al 20% y frecuentemente es inferior al 5%. Cuando se utilizan ectomicorrizas provenientes de cultivos de síntesis el aislamiento no es tan dificultoso.

Una vez que se han seleccionado las micorrizas más limpias se procede de la siguiente manera:

- 1- Lavar las raíces en agua corriente para eliminar todo material adherido. Este proceso se puede complementar con ayuda de pinzas y pincel muy fino, en agua, bajo el esteromicroscopio.
- 2- Cortar la parte distal de las ectomicorrizas a unos 4-5 mm y colocar en tubos de plástico perforado.
- 3- Lavar en agua corriente unos 20 minutos.
- 4- Colocar en un agitador unos 10 minutos en solución al 10% de lejía comercial.
- 5- Aclarar con agua destilada.
- 6- Cortar en trocitos de unos 2 mm de largo.
- 7- Poner estos trocitos en una solución al 15% de agua oxigenada.
- 8- Aclarar con agua destilada esterilizada.
- 9- Secar cada trocito en papel de filtro estéril y transferir a tubos de cultivo.

Los tubos de cultivo se incuban y observan de manera similar a los cultivos obtenidos de esporocarpos. El crecimiento empieza a ser observable a unas 2 semanas de haber hecho el aislamiento. Se debe seguir el proceso de crecimiento bajo el microscopio para eliminar todos los cultivos contaminados.

La obtención de cultivos a partir de asco- o basidiosporas es sumamente dificultosa y los fracasos numerosos (ver Shemakhanova 1967). Los resultados positivos se deben casi exclusivamente a Fries quien consiguió germinar esporas de *Amanita*, *Boletus*, *Tricholoma*, *Paxillus* y *Hydnum* en el período 1940-1943 y más recientemente *Laccaria laccata* (1977), *Cantharellus cibarius* (1979), *Lecaninum* (1979) y *Hebeloma* (1980).

Esta área de investigación necesita ser desarrollada en un futuro próximo ya que la falta de conocimientos sobre los factores que afectan la germinación así como la falta de técnicas para determinar germinabilidad de las esporas están impidiendo un mayor desarrollo de su uso en inoculaciones de viveros.

Mantenimiento de los cultivos

Una vez que se han obtenido posibles hongos micorrícicos en cultivo puro es importante conservarlos en una micoteca. A cada cultivo se le dará

un número y se mantendrá una ficha de información en la que se especificará: género y especie de hongo, número de Herbarium correspondiente al esporocarpo del que ha sido aislado, fecha de colección y cultivo, material fúngico del que ha sido aislado, lugar de recolección, descripción del lugar y de especies vegetales asociadas, huéspedes micorrícicos de este hongo que han sido confirmados por síntesis en cultivo puro así como cualquier otra información adicional que pueda ser útil posteriormente: adaptación a sequía, a extremos de pH o de temperaturas, etc. Estos datos deberán ser lo más completos posibles ya que estudios posteriores fisiológicos, ecológicos, taxonómicos y otros requerirán la mayor información posible sobre los cultivos existentes en una micoteca. Estas colecciones son útiles no solamente para los investigadores que las han obtenido sino también para otros investigadores de micorrizas en otras partes del mundo.

Los cultivos de una micoteca deben estar separados de los cultivos con los que se trabaja diariamente. En los laboratorios de Forestry Science Laboratory de cada cultivo obtenido se hacen 4 transferencias a tubos de MMN que se incuban a temperatura ambiente hasta tener la seguridad que el hongo está creciendo. Seguidamente se guardan en un refrigerador a 3°C. Cada investigador necesita adaptar este método a su caso específico ya que algunos hongos necesitan ser transferidos más frecuentemente o prefieren un medio de cultivo distinto al MMN.

Determinados hongos micorrícicos pierden su capacidad de formación de micorrizas después de un período largo de tiempo de crecimiento vegetativo. Para mantener su capacidad simbiótica es necesario periódicamente pasarlos por la planta huésped haciendo una síntesis en cultivo puro y reaislándolos de las ectomicorrizas formadas.

Síntesis de ectomicorrizas en cultivo puro

Una vez que se han obtenido cultivos de posibles hongos ectomicorrícicos se utiliza la técnica de síntesis en cultivo puro para determinar su ectomicorricidad. Resultados positivos permiten afirmar que el hongo es ectomicorrícico, resultados negativos no son determinantes. Esta técnica es sumamente útil para definir la gama de hongos ectomicorrícicos de una especie arbórea o inversamente, la gama de plantas huésped de un determinado hongo ectomicorrícico. Es asimismo útil en estudios fisiológicos de intercambio de nutrientes, hormonas o agua, en estudios de interacciones con patógenos, en efectos de temperatura en la formación de la simbiosis, etc.

Primeramente usada por Melin ha sido mejorada por Bacskaylo, Marx y Zak, y Zak y Molina (Molina y Palmer 1982). La técnica usada por Molina y Trappe en el Forestry Science Laboratory consta de los siguientes pasos: preparación de tubos de síntesis, preparación de inóculo y germinación aséptica de semillas.

Tubos de síntesis. Tubos de ensayo de 38 x 300 mm se llenan con 110 ml de vermiculita y 10 ml de turba. Una vez mezclados se les añade 70 ml de solución MMN, se tapan con vasos de 50 ml y se esterilizan 15 min. a 120°C. El pH final es alrededor de 5. Alternativamente se pueden usar otros contenedores de vidrio (ver anexo para matraces de 2 l).

Inóculo. El hongo se puede introducir como cultivo sólido o líquido. Sólido. Se cultiva el hongo 3-4 semanas en cajas Petri. Entre 2 y 4 cultivos (5-8 mm diámetro) se transfieren asépticamente a la semilla ya germinada en el tubo de síntesis.

Líquido. Se cultiva el hongo 3-6 semanas a temperatura ambiente en 2 x 150 mm tubos con 10-15 ml de solución MMN y con 1 cm de vidrio troceado en el fondo del tubo. Se agita el cultivo semanalmente para romper el micelio del hongo y al final del período de crecimiento se vierte asépticamente el contenido de un tubo en un tubo de síntesis que ya tendrá la plántula dentro.

Si con un mismo hongo se va a inocular varias plantas huésped es más conveniente cultivar el hongo en botellas de vidrio con 150 ml de solución MMN y vidrio troceado. Se procede como se describió anteriormente y al final del período se transfiere asépticamente 10 ml de cultivo a cada tubo de síntesis.

Semillas. El método desarrollado por Zak para la germinación aséptica de semillas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Molina y Palmer 1982) es ampliamente usado para todo tipo de semillas adaptando el tiempo de esterilización superficial y el período de estratificación, cuando éste sea necesario, para cada semilla objeto de estudio (USDA 1974).

Una vez que las semillas han germinado y producido una radícula de unos 2 cm se transfieren a los tubos de síntesis bajo condiciones asépticas. Si las semillas son de crecimiento lento se dejan crecer 1 mes antes de proceder a su inoculación, si son de crecimiento rápido se pueden inocular inmediatamente después de ser transferidas o se puede espaciar la inoculación unos días.

Durante el período de síntesis de micorrizas los tubos están colocados en gradillas sumergidas en agua con circulación constante y profundidad de 12 cm para impedir que se caliente el sustrato, la eliminación de las plantitas es de 15 h. diarias con una combinación de luz incandescente y fluorescente (Molina y Palmer 1982).

Es esencial mantener el más alto nivel de esterilidad en la realización de los procesos descritos, trabajando en un cuarto irradiado por luz ultravioleta o en una cabina de flujo laminar.

Un método alternativo al descrito que puede ser útil en determinadas circunstancias es el "pouch method" desarrollado por Fortin y sus colaboradores (1980).

Nutrición de hongos ectomicorrícicos. Observaciones

La nutrición de los hongos ectomicorrícicos ha sido ampliamente cubierta en la literatura (Bowen 1973, Hacskaylo 1973, Harley y Smith 1983, Palmer 1971, Palmer y Hacskaylo 1970). Aquí solamente mencionaremos algunas observaciones a tener en cuenta en la confección de los medios de cultivo.

Los hongos micorrícicos necesitan para su nutrición carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre y magnesio en cantidades relativamente altas y cobre, zinc, manganeso, molibdeno y hierro en cantidades menores.

El azúcar preferido por la mayoría de los hongos micorrícicos es D-glucosa y por lo tanto la usada en la formulación de los medios de cultivo. Otros compuestos de 6-carbonos no son utilizados por la mayoría de los

hongos micorrícicos y los azúcares de 3-, 4- y 5- carbonos o no son utilizados o el crecimiento en ellos es pobre.

La forma de nitrógeno preferida en la formulación de los medios es nitrato amónico ya que provee al hongo con las dos fuentes de nitrógeno: nitrato y amonio.

Las sales de hierro inorgánicas precipitan cuando el pH es superior a 4. Si se usa Fe Cl₃ en la confección del medio de cultivo conviene recordar que se difusa en el vidrio con el tiempo y por lo tanto no es aconsejable usar esta fuente de hierro en cultivos que vayan a ser almacenados por períodos largos, tal como los cultivos de la micoteca. Para estos usos es preferible suministrar el hierro en forma de sales orgánicas, o inorgánicas si son acompañadas de un ácido orgánico que permita al hierro permanecer en solución. En la formulación de MMN se ha sustituido Fe Cl₃ por sequestrene por esta razón.

La mayoría de los hongos ectomicorrícicos necesitan tiamina (Vit. B₁) para su crecimiento. Algunos necesitan además biotina (Vit. H). Si el hongo que se desea cultivar no ha sido cultivado anteriormente es aconsejable añadir ambas vitaminas al medio de cultivo. Las concentraciones a usar son 1-100 µg/l de tiamina y 5-10 µg/l de biotina. Ambas pueden ser añadidas al medio antes de ser esterilizado.

En cuanto a condiciones ambientales los hongos micorrícicos tienen un óptimo de pH entre 4.5 y 5.0 aunque toleran desde 2 hasta 6 y temperaturas óptimas entre 18°C y 25°C. Son además obligadamente aeróbicos y fotoinactivos.

LITERATURA CITADA

- Bowen, G.D. 1973. Mineral nutrition of ectomycorrhizae. En *Ectomycorrhizae; their ecology and physiology*. Editado por G.C. Marks y T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.
- Fries, N. 1977. Germination of *Laccaria laccata* spores in vitro. *Mycologia* 59:848-850.
- Fries, N. 1979. Germination of spores of *Cantharellus cibarius*. *Mycologia* 61:216-219.
- Fries, N. 1979. The taxon-specific spore germination reaction in *Leccinum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 73:337-341.
- Fries, N. 1980. Spore germination in *Hebeloma* stimulated by living plant roots. *Experientia* 36:1056-1057.
- Hacsakaylo, E. 1973. Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae. En *Ectomycorrhizae; their ecology and physiology*. Editado por G.C. Marks y T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.
- Fortin, J.A., Y. Piche y M. Lalonde. 1980. Techniques for the observation of early morphological changes during ectomycorrhiza formation. *Can. J. Bot.* 58:361-365.
- Harley, J.L. y S.E. Smith. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, New York. 483 pp.
- Lacy, M.L. y G.H. Bridgman. 1962. Potato-dextrose agar prepared from dehydrated mashed potatoes. *Phytopathology* 52:173.
- Molina, R. y J.G. Palmer. 1982. Isolation, maintenance and pure culture manipulation of ectomycorrhizal fungi. En *Methods and principals of mycorrhizal research*. Editado por N.C. Schenck. Amer. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota. 244 pp.
- Palmer, J.G. 1971. Techniques and procedures for culturing ectomycorrhizal fungi. En *Mycorrhiza*. Editado por E. Hacsakaylo. USDA Misc. Publ. 1189. 255 pp.
- Palmer, J.G. y E. Hacsakaylo. 1970. Ectomycorrhizal fungi in pure culture. I. Growth on single carbon sources. *Physiol. Plant.* 23:1187-1197.
- Shemakhanova, N.M. 1967. Mycotrophy of woody plants. *Isr. Program. Sci. Transl., Jerusalem.* 329 pp. (Original en ruso, Izd. Akad. Nauk SSSR Moscú, 1962).
- USDA. 1974. Seeds of woody plants in the United States. *Agric. Handb.* 450. 883 pp.

ESTUDIOS SOBRE LAS ASOCIACIONES MICORRICICAS
EN GLYCINE MAX (L.) MERR, Y.
PINUS ELLIOTTII ENGELM

POR

Sonia González

Departamento de Microbiología, INTA, Castelar
C.C. 25 - 1712 Castelar
Buenos Aires, República Argentina

RESUMEN

Se estudió la presencia de hongos micorrícicos arbusculo-vesicular en soja (Glycine max (L) Merr) en suelos deficientes en fósforo disponible. También se determinó la influencia de diferentes cepas de Bradyrhizobium japonicum sobre la población nativa micorrícica. Todos los cultivares observados y algunas cepas de bradyrizobios estimularon la micorrización.

Respecto a Pinus elliottii Engelm., se estudió una metodología para inocular semillas con hongos ectomicorrícicos (Pisolithus tinctorius y Suillus granulatus). Se evaluó la micorrización cuali y cuantitativamente.

ABSTRACT

In soils with deficiencies in available phosphorus, presence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soybean (Glycine max (L) Merr.) was observed. The influence exerted by different strains of Bradyrhizobium japonicum on native mycorrhizal population was observed too. All cultivars in study had naturally mycorrhizal roots and some strains of bradyrizobia stimulated the mycorrhization. An inoculation methodology of Pinus elliottii Engelm. with ectomycorrhizal fungus (Pisolithus tinctorius and Suillus granulatus) was studied. Qualitative and quantitative evaluations of mycorrhizal pine roots were performed.

INTRODUCCION

La simbiosis tripartita hongo micorrícico-soja-bradyrizobio, es particularmente útil para la leguminosa cuyos requerimientos de fósforo son cubiertos prioritariamente en beneficio de la otra asociación simbiótica con rizobios. Sucesivos estudios han demostrado participación de estos hongos en el proceso de fijación de nitrógeno y se han evaluado, entre otros, incrementos en peso seco de los nódulos y de los vástagos, aumento de la actividad nitrogenasa y nitrato reductasa (Carling *et al.*, 1978; Bagyaraj *et al.*, 1979).

Estos datos derivaron ensayos tendientes a determinar el aprovechamiento del simbiote fúngico para favorecer cultivos leguminosos que se hayan limitados, fundamentalmente por las deficiencias de fósforo disponible en el suelo. En el presente escrito se recopilaron los resultados obtenidos desde 1980 hasta el presente en algunas zonas de cultivo de Glycine max (L) Merr. (soja) cuyos suelos presentaban deficiencias de fósforo. En la República Argentina comprenden gran parte de las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos; hacia el norte u oeste de esta zona hay valores entre moderados a bien provistos o con alguna variabilidad por lo cual se consideran casos aislados de suelos intrazonales.

Las experiencias comprenden la observación cuali y cuantitativa de micorrizas nativas en las zonas citadas y la evaluación en condiciones controladas y en campo del comportamiento de los hongos micorrícicos frente a su co-simbionte, el Bradyrhizobium japonicum.

En otro sentido, la aplicación de inoculantes micorrícicos para árboles forestales es una tecnología que ofrece la posibilidad de mejorar la sobrevivencia de las plántulas e incrementar su crecimiento, incluso respecto a micorrizas formadas naturalmente en el vivero (Marx y Artman, 1979).

En nuestro país son escasos los intentos de inoculación específica y, por tratarse de un tema importante para el mejoramiento de la producción es que estamos interesados en desarrollar metodologías que puedan ser aplicadas por los viveristas. El primer aspecto considerado fue la elección de técnicas que permitan la obtención de micorrizas en plantas de Pinus elliottii Engelm., inoculadas axénicamente con micelio de Pisolithus y Suillus y la adopción de este sistema de inoculación para un ensayo en condiciones de vivero.

Debido a las características diferentes de las asociaciones simbióticas en estudio cada una será descripta por separado.

I. Micorrizas arbusculo-vesiculares en Glycine max (L)Merr.Materiales y métodos

A. Relevamiento de la micorrización en distintas áreas.

Las observaciones se realizaron en ensayos llevados a cabo por Estaciones Experimentales del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) durante la campaña 1980/81. Se muestrearon los cultivares Bragg, Hardee y Hood en lugares con deficiencias en fósforo asimilable. Las características del suelo en cada una se muestran en el Cuadro 1.

Para determinar la presencia de hongos micorrícicos arbusculo-vesiculares (HMAV) se aislaron las esporas fúngicas presentes en el suelo adyacente a las plantas. Se tomaron tres submuestras por unidad de observación de 4-8 cm de profundidad mediante una sonda edáfica y se procedió según la técnica de separación y flotación

Cuadro 1. CARACTERISTICAS DE LOS SUELOS

Lugar	Textura	pH	M.O. (%)	N total (%)	P disponible (ppm)
E.E.A. Misión nes (Misiones)	arcillo limoso	5,1-5,2	2,76	0,195	< 1
Sub-A.E.R. Gov. Virasoro (Corrientes)	franco limoso	4,6-4,7	3,41	0,159	< 1
A.E.R. Santo Tomé (Corrientes)	franco- limoso	5	2,25	0,091	< 1
E.E.A. Concordia (Entre Ríos)	franco- arenoso	3,8-4,0	1,70	0,092	2,8
E.E.A. C. del Uruguay (Entre Ríos)	franco- arenoso	3,9-4,2	1,90	0,098	2
Departamento Microbiología (Castelar)	franco- arcilloso	5,6	1,78	0,193	4,8

(González, 1980) a los fines de poder clasificarlas y enumerarlas. Se las diferenció en base a sus características morfológicas y pigmentarias siguiendo la clave de Mosse y Bowen (1968).

Para cuantificar la colonización micorrícica, las raíces de las plantas (3 por parcela) se cortaron en trozos de 1 cm de longitud. A 1,5 g de raíz fresca se le realizó una decoloración de contenidos celulares vegetales y coloración diferencial de las estructuras del hongo hospedado (Phillips y Hayman, 1970). Luego se calculó el porcentaje de raíz colonizada mediante la técnica de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse, 1980).

El estado fenológico del vegetal fue determinado mediante la aplicación de la clave de Fehr et al (1971).

B. Estudios de interacción con cepas de Bradyrhizobium japonicum

Ensayo en cámara: se tomó suelo del Campo Experimental del Departamento de Microbiología del INTA Castelar, sin población natural de bradyrizobios y cuya características se observan en el Cuadro 1. Se lo mezcló con arena de río lavada y previamente esterilizada en autoclave, en una relación volumétrica de 5:2. Con este soporte se llenaron macetas de barro cocido (20 cm de altura y 9 cm de diámetro) donde se sembró semilla de soja cv Hood 75 desinfectada superficialmente con bicloruro de mercurio al 0,1%. En el momento de la siembra se distribuyó el inóculo rizobial correspondiente (10^5 bradyrizobios por maceta) suspendido en agua destilada. Se realizó un diseño completamente aleatorio con 5 repeticiones por cada tratamiento. Estos fueron los siguientes: 1) testigo sin inocular; 2), 3), 4), 5) y 6) semilla inoculada con B. japonicum cepas E 45, E 97, E 104, E 109 y E 110 respectivamente. El ensayo se instaló a fines de 1982.

El origen de las cepas es el siguiente: E 54: aislada en Las Breñas, Prov. del Chaco, R. Argentina; E 97: es la cepa CB 1809 de la University and Department of Agriculture Service (UDALS), Australia; E 104: perteneciente a la colección del Microbiological Resources Center (MIRCEN), Brasil, número original 587; E 109: enviada bajo el número 2860 por el Department of Scientific and Industrial Research (DSIR), Nueva Zelanda, es la cepa Caldwell 31 IB 138; E 110: corresponde a la estirpe 29 W del Nitrogen Fixation Laboratory (Km 47), Brasil.

Se mantuvo el ensayo en cámara con fotoperíodo regulado, El riego se realizó diariamente con agua destilada al mismo pH del suelo y semanalmente, con 20 ml por maceta con solución nutritiva de Hoagland y Arnon carente de nitrógeno y fósforo (Hoagland y Arnon, 1950).

A los 60 días se hicieron observaciones de nodulación. Los vástagos se llevaron a 105 °C hasta peso constante para obtener datos de peso seco. Para el número de tipo de esporas como así también para el porcentaje de colonización se procedió tal como se refirió antes.

Ensayo de campo: se realizó durante la campaña 1982/83 en el Campo Experimental citado anteriormente, en un diseño de bloques al azar distribuido en parcelas con 5 líneas de 6 m de largo, distanciadas a 0,70 m. El cultivar y los tratamientos fueron iguales a los utilizados en la cámara.

Antes del establecimiento del cultivo y después de la cosecha se obtuvieron muestras de suelo para determinar el número y tipo de esporas presentes. El reconocimiento de los diferentes tipos de esporas fúngicas se hizo de acuerdo a las características morfológicas y pigmentarias (Mosse y Bowen, 1968). Se tomaron 3 sistemas radicales completos de cada parcela para la determinación del porcentaje de colonización que se calculó según se indicó en I. A.

Resultados y discusión

A. Relevamiento de la micorrización en distintas áreas.

Se observó que existen dos tipos de esporas que aparecen más frecuentemente: castaño rojizo laminado y vacuolado amarillo, por lo cual se sugiere que los factores ambientales y del hospedante actúan favoreciendo específicamente la actividad reproductora de estos tipos fúngicos.

Respecto al porcentaje de colonización, éste varió en un rango que oscila entre 44 y 77% (Cuadro 2) lo cual apoya la existencia de un número determinado de sitios de entrada para el hongo en la raíz del vegetal. En el Cuadro 2 puede observarse un paralelismo entre el ciclo de vida del hospedante y del endofito, de manera que las estructuras fúngicas observadas: hifas enrolladas, arbusculos y vesículas, coinciden con las etapas evolutivas vegetales. En los estados reproductivos menos avanzados (R₂ y R₃) existe un mayor porcentaje de vesículas que son órganos de almacenamiento fúngico, en tanto que en estados reproductivos más avanzados (R₅ y R₆) los arbusculos están en su máximo desarrollo, proporcionado al vegetal una mayor superficie de intercambio nutricional.

B. Estudios de interacción con *Bradyrhizobium japonicum*

Se ha comprobado una estimulación por parte de los rizobios sobre los HMAV, debido a la liberación de sustancias extracelulares (Barea y Azcón-Aguilar, 1982). Estas características podrían emplearse para seleccionar especies de HMAV mediante la inclusión de inoculantes rizobiales específicos y además, para lograr un aumento del número de esporas mediante selección y manejo de cultivares leguminosos y cepas de rizobios. Esto es útil debido a que los HMAV aún no son reproducibles "in vitro" y, por lo tanto, no se ha logrado por el momento la producción de inoculante en gran escala.

Cuadro 2: COLONIZACION MICORRIZICA DE LOS CULTIVARES DE SOJA

Cultivar	Lugar	Estado reproductivo	Estruct. observadas			Colonización %
			1 ^a	2 ^a	3 ^a	
Bragg	Cerro Azul	5	8	92	0	55
	Gob.Virasoro	6	16	76	8	44
	Santo Tomé	5	12	89	0	54
	Concordia	2	0	5	96	53
	C.del Uruguay	3	2	17	80	50
Hardee	Cerro Azul	3	5	32	63	54
	Gob.Virasoro	3	22	11	67	53
	Santo Tomé	4	15	12	74	55
	Concordia	6	3	73	24	60
	C.del Uruguay	5	5	85	11	54
Hood	Cerro Azul	5	15	63	22	55
	Gob.Virasoro	6	11	69	20	77
	Santo Tomé	5	13	70	17	65
	Concordia	2	2	9	89	68
	C.del Uruguay	3	10	10	82	70

1^a hifas enrolladas; 2^a arbusculos; 3^a vesículas

En el Cuadro 3 se observan los diferentes parámetros evaluados para determinar diferencias entre las cepas de bradyrizobio usadas en la inoculación. Las que más favorecieron los parámetros considerados fueron E 110 E104 y E 45.

Cuadro 3: RESULTADOS DEL ENSAYO EN CAMARA DE CULTIVO

Tratamiento	Peso seco (g)	Coloniz. (%)	Nº esporas en 100 ml de suelo	Nodulación.
Sin inocular	2,31 a	25 a	42 a	Nula
Inoculado/E45	3,25 ab	38	43 a	Muy Buena
Inoculado/E97	3,34 ab	24 a	40 a	Buena
Inoculado/E104	3,15 a	35	76	Excelente
Inoculado/E109	2,85 a	31	40 a	Buena
Inoculado/E110	4,30 b	46	102	Excelente

Los tratamientos con igual letra no representan diferencias significativas entre sí (P < 0,05).

Respecto al tipo de esporas predominantes, fueron nuevamente castaño rojizo laminado y vacuolado amarillo y otro tipo, sésil méleo que no fue hallada tan frecuentemente en el relevamiento anterior, Ver Cuadro 4.

Cuadro 4: Porcentajes de esporas obtenidas en el ensayo en cámara de cultivo

Tipo de esporas	Sin inocular	Inoculado con las cepas				
		E45	E97	E104	E109	E110
Reticulada bulbosa	0	12	2	6	7	1
Reticulada blanca	2	5	2	1	0	3
Sésil méleo	12	5	25	22	2	6
Vacuolada bulbosa	0	0	0	1	0	0
Vacuolada amarilla	7	29	2	5	10	42
Embudiforme	2	2	7	1	5	1
Castaña rojiza lam.	45	21	35	33	35	14
Pedicelio dilatado	5	7	7	5	7	1
Crenulada	17	5	12	8	12	3
No clasificada	9	14	7	17	20	27

Los resultados en el campo fueron similares a los de cámara pues las tres cepas mencionadas antes estimularon significativamente la colonización radical, en tanto que las estirpes E 110 y E 45 fueron las más eficientes para aumentar el número de esporas, según puede observarse en el Cuadro 5.

Cuadro 5: RESULTADOS DEL ENSAYO EN CAMPO

Tratamiento	Nº esporas luego de cosecha	Colonización radical (%)
Sin inocular	50 a	39 a
E 45	150 b	56 b
E 97	113	42 a c
E 104	75 a	54 b d
E 109	71 a	48 cd
E 110	167 b	61 b

Los tratamientos con igual letra no presentan diferencias significativas entre sí (P<0,05).

CONCLUSIONES

El cultivo de soja es susceptible de ser micorrizado en condiciones naturales en los suelos deficientes en fósforo disponible siendo el rango de colonización entre 44 y 77 por ciento.

Se comprobó una estimulación de la colonización y reproducción micorrízica por determinadas cepas de Bradyrhizobium japonicum

II. Ectomicorrizas en Pinus elliottii Engelm.

Materiales y Métodos

Semillas de Pinus elliottii Engelm, provistas por el Instituto Nacional Forestal de (IFONA) y procedentes de Misiones, fueron estratificadas 15 días a 5°C para iniciar la interrupción de su latencia. Posteriormente se realizó un ensayo sanitario y de germinación siguiendo las Reglas Internacionales para Ensayos de Semilla (Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería s/f). Se tomaron 400 semillas al azar con 4 repeticiones de 100 semillas cada una, distribuidas en cajas de petri en grupos de 10, en un diseño de bloques al azar. Se las hizo germinar sobre papel de filtro, a 24-28°C, expuestas a la luz (5000 lx). Se corroboró la ausencia de microorganismos mediante el agregado de solución nutritiva a las semillas que no manifestaron síntomas visibles de contaminación a los 28 días, incubándolas a 28°C durante 48 horas.

Los parámetros evaluados fueron: porcentaje de contaminación y de germinación, realizándose el primer y el segundo conteo a los 7 y 28 días respectivamente.

Los datos expresados en porcentaje debieron transformarse mediante aplicación de la función "arco sen \sqrt{x} ." Se empleó para la comparación de los datos el análisis de varianza y la prueba de Duncan, con un nivel de significación $P < 0,05$.

Los tratamientos de desinfección probados pueden observarse en el Cuadro 6. Las experiencias se desarrollaron a partir del segundo semestre de 1983. Las cepas empleadas fueron las siguientes: Pisolithus tinctorius (pers) Coker y Couch. Procedente de Alto Paraná, Misiones, R. Argentina y Suillus granulatus (L ex Fr) O. Kuntze, CBS 141,55. Procedente del Centraalbureau Voor Schimmecultures-Baarn, Holanda.

Para la obtención del micelio fúngico se depositaron alícuotas de cada cepa sobre discos de papel de filtro, de 8 mm de diámetro cada uno, colocados en cajas de petri, sobre medio de Melin Norkrans modificado (Marx, 1969). Se mantuvieron en incubación a 19-25°C hasta que los discos se cubrieron totalmente por difusión del micelio (15 días aproximadamente). Cada disco constituyó una "unidad de

inoculación", similar a las utilizadas por Marx y Bryan (1971).

Para desinfectar el tegumento seminal se siguió el método 1 (Ver Cuadro 6). Luego de la germinación se seleccionaron plántulas con 2-3 cm de longitud de radícula para trasplantar 10 por maceta. Estas eran de barro cocido de 20 cm de altura y 9 cm de diámetro y contenían una mezcla de vermiculita y turba en relación volumétrica 29:1.

Las macetas con el soporte se esterilizaron en autoclave (121°C, 1 hora) y luego se agregó a cada una, 500 ml de solución nutritiva estéril de Melin Norkrans modificada (Marx, 1969).

Una vez establecidas las plantas, se incorporaron dos unidades de inoculación por cada una, a 2 cm de profundidad, dejando sólo 3 plantas por maceta. Se incluyó un control con los discos de papel desprovistos de hongo micorrízico. El ensayo se mantuvo en cámara de cultivo con fotoperíodo de 14 horas y 5000 lx (medido a una altura de 30 cm desde la base de las macetas). Por cada tratamiento se realizaron 6 repeticiones en una distribución completamente al azar. Los tratamientos fueron: 1) semilla de Pinus elliottii inoculada con P tinctorius; 2) Idem 1) pero inoculada con S. granulatus; 3) control sin hongo micorrízico. El ensayo se estableció a inicios de 1984.

Al cabo de 6 meses se observaron las raíces macroscópica y microscópicamente y se midió la altura de las plantas. A los 8 meses se reiteró la medición de altura y se obtuvo el porcentaje de raíces micorrizadas tal como fue sugerido por Richard y Wilson (1963). Los datos de raíces micorrizadas se transformaron para el análisis de varianza y prueba de Duncan como en el caso anterior.

Cuadro 6: EVALUACION DE DIFERENTES METODOS DE DESINFECCION DE SEMILLAS DE *Pinus Elliottii*

Tratamientos	Porcentaje de semillas			
	Germinadas 7 días	Contaminadas 28 días	Total	Contaminadas
1. Sumersión en peróxido de hidrógeno(50 vol., 1 h) y 10 lavados con agua estéril.	36	42	78 a	44 c
2. Sumersión en peróxido de hidrógeno (50 vol., 1h) y aireación estéril (2h).	35	15	50 c	72 a
3. Agitación en Tego 51,2%, 30 min. Sumersión en peróxido de hidrógeno (40 vol., 1h) y 10 lavados con agua estéril.	11	17	28 d	65 ab
4. Agitación en Tego 51,2%, 30 min. Sumersión en peróxido de hidrógeno (40 vol., 1h) y aireación estéril (2h).	8	11	19 d	75 a
5. Sumersión en bicloruro de mercurio (0,1% 1 h), en peróxido de hidrógeno (40 vol., 1 h) y 10 lavados con agua estéril	27	27	54 bc	52abc
6. Sumersión en bicloruro de mercurio (0,1%, 1h) y aireación estéril. (2h)	26	33	59 bc	50 bc
7. Lavado con peróxido de hidrógeno (30%, 10 seg) y absorción del exceso con papel de filtro.	26	34	66 b	50 bc
8. Control sin tratar, sólo estratificado.	26	31	57 bc	61abc

Cada dato es la media de 4 repeticiones. Se analizaron estadísticamente los diferentes tratamientos respecto al control en los dos parámetros evaluados (% de germinación y % de contaminación). Los datos con igual letra no presentan diferencias significativas (P<0.05).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 6 puede observarse que ninguno de los métodos de desinfección presentó diferencias significativas con el control, sin embargo el método 1, que se usó en la experiencia posterior, tuvo el menor valor de contaminación y aumentó significativamente la germinación de las semillas de pino. El uso de peróxido fue probado por otros autores (Tackacs, 1964; Marx y Bryan, 1969) considerándose apto para la interrupción de latencia y para acelerar y uniformar la germinación sin dejar residuos tóxicos.

Respecto de los contaminantes, se detectó la presencia de *Diplodia pinea*; este hongo, parásito interno de las semillas, afecta la germinación de *Pinus* causando marchitez y muerte de las plántulas en los almácigos. Se presentaron serias dificultades para eliminarlo, generalmente se recurre a selección de lotes de semilla procedentes de variedades resistentes. Se observaron otros microorganismos saprófitos: *Alternaria* sp. *Aspergillus* sp.. *Mucor* sp, *Penicillium* sp y *Trichoderma* sp.

La cantidad de micelio que portaban las unidades de inoculación resultó adecuada para el logro de micorrización. Pudo evaluársela cualitativamente mediante observación macroscópica de las raíces pues el soporte forma un conglomerado que resulta fácil de extraer de las macetas sin alterar el sistema planta-soporte.

La morfología de las raíces inoculadas con *P tinctorius* o *S granulatus* presentó diferencias respecto a la del testigo pues sus ápices exhibían marcada bifurcación y dilatación con inhibición del crecimiento de pelos absorbentes en las regiones donde desarrolló el manto fúngico. El control sin inocular no manifestó estas características ya que produjo pelos radicales, necesarios para el abastecimiento nutricional del vegetal.

Los tratamientos con *P. tinctorius* desarrollaron abundante micelio tomentoso de color pardo, en tanto que los inoculados con *S. granulatus* presentaron micelio escaso, blanquecino que penetró sólo hasta 3 cm de profundidad del soporte. Estas observaciones pudieron cuantificarse mediante la obtención del porcentaje de raíces micorrizadas. Ver Cuadro 7.

Cuadro 7: CRECIMIENTO Y DESARROLLO ECTOMICORRIZICO DE PLANTAS DE *Pinus Elliottii* INOCULADAS CON *Pisolithus Tinctorius* y *Sullius Granulatus*

Hongo micorrizico	Raíces micorrizadas Alt. de plantas (%) (cm)			
	6 meses	8 meses	6 meses	8 meses
<i>Pisolithus tinctorius</i>	69 a	77 a	21 a	27 a
<i>Sullius granulatus</i>	28 b	19 b	26 b	27 a
Control, sin hongo	-	-	23 a	24 b

Se analizaron estadísticamente los tratamientos inoculados respecto al control sin inocular. Los datos con igual letra no presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

La altura de las plantas medidas a los seis meses no proporcione evidencias sobre el efecto de la inoculación, en tanto que a los 8 meses se diferenciaron significativamente los tratamientos inoculados de los controles (Cuadro 7). Debido a que las raíces fueron seccionadas para las diferentes evaluaciones, sufrieron un retraso del cual recuperan muy lentamente. Otro hecho significativo fue que no hubo producción de esporocarpos probablemente debido a la insuficiencia de luz que impidió una buena fotosíntesis vegetal, lo cual se traduce en una escasez de fotosintatos para que el simbiote fúngico complete su ciclo de vida.

CONCLUSIONES

La sumersión en peróxido de hidrógeno de 50 volúmenes durante 1 hora y posteriores lavados con agua estéril resultó ser el método más eficiente para obtener una mayor germinación y desinfección de las semillas de *Pinus elliotii*.

El uso de unidades de inoculación constituidas por micelio en discos de papel de filtro fue efectivo para la formación de las ectomicorrizas.

Mediante la evaluación cuali y cuantitativa de la micorrización se determinó que *P. tinctorius* presentó una mayor colonización de las raíces que *S. granulatus*. Para la cepa de mejor comportamiento, los porcentajes de colonización, a los 6 y 8 meses desde la siembra, fueron 69 y 77% respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la Geol. Gladys Herrera (Depto, Suelos, INTA) por los análisis de suelos. A los Ings. Agróns. Juan C. Pacheco Basurco y Néstor A. Piantanida (Depto. Microbiología, INTA) por la conducción de los ensayos en campo y a la Ing. Agrón. Doris Barreto (Depto. Patología Vegetal INTA) por la determinación de los hongos contaminantes en el ensayo sanitario y de germinación de semillas.

BIBLIOGRAFIA

- Bagyraj, D. J., A. Manjunath and R. B. Patil. 1979. Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* and their effects on soybean in the field. *New Phytologist*, 82: 141-145.
- Barea, J.M. and C. Azcón-Aguilar. 1982. Production of plant growth regulating substances by the vesicular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Appl. Env. Microbiol.*, 43: 810-813.
- Carling, D. E. W. G. Riehle, M. F. Brown and D.R. Johnson. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating soybeans, *Phytopathology*, 68: 1590-1596.
- Fehr, W. R., C. E. Caviness, D. T. Burwood and J. S. Pennington. 1971. Stage of development description for soybeans, *Glycine max* (L) Merrill, *Crop Sci.* 11: 929-931.
- Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New Phytologist*. 84: 489-500.
- González, S. 1980. Combinación de técnicas para la recolección de esporas micorrizicas arbusculares, pág. 341-346. *Actas IXa Reunión Argentina de la Ciencia del Suelo, Paraná, Entre Ríos.*
- Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. "The water-culture method for growing plants soil". *Calif. Sta. Circ.*, 347:1-32.

- Marx, D. H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I Antagonisms of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology*, 59:153-163.
- Marx, D. H. and J. D. Artman. 1979. *Pigolithus tinctorius* ectomycorrhizae improve survival and growth of pine seedlings on acid coal spoils in Kentucky and Virginia. *Reclam. Rev.*, 2:23-31.
- Marx, D. H. and W. C. Bryan. 1969. Pure culture synthesis of ectomycorrhizae by *Thelephora terrestris* and *Pigolithus tinctorius* on different conifer hosts. *Can. J. Bot.*, 48:369-643.
- Marx, D. H. and W. C. Bryan. 1971. Formation of ectomycorrhizae on half-sib progenies of slash pine in aseptic culture. *Forest Sci.*, 17:488-492.
- Mosse, B. und G. D. Bowen. 1968. A key to the recognition of some *Endogone* spore types. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 51:469-483.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and V-A mycorrhizas fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Richards, B. N. and G. L. Wilson. 1963. Nutrient supply and mycorrhiza development in Caribbean pine, *Forest Sci.*, 9:405-412.
- Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería. República Argentina. s/f. Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas. 184 pag.
- Takacs, E. A. 1964. Utilización de agua oxigenada concentrada para estimular la germinación de *Pinus taeda* L. IDIA. Suplemento Forestal N°12 45-46.

INFECCION MICORRICICA EN 8 ESPECIES DE LEGUMINOSAS USADAS
COMO ABONO VERDE

POR

R. L. L. Barbara; L. B. Freire;
L. O. A. Lima & N. M. B. Amaral Sobrinho
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
Departamento de Solos, Km 47 da Antigua Rio-Sao Paulo,
Seropédica - CEP 23460, Estado do Rio de Janeiro,
Brasil.

RESUMEN

Un experimento en campo en el área experimental del Departamento de Suelos de la UFRJ fue realizado, teniendo como intento la determinación del tanto por ciento de infección y número de esporas de micorriza vesicular-arbuscular (MVA), presentes en la rizosfera de 8 leguminosas, Stizolobium aterrimum, Crotalaria juncea, Stizolobium sp., Desmodium sp., Canavalia ensiformis, Dolichos lab lab, Glycine wightii y Caloponium muconoides, frecuentemente usados como abonos verdes, encontrándose (medias de 3 repeticiones): 51%, 49%, 47%, 45%, 42%, 39%, 31% y 27% de infección y 199, 105, 227, 103, 251, 278, 294 y 232 esporas/100 g de suelo respectivamente. Se discute la hipótesis de los efectos benéficos de la utilización de estos abonos verdes puedan ser parcialmente, atribuidos a un aumento en la población de hongos micorrizicos nativos del suelo, lo que indicaría la posibilidad de utilización de algunas de esas leguminosas como parte de un manejo agrícola teniendo como intento su multiplicación y siendo así, beneficiar la cultura subsecuente.

SUMMARY

An experiment was conducted in field in the experimental area of the Soils Department of the Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRJ) aiming at the determination of the infection percentage and number of spores of arbuscular-vesicular mycorrhize (MVA) present in the rhizosfera of eight leguminous plants, Stizolobium aterrimum, Crotalaria juncea, Stizolobium sp., Desmodium sp., Canavalia ensiformis, Dolichos lab lab, Glycine wightii and Coloponium muconoides, frequently used as green fertilizers, being found (averages of three repeats): 51%,

49%, 47%, 45%, 42%, 39%, 31% and 27%, of infection and 199, 105, 227, 103, 251, 278, 294 and 232 spores/100 g of soil, respectively. The possibility that the beneficial effects of the utilization of such green fertilizers may also be in part attributable to an increase in the population of soil native mycorrhizical fungi is discussed, indicating the possibility of utilization of some of these leguminous plants as part of an agricultural handling aiming at their multiplication and thus improving the subsequent cultivation.

INTRODUCCION

Las Micorrizas Vesiculo-Arbusculares (MVA), en virtud de aumentar el volumen de suelo explorado (10,16) y propiciar mayor eficiencia en la absorción de fósforo, menor valor Km (4), tienden a optimizar el consumo de fertilizantes fosfatados en la agricultura. Estudios en invernadero, usando suelo esterilizado, indican aumentos en el crecimiento de las plantas micorrizadas en relación con las no micorrizadas (14, 22, 24). No obstante ocurrir en prácticamente todos los suelos (3, 9) con condiciones variables de clima, suelo y manejo de cultivos (13), son escasos los conocimientos respecto a la contribución de los hongos MVA nativos a la nutrición de plantas en condiciones naturales. La inoculación de plantas arbóreas o arbustivas, multiplicadas en viveros, es una práctica cada vez más común, al paso que las tentativas de inoculación en el campo, encuentran dificultades tales como la gran cantidad de inóculo necesario, la alta variación en su persistencia en el suelo y la exigencia de inóculos apropiados para cada situación agrícola (1, 13, 15). Dichos factores desestiman esa práctica a pesar de que varios trabajos indican respuestas positivas (2, 19, 20). El manejo de prácticas agrícolas teniendo por objeto elevar el potencial de inóculo nativo ha recibido, por otro lado, poca atención. Hayman & Stovol (1979), encontraron menos esporas de MVA, posteriores a la plantación de trigo, que el número de esporas en trebol. Abbott & Robson (1982a), indicaron una ocurrencia mayor de esporas en suelos cultivados que en suelos vírgenes, mientras Kruckelmann (1975) observó un número de esporas 13 veces mayor en parcelas de trigo que en parcelas de patata, después de 17 años. La aplicación de fertilizantes industrializados y abonos orgánicos altera también de varias formas la población de MVA en los suelos (13). Abbott & Robson (2) encontraron una relación significativa entre el porcentaje de materia orgánica y la población de Acaulospora laevis. Ocampo & Hayman (1981) observaron que el inóculo almacenado a 20C, presentaba un potencial de inóculo menor que el almacenado en condiciones ambientales, insinuando la posibilidad de un desarrollo

saprofítico. Hepper & Warner (1984) y Warner (1984), observaron que algunas MVA pueden desarrollarse saprofiticamente, indicando un aumento en el potencial de inóculo nativo del suelo con el aumento de materia orgánica. El abono verde representa una práctica aplicable en áreas extensas, teniendo por objeto aumentar los tenores de N y materia orgánica en el suelo. Además, la hipótesis de que algunas de esas leguminosas aumentan también el potencial de inóculo de MVA nativo, es atractiva, pues podría proporcionar a los cultivos subsecuentes, beneficios adicionales. El presente trabajo tiene por objeto determinar entre 8 leguminosas, las que propician mayor aumento en el número de esporas de MVA nativa, y mayor porcentaje de infección, indicando así, en un primer análisis, las leguminosas que deben recibir mayor atención en su capacidad de aumentar el inóculo nativo de MVA.

MATERIAL Y METODOS

Ocho variedades de leguminosas (Stizolobium aterrimum, Crotalaria juncea, Stizolobium sp., Desmodium sp., Canavalia ensiformis, Dolichos lab lab, Glycine wightii y Calopogonio muconoides) fueron plantadas en parcelas experimentales de 40 m², distribuidas en bloques al azar con 3 repeticiones, en octubre de 1984, en el área experimental del Departamento de Suelos. La densidad de plantación fue la que normalmente se recomienda. Se aplicó en noviembre de 1983, 1 ton/ha de roca fosfatada con 24 % P₂O₅ a la vispera de la plantación, y en el surco, se aplicó el equivalente a 10 kg N/ha, 80 kg P₂O₅/ha y 60 kg K₂O/ha de sulfato de amonio, superfosfato simples y cloruro de potasio respectivamente. Se inocularon las semillas con Rhizobium específico, suministrado por EMBRAPA-UAPNPBS. En marzo de 1985 fueron recogidas muestras de raíces y suelo de rizofera. Las raíces fueron lavadas, clarificadas con KOH 10% y teñidas con Azul de Tripiano en Lactofenol, según la técnica descrita por Phillips & Hayman, 1970. Posteriormente, alrededor de 800 mg de dichas raíces fueron cortadas en pedazos de 1 cm, aproximadamente, y puestas sobre una lámina rayada para determinación del porcentaje de infección, según lo relatado por Giovanetti & Mosse (6). El cómputo de esporas fue realizado por el método de decantación y tamizado húmedo (5).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los cuadros 1 y 2 presentan los datos referentes al porcentaje de infección y los números de esporas. El análisis estadístico demostró que no hubo diferencia significativa entre bloques, siendo altamente significativas las diferencias en cuanto a la infección y número de esporas

con las especies de leguminosas estudiadas. El bajo coeficiente de variación da una precisión a los datos. Por otro lado, los niveles de fertilizantes aplicados tal vez hayan perjudicado las infecciones, y el número de esporas, disminuyéndolos en relación con lo esperado en un suelo pobre de elementos (1, 13). No se observó relación entre el nivel de infección y el número de esporas. según Abbott & Robson (1982a) podría estar habiendo una competencia entre distintos tipos de inóculos por los sitios de infección. Fragmentos de hifa o esporas inferiores a 50 um, no cuantificados por la metodología, tal vez fueran más eficientes en la infección que las esporas de las especies recogidas. Desmodium sp y Crotalaria juncea, en virtud de presentar altas infecciones y bajos números de esporas, probablemente estimularon de algún modo la germinación e infección de las esporas y/o desestimularon su producción, siendo, en tal caso, infectadas por otros inóculos. Efectos alelopáticos podrían explicar tales hechos (21). Del mismo modo, Glycine wightii, Calopogonio muconoides y Dolichos lab lab, con altas poblaciones de esporas y bajos niveles de infecciones, tal vez hayan sufrido acción de productos aleloquímicos estimuladores de la esporulación y no necesariamente de la germinación e infección (7).

De las esporas observadas, los géneros más frecuentes, Glomus y Gigaspora, constituyeron aproximadamente 57 % y 36%, respectivamente.

El cuadro 3 muestra que no hubo diferencia significativa en la interacción leguminosa-género de espora, indicando una ausencia de presión selectiva de las leguminosas sobre los hongos MVA. El alto coeficiente de variación de esta interacción sería, tal vez resultante del pequeño número de repeticiones usado, en virtud que la metodología no detecta esporas infectantes inferiores a 50 um, así como la presencia de otros tipos de inóculos que no sean las esporas.

CONCLUSIONES

1. Se encontró para Stizolobium aterrimum, Crotalaria juncea, Stizolobium sp, Desmodium sp, Canavalia ensiformis, Dolichos lab lab, Glycine wightii y Calopogonio muconoides los siguientes valores de infección (%): 51, 49, 47, 45, 42, 39, 31 y 27, respectivamente, mientras el número de esporas fue: 199, 105, 227, 103, 251, 278, 294 y 232 esporas/100g suelo, respectivamente.

2. No hubo relación entre % de infección y número de esporas.

3. No hubo interacción entre género de MVA presente y especie de leguminosas.

Si considerásemos las esporas solas como el tipo de inóculo más eficiente, debemos dar prioridad a las leguminosas que propicien su mayor producción. No obstante, no siempre las esporas son el inóculo más eficiente (1). La importancia relativa de cada tipo de inóculo probablemente cambie con la interrelación suelo-planta-hongo MVA y ambiente, la que, por su parte, es característica para cada situación agrícola. La propuesta de realizarse manejos teniendo por objeto el aumento del potencial de inóculo, caracterizado no solo por el aumento del número de esporas, sino por los de raíces infectadas y cantidad de hifas, es atractiva, pues atendería a aquellas situaciones. En el Departamento de Suelos de la UFRJ se desarrollan estudios en ese sentido.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Fitopatología de la UFRJ y a EMBRAPA/UAPNPBS, por la cesión de material y equipos para la plantación y obtención de datos.

Cuadro 1. Porcentaje de infección de las leguminosas.

<u>Leguminosa</u>	<u>Infección %</u>
<u>Stizolobium aterrimum</u>	51 a
<u>Crotalaria juncea</u>	49 ab
<u>Stizolobium sp</u>	47 ab
<u>Desmodium sp</u>	45 ab
<u>Canavalia ensiformis</u>	42 ab
<u>Dolichos lab lab</u>	39 bc
<u>Glycine wightii</u>	31 c
<u>Colopogonio muconoides</u>	27 d

CV = 12,3%
 Medias de 3 repeticiones, con valores seguidos de misma letra no diferenciando significativamente al nivel del 5 % (Test de Duncan).

REFERENCIAS

Cuadro 3. Interacción leguminosa- género de la espora

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrado	Valor F
Repetición	2	2220,43	1110,21	0,91
Leguminosa	7	36261,63	5180,24	4,26**
Género de espora	2	140467,35	70233,67	57,75**
Leg.X Gén.de espora	14	18060,64	1290,05	1,06 n.s
Residuo	46	55940,21	1216,10	

CV= 49,56%

** Diferencia altamente significativa al nivel del 5% (Test de Duncan).

1. ABBOTT, L. K. & ROBSON, A. D. The role of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agriculture and the Selection of Fungi for inoculation. Aust. J. Agric. Res. 33:389-408. 1982a.
2. ABBOTT, L. K. & ROBSON, A. D. Infectivity of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agriculture soils. Aust. J. Agric. Res. 33:1049-59. 1982b.
3. ABBOTT, L. K., ROBSON, A. D. & HALL, I. R. Introduction of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi into Agriculture soils. Aust. J. Agric. Res. 33:741-749. 1983.
4. CRESS, W. A., THRONEBERRY, G. O. and LINDSEY, D. L. Kinetics of Phosphorus Absorption by Mycorrhizal and Nonmycorrhizal tomato roots. Plant. Physiol. 64:484-487. 1979.
5. GERDEMANN, J. W. & NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soils by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: 235-244. 1963.
6. GIOVANNETTI, M. & MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84:489-500. 1980.
7. GRAHAM, J. H. Effect of citrus root exudates on germination of chlamyospores of the Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus, Glonus spigaeum. Mycologia. 74:831-835. 1982.
8. HAYMAN, D. S. & STOVOLD, G. E. Spore populations and infectivity of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi in New South Wales. Aust. J. Bot. 27:227-33. 1979.
9. HAYMAN, D. S. Influence of soils and fertility on activity and survival of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Phytopathology. 72:1119-1125. 1982.
10. HAYMAN, D. S. The physiology of Vesicular-Arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. Bot. 61:944-963. 1983.

11. HEPPEL, C. M. & WARNER, A. Role of organic matter in growth of a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungus in soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 81:155-156. 1983.
12. KRUCKELMANN, H. W. Effects of fertilizers, soils, soil tilage, and plant species on the frequency of *Engone* chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soils. In: SANDERS, F. E.; MOSSE, B.; TINKER, P. B., ed. *Endomycorrhizas*. London, Academic Press, 1975. p. 511-525.
13. LOPES, E. S.; SIQUEIRA, J. O.; ZAMBOLIM, L. Caracterizacao das Micorrizas Vesicular-Arbusculares (MVA) e seus efeitos no crescimento das plantas. R. Bras. Ci. Solo. 7:1-19. 1983.
14. MARONEK, D. M.; HENDRIX, J. W.; KIERNAN, J. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. Horticultural Reviews.
15. MENGE, J. A. Utilization of Vesicular-Arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Can. J. Bot. 6:1015-1024. 1983.
16. MOSSE, B. Advances in the study of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal. Annu. Rev. Phytopathology. 11:171-196. 1973.
17. OCAMPO, J. A. & HAYMAN, D. S. Influence of plant interactions on Vesicular-Arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotation and residual effects of Monhost plants. New Phytol. 87:333-343. 1981.
18. PHILLIPS, J. M. & HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic an Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:158-162. 1970.
19. POWELL, C. L. Inoculation of barley with efficient mycorrhizal fungi stilulate seed yield. Plant and soil . 59:487-490. 1980.
20. POWELL, C. L., GROTERS, M., METCALFE, D. Mycorrhizal inoculation of a barley crop in the field. N. Z. J. Agric. Res. 23:107-109. 1980.
21. ROSE, S. L., PERRY, D. A., PICZ, D., SCHOENEBERGER, N.M. Allertopathic effects of litter on the growth and colonization of mycorrhizal fungi. Journal of Chemical Ecological. 9:1153-1162. 1983.

22. ROSS, J. P. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and nonmycorrhizal soybeans. Phytopathology. 61:1400-1403. 1971.
23. WARNER, A. Colonization of organic matter by Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 82:352-354. 1984.
24. YOST, R. S. & FOX, R. L. Contribution of Mycorrhizal to Phosphorus nutrition of crops growing on Oxisol. Agronomy Journal. 71:903-908. 1979.

FOSFORO ORGANICO Y MICORRIZAS "VA" EN SUELOS VOLCANICOS DE CHILE

Fernando Borie B. Universidad de la Frontera - Casilla 54-D, Temuco, Chile.

R E S U M E N

La fijación de fosfato en los suelos alofánicos de Chile es uno de los principales factores que limitan su productividad agrícola. Pensamos que una de las vías que permitiría aportar una mayor disponibilidad de P al vegetal sería la manipulación de los mecanismos biológicos existentes en estos suelos conjuntamente con disponer de un acabado conocimiento de las formas de P que allí aparecen. En suelos alofánicos con y sin cultivo se determinó el contenido de P total y P orgánico. Los resultados demostraron que gran parte del P-fertilizante se acumula principalmente como P-macromolecular y minerales tipo variscita. Por otra parte, la presencia de hongos VAM, microorganismos solubilizadores de fosfato y actividad fosfatásica aparecen elevados. Ensayos de inoculación revelaron que las cepas nativas de hongos VAM son más efectivas que las de colección en el aprovechamiento del P nativo y del P-fertilizante. Finalmente, se hace una breve síntesis del programa de investigación en el futuro próximo.

A B S T R A C T

Fixation of phosphate in allophanic soils of Chile is one of the major factors limiting their agronomic use. In these soils improvements in P-nutrition have to be sought by shifting the P-equilibrium toward roots absorption, by taking into account the biological environment and the composition of P-sources. In fertilized and unfertilized plots of several volcanic soils the total and organic-P were determined. Results show that P-accumulation occurs mainly under macromolecular-P forms and variscite-like minerals. We think that this P-sink may be more available for plant roots by handling some biological properties this soils possess specially VAM fungie, phosphate-solubilizing microorganisms and phosphatase activity. Studies carried-out in our soils show that these activities are very high. Therefore, VAM inoculation showed to be effective in P-utilization (native and from fertilizers) specially with native strains. The programme of research envisaged for the near future is outlined.

I N T R O D U C C I O N

Los suelos volcánicos ocupan en Chile una superficie cercana a los 4 millones de hectáreas de las cuales, aproximadamente la mitad, se explota con fines agrícolas y/o forestales. Aunque estos suelos poseen una serie de condiciones óptimas para el crecimiento y desarrollo de gran variedad de cultivos principalmente trigo, cebada, avena y raps, su productividad se ve seriamente limitada por carencia de algunos elementos nutrientes, especialmente fósforo asimilable. La aguda deficiencia de P disponible que los caracteriza ha traído como consecuencia una serie de investigaciones, tanto básicas como aplicadas, tendientes a lograr un conocimiento más completo de los parámetros que condicionan la fijación del mismo. No obstante, aún no se ha encontrado el camino óptimo para obtener altos rendimientos con un gasto razonable de fertilizantes fosfatados; muy por el contrario, se necesitan fuertes aplicaciones anuales de superfosfato para obtener rendimientos agrícolas adecuados. Por otra parte, el efecto residual del P aplicado es muy limitado.

Todo lo anterior significa que el problema del P en estos suelos es bastante complejo, máxime tratándose de suelos alofánicos de zonas templadas, donde se espera que exista poca mineralización. Sin embargo, pareciera ser que parte de la respuesta radica en lograr el máximo de conocimientos sobre los factores bióticos que pueden influir positivamente en la disponibilidad del P por las plantas que crecen en estos suelos, de modo de poder manipularlos. Para ello, se hace necesario conocer previamente la o las formas bajo las cuales se encuentra este elemento para, posteriormente, visualizar la manera de aumentar su biodisponibilidad.

Por ello, el objetivo del presente trabajo consiste en determinar estas formas de P conjuntamente con estudiar la actividad que ejercen tanto los microorganismos de vida libre (bacterias y hongos) como simbióticos (micorrizas VA) en el movimiento del P en estos suelos.

MATERIALES Y METODOS

Suelos: Los suelos se recolectaron en primavera entre los años 1979 y 1983. Consistían en muestras representativas superficiales (0-20 cm) de suelos derivados de cenizas volcánicas con pluviometría media desde 1500 - 4500 mm/año y con temperatura media anual entre 8 - 15 °C. Se colectaron muestras de sitios cultivados (principalmente trigo y cebada) y sus homólogos sin cultivo. De los suelos cultivados no se conoce la historia de fertilización ya que fueron escogidos al azar. Sin embargo, una fertilización típica de los suelos es del orden de 120 a 180 kg P₂O₅ ha/año principalmente como superfosfato y fosfato diamónico. Por otra parte, para la determinación de actividades biológicas se utilizó suelo rizosférico. Los análisis químicos indican que son suelos ácidos, con pH entre 4.7 y 6.4, con materia orgánica entre 4.4 y 15% expresado como C orgánico, un tenor en N entre 0.45 y 0.96% y un contenido en alófana del orden del 30%. (Zunino et al., 1982).

Análisis de Fósforo: El P total se determinó de acuerdo al método de Dick y Tabatabai (1977). El P acumulado se calculó como la diferencia entre el contenido de P en suelos bajo cultivo y sus homólogos sin cultivar, asignando una densidad aparente de 0.75 gr/cc a cada suelo. El P orgánico, P húmico y P fúlvico se determinó de acuerdo al método utilizado por Borie y Barea (1983) que consiste en una adaptación del propuesto por Steward y Oades (1972).

Microorganismos solubilizadores de fosfato: El recuento de microorganismos solubilizadores de fosfato se realizó utilizando el medio glucosa-peptona-Rosa de Bengala (Martin, 1950) para hongos y agar-glucosado (Pochon-Tardieux, 1961), para bacterias, reemplazando en cada medio la fuente de P soluble por fosfato de Calcio o fitato de Calcio como fosfato insolubles inorgánico y orgánico, respectivamente.

Infección por VAM y tipos de esporas: Las raíces de trigo y de la vegetación existente en suelos sin cultivo se sometieron al tratamiento de tinción propuesto por Phillips y Hayman (1970). Una vez teñidas, un número superior a 300 trozos de 1 cm de raíz se colocaron en sendos portaobjetos y se examinó el grado de infección en ellos. Para el aislamiento de esporas, se empleó la técnica

del tamizado húmedo y decantación, descrita por Gerdemann y Nicolson (1963), partiendo de una suspensión de 25g de suelo en 1 litro de agua tibia por tener estos suelos alto contenido en materia orgánica. Se analizaron solamente las esporas retenidas por los tamices de 250 y 100 um en una placa de Doncaster. La identificación se realizó mediante la Clave de Identificación de Mosse y Bowen (1968) y la Taxonomía de Gerdemann y Trappe (1974).

Ensayos de inoculación de VAM en invernadero: En todos los ensayos de inoculación con microorganismos del ciclo del P se utilizó el suelo Osorno, por ser un Dystrandepit típico.

La "fosfobacteria" utilizada corresponde a una estirpe de Pseudomas sp seleccionada y proporcionada por R. Azcón (1973) y mantenida a 4°C en medio sólido Ramos y Callao (1967).

El inóculo de micorrizas consistió en una alcuota de rizosfera micorrizada procedente de un "stock" de inóculo. Las micorrizas de colección procedían de la Estación Experimental de Rothamsted; por su parte, trigo y cebolla se mantenían como planta "stock" en un suelo volcánico. De cada inóculo se aplicó aproximadamente 1g por planta y consistía en una mezcla de esporas, hifas y fragmentos de raíz infectada. En todos los ensayos de invernadero se utilizó trigo como planta indicadora por a) ser cultivo preferencial en los suelos bajo estudio, b) ser planta exigente en P, y c) su capacidad relativa de infectarse por hongos VAM. Se utilizaron 2 tipos de macetas de 1/2 y 1 kg, respectivamente. Al momento de cultivo, se adicionó N como KNO₃ en proporción de 1 g/kg suelo (Zunino et al., 1976). Las plantas, manteniendo su humedad hasta peso constante diariamente, se cultivaron en invernadero, a temperaturas que oscilaban entre 15 - 20 °C de noche y 25 - 30 °C de día. La humedad se mantuvo constante dentro de los límites de 50 - 65%. La dosis y tipo de fertilizantes utilizados se especifican en Tablas correspondientes. El rendimiento se determinó por peso de materia seca y el P en la parte aérea por el método sulfomolibdico-ác. ascórbico previa ignición de la muestra.

Actividad fosfatásica: El ensayo se realizó bajo condiciones de invernadero, utilizando 3 variedades de trigo, Naofén (de primavera), Talafén (de invierno) y Huenufén (de alternativa), en un suelo de origen volcánico, proveniente de la Estación Experimental Maipo (UFRO) en Temuco. La experiencia se realizó con una

planta por maceta con 4 repeticiones y fertilización básica nitrogenada. La cosecha se efectuó a los 15, 30, 45, 90 y 144 días, respectivamente. A estos tiempos, mediante uso de agua, se extrajeron las plantas con todo su sistema radicular intacto.

La actividad fosfatásica de toda la raíz de cada planta intacta se determinó como lo describe Mc Lachlan (1980). En términos generales, se sumerge todo el sistema radicular en una solución de p-nitrofenilfosfato (PNPP) tamponada a pH 5 mediante tampón universal Tris (MUB), manteniéndose una hora en obscuridad a 20 °C. A los 60 minutos, se extrae la planta y se detiene la reacción con NaOH 2 N. La actividad enzimática se estimó por medición espectrofotométrica a 400 nm del p-nitrofenol liberado (PNP). Los resultados se expresan como mg liberado por gramo de raíz seca por hora. Se determinaron peso seco de parte aérea y raíz, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) P en suelos volcánicos. Los resultados de la Tabla 1, indican que los suelos en estudio, debido a su origen volcánico, presentan un alto contenido de P total; no obstante, como cabría esperar los suelos que han sido sometidos a cultivo en el largo plazo, han logrado acumular cantidades substanciales de este elemento. En efecto, al comparar ambos valores para cada suelo, el P que se ha acumulado como producto de la fertilización fluctúa entre 182 hasta 1876 ppm, lo que expresado en kg P/ha se traduce en valores altísimos. Estos antecedentes estarían indicando que la fijación del P-fertilizante a estos suelos es tal, que sería equivalente a varios años de intensa fertilización fosfatada y que, a pesar de ello, los sitios de adsorción de las superficies alofánicas permanecen activos. Ahora bien, considerando que el P-fertilizante se acumula a través de los años, es importante -con fines de visualizar un mecanismo tendiente a aumentar la disponibilidad de este elemento - determinar la o las formas principales bajo las cuales ocurre esta acumulación. Para ello se determinó el contenido de P-inorgánico, P-orgánico, P-húmico y P-fúlvico en los suelos en estudio (Tabla 2). Los resultados indican que el P-fertilizante agregado, inicialmente a la forma inorgánica, se incorpora rápidamente al sistema al ser adsorbido en la superfi-

cie activa de los coloides inorgánicos para, subsecuentemente, reaccionar con los componentes orgánicos formando asociaciones estables. El P asociado a la M.O. de los suelos aparece proporcionalmente mayor en los ácidos húmicos que en los fúlvicos por lo que se ha denominado a esta forma como P-macromolecular. Por otra parte, el P estrictamente orgánico, como son el P-lipídico y el P de los inositol fosfato, aparece en concentraciones relativamente bajas (Borie y Barea, 1985; Borie, datos sin publicar).

b) Destino de P-fertilizante. El conocimiento de las reacciones del fosfato en suelos con alta capacidad de adsorción es fundamental para evaluar la disponibilidad de este elemento para las plantas. Una mejor comprensión de esas transformaciones podría ser de utilidad en la búsqueda de soluciones que mejoren la absorción de P por los cultivos. En este sentido, los datos entregados en Tablas 1 y 2 conjuntamente con la reconocida capacidad de los hongos de producir moléculas polifuncionales del tipo ácido húmico (Zunino et al., 1983) permite sugerir una hipótesis general del destino del P-fertilizante en estos suelos en el largo plazo.

En líneas generales, el P-fertilizante, inmediatamente después de su aplicación es rápidamente adsorbido por la superficie alofánica (Centro I). Por otra parte, las macromoléculas polifuncionales sintetizadas por actividad microbiana (Centro II) pueden interaccionar con las superficies del Centro I, formando grupos de naturaleza variable (Fig.1). El envejecimiento, a través del tiempo, de parte de los grupos mixtos haría perder la capa externa alofánica produciendo dos tipos de fases discretas: asociaciones P-Materia Orgánica (Humus-P y Humus-Al-P) y compuestos del tipo variscita. Este modelo explicaría el que en suelos alofánicos, al existir dos centros muy activos en fijar P conjuntamente con la estabilidad de las formas Humus-P y minerales tipo variscita, se produzca una aguda deficiencia de P disponible para las plantas (Borie y Zunino, 1983).

c) Microorganismos del ciclo del P en los suelos. De acuerdo a lo anterior, si todas las fuentes de P son tan poco disponible, cabe preguntarse la causa del desarrollo tan eficiente de la vegetación natural existente en estos suelos. Pareciera ser que parte de la respuesta tiene como explicación una decisiva actividad microbiana.

Se ha demostrado que la actividad fosfatásica en estos suelos es muy elevada

MATERIALES Y METODOS

Suelos: Los suelos se recolectaron en primavera entre los años 1979 y 1983. Consistían en muestras representativas superficiales (0-20 cm) de suelos derivados de cenizas volcánicas con pluviometría media desde 1500 - 4500 mm/año y con temperatura media anual entre 8 - 15 °C. Se colectaron muestras de sitios cultivados (principalmente trigo y cebada) y sus homólogos sin cultivo. De los suelos cultivados no se conoce la historia de fertilización ya que fueron escogidos al azar. Sin embargo, una fertilización típica de los suelos es del orden de 120 a 180 kg P₂O₅ ha/año principalmente como superfosfato y fosfato diamónico. Por otra parte, para la determinación de actividades biológicas se utilizó suelo rizosférico. Los análisis químicos indican que son suelos ácidos, con pH entre 4.7 y 6.4, con materia orgánica entre 4.4 y 15% expresado como C orgánico, un tenor en N entre 0.45 y 0.96% y un contenido en alófana del orden del 30%. (Zunino et al., 1982).

Análisis de Fósforo: El P total se determinó de acuerdo al método de Dick y Tabatabai (1977). El P acumulado se calculó como la diferencia entre el contenido de P en suelos bajo cultivo y sus homólogos sin cultivar, asignando una densidad aparente de 0.75 gr/cc a cada suelo. El P orgánico, P húmico y P fúlvico se determinó de acuerdo al método utilizado por Borie y Barea (1983) que consiste en una adaptación del propuesto por Steward y Oades (1972).

Microorganismos solubilizadores de fosfato: El recuento de microorganismos solubilizadores de fosfato se realizó utilizando el medio glucosa-peptona-Rosa de Bengala (Martin, 1950) para hongos y agar-glucosado (Pochon-Tardieux, 1961), para bacterias, reemplazando en cada medio la fuente de P soluble por fosfato de Calcio o fitato de Calcio como fosfato insolubles inorgánico y orgánico, respectivamente.

Infección por VAM y tipos de esporas: Las raíces de trigo y de la vegetación existente en suelos sin cultivo se sometieron al tratamiento de tinción propuesto por Phillips y Hayman (1970). Una vez teñidas, un número superior a 300 trozos de 1 cm de raíz se colocaron en sendos portaobjetos y se examinó el grado de infección en ellos. Para el aislamiento de esporas, se empleó la técnica

del tamizado húmedo y decantación, descrita por Gerdemann y Nicolson (1963), partiendo de una suspensión de 25g de suelo en 1 litro de agua tibia por tener estos suelos alto contenido en materia orgánica. Se analizaron solamente las esporas retenidas por los tamices de 250 y 100 um en una placa de Doncaster. La identificación se realizó mediante la Clave de Identificación de Mosse y Bowen (1968) y la Taxonomía de Gerdemann y Trappe (1974).

Ensayos de inoculación de VAM en invernadero: En todos los ensayos de inoculación con microorganismos del ciclo del P se utilizó el suelo Osorno, por ser un Dystrandep típico.

La "fosfobacteria" utilizada corresponde a una estirpe de Pseudomas sp seleccionada y proporcionada por R. Azcón (1973) y mantenida a 4°C en medio sólido Ramos y Callao (1967).

El inóculo de micorrizas consistió en una alcuota de rizosfera micorrizada procedente de un "stock" de inóculo. Las micorrizas de colección procedían de la Estación Experimental de Rothamsted; por su parte, trigo y cebolla se mantenían como planta "stock" en un suelo volcánico. De cada inóculo se aplicó aproximadamente 1g por planta y consistía en una mezcla de esporas, hifas y fragmentos de raíz infectada. En todos los ensayos de invernadero se utilizó trigo como planta indicadora por a) ser cultivo preferencial en los suelos bajo estudio, b) ser planta exigente en P, y c) su capacidad relativa de infectarse por hongos VAM. Se utilizaron 2 tipos de macetas de 1/2 y 1 kg, respectivamente. Al momento de cultivo, se adicionó N como KNO₃ en proporción de 1 g/kg suelo (Zunino et al., 1976). Las plantas, manteniendo su humedad hasta peso constante diariamente, se cultivaron en invernadero, a temperaturas que oscilaban entre 15 - 20 °C de noche y 25 - 30 °C de día. La humedad se mantuvo constante dentro de los límites de 50 - 65%. La dosis y tipo de fertilizantes utilizados se especifican en Tablas correspondientes. El rendimiento se determinó por peso de materia seca y el P en la parte aérea por el método sulfomolibdico-ác. ascórbico previa ignición de la muestra.

Actividad fosfatásica: El ensayo se realizó bajo condiciones de invernadero, utilizando 3 variedades de trigo, Naofén (de primavera), Talafén (de invierno) y Huenufén (de alternativa), en un suelo de origen volcánico, proveniente de la Estación Experimental Maipo (UFRO) en Temuco. La experiencia se realizó con una

planta por maceta con 4 repeticiones y fertilización básica nitrogenada. La cosecha se efectuó a los 15, 30, 45, 90 y 144 días, respectivamente. A estos tiempos, mediante uso de agua, se extrajeron las plantas con todo su sistema radicular intacto.

La actividad fosfatásica de toda la raíz de cada planta intacta se determinó como lo describe Mc Lachlan (1980). En términos generales, se sumerge todo el sistema radicular en una solución de p-nitrofenilfosfato (PNPP) tamponada a pH 5 mediante tampón universal Tris (MUB), manteniéndose una hora en obscuridad a 20°C. A los 60 minutos, se extrae la planta y se detiene la reacción con NaOH 2 N. La actividad enzimática se estimó por medición espectrofotométrica a 400 nm del p-nitrofenol liberado (PNP). Los resultados se expresan como mg liberado por gramo de raíz seca por hora. Se determinaron peso seco de parte aérea y raíz, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

a) P en suelos volcánicos. Los resultados de la Tabla 1, indican que los suelos en estudio, debido a su origen volcánico, presentan un alto contenido de P total; no obstante, como cabría esperar los suelos que han sido sometidos a cultivo en el largo plazo, han logrado acumular cantidades substanciales de este elemento. En efecto, al comparar ambos valores para cada suelo, el P que se ha acumulado como producto de la fertilización fluctúa entre 182 hasta 1876 ppm, lo que expresado en kg P/ha se traduce en valores altísimos. Estos antecedentes estarían indicando que la fijación del P-fertilizante a estos suelos es tal, que sería equivalente a varios años de intensa fertilización fosfatada y que, a pesar de ello, los sitios de adsorción de las superficies alofánicas permanecen activos. Ahora bien, considerando que el P-fertilizante se acumula a través de los años, es importante -con fines de visualizar un mecanismo tendiente a aumentar la disponibilidad de este elemento- determinar la o las formas principales bajo las cuales ocurre esta acumulación. Para ello se determinó el contenido de P-inorgánico, P-orgánico, P-húmico y P-fúlvico en los suelos en estudio (Tabla 2). Los resultados indican que el P-fertilizante agregado, inicialmente a la forma inorgánica, se incorpora rápidamente al sistema al ser adsorbido en la superfi-

cie activa de los coloides inorgánicos para, subsecuentemente, reaccionar con los componentes orgánicos formando asociaciones estables. El P asociado a la M.O. de los suelos aparece proporcionalmente mayor en los ácidos húmicos que en los fúlvicos por lo que se ha denominado a esta forma como P-macromolecular. Por otra parte, el P estrictamente orgánico, como son el P-lipídico y el P de los inositol fosfato, aparece en concentraciones relativamente bajas (Borie y Barea, 1985; Borie, datos sin publicar).

b) Destino de P-fertilizante. El conocimiento de las reacciones del fosfato en suelos con alta capacidad de adsorción es fundamental para evaluar la disponibilidad de este elemento para las plantas. Una mejor comprensión de esas transformaciones podría ser de utilidad en la búsqueda de soluciones que mejoren la absorción de P por los cultivos. En este sentido, los datos entregados en Tablas 1 y 2 conjuntamente con la reconocida capacidad de los hongos de producir moléculas polifuncionales del tipo ácido húmico (Zunino et al., 1983) permite sugerir una hipótesis general del destino del P-fertilizante en estos suelos en el largo plazo.

En líneas generales, el P-fertilizante, inmediatamente después de su aplicación es rápidamente adsorbido por la superficie alofánica (Centro I). Por otra parte, las macromoléculas polifuncionales sintetizadas por actividad microbiana (Centro II) pueden interaccionar con las superficies del Centro I, formando grupos de naturaleza variable (Fig.1). El envejecimiento, a través del tiempo, de parte de los grupos mixtos haría perder la capa externa alofánica produciendo dos tipos de fases discretas: asociaciones P-Materia Orgánica (Humus-P y Humus-AI-P) y compuestos del tipo variscita. Este modelo explicaría el que en suelos alofánicos, al existir dos centros muy activos en fijar P conjuntamente con la estabilidad de las formas Humus-P y minerales tipo variscita, se produzca una aguda deficiencia de P disponible para las plantas (Borie y Zunino, 1983).

c) Microorganismos del ciclo del P en los suelos. De acuerdo a lo anterior, si todas las fuentes de P son tan poco disponible, cabe preguntarse la causa del desarrollo tan eficiente de la vegetación natural existente en estos suelos. Pareciera ser que parte de la respuesta tiene como explicación una decisiva actividad microbiana.

Se ha demostrado que la actividad fosfatásica en estos suelos es muy elevada

(Borie, 1981), posiblemente por su estabilización con los coloides orgánicos e inorgánicos. Por otra parte, los datos de la Tabla 3, indican que la población microbiana con capacidad de solubilizar fosfatos insolubles es relativamente elevada, en especial el número de hongos activos sobre fosfato de tipo orgánico. Este hecho estaría indicando una adaptación natural de la microflora de estos suelos frente a un habitat que posee una elevada proporción de P orgánico. Estudios posteriores han demostrado que algunas cepas fúngicas aisladas poseen elevado poder de disolución de fosfatos orgánicos, como fitato de Fe y Al, así como también de rocas fosfóricas usadas directamente como fertilizante (Borie et al., 1983). Dicha capacidad disolutiva de los "fosfohongos" permite suponer que este mecanismo, en determinadas circunstancias, ocurriría en ciertos microhabitats, donde el fosfato liberado sería transportado al interior de la planta mediante las hifas de los hongos de las micorrizas, tal como lo plantea Barea y Azcón (1982).

Por otra parte, el "survey" de hongos VAM muestra una gran variabilidad tanto en suelos sin cultivar como los cultivados (Tabla 4); en los últimos, esta fluctuación puede deberse a la historia de cultivo y fertilización que hayan tenido previamente estos suelos. Sin embargo, a pesar de lo variable, el número de esporas encontradas está dentro del rango informado por muchos autores (Hayman, 1975; Hayman, Barea y Azcón, 1976; Sward et al., 1978; Hayman y Stovold, 1979). La carencia de correlación entre el número de esporas e infección por VAM puede atribuirse a la eficiencia de cada hongo en las condiciones edáficas de cada suelo y/o la presencia o ausencia de cepas no esporuladas. Por otra parte, debe recordarse que el poder infectivo de un suelo depende no sólo del número de esporas presentes sino también de fragmentos de raíces infectadas así como también de restos de micelio. Finalmente, hay que mencionar que son más de una docena las variedades de trigo utilizadas habitualmente en estos suelos volcánicos y cada una de ellas puede infectarse en forma diferente (Azcón y Ocampo, 1981). Por lo mismo, tampoco existió correlación entre el porcentaje de infección de las raíces y las características químicas de los suelos, especialmente P disponible. La presencia de hongos VAM en estos suelos, puede ser un indicativo de que la micorrización sería uno de los principales mecanismos por el cual las plantas nativas absorben P sobreponiéndose al "stress" habitual de este elemento. De los géneros encontrados los más comunes fueron Glomus y Acaulospora aunque en todos los suelos hubo esporas que no pudieron ser total-

mente individualizadas.

d) Ensayos de inoculación. Los ensayos de inoculación con cepas de colección en suelo Osorno, estéril a vapor fluyente, indican que ninguna de las cuatro cepas de colección ensayadas provocaron un aumento significativo de rendimiento de plantas de trigo (Tabla 5).

Esto está significando que no hubo transporte, por parte de ellas, del P nativo. Sin embargo, al agregar P como fitato, aún en dosis subagronómicas, se produjo un efecto positivo con Glomus mosseae y "Laminate" debido al mejor aprovechamiento del P agregado, hecho que concuerda con los niveles de infección de las raíces. Sin embargo, ninguna de las cepas de colección fue más eficiente que las nativas tanto con el P nativo como con el P agregado.

Un procedimiento bien generalizado es aquél en que los ensayos de inoculación se realizan sobre suelo esterilizado a vapor fluyente, una, dos y hasta tres horas durante 3 días consecutivos. Sin embargo, el autor de este trabajo ha encontrado que, en ciertos suelos y en determinadas condiciones de esterilización a vapor fluyente, se produce un marcado efecto tóxico para el trigo, posiblemente por liberación de Al o Mn, tal como lo postularon recientemente (Plant & Soil, 1984) en suelos volcánicos de Costa Rica. Esto se traduce en que el control no esterilizado logra en algunos casos, bastante más desarrollo que los tratamientos. Debido a este efecto tóxico y a la efectividad de las cepas nativas, es que los ensayos que aparecen en Tablas 6 y 7 no se realizaron con suelo estéril.

La respuesta al aumento del potencial de inóculo puede visualizarse en Tabla 6, en relación al aprovechamiento del P y, en consecuencia, del rendimiento. Los datos aquí consignados permiten deducir que la micorriza nativa es eficiente en el movimiento del P nativo así como también del P-fertilizante a consecuencia del aumento en el número de propágulos. La inoculación en las condiciones de la experiencia permiten concluir que la respuesta al inóculo añadido fue equivalente a 100 kg P_2O_5 /ha.

Por otra parte, los ensayos de inoculación de hongos VA y fosfobacterias aparece en Tabla 7. Allí se observa que la fosfobacteria no moviliza P nativo; sin embargo, Glomus Mosseae es efectiva en el aumento de rendimiento aunque no se visualiza un efecto sinérgico con la fosfobacteria. Por el contrario, al agregar P-fitato se produce un efecto sinérgico entre ambos microorganismos,

efecto visualizado también por otros investigadores (Raj et al., 1981).

e) Actividad fosfatásica vs VAM en raíces de trigo. Es sabido que la productividad de las plantas está fuertemente influenciada por su capacidad de extraer y utilizar los fosfatos del suelo. Esta capacidad la desarrollan los vegetales a través de la secreción de exudados radiculares los que regulan, a ese nivel, la eficiencia del uso del P. La habilidad para captar P en situaciones de baja disponibilidad de este elemento está asociada, según Mac Lachlan (1980) con la capacidad de la planta de acidificar la zona radicular y la presencia en ella de la enzima fosfatasa ácida (E.C.3.1.3.4.1), enzima que se asocia generalmente con la hidrólisis de formas orgánicas de P, liberando fosfato inorgánico. Según Bieliski (1973), la actividad fosfatásica está influenciada por el nivel de P en el medio radicular siendo mayor en situaciones de "stress" de fosfato. Por tanto, la actividad de la enzima se parece, en parte, a la actividad de la micorriza ya que ambas tienden a aportar P a la planta y ambas declinan cuando la concentración de P endógeno aumenta.

En la Fig.2, se visualiza el comportamiento de ambas "estrategias" de aporte fosforado al trigo en relación al tiempo de crecimiento. El efecto en el mejoramiento de la nutrición fosforada parece ser sinérgico para ambas estrategias hasta los 45 días, tiempo en la que la planta requiere un mejor aporte. Sin embargo, el hongo VA parece ser más efectivo en el tiempo y podría ser considerado como uno de los mecanismos de mantención en cuanto al aporte de P. Similares conclusiones obtuvieron Azcón et al., (1982) trabajando con plantas de lavándula y trigo.

f) Investigación a futuro. Todo lo anterior indica que en estos suelos, la investigación a futuro deberá centrarse en los siguientes aspectos:

1) Aislar las formas de P-macromolecular mediante filtración por exclusión molecular para evitar al máximo la hidrólisis. Es importante comprobar, mediante el uso de ³²P si dichas formas son utilizadas por las plantas y más concretamente, la acción de los hongos VAM sobre ellas.

2) Aislar las distintas cepas de hongos VAM más comunes para encontrar los más efectivos e inocularlos junto a "fosfohongos", de modo de estudiar su posible sinergismo. Sería de utilidad observar las respuestas de gramíneas frente a esta inoculación mixta, en especial en presencia de fertilizantes de bajo cos-

to como son las rocas fosfóricas.

3) Con el fin de evitar erosión de algunos suelos alofánicos se está haciendo una práctica muy extensiva el uso de la llamada "Cero Labranza" en donde el suelo no es disturbado. Aparece bastante atractivo el estudiar los hongos VAM en estos sistemas de cultivo en comparación con los normales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Azcón,R.,Barea,J.M. y Callao,V.(1973): Inoculación conjunta de microorganismos solubilizadores de fósforo y Rhizobium en cultivos enarenados de Juddía. II. Microbiol.Españ. 26, 135-147.

Azcón,R.,y Ocampo,J.A. (1981): Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. New Phytol., 87,677-685.

Azcón,R.,Borie,F., y Barea,J.M.(1982): Exocellular acid phosphatase activity of lavender and wheat roots as affected by phytate and mycorrhizal inoculation. Les Colloques de l'INRA (13),83-85.

Barea,J.M. y Azcón,C.G.de Aguilar (1982): Mycorrhizal and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. Adv.Agron. 36,1-56.

Bielisky,R.L.(1973): Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. Ann. Rev. Plant Physiol 24,205-252.

Borie,F. (1981): Caracterización de diversas fracciones del P y significado de los microorganismos en el aporte de P en andisoles chilenos. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.

Borie,F. y Barea,J.M. (1983): Fósforo orgánico en suelos volcánicos de Chile. Agricultura Técnica (Chile), 43(3), 239-248.

Borie,F.,Quinteros,J. y Aguilera,M.(1983) : Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. IV. Solubilización de fosfatos por hongos del suelo. Agricultura Técnica (Chile), 43(3), 1983.

Borie, F. y Zunino,H. (1983) : Organic matter-phosphorus associations as a sink in P-fixation processes in allophanic soils of Chile. Soil Biol. Biochem., 15,5 599-603.

Borie,F. y Barea,J.M. (1985): Occurrence of lipid-P in volcanic ash-derived soils of Chile. Agrochimica (in press).

Dick,W.A. y Tabatabai, M.A.(1977): An alkaline oxidation method for determination of total phosphorus in soils. Soil Sci. Soc. Am. J., 41(3), 511-514.

Hayman, D.S. (1975). The occurrence of micorrizas in crops as affected by soil. In "Endomycorrhizas". F.E.Sanders, B.Mosse and P.B.Tinker (Edts). Academic Press, London, 495-509.

Hayman, D.S., Barea, J.M. and Azcón, R. (1976). Vesicular arbuscular mycorrhiza in Southern Spain its distribution in crops growing in soil different fertility. *Phytopathologia Mediterránea* 15, 1-6.

Hayman, D.S. and Stovold, G.E. (1979) Spore populations and infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales. *Aust.J.Bot.*, 27, 227-233.

Gerdemann, J.M. y Trappe, J.M. (1974): The Endogenaceae of the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* N° 5.

Mc Lachlan, K.D. (1980): Acid phosphatase activity of intact roots and phosphorus nutrition in the plants. I. Assay conditions and phosphatase activity. *Aust.J. Agric.Res.*, 31, 429-440.

Martin, J.P. (1950) : Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.*, 69, 215-232.

Mosse, B. y Bowen, G.D. (1968) : A key to recognition of some Endogone spore types. *Trans.Br.Mycol.Soc.*, 51, 469-483.

Phillips, J.M. y Hayman, D.S. (1970) : Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br.Mycol. Soc.*, 55, 158-161.

Pochon, J. y Tardieux, P. (1961): *Techniques d'analyse en microbiologie du sol.* Editions de la Tourelle (Seine).

Raj, J., Bagyaraj, D.J. y Manjunath, A. (1981): Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and ³²P uptake. *Soil Biol.Biochem.* 13(2), 105-108.

Ramos, A. y Callao, V. (1967): El empleo de la solubilización de fosfatos en placa como técnica diferencial bacteriana. *Microbiol.Españ.*, 20, 1-12.

Steward, J.H. y OADES, J.M. (1972): The determination of organic phosphorus in soils. *J. Soil Sci.*, 23(1), 38-49.

Sward, R.J., N.D. y Holland, A.A. (1978): Endogone spores in a heathland area of south-eastern Australia, *Austr. J.Bot.*, 26, 29-43

Zunino, H., Borie, F., Aguilera, M., Martin, J.P. and Haider, K. (1982): Decomposition of ¹⁴C-labeled glucose, plant and microbial products and phenols in volcanic-ash derived soils of Chile. *Soil Biol. Biochem.* 14, 37-43.

Zunino, H., Aguilera, M., Peirano, P., Calozzi, M. y Rex, A. (1983): Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. 3. Síntesis microbiana de polímeros húmicos y su capacidad de absorción de Zn(II) y Mg(II). *Agricultura Técnica (Chile)*, 42(4), 287-292.

TABLA 1. P total y P acumulado durante "n" años en suelos alofánicos.

	P total (ppm)		Δ Pt (ppm)	Δ Pt Kg/ha
	Cultivado	Sin cultivar		
Corte Alto	2387	1513	874	1311
Arrayán	1982	1562	380	570
Loncoche	3102	1503	1600	2400
Malihue	1724	1542	182	273
Osorno	3560	3000	560	840
Osorno 2	2768	2380	388	582
San Pablo	3074	2812	262	393
Victoria	2380	1950	430	645
Puerto Varas	2175	1371	804	1206
Metrengo	4011	2135	1876	2814
Río Bueno	3561	3243	318	477
Victoria 3	1422	1150	272	408
Lican Ray	2224	1773	451	677

Tabla 2. Fósforo orgánico unido a la fracción húmica y fúlvica de suelos alofánicos.

	P org. (ppm)	P-húmico		P-fúlvico	
		% P org.	% P total	% P org.	% P total
Corte Alto C	1257	85	45	15	8
Corte Alto s/c	835	81	45	19	10
Arrayán C	1057	65	34	35	19
Arrayán s/c	1150	66	49	34	25
Loncoche C	1290	83	35	17	7
Loncoche s/c	723	66	32	34	16
Malihue C	1280	64	47	36	27
Malihue s/c	973	43	27	57	36
San Pablo C	1879	59	36	41	25
San Pablo s/c	1729	56	34	44	27
Victoria C	1409	89	53	11	6
Victoria s/c	1063	80	44	20	11
Puerto Varas C	1560	70	50	30	22
Puerto Varas s/c	1040	65	49	35	27
Metrenco C	3197	95	76	5	5
Metrenco s/c	1145	76	41	24	13
Osorno 2	1552	79	51	21	14

C = Cultivado

s/c = Sin cultivar

Tabla 3. Bacterias y hongos solubilizadores de fosfatos orgánicos e inorgánicos presente en la rizosfera de suelos volcánicos.

	Solubilizadores P org. (%)		Solubilizadores P inorg. (%)	
	Bacteria	Hongos	Bacterias	Hongos
Lican Ray C	16	33	16	35
Lican Ray s/c	25	7	20	10
Purranque C	33	65	33	45
Purranque s/c	13	7	12	<5
Rfo Bueno C	10	20	5	15
Rfo Bueno s/c	10	10	<5	5
Victoria C	20	25	<5	25
Victoria s/c	20	50	<5	30
Osorno C	25	60	<5	<5
Osorno s/c	80	30	80	60
Corte Alto s/c	30	33	<5	<5
Lastarria s/c	10	66	<5	<5
Metrenco s/c	5	80	<5	60
Arrayán s/c	20	50	<5	50
Puerto Octay s/c	<5	<5	<5	<5

C = Cultivado

s/c = Sin cultivar

Tabla 5. Inoculación de cepas de colección sobre rendimiento e infección de plantas de trigo sobre un suelo volcánico típico.

Tipo de espora	Rendimiento (mg/maceta)		Infección	
	- P	+ P	-P	+P
Control ¹	330 ± 35	410 ± 43	-	-
"Yellow vacuolate"	341 ± 32	540 ± 50	+	+++
"Laminate"	375 ± 40	530 ± 51	+	++
"Honey Coloured"	338 ± 35	383 ± 41	-	-
"E ₃ "	365 ± 41	428 ± 40	-	-
Control no estéril	515 ± 61	824 ± 79	+++	+++

¹ : Posee microflora nativa excepto hongos VA
 P : 20 Kg P₂₀₅
 +: hasta 20% ; ++: 20 - 50% ; +++: 50%

Tabla 4. Infección por micorrizas VA y tipo de esporas en suelos cultivados y sin cultivar.

Suelos	Infección (% raíz)	Esporas / 100 g * suelo										Total
Río Bueno ^C	23	11	5	42	-	4	-	4	5	-	14	85
Río Bueno ^U	50	8	-	112	-	-	-	-	15	-	30	165
Purranque ^C	68	11	4	5	-	-	-	8	8	-	20	88
Purranque ^U	69	-	38	8	-	-	-	-	-	2	13	106
Lican Ray ^C	64	-	-	52	-	-	-	-	-	-	13	130
Lican Ray ^U	67	-	27	26	-	-	-	-	-	-	44	91
Victoriac ^U	31	-	-	29	-	-	-	-	-	-	8	51
Victoriac ^C	41	-	17	-	-	6	-	7	14	-	17	66
Las Quemasc ^U	26	56	-	-	-	6	6	52	-	-	79	210
Las Quemasc ^C	24	15	6	-	-	7	19	21	-	-	89	160
La Unión ^U	39	7	7	-	-	-	21	21	-	-	56	112
La Unión ^C	17	7	15	13	-	-	14	-	-	-	70	128
Fructillar ^U	53	-	42	28	-	-	-	41	14	-	7	105
Osornou ^U	29	7	-	92	-	-	-	-	-	-	15	121
Corte Alto ^U	16	-	-	-	-	-	7	-	-	-	45	84
Metrencu ^U	4	-	12	-	-	-	18	21	-	-	13	52
Arrayán ^U	6	-	-	-	-	-	-	27	-	-	39	39
Lascañria ^U	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	18

* : Según Gerdemann - Trappe (1974)
 ** : Según Nosse - Bowen (1968)
 c : trigo
 u : no cultivado

Tabla 6. Efecto de aumento del potencial de inóculo sobre el aprovechamiento del P-fertilizante en trigo.

Superfosfato (Kg P ₂ O ₅ /ha)	Rendimiento (mg/maceta)	
	Suelo no estéril	Suelo no estéril + inóculo nativo
0	372 ± 40	490 ± 47
100	560 ± 59	742 ± 81
300	900 ± 87	1020 ± 91

Tabla 7. Efecto de la inoculación de *Glomus mosseae* y *Pseudomonas* sp sobre el crecimiento y captación de P por trigo en un suelo volcánico.

Tratamiento	-P agregado		+ P agregado 150 Kg P ₂ O ₅ /ha. fitato	
	Rendimiento % P (mg/maceta)		Rendimiento % P (mg/maceta)	
Control	1127 ± 120	0.14	1552 ± 140	0.18
<i>Glomus mosseae</i>	1605 ± 130	0.19	1811 ± 175	0.18
<i>Pseudomonas</i>	1236 ± 115	0.16	1924 ± 187	0.18
<i>Glomus</i> + <i>Pseudomonas</i>	1479 ± 157	0.18	2303 ± 190	0.18

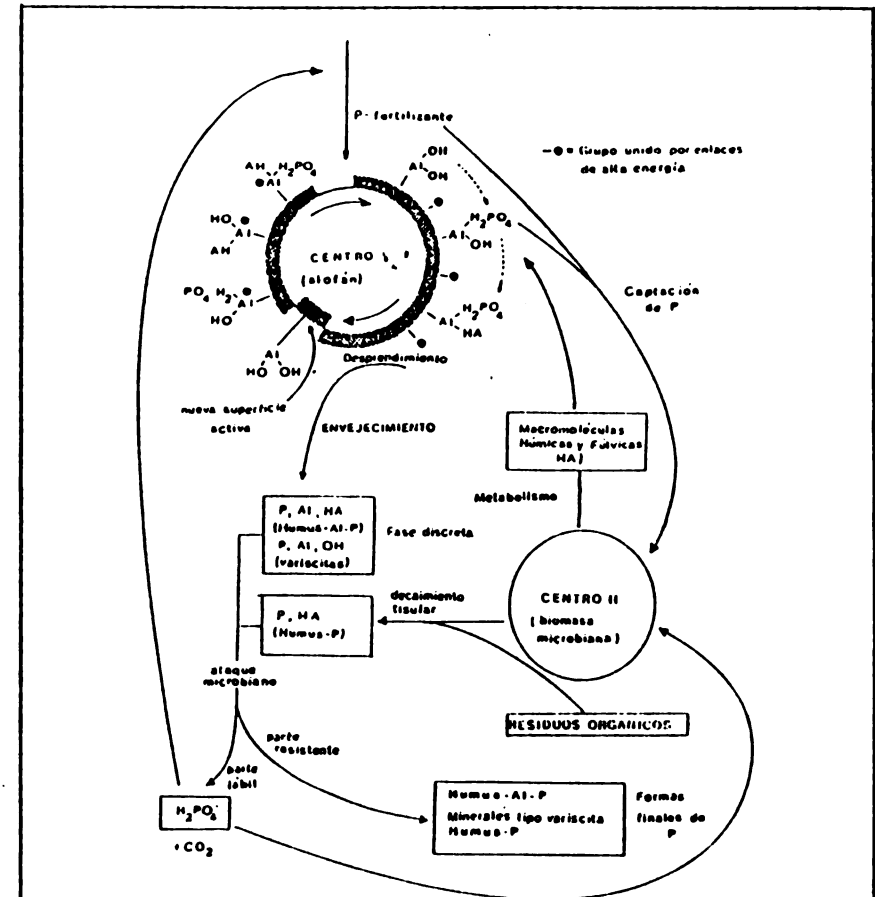


FIGURA 1 (ADAPTADA DE BORIE Y ZUNINO, 1983) ESQUEMA HIPOIETICO QUE INTERPRETA LA INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA SOBRE EL CICLO DEL "P" EN SUELOS ALOFANICOS. NOTESE LA ACUMULACION DE FORMAS DE "P" ASOCIADAS A LA H.O. EN ESTE ESQUEMA SE HAN CONSIDERADO SOLO SUPERFICIES DEL ALOFAN DERIVADAS DE ALUMINIO ACTIVO. EN CIERTOS CASOS Y CONDICIONES TAMBIEN EL Fe(II) Y Fe(III) PUEDEN PARTICIPAR EN FORMA SIMILAR AL^{III}AL^{III}.

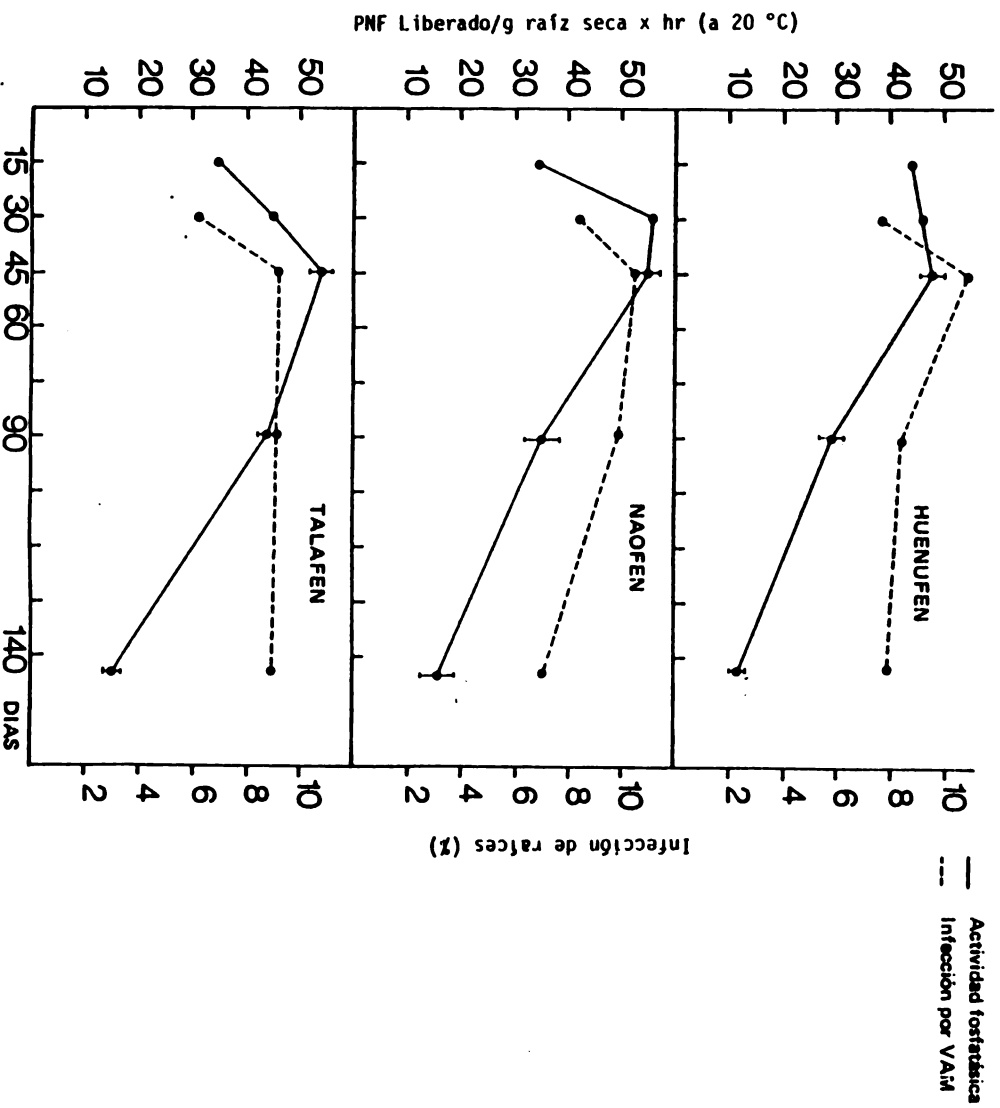


Fig. 2 : RELACION ENTRE ACTIVIDAD FOSFATASICA E INFECCION POR "VAI" MICORRIZAS EN RAICES DE TRES VARIEDADES DE TRIGO.

Ecología y distribución de endomicorrizas

D.S. Hayman - Lecture 2

1. Distribution of Mycorrhizas in the Plant Kingdom

Most plant species examined so far are mycorrhizal - mainly (~95%) of the VA type, although most mycorrhizal biomass is of the ecto type in some habitats. The following summary is modified from Gerdemann (1968).

OCCURRENCE OF MYCORRHIZA IN THE PLANT KINGDOM

Type of Mycorrhiza	Main Plant Groups Affected	Fungi Involved
Ecto-	Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae, etc.	Basidiomycetes (especiallly Agaricales & Gasteromycetes); a few Ascomycetes; <u>Endogone</u> spp (?)
Orchid	Orchidaceae	Basidiomycetes, N.B. <u>Rhizoctonia</u> & <u>Armillaria</u> .
Ericoid	Ericales	Ascomycetes, N.B. <u>Pezizella ericae</u> .
VA (Vesicular-arbuscular)	Bryophytes; Pteridophytes; Gymnosperms (excl. Pinaceae); Angiosperms (excl. families listed elsewhere) - N.B. Leguminosae, Gramineae, Rosaceae, etc.	Endogonaceae (Zygomycetes/ Phycomycetes); 4 main genera: <u>Glomus</u> , <u>Gigaspora</u> , <u>Acaulospora</u> & <u>Sclerocystis</u> .
Ecto and/or VA	Salicaceae, Myrtaceae, Tiliaceae, etc.	Ecto & VA fungi
(Ectendo- & misc.)	Ecto- species; <u>Arbutus</u> (Ericales).	Basidiomycetes (?)
Non- or rarely mycorrhizal	Cruciferae, Chenopodiaceae, Cyperaceae, Centrospermae, etc.	(VA fungi)

2. Global Distribution of Mycorrhizas

- (i) Soils and Vegetation
 - ectomycorrhizal trees predominant in north-temperate podzols
 - ericoid mycorrhizas mainly in acid heathlands
 - VA mycorrhizas abound in a wide range of habitats
- (ii) Fungal Biomass
 - probably more plant tissue is infected by mycorrhizal fungi than by any other large group of fungi
 - plants in a temperate woodland are estimated to support around 400 kg/ha of mycorrhizal mycelium (as dry matter)
 - plant compensated for loss of carbon by increased P inflow; most soils are low in P
 - evolutionary implications and ancient origin of mycorrhizas
- (iii) Global Spread
 - some mycorrhizal species have a world-wide distribution
 - probably spread with their host plants

3. Mycorrhizas in Natural Ecosystems

- (i) Sand dunes
 - amount of VAM is greatest in stable, fixed zones
 - external mycelium can bind sand particles together
- (ii) Marshes and Bogs
 - generally less mycorrhizal infection in wet or waterlogged soils
- (iii) Forests
 - temperate deciduous forests contain tree species with ecto and VA mycorrhizas
 - herbaceous and climbing plants usually have much VAM infection in temperate deciduous forests
 - in tropical rain forests VAM is dominant, although certain tree species form ectomycorrhiza.
- (iv) Grasslands and Pastures
 - quite extensive VAM infections have been reported in calcareous and acid grasslands
- (v) Role of Mycorrhiza in a Natural Ecosystem
 - illustrated by a study of a deciduous woodland in Britain
 - seedlings of indigenous Betula only grew well in the woodland soil when ectomycorrhizal
 - the dominant herbaceous plants, especially Fragaria and Viola, and seedlings of Fraxinus, only grew well in the woodland soil when VA mycorrhizal
 - it was considered most realistic to measure responses to mycorrhiza in unsterile soil, compared to non-mycorrhizal controls in sterilized soil
- (vi) Plant competition
 - relative competitive ability of different plant species is affected by mycorrhiza

(vii) The Mycorrhizal System

- key role of P flow between soil, fungus and plant
- flow of carbon from plant to fungus
- importance of litter breakdown, nutrient cycling, and effects of added nutrients

4. Factors affecting the Distribution and Dispersal of VAM

- (i) soil fertility - generally nutrients inhibit VAM
- (ii) plant susceptibility - varies widely
- (iii) soil moisture - excess water → negative effect
- (iv) soil depth - population drops below 15 cm
- (v) altitude - generally much infection in alpine habitats
- (vi) light and humus - plants with VAM may tolerate shade better by obtaining some C from humus
- (vii) soil disturbance - negative effect
- (viii) spore numbers - can relate to root infection in annual crops but not in perennial and natural systems
- (ix) physical movement of soil - earthworms, water, machinery, feet
- (x) wind - e.g. in dust storms
- (xi) random variation - important to bulk many subsamples

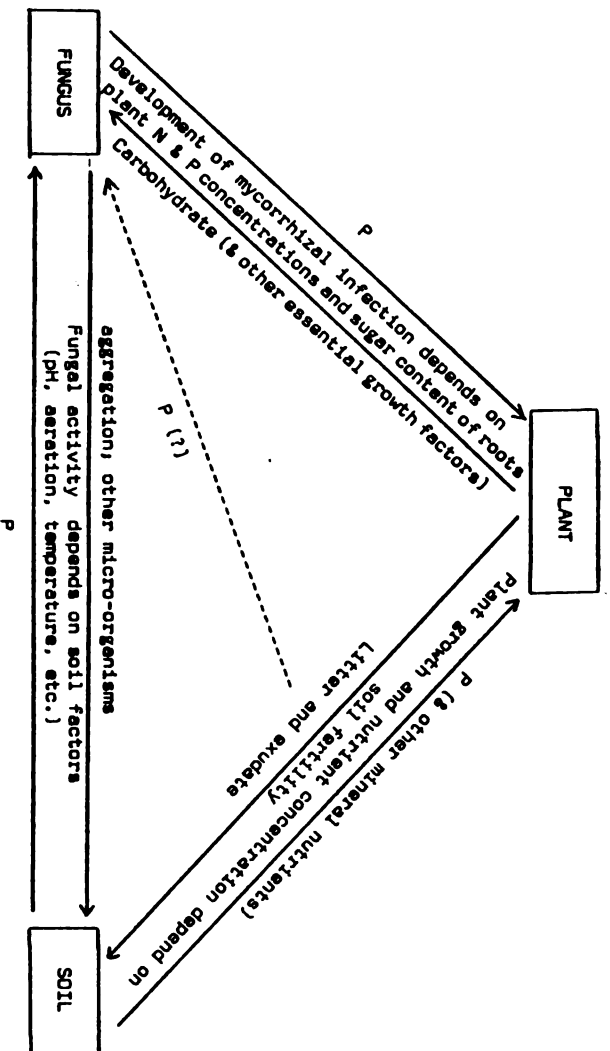
5. VA Mycorrhizas in Agricultural Systems

- (i) Crop species
 - field and plantation crops range from those that are heavily mycorrhizal, e.g. cassava, maize, lucerne (alfalfa), to those with no mycorrhiza, e.g. cabbage, turnips, sugarbeet
 - infection plateau reached in crops during growing season
 - site factors affect soil infectivity and VAM development in crops
- (ii) Crop rotations
 - a heavily mycorrhizal crop should leave behind considerable infected root material and spores as inoculum for subsequent crops
- (iii) Crop interactions
 - in mixed cropping, a species like mustard may inhibit infection in a mycorrhizal host, e.g. wheat
- (iv) Fertilizers and soil fertility
 - negative effects of N and P fertilizers on field populations of VAM
 - some VAM species are more inhibited than others

(v) Pesticides

- negative effects reported for general biocides (e.g. dazomet), insecticides (e.g. aldrin) and fungicides (e.g. benomyl) applied direct to soil
- can sometimes retain infection but with activity lost

Some factors involved in the functioning of mycorrhizal systems
(N.B. movement of Phosphorus)



Mycorrhizal fungi can also increase plant uptake of Zn, Cu, organic N (?) and water, some plant hormone levels, and photosynthesis (?).

N.B. Plant species, soil fertility and fungal species/strain govern the effectiveness of the symbiotic interactions.

INTERACCION DE LOS HONGOS FORMADORES DE MVA CON MICROORGANISMOS
BENEFICIOSOS DEL SUELO, ESPECIALMENTE CON Rhizobium spp.

por

JOSE-MIGUEL BAREA

Departamento de Microbiología, Estación Experimental
del Zaidín, CSIC. Prof. Albareda 1,
18008-Granada, España.

RESUMEN

Los hongos formadores de MVA están integrados en el conjunto de interacciones microbianas que tienen lugar en el suelo, habiéndose demostrado consecuencias importantes de tales interacciones en la formación de la simbiosis y, subsiguientemente, en el crecimiento y nutrición vegetal. Entre dichas interacciones merecen destacarse las que derivan de:

(1) Efecto general de los microorganismos del suelo sobre la formación de MVA.

En este sentido se ha encontrado que microorganismos comunes del suelo son capaces de facilitar la formación de micorrizas entre Glomus mosseae y Medicago sativa. El efecto, al menos en parte, puede ser atribuido a una estimulación del hongo VA en los estadios de pre-infección.

(2) Efecto de los microorganismos del suelo sobre la germinación y desarrollo de las esporas de Glomus spp.

Se ha demostrado que algunos hongos microscópicos de vida libre aislados del suelo, estimulan el ritmo de germinación de las esporas del hongo VA Glomus mosseae. Así mismo, incrementaron el desarrollo del micelio y la formación de esporas vegetativas por este hongo VA.

(3) Cooperación con Microorganismos Solubilizadores de Fosfatos (MSP) para la estimulación del crecimiento y nutrición vegetal

Aunque la efectividad de dichos microorganismos es desde hace tiempo motivo

de controversia científica, algunos experimentos han demostrado un cierto grado de sinergismo entre MSP y MVA. Estos ensayos son analizados, discutiéndose los mecanismos implicados y las condiciones del sistema suelo-planta, prerequisites para obtener efectos beneficiosos en cuanto al crecimiento y nutrición de la planta.

(4) Cooperación con Rhizobium spp.

La escasez de P asimilable en la mayoría de los suelos es un factor doblemente crítico en el caso de las leguminosas ya que estas plantas tienen una necesidad adicional de fosfato para que ocurra la nodulación y fijación simbiótica de N₂. Una micorrización optimizada favorece tales procesos como ha sido demostrado en diversos experimentos que utilizaron distintos sistemas Leguminosa-Rhizobium y bajo condiciones de invernadero y campo. También se ha descrito la existencia de interacciones de Rhizobium spp. y hongos VA a nivel de la formación de sus respectivas simbiosis con la planta hospedadora común.

(5) Otras interacciones microbio-micorriza

Hay evidencias experimentales de que bacterias tales como Frankia sp. (actinomiceto formador de actinorrizas, fijadoras simbióticas de N₂ en no-leguminosas), Azospirillum y Azotobacter etc, llevan a cabo ciertas acciones conjuntas con los hongos VA las cuales tienen importantes consecuencias en el desarrollo vegetal. Las posibilidades de aplicación de estas interacciones son discutidas a la vista de los conocimientos actuales y perspectivas de la investigación.

Son de hacer notar la colaboración entre microorganismos del suelo y los hongos VA en relación con la formación de agregados de partículas de suelo.

ESTUDIO SOBRE LA PRESENCIA DE LOS HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA VESICULO ARBUSCULAR EN LA CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum* spp.) EN EL VALLE DEL CAUCA, COLOMBIA

POR

SILVIA TORO TRUJILLO
Apartado aéreo 6713
Cali, Valle
Colombia

RESUMEN

En cuatro sitios diferentes del Valle del Cauca y donde por más de 10 años se había cultivado caña de azúcar (*Saccharum* spp.), se estudió la presencia de los hongos micorrizicos VA. Las variedades POJ 28-78 y CP 57-603 presentaron siempre estructuras típicas de los hongos formadores de MVA. El porcentaje de infección fue mayor a los 6 meses de la siembra, pero varió según la variedad, la fertilización y el sitio. La infección fue inversamente proporcional al nivel de fósforo en el suelo. Sin embargo, en cada sitio los diferentes niveles de fertilización con P, con y sin N y K, no modificaron tanto la infección. La fertilización con N aumentó generalmente la infección.

La distribución de la infección en el campo fue igual en las raíces del surco y del entresurco, hasta 30 cm de profundidad; en éste caso la fertilización redujo el número de esporas. Especies de los géneros *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora* y *Gigaspora*, se aislaron de los cultivos de caña.

SUMMARY

Study on the occurrence of VA mycorrhizal fungi in sugarcane (*Saccharum* spp.) in the Valle del Cauca, Colombia.

At 4 different sites of the Valle del Cauca, Colombia, the presence of VA mycorrhizal fungi on two varieties of sugarcane (*Saccharum* spp.) was studied.

All sites had been in sugarcane for more than 10 years. At all sites, both varieties, i.e. POJ 28-78 and CP 57-603, showed typical infections of roots by VA mycorrhizal fungi. Infection ratings had an optimum at 6 month after planting but infection varied due to the variety, the site and the fertilizers applied. The infection was inversely proportional to the soil P level. Within sites different levels of P applications (with or without combined N, K

fertilizations) changed the infection ratings slightly. Only N fertilization generally increased mycorrhizal infection. No expressed differences were found in vertical and lateral distribution of infection in the field; however, fertilization reduced number of spores of VA mycorrhizal fungi, in this case. Species of VA mycorrhizal fungi of the genera *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora* and *Gigaspora* were isolated from the different soil sites in different numbers.

INTRODUCCION

La caña de azúcar se cultiva en una extensión de 130,000 ha en el Valle del Cauca, Colombia, con una producción anual de 1.200.000 t de azúcar, provenientes de 11.000.000 t de caña. En Colombia el 75% del azúcar producido se consume y el 25% se lo exporta; también produce miel, papel, panela y bagazo (Cenicafé 1982).

Aunque se ha determinado que los hongos micorrizicos VA pueden infectar numerosas plantas (Mosse, 1981), poco se conoce del sistema micorrizal de la caña de azúcar. Treub en Jaba (Redhead, 1980) determinó la asociación y Dainese y Cardoso (1981) encontraron especies de *Glomus* y *Gigaspora* asociadas con 6 variedades de caña de azúcar en Piracicaba (Brazil); por lo tanto, en éste trabajo se trató de establecer algunas bases de la micorriza vesículo arbuscular en la caña, para que en un futuro sea posible manejar esta simbiosis en su beneficio.

MATERIALES Y METODOS

Sitios

El estudio se efectuó en el valle geográfico del río Cauca, el área cañera más importante de Colombia, en los ingenios Cauca (Suerte 319), Carmelita (Suerte 107), Riopaila (Suerte 10110) y Manuelita (Suerte 18), todos a 1.100 msnm y a una temperatura promedio anual de 24 °C.

Suelos

Las características físico-químicas de cada sitio se encuentran en la tabla 1.

Variedades de caña de azúcar

La POJ 28-78 y la CP 57-603 se evaluaron en los sitios Cauca y Manuelita, mientras que en Carmelita y Riopaila únicamente la POJ 28-78.

Tabla 1. Características físico-químicas de los suelos considerados

Sitios	Clasificación de los suelos*	PH	MO	P ppm	Ca Mg K			Textura	Estructura	Drenaje	Nivel freático
					meq/100 g suelo						
Cauca	Vertic Eutropept	5,45	2,02	7,03	10,23	4,32	0,33	Ar	Subangular	Pobre	Medio alto
Manuelita	Pachic Haplustoll	6,75	3,46	20,67	20,7	11,05	1,27	F	Subangular	Bien drenado	-
Carmelita	Udorthentic Chromustert	5,75	2,38	6,73	14,5	11,94	0,16	Ar FAR	Subangular	Pobre	Alto
Riopalla	Typic Pellustert	6,35	2,63	7,01	21,95	14,15	0,47	F Ar	Subangular	Muy bien drenado	-
	Ustropept										

* Taxonomía de suelos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

Parcela experimental

En cada sitio y para cada variedad, se establecieron parcelas de 126 m² (8 surcos a 1,5 m y 12 m de largo), con una densidad de siembra comercial (110.000 plantas ha-1). Tres bloques completamente al azar se consideraron para la observación de la MVA. Todos los ensayos los estableció el Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña.

Fertilización de la caña

Se aplicó nitrógeno (urea, 50t a la siembra y 50t después de un mes), fósforo (superfosfato triple, a la siembra) y potasio (cloruro de potasio a la siembra), a niveles de 0,50 y 100 kg, ha-1 de N, P2O5 y K2O. También se estableció el tratamiento sin fertilización y las combinaciones de ellos para un total de 12 tratamientos.

Épocas de muestreo

La presencia de los hongos micorrízicos VA se observó a los 4, 6 y 8 meses de edad de la caña, es decir cuando estaban en la etapa de su máximo crecimiento (Cenicafía, 1982).

Muestreo de suelo y raíces

Los muestreos se hicieron de 0-20 cm del surco y de 0-15 cm de profundidad.

En el sitio Cauca y en la POJ 28-78 se muestrearon el suelo y las raíces de 0-20 cm y de 15-30 cm de profundidad, de los niveles de fertilización 0-0-0, 50-50-50 y 100-100-100 Kg. ha⁻¹ de N,P2O5 y K2O respectivamente, a los 6 meses de edad de la caña.

A los 4 meses, de las parcelas no fertilizadas y de las dos variedades donde las hubo, se tomaron muestras hasta 30 cm de profundidad para multiplicar las endofitas de cada sitio.

Tinción de los hongos micorrízicos VA

Se usó la metodología de Phillips y Hayman (1970) modificada. A las raíces lavadas con agua se les agregó KOH (10%) y se dejaron una hora al baño María. Luego se lavaron con agua corriente y se las puso en HCL (10%) por una hora. Una solución de azul de tripano 0,1% en lactofenol se usó para teñir las estructuras fungosas.

Cuantificación de la infección

El porcentaje de raíces con hongos micorrízicos VA se determinó después de determinar la longitud de la raíz y la longitud infectada de cada muestra, usando el método de Marsh (1971) y Newman (1966). También se realizó una estimación del grado de infección (Sieverding, 1983).

Morfología de la micorriza vesículo arbuscular

Raíces teñidas de las dos variedades y de toda las épocas se montaron en láminas y se observó la morfología de las endofitas en un microscopio Leitz "Ortolux". Finos montajes y raíces completas se fotografiaron con una cámara Widd-Heerbrugg.

Cuantificación de las esporas

De 50 g de suelo representativo por parcela, se realizó la separación de las esporas por el método de Sieverding, 1983. Las esporas se contaron en un estereoscopio Wild M7A, separadamente, según su morfología.

Multiplicación, descripción y/o identificación de las endofitas

Los hongos micorrízicos VA se multiplicaron en *Pueraria phaseoloides*, siguiendo la metodología de Sieverding, 1983. De 50 esporas de cada posible especie, se determinaron las características morfológicas.

El uso de las claves taxonómicas de Trappe (1982), Schenck y Smith (1982) y Schenck et. al. (1984) permitieron en algunos casos precisar las especies.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis combinado en el tiempo para los tratamientos, usando el lenguaje *Statistical Analysis System* (SAS) en un computador IBM 4331 del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

RESULTADOS

Morfología de la micorriza vesículo arbuscular

Tanto en la POJ 28-78 como en la CP 57-603, la infección por los hongos micorrízicos VA se identificaron por las hifas, los arbuscúlos y las vesículas.

Hifas no septadas, gruesas y delgadas se desarrollaron fuera de las raíces, así como intra e intercelularmente. La colonización se observó a través de las células, entre ellas y por masas de micelio que se localizaron en la epidermis.

Vesículas apicales o intercalares se encontraron simultáneamente con hifas o arbuscúlos, aunque también la presencia de solo arbuscúlos fue común a los 4 meses de edad de la caña.

La formación de esporas de endófitas dentro de las raíces de la caña, se encontró en las dos variedades, independientemente del sitio y del tratamiento de fertilización; esporas conectadas a las hifas externas se vieron en el sistema Manuelita cuando la caña tenía 8 meses.

Descripción y/o identificación de las endófitas

En total se encontró en todos los sitios 24 diferentes especies, que se distinguieron morfológicamente, 17 pertenecieron al género *Glomus*, 2 a *Sclerocystis*, 2 a *Acaulospora*, una a *Entrophospora* y 2 a *Gigaspora*.

Glomus occultum, *Glomus fasciculatum*, *G. mosseae*, *Acaulospora appendicula* y *A. longula*, se identificaron; éstas y las otras especies se describieron (Toro 1985). El número de especies de cada género separadas de cada sitio se detalla a continuación en la tabla 2.

TABLA 2. Número de especies de cada género aisladas en cada sitio del Valle del Cauca.

Sitios	Géneros				
	<u>Glomus</u>	<u>Sclero</u> <u>cystis</u>	<u>Acaulos</u> <u>pora</u>	<u>Entrophos</u> <u>pora</u>	<u>Gigaspora</u>
Cauca	9*	1	1	1	-
Manuelita	13	-	1	1	2
Carmelita	7	-	1	-	-
Riopaila	5	1	2	-	-

* Número de especies de cada género encontradas.

La distribución de las posibles especies puede verse en la tabla 3.

Infección de la caña de azúcar por los hongos formadores de MVA

Efecto de la variedad

Teniendo en cuenta todos los promedios de infección en todos los sitios, alcanzó la POJ 28-78 un porcentaje de infección de 50,4% y la CP 57-603 de un 36,6%.

Efecto del suelo y la fertilización con NPK

Aunque los niveles de la infección general en los 4 sitios correlacionaron inversamente con el nivel de P del suelo, la fertilización con P solamente redujo la infección en el ingenio Cauca. El potasio y los diferentes niveles de N, P y K aplicados, no variaron los niveles de infección. Aplicando N la infección se incrementó en general y su importancia para favorecerla se comprobó cuando la infección se redujo con la aplicación de solo P y K.

Efecto del tiempo

Para la POJ 28-78 en los suelos más fértiles (sitios Manuelita y Riopaila) la infección fue ligeramente creciente en el tiempo, no así en los sitios de menor fertilidad y textura diferente (sitios de Cauca y Carmelita), donde tuvo un máximo a los 6 meses (figura 1a).

En Cauca y Manuelita, la CP 57-603 tuvo una infección mayor a los 6 meses (figura 1b).

TABLA 3 Distribución de las posibles diferentes especies de los hongos micorrizicos VA de cada género, en los suelos observados.

Sitios	Especies																								
	A*	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	Y	
Cauca	X**			X						X	X	X	X	X	X	X	X	X						X	X
Manuelita	X	X	X	X	X	X	X	X	X					X	X	X	X	X	X	X	X				X
Carmelita		X	X	X	X	X	X						X		X										X
Riopaila	X	X	X				X	X								X							X		X

* Cada letra corresponde con una especie de los siguientes géneros:

A, B, C, D, E, F, G, J, K, L, M, N, O, T, V: Glomus spp.

Q, R: Gigaspora spp.

S: Entrophospora sp.

Y: Acaulospora sp.

W, U: Sclerocystis sp.

H: Acaulospora appendicula

I: Glomus mosseae

P: Glomus occultum

D: Glomus fasciculatum

** x: Presencia de la especie en el sitio indicado.

Análisis estadísticos globales para cada sitio determinaron en Cauca y Carmelita para la POJ 28-78, y Manuelita y Cauca para la CP 57-603, que los porcentajes de infección a los 6 meses fueron significativamente mayores a los demás.

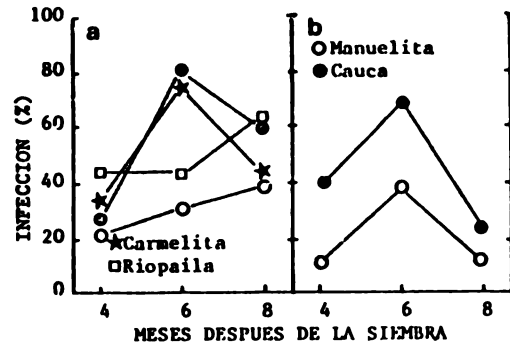


FIGURA 1. Variación durante el tiempo de la presencia de los hongos micorrizicos VA a) en la POJ 28-78 b) en la CP 57-603.

Distribución de los hongos micorrizicos VA en la POJ 28-78 del sitio Cauca, a dos profundidades del suelo y dos distancias de la base de la planta.

Los promedios de infección fueron iguales en el surco (0-20 cm de la planta) y en el entresurco (40-60 cm), con niveles de fertilización de 0-0-0, 50-50-50 y 100-100-100 kg. ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O. Con la aplicación de 50-50-50 Kg. ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O se determinó una mayor infección en los primeros 15 cm de la capa del suelo, que de 15 a 30 cm de profundidad, donde la infección fué significativamente menor. Con los otros niveles de fertilización, la infección no varió significativamente en la profundidad del suelo. El número total de esporas fue igual cuando se aplicó 50-50-50 y 100-100-100 Kg. ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O. Con la fertilidad natural (0-0-0) fue ligeramente mayor. Menor cantidad de esporas de una *Glomus* sp. (Tipo M) y de la *Entrophospora* sp. (Tipo S) se encontraron en el suelo fertilizado comparativamente con el suelo no fertilizado; las demás especies no variaron con la fertilización, ni con la la profundidad o la distancia a las cuales se tomaron las muestras.

DISCUSION

Los sitios donde se observó la presencia de los hongos MVA están hace más de 10 años con caña; debido a ésto, se puede concluir que *Saccharum* spp. forma MVA con hongos de los cinco géneros de la familia Endogonaceae. Si Dainese y Cardoso (1981) unicamente encontraron *Glomus* spp. y *Gigaspora* spp. en los suelos del Brazil, ésto no indica que la caña de azúcar tiene preferencia en asociarse solamente con algunas especies de hongos MVA. El trabajo realizado en la taxonomía de las especies confirma una vez más, que para una certera clasificación de las especies de la familia Endogonaceae, los cultivos puros de ellas, producidos en hospederos adecuados, son indispensables.

El desarrollo de la infección de lo hongos MVA en la caña de azúcar no se había descrito anteriormente. Los resultados muestran que la variedad y el suelo lo determinaron; así en los suelos bien drenados de los sitios Riopaila y Manuelita, la infección se incrementó del 40. al 80. mes en forma casi lineal, con la variedad POJ 28-78; en otros cultivos agronómicos su desarrollo depende de las condiciones del tiempo (CIAT 1985) o varía en forma sinusoidal (Sutton 1974). Los resultados de Dainese y Cardoso (1981) indican que las variedades de caña de azúcar alcanzaron diferentes porcentajes de infección por lo hongos MVA, lo cual se confirmó en este estudio.

Hayman et. al. (1976) no encontraron una correlación entre la infección micorrizica y la fertilidad de los suelos observados y en otros estudios (Davis y Young 1982) se determinó que la infección puede ser muy alta en suelos con alto contenido de fósforo. La caña, posiblemente debido a su extenso sistema radicular, mostró una mayor infección en suelos con un mayor contenido de fósforo (sitio Manuelita) que en los demás con menor disponibilidad de éste elemento. Es sorprendente, que la fertilización con P aún en niveles de 150 kg. ha⁻¹ de P₂O₅ no modificó significativamente la infección, en ningún sitio. Al contrario, la fertilización con nitrógeno, una práctica que fue reportada como inhibidora de la infección (Mosse, 1981), aumentó la presencia de la MVA en la caña de azúcar en la mayoría de los ensayos.

Las diferencias en la infección en la profundidad del suelo, se han explicado por las variaciones en el nivel de humedad del suelo (Sieverding, 1985) o por un mayor contenido de materia orgánica en la superficie del suelo (CIAT, 1985). En general, no se encontraron diferencias en la infección de las raíces de la caña de azúcar o en el número de esporas de las diferentes especies fungosas según

la profundidad del muestreo (hasta 30 cm) o la distancia de la cepa de la caña (hasta 40 cm). Por lo tanto se debe considerar que el potencial de la MVA para absorber nutrientes para Saccharum spp. abarca un área grande.

En general, el coeficiente de variabilidad de la infección fue alto entre las parcelas en cada sitio. No considero esto como un error en la metodología de la observación de la presencia de los hongos MVA, sino natural. Una posible interacción se encontró entre el alto coeficiente de variabilidad y el número total de especies fungosas en el sitio. Los resultados del sitio Manuelita indicaron esto, allá se encontró el número más alto de diferentes especies fungosas y también el coeficiente más alto en la infección en las raíces. Considerando, que todas las especies de hongos MVA no infectan la raíz al mismo tiempo y que la participación de una especie en la infección es variable durante el tiempo, altos coeficientes de variabilidad entre las parcelas no son sorprendentes.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación se realizó gracias a la dirección y colaboración del Dr. Ewald Sieverding y al Dr. Carlos Castilla C. También quiero dar las gracias al Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña, por haber facilitado sus ensayos para realizar en ellos las observaciones, así como su laboratorio; al Dr. E. Sieverding por facilitarme su microscopio, equipo de laboratorio; así como también la colaboración de todo el personal que trabaja con él.

BIBLIOGRAFIA

- Centro de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Colombia, Cenicaña. 1982. Informe de labores 1981. Editorial XYZ.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical 1985. Annual Report for 1982 and 1983. Cassava Program.
- Dainese, M.B. y E.J. Cardoso. 1981. Algunas observaciones sobre fungo endomicorrizicos en asociacao com cana de acucar em Piracicaba S.P. O solo 73 (1):24-27.
- Davis, E.A. y J.L. Young. 1982. Isolation and subculture of VA-mycorrhizal fungi from high fertility soils. *Agro-nomy Abstracts*. p. 185.
- Hayman, D.S.; J.M. Barea y R. Azcon 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in southern Spain. It's distribution in crops growing in soil of different fertility. *Phytopathologia Mediterranea* 15(1):1-6.
- Marsh, B.A.B. 1971. Measurement of length in arrangements of lines. *J. App. Ecol.* 8: 265.
- Mosse, B. Vesicular- Arbuscular Mycorrhiza Research for Tropical Agriculture. Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources. *Research Bulletin* 194. 88 pp.
- Newman, E.J. 1966. A method of estimating the total length of root in sample. *J. Appl. Ecol* 3:139.
- Philips, J.M. y D.S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans, Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Redhead, J. E. 1980. Mycorrhiza in natural tropical forests. En: Mikola, P. *Tropical Mycorrhizal Research*, Oxford University Press Oxford, p. 127-142.
- Sutton, J.C. 1974. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants. *Can. J. Bot.* 51(12): 2487-2493.
- Schenck, N. C. y G.S. Smith. 1982. Additional new and unreport species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia* 74(1):42-77.

- Schenck, N. C.; J.L. Spain; E. Sieverding y R Howeler. 1984. Several new and unreported vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Colombia. *Mycologia* 76(4):685-699.
- Sieverding, E. 1983. Manual de Métodos para la Investigación de la Micorriza Vesículo Arbuscular en el Laboratorio Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Sieverding, E. 1985. Influence of methode of VA mycorrhizal inoculum placement on the spread of root infection in field grown cassava. *J. Agron. Crop Sci.* 154. (en imprenta).
- Trappe, J.M. 1982. Synoptic Keys to the genera and species of zygomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72 (8):1102-1108.
- Toro, T.S. 1985. Estudio sobre la presencia de los hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular en la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en el Valle del Cauca. Tesis del grado. Ing. Agr. Universidad de Caldas.

ASOCIACION MICORRICICA DE LOS HONGOS HYGROPHORUS SP.
Y PISOLITHUS SP. CON EUCALYPTUS SALIGNA

POR
Bernabé Alvarado Z.

Instituto Nacional de los Recursos
Naturales Renovables y del Ambiente
INDERENA
Medellín, Colombia

RESUMEN

Se estableció en invernadero un ensayo para determinar la asociación micorrizica de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. con Eucalyptus saligna; igualmente evaluar la influencia de estos hongos en el desarrollo de esta especie forestal, mediante mediciones de altura y peso de raíces.

Realizadas las pruebas estadísticas, se encontró que entre las plántulas de E. saligna inoculadas con Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. no existen variaciones significativas en promedios de altura; pero estos dos tratamientos superaron ampliamente al testigo.

En el peso de raíces, se encontró diferencia significativa al nivel del 5 % de probabilidad entre la media del tratamiento inoculado con Hygrophorus y la media del tratamiento de Pisolithus, mostrando el primero los mayores incrementos en peso y superando al testigo.

Las plántulas de E. saligna, presentaron diferencia significativa en su contenido de micorriza, caracterizándose las raíces tratadas con Hygrophorus por poseer la mayor formación de tejido micelial.

La penetración de las hifas de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. en las raíces del Eucalyptus solo se realizó intercelularmente a nivel de las células epidérmicas y formando Red de Hartig en la mayoría de las observadas.

INTRODUCCION

El Eucalyptus saligna, es una especie originaria de Australia y fue introducida a Colombia con el objeto de producir madera para postes y combustible, dando buenos resultados de adaptación y desarrollo en la reforestación de algunas áreas de los departamentos del Viejo Caldas y Antioquia.

A pesar de la importancia económica de esta especie, en Colombia no se han realizado estudios experimentales para determinar sus verdaderos hongos simbioses.

La presencia y el beneficio de las micorrizas en el género Eucalyptus ya ha sido reportada; por ejemplo en minas rehabilitadas de bausita al suroeste de Australia, se encontró varios géneros de Ectomicorrizas en Eucalyptus sp., entre ellas están el Pisolithus sp., Laccaria lacata, Scleroderma sp., Cortinari sp., Amanita sp., Ramaria sp. y Russula sp. MALAJCZUK N., 1984.

En Eucalyptus regmans, se encontró Gigaspora margarita y Laccaria lacata formando endo y ectomicorrizas. SCHOENBERGER M., 1984.

Estos y otros estudios, al igual que la presencia de los hongos Hygrophorus sp. y Pisolithus sp. en plantaciones Antioqueñas de E. saligna, sirvieron de estímulo para iniciar un estudio más detallado de la influencia de estos hongos en el desarrollo de esta especie forestal.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de "Piedras Blancas" -INDERENA, ubicado en el municipio de Medellín-Antioquia, clima tropical con influencia de montaña, altura sobre el nivel del mar de 2.300 metros, precipitación y temperatura promedio anual de 1722 mm y 15 grados centígrados.

Plántulas de Eucalyptus saligna, producidas en tierra esterilizada y regadas con agua destilada, fueron transplantadas 30 días después de su germinación a potes plásticos con capacidad para 90 gramos de suelo, el cual fue también esterilizado en autoclave a 1.25 kg/cm² de presión y 121 grado centígrado durante 60 minutos. El mismo día del trasplante se inocularon con carpóforos de Hygrophorus sp. y Pisolithus sp., seleccionados en rodales de Eucalyptus sp., ubicados en la cuenca de Piedras Blancas. Para la inoculación se preparó una suspensión micorrizica de cada hongo, licuando 100 g. de estipe de los carpóforos por litro de agua destilada y aplicando separadamente 5 ml de la mezcla alrededor de la raíz de cada plántula, con ayuda de una pipeta graduada.

El diseño experimental elegido fue el de Bloques al azar, con dos tratamientos, un testigo, dos bloques constituidos cada uno por 5 plántulas. Los parámetros evaluados fueron, la altura total de plántulas, peso verde de raíces y presencia de micorriza en las raíces. En cada parámetro se efectuó un análisis de varianza y prueba de amplitud múltiple de Duncan al 5 %, según COCHARAN y COX., 1965.

Las mediciones de altura, se realizaron con cinta métrica y aproximaciones al milímetro, el peso de raíces se efectuó con balanza OHAUS y con aproximaciones a décimas de gramo.

Para la determinación de la presencia de micorrizas y su cuantificación, se escogieron todas las raíces separadamente por tratamientos, se lavaron con agua destilada y se pasaron a frascos de vidrio con Bromotinol azul, preparado con agua

al 1 %; coloreadas, se cortaron en segmentos de 1 cm, para sacar al asar 15 muestras por tratamiento; de cada segmento de raíz se hizo un corte longitudinal para observar el tipo de micorriza y el porcentaje de infección.

La evaluación al microscopio se hizo estimando en cada corte el porcentaje de infección, expresandolo en las siguientes categorías.

ALTO= más del 50 % del sistema radicular con contenido de micorriza.

MEDIO= del 1 al 20 % del sistema radicular con contenido de micorriza.

BAJO= del 1 al 19 % del sistema radicular con contenido de micorriza.

RESULTADOS Y DISCUSION

Según la prueba de Duncan al 5 % de probabilidad, se encontró que entre las plántulas de *E. saligna* inoculadas con *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp., no existen variaciones significativas en promedios de altura, pero estos dos tratamientos superan ampliamente al testigo. (Tabla 1).

En el peso de raíces, se encontró diferencia significativa al nivel del 5 % de probabilidad entre la media del tratamiento inoculado con *Hygrophorus* sp. y la media del tratamiento de *Pisolithus* sp., mostrando el primero los mayores incrementos en peso y superando al testigo. (Tabla 1.).

Las plántulas de *E. saligna*, inoculadas con los hongos *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp., presentaron diferencias significativas en su contenido de micorriza, caracterizandosen las raíces tratadas con *Hygrophorus* sp. por poseer la mayor formación de tejidos micelial. Las plántulas testigo no presentaron contaminación micorrizal. (Tabla 1).

La penetración de las hifas miceliales de los hongos *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp. en las raíces del *Eucalyptus* soló se realizó intercelularmente a nivel de las células epidérmicas y formando Red de Hartig en la mayoría de las raíces observadas.

Los resultados expuestos, nos permiten definir que los hongos *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp., forman asociaciones con *E. saligna*, presentando el primero los mayores beneficios expresados en peso de raíces y colonización micorrizal.

La asociación micorrizica de *Pisolithus* con el género *Eucalptus*, ha sido reportada también por MALAJCZUK N. 1984, quien encontró 4 especies de *Pisolithus* formado ectomicorriza con *Eucalyptus* al suroeste de Australia.

TABLA 1. Comparación de promedios de altura en centímetros (A), peso de raíces en gramos (P) y contenido de micorriza de plántulas de *E. saligna* de 6 meses de edad, inoculadas con los hongos *Hygrophorus* sp. y *Pisolithus* sp.

TRATAMIENTOS	ALTURA	P. RAIZ	CONTENIDO DE MICORRIZA
<i>Hygrophorus</i> sp.	13.92 nds	1.8 ds	72
<i>Pisolithus</i> sp.	13.60 nds	1.2 ds	61
Testigo.	10.37	0.8	3

nds: no diferencia significativa
ds: diferencia significativa

Los promedios seguidos por una misma línea no presentan diferencias significativas, según la prueba de amplitudes múltiples de DUNCAN al 5 % de probabilidad.

BIBLIOGRAFIA

MALAJCZUK K. M.; 1984. Sucesión de hongos ectomicorrizicos asociados con *Eucalyptus* en nimas rehabilitadas de bausita al suroeste de Australia. Division of Forest Research. GSIRO. P.O. Wembley. W.A. Australia.

SCHOENBERGER M.M.; 1984. Endophytes of *Eucalyptus*. NCSU, RALEIGH Carolina.

ENSAYO DE INOCULACION DE PLANTULAS DE ROBLE COPEY (QUERCUS COPEYENSIS MULLER) CON SUELO MICORRIZICO EN CONDICIONES DE INVERNADERO (RESULTADOS PRELIMINARES)

por

ADELAIDA CHAVERRI e ISABEL ROJAS
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional,
2.000 Heredia, Costa Rica

RESUMEN

Con el fin de estudiar la importancia de las micorrizas en el crecimiento de plántulas de roble copey (Quercus copeyensis Müller) en condiciones de invernadero, se estableció un ensayo con suelos de tres procedencias (bosque de robles, claro dentro del bosque y potrero) y tres tratamientos (suelo inoculado con raicillas y materia orgánica del suelo del robledal, suelo esterilizado y suelo testigo). Los mejores resultados en altura de las plántulas de 4 meses de edad se obtuvieron, separadamente, con el tratamiento de suelo inoculado y con el suelo procedente del potrero. Con respecto a la variable diámetro al cuello de la raíz no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Las plántulas poseían menos de 30% de sus raicillas infectadas con micelio ectomicorrizico. En presencia de suelos pobres característicos del robledal, el papel que juegan las ectomicorrizas en el suministro de nutrientes a las plantas debe ser importante.

ABSTRACT

A greenhouse bioassay was established to determine growth in relation to presence of ectomycorrhizae in "copey" oak (Quercus copeyensis Müller) seedlings. Three soil sources (oak forest, light gap and pasture) and three treatments (soil inoculated with oak forest fine roots and organic matter, esterilized soil and control) were used. Four months old seedlings grown in inoculated soil and in soil from the pasture showed separately the best results in shoot length. There was no significant difference among treatments in seedling diameter. Most seedlings showed ectomycorrhizae mycelium infection in less than 30% of their fine roots. Ectomycorrhizae must play an important roll in enhancing nutrient uptake by plants in the commonly poor oak forest soils.

INTRODUCCION

En Costa Rica la vegetación primaria autóctona localizada en la faja altitudinal comprendida entre los 2400 y 3000 m de altitud en la Cordillera de Talamanca corresponde a bosques con predominancia de árboles de roble y encino (Quercus spp.). Por razones de alta pluviosidad, relieve quebrado y suelos pobres, el uso potencial de esta faja es el forestal. Ya que cierta porción de estas tierras ha sido deforestada, dando lugar a procesos erosivos indeseables, es menester cambiar el uso actual de estas tierras al forestal. Las áreas deforestadas se pueden regenerar de manera natural, a través del proceso de sucesión vegetal o se puede efectuar plantaciones en ellas, preferentemente con especies latifoliadas autóctonas, como el jaúl (Alnus jorullensis) o el roble. A pesar de que el roble es de crecimiento lento, las plantaciones correctamente manejadas proveerán de protección al suelo y de disponibilidad de madera para suplir parcialmente la demanda nacional de maderas duras (Chaverri et al 1985).

Sin embargo, los pocos viveros existentes en el país, donde se produce roble, por lo general experimentan problemas de desarrollo inadecuado de las plántulas: crecimiento demasiado lento y bajo desarrollo foliar. Esto puede atribuirse parcialmente a la ausencia de las micorrizas específicas asociadas a los robles. El objetivo del presente estudio fue el de indagar si, en condiciones de vivero la presencia de ectomicorrizas en las plántulas de roble mejora el crecimiento de las mismas. Se asumió que, al igual que para otros robles de zonas templadas y subtropicales (Mikola s.d.t., Singer y Morello 1960), las ectomicorrizas (y no tanto las micorrizas vesículo-arbusculares) son de mayor importancia en el proceso de asimilación de nutrientes de los robles de montañas altas en nuestro país.

La necesidad de pensar en la inoculación ectomicorrizica se ha evidenciado en los casos de introducción de especies forestales a regiones donde las ectomicorrizas asociadas a estos árboles no están presentes. Los arbolitos exóticos plantados sin micorrizas han tenido un crecimiento muy deficiente, el cual se ha mejorado considerablemente con la introducción de las ectomicorrizas adecuadas (Briscoe 1959, Mikola 1977, Molina 1977, Molina y Trappe 1982).

Las micorrizas son esenciales para la asimilación de nutrientes, ya que aquellas aumentan la superficie de absorción de las raicillas y funcionan como bancos de almacenamiento de nutrientes para las plantas (Boullard 1978). A pesar de que el suelo tenga suficiente nutrientes, se ha reportado deficiencia de minerales en las coníferas, por ejemplo, fósforo, debido a la ausencia de las ectomicorrizas asociadas a ellas (Trappe and Strand 1969). En efecto, es necesario tener sufi-

ciente información acerca de las micorrizas asociadas con las especies forestales para tener la posibilidad de dar un óptimo manejo tanto a las plántulas en el vivero como a las plantaciones establecidas en el campo (Raets s.d.t., Molina 1981, Schoenberger y Perry 1982).

En Costa Rica el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas introdujo desde 1959 coníferas exóticas, pero las plantaciones no crecieron adecuadamente. En 1960 se trajeron de Honduras arbolitos de Pinus oocarpa y P. pseudostrobus, junto con suelo original del bosque. En este caso la plantación y las plantaciones vecinas experimentaron un cambio positivo de crecimiento y desarrollo en general (Vega Condori 1964), que se atribuyó a la presencia en el suelo de las ectomicorrizas asociadas con los pinos.

Existen cuatro métodos de inoculación de plántulas con micorrizas, a saber: a) utilización de suelo y/o hojarasca proveniente del bosque o plantación, b) siembra de plantas micorrizales en la plantación, c) utilización de esporas y esporocarpos, d) utilización de cultivos puros (Mikola s.d.t., Trappe y Strand 1969, Molina 1977, Molina y Trappe 1982). La adición de suelo proveniente del bosque que contiene las mismas especies forestales que se desean establecer en la plantación tiene la ventaja de ser el sistema más seguro de inoculación (Mikola 1973). Sin embargo, presenta varios inconvenientes tales como: el acarreo de suelo requiere de mucho trabajo y se aumenta la posibilidad de introducir con el suelo hongos patógenos, insectos perjudiciales y semillas indeseables. El porcentaje en volumen del total del suelo necesario para inocular efectivamente plántulas en vivero se ha estimado en un 10% (Mikola s.d.t., Molina 1977) el cual es alto y requiere de mucha mano de obra. Otra desventaja de este método es el desconocimiento de la especie o especies de hongos micorrízicos con que se trabaja (Molina 1977). La tarea de transportar y utilizar el suelo debe efectuarse en un lapso corto de tiempo, teniendo el cuidado de mantener la tierra húmeda (Mikola s.d.t.).

METODOLOGIA

Se colectaron semillas de roble copey (Quercus copeyensis Müller) provenientes de Copey de Dota (2100 m). Estas fueron seleccionadas, eliminando las dañadas, secadas a temperatura ambiente y almacenadas en refrigeración a 5° C por espacio de dos meses.

El suelo para el ensayo provino de tres sitios diferentes en San Gerardo de Dota: un robleal (2400 m), cuya especie predominante es Q.

copeyensis, un claro dentro de ese mismo bosque y un potrero o pastizal (2800 m) cerca del bosque. Se incluyó suelo de potrero en el ensayo ya que la tierra utilizada usualmente en los viveros, de esa región proviene usualmente de los potreros. Se utilizó suelo de claro del bosque puesto que Q. copeyensis en sus etapas juveniles es una especie semitolerante a la sombra, y las plántulas y brinzales se regeneran mejor en los claros dentro del bosque. Teniendo en cuenta algunas publicaciones anteriores (Janos 1980, Schoenberger y Perry 1982) que demuestran que la sucesión vegetal va acompañada de una correspondiente sucesión en las micorrizas del suelo, es posible esperar encontrar en los claros de tamaño considerable dentro del bosque, diferentes tipos de micorrizas que los existentes en los rodales densos del mismo bosque.

A cada uno de estos tres suelos se les aplicó los siguientes tratamientos: a) esterilización con bromuro de metilo y cloropicrina, b) inoculación por medio de la adición de raicillas y materia orgánica provenientes de la capa superior del suelo del robleal mencionado y c) sin tratamiento alguno (suelo testigo o control). Mezclando las proporciones de los suelos y los tratamientos, se obtuvieron nueve combinaciones de suelo a saber:

- suelo inoculado del bosque
- suelo esterilizado del bosque
- suelo testigo del bosque
- suelo inoculado del claro del bosque
- suelo esterilizado del claro del bosque
- suelo testigo del claro del bosque
- suelo inoculado del potrero
- suelo esterilizado del potrero
- suelo testigo del potrero

En diciembre de 1984, antes de establecer el ensayo, las semillas seleccionadas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 5% y luego lavadas con agua destilada. Para su germinación se colocaron en un invernadero construido para este ensayo y desinfectado con Vapam. El sustrato de germinación utilizado fue suelo esterilizado con una mezcla de bromuro de metilo al 98% y cloropicrina al 2%. Dos semanas después las plántulas fueron repicadas a bolsas de polietileno, para lo cual se escogió un lote de plántulas de similar tamaño y vigor.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar. Se establecieron cuatro bloques (repeticiones) y cada uno contó con las nueve combinaciones de suelos. Cada parcela, compuesta por uno de los nueve suelos, contenía 15 plántulas. El número total de plántulas fue de 540. Las parcelas se separaron entre sí por medio de tabiques de madera. El

ensayo se mantuvo en un invernadero desinfectado y sellado con plástico transparente, localizado en San José de la Montaña (1950 m), Heredia. Se suministró agua a las plántulas todos los días.

Las variables que se midieron fueron: altura de las plántulas, grosor del tallo al cuello de la raíz, peso fresco y peso seco de las secciones aéreas y subterránea de las plántulas. Se efectuaron mediciones mensuales de la altura y del grosor del tallo de las plántulas, por espacio de 6 meses. La biomasa del sistema radical y de su sección aérea, estimada por medio del peso seco, se determinó a través de dos cortes que se efectuaron a los 4 y 6 1/2 meses de establecido el ensayo, utilizando para ello 5 plántulas de cada parcela. Cada corte consistió en 180 plántulas (9 suelos x 4 bloques x 5 plántulas), las cuales fueron escogidas al azar.

A las plántulas se les estimó el grado de infección por micorrizas encontrado en sus raíces. La infección por micorrizas fue examinada al estereoscopio y estimada para cada plántula colectada, según el porcentaje de raicillas que se encontró con micelio. Las categorías utilizadas fueron las siguientes: poca (<30%), mediana (31-60%), alta (>60%) y ninguna infección (0%).

El análisis estadístico de los datos de altura y diámetro de las plántulas incluyó un análisis de varianza de dos vías (Sokal y Rohlf 1981), para determinar las diferencias en el desarrollo de estas dos variables en las plántulas que crecían en condiciones de vivero, en suelos provenientes de los tres sitios (bosque, claro del bosque y potrero), y sometido a los tres tratamientos (inoculado, esterilizado y testigo). Además, se efectuaron pruebas de rangos múltiples de Duncan (1955), para evaluar las diferencias entre los tratamientos. Los datos de biomasa no se analizan en este primer informe preliminar del ensayo.

Se tomaron muestras y se analizaron las nueve combinaciones de suelo al inicio y al final del ensayo, contando para ello con una sola muestra por tipo de suelo. Los análisis fueron efectuados en el laboratorio de suelos del Ministerio de Agricultura y Ganadería siguiendo los métodos descritos por Schweizer Lassaga *et al* (1980) que se describen brevemente a continuación. Las variables analizadas fueron: pH, aluminio, calcio, magnesio, potasio, fósforo, zinc, manganeso, cobre, además del contenido de materia orgánica (no analizada en este informe) y la capacidad de intercambio catiónico.

En análisis del pH se efectuó en una solución de agua (1 parte de suelo: 2 1/2 partes de agua). La materia orgánica se analizó por medio del método de Walkley y Black modificado. Para determinar la capacidad

de intercambio catiónico, se utilizó el proceso de dos etapas de Denis y Freitas, que consta de saturación y desplazamiento de cationes seleccionados en el complejo coloidal. El contenido de aluminio se determinó por medio de la acidez intercambiable, en una solución de KCL 1N, al cual se añade fenolftaleína y se titula con NaOH 1N. El calcio, el magnesio y el potasio se extrajeron del suelo con una solución de KCL 1N y su concentración se determinó por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica. El fósforo se extrajo con una solución de Olsen modificada y se analizó con el método de azul de molibdeno; su concentración se leyó en un colorímetro. El zinc, el manganeso y el cobre se extrajeron con una solución de Olsen modificada y su concentración se leyó en el espectrofotómetro de absorción atómica (Schweizer Lassaga *et al* 1980).

Debido al corto período de tiempo del ensayo, no se efectuaron aislamientos, cultivos o identificación de los simbioses fúngicos.

En el presente informe preliminar, se analizan solamente el crecimiento (altura y diámetro al cuello de la raíz) de las plántulas y el grado de infección por micorrizas, ocurrido al primer corte efectuado a los 4 meses de edad. Además, se examinan los resultados del primer análisis de suelos, colectados al inicio del ensayo.

RESULTADOS

El cuadro 1 muestra el análisis, efectuado al inicio del ensayo, de las 9 combinaciones de suelos consideradas. Todos los suelos son fuertemente ácidos, lo cual es una característica común de los suelos de montañas altas en la Cordillera de Talamanca. El contenido de aluminio es muy alto, considerando que la concentración en forma general para el manejo de cultivos es de menos de 0.5 meq/100 g de suelo. Las concentraciones de aluminio en los suelos analizados sobrepasan la cifra anterior desde 6 hasta más de 16 veces. Los contenidos de calcio, magnesio, potasio y fósforo son relativamente bajos. En cuanto a la capacidad de intercambio catiónico, los valores de los 9 suelos se encuentran dentro del rango conocido para los trópicos (7-83 meq/100 g suelo) y dentro de este, 7 de los valores se encuentran también dentro del subrango más usual para los trópicos (15-45 meq/100 g suelo) (Fossbender 1975).

En el cuadro 2 se observa que indistintamente de la procedencia de los suelos, la mayor altura media lograda entre los tres tratamientos fue para el suelo inoculado, seguido por el suelo esterilizado y

finalmente por el suelo testigo. Sin embargo, se encontró diferencia significativa ($\alpha = 0.05$) únicamente entre los suelos inoculado y testigo. En el caso de la variable diámetro al cuello de la raíz, no hubo diferencia significativa entre los diferentes tratamientos.

Si por otro lado, se consideran las procedencias de los suelos, indistintamente de los tratamientos dados a los suelos, la mayor altura media fue logrado por las plántulas que crecieron en suelo de potrero, seguido por las de suelo de bosque y las de suelo del claro de bosque, aunque entre estas dos últimas no hay diferencia significativa. Con respecto a la variable diámetro al cuello de la raíz, la situación es diferente ya que el mejor crecimiento en diámetro se logró para las plántulas que crecieron en suelo del claro (indistintamente del tratamiento utilizado), seguido por las de bosque y las de potrero, en ese orden. No hay diferencia significativa entre las medias en diámetro entre las plántulas que se desarrollaron en suelo de bosque y en suelo de potrero.

En el cuadro 3 se evalúa separadamente la respuesta de las plántulas tanto a los tratamientos dados a los suelos, como a las procedencias de los suelos. Las plántulas que crecieron en suelo del bosque y del claro, mostraron mayor desarrollo en altura, cuando el suelo fue inoculado que en el caso del suelo testigo, aunque en el bosque la diferencia no es significativa. En ambos suelos del bosque y del claro de bosque, hubo significativamente mayor desarrollo en la altura de las plántulas que crecieron en suelo inoculado que en las que crecieron en suelo testigo. En el caso del suelo proveniente del potrero, no hubo diferencias significativas entre tratamiento, con respecto a la variable altura.

Con respecto a la variable diámetro al cuello de la raíz, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos para las plántulas que crecieron en suelo del bosque o del potrero. En el caso del suelo del claro del bosque, hubo mayor desarrollo del diámetro en las plántulas en suelo inoculado que en las plántulas en suelo testigo. Sin embargo, las plántulas del suelo esterilizado tuvieron mayor desarrollo en diámetro que las plántulas en suelo testigo.

En el cuadro 4 se observa que todas las plántulas en suelo inoculado mostraron infección micorrizica y que el mayor grado de infección se obtuvo en los suelos: testigo del bosque, inoculado del potrero e inoculado del claro. La mayor parte de las plántulas mostraron infección correspondiente a la categoría 1-30%. Hubo cierto grado de contaminación en las plántulas que crecieron en suelo esterilizado.

Cuadro 1. Resultados de los análisis de suelo del ensayo de inoculación en plántulas de roble copley (*Quercus copeyensis* Müller) en condiciones de Invernadero en San José de La Montaña, Heredia.

Procedencia	pH	Al	Ca	Mg	K	P	Zn	Mn	Cu	C.T.C.
	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g	ppm	ppm	ppm	ppm	meq/100g
Bosque esterilizado	4.2	5.40	1.0	0.7	0.19	6	2.6	13	2	30.0
Bosque testigo	4.4	8.40	1.0	0.6	0.13	8	1.8	17	3	29.0
Bosque inoculado	4.3	6.00	1.5	0.8	0.15	6	2.0	35	4	37.5
Claro esterilizado	4.3	4.50	2.0	1.0	0.18	5	1.8	80	2	34.2
Claro testigo	4.2	6.50	1.0	0.8	0.16	7	2.0	78	2	33.2
Claro inoculado	4.2	4.10	2.5	1.1	0.27	6	3.0	90	2	32.1
Potrero esterilizado	4.5	3.30	2.5	1.1	0.37	5	1.8	37	3	48.2
Potrero testigo	4.3	4.70	2.0	1.0	0.26	5	2.0	70	2	34.8
Potrero inoculado	4.2	3.00	3.0	1.4	0.47	5	2.6	45	3	54.6

* Suelo colectada en diciembre de 1984, al inicio del ensayo.

Cuadro 2. Medias de las variables altura y diámetro al cuello de la raíz de las plántulas de roble (*Quercus copeyensis* Müller) de 4 meses de edad en condiciones de invernadero. A: sin diferenciar entre las procedencias de los suelos. B: sin diferenciar entre los tratamientos de los suelos.

Tratamientos	altura media (cm)	diámetro medio (mm)
inoculado	47.7 a	4.82
A esterilizado	44.9 ab	4.82
testigo	42.6 b	4.83

Procedencias	altura media (cm)	diámetro medio (mm)
B bosque	42.9 a	4.76 a
B claro	42.5 a	4.97 b
potrero	49.8 b	4.72 a

Nota: En una misma columna, letras iguales asignadas a los valores significa que no hay diferencia significativa ($\alpha = 0.05$). Tampoco hay diferencia significativa entre valores que no posean letras en una misma columna.

Cuadro 3. Medias de las variables altura (A) y diámetro al cuello de la raíz (B) de plántulas de roble (*Quercus copeyensis* Müller) de 4 meses de edad en condiciones de invernadero, diferenciando entre los tratamientos y las procedencias de los suelos.

A. Para la variable altura media (cm)

Tratamiento \ Procedencias	bosque	claro	potrero
	esterilizado	44.18 a	42.75 ab
testigo	38.95 b	39.46 a	48.8
inoculado	45.67 a	45.24 b	52.2

B. Para la variable diámetro medio al cuello de la raíz (mm)

Tratamiento \ Procedencias	bosque	claro	potrero
	inoculado	4.72	5.11 a
esterilizado	4.62	5.12 a	4.73
testigo	4.95	4.71 b	4.82

Nota: En una misma columna, letras iguales asignadas a los valores significa que no hay diferencia significativa ($\alpha = 0.05$). Tampoco hay diferencia significativa entre valores que no posean letras en una misma columna.

DISCUSION

Las condiciones de fuerte acidez en los suelos provenientes de las montañas altas en la Cordillera de Talamanca, de donde se extrajeron los suelos para este ensayo, presentan en general una serie de limitaciones a la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Dicha acidez (pH 5) aumenta la concentración de aluminio y manganeso en la solución del suelo, pudiendo ser aquella tóxica para las plantas (Fassbender 1975). Se ha informado que dicha toxicidad puede producir una reducción en el crecimiento radical (González 1978). La acidificación, unida a una alta pluviosidad, ocasiona un reemplazo de las bases cambiables Ca, Mg, K y Na por iones H y Al. A su vez, dada las condiciones de alta precipitación, cierta porción de las bases son lixiviadas, lo que resulta en suelos pobres en Ca, Mg, K y Na (Fassbender 1975). La pérdida en el suelo de dichas bases ocurre también a través del proceso de extracción de las mismas por parte de las plantas. La situación descrita, en cuanto a la composición química de los suelos ácidos, se hace evidente a través del análisis de suelos del ensayo (Cuadro 1), donde se observa que en estos suelos ácidos el contenido de aluminio es muy alto y los contenidos de calcio, magnesio y potasio son relativamente bajos. La vegetación de la zona debe estar, por lo tanto, adaptada a dichas condiciones desfavorables de disponibilidad de nutrientes. Es probable que en estas condiciones las micorrizas jueguen un papel muy importante, al aumentar la accesibilidad de los nutrientes del suelo a las plantas. La presencia de rodales relativamente homogéneos de robles en las montañas altas en Costa Rica podría explicarse parcialmente a través de las características de los suelos mencionados. El árbol de roble, con su lento crecimiento, sería un competidor ineficiente en condiciones de suelos menos ácidos y más ricos, a la par de otras especies de árboles. Sin embargo, se ha adaptado a los suelos ácidos de las montañas altas en la Cordillera de Talamanca, donde las otras especies, de requerimientos nutricionales más exigentes, no pueden sobrevivir y por eso crece sin mayor competencia interespecífica en estos rodales casi puros. Con esta discusión no se quiere dejar de lado otros factores, (e.g., alelopatía, temperatura) que pueden influir en la homogeneidad de estos bosques.

Un pH bajo tiene también otras consecuencias sobre la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Incrementa la absorción del molibdato por el suelo, lo que implica una menor disponibilidad de él para las plantas; disminuye la acción bacteriana; y favorece el desarrollo de hongos (González 1978). En suelos ácidos, donde la descomposición bacteriana de materia orgánica puede verse negativamente afectada, la proliferación de hongos es importante en el proceso de dicha descomposición. En efecto, la presencia de carpóforos es llamativa tanto en los suelos ácidos de los pinares (Pinus spp.) y cipresales (Cupressus sp.),

Cuadro 4. Proporción (%) de las plantas (n=180) que se observaron con micelio en diferentes grados de infección, para cada tratamiento del ensayo.

Tratamiento	Grados de infección de las raíces			
	0	1-20%	31-60%	> 60%
	Nº	Nº	Nº	Nº
	%	%	%	%
esterilizado, bosque	16	4	0	0
	80	20	0	0
esterilizado, claro	14	3	2	1
	70	15	10	5
esterilizado, potrero	15	4	1	0
	75	20	5	0
testigo, bosque	0	2	7	11
	0	10	35	55
testigo, claro	1	8	10	1
	5	40	50	5
testigo, potrero	4	12	3	1
	20	60	15	5
inoculado, bosque	0	12	7	1
	0	60	35	5
inoculado, claro	0	11	7	2
	0	55	35	10
inoculado, potrero	0	5	11	4
	0	25	55	20

como en los robledales (*Quercus* spp.) y encinares (*Quercus* spp.). Los hongos formadores de micorrizas y específicamente, de ectomicorrizas (Mikola s.d.t.) son acidófilos (Boullard 1978), y su desarrollo óptimo se localiza entre los valores de pH de 3.5 y 5.5 (Shemakhanova 1967). En zonas templadas, la formación de micorrizas asociadas a los robles se inhibe cuando el valor de pH se encuentra entre 6.8 y 7.0 (Shemakhanova 1967).

El fósforo es también otro nutriente cuya disponibilidad se ve afectada por el pH en el suelo. En suelos ácidos predominan los fosfatos de hierro y aluminio, mientras que en suelos básicos, son los fosfatos cálcicos los que predominan. La disponibilidad química del fósforo en estos suelos también es baja y es de esperar que su disponibilidad hacia las plantas sea mayor a través de la simbiosis con hongos micorrícicos. El fósforo es por excelencia el nutriente que las ectomicorrizas suplen en mayor grado a las plantas. Las ectomicorrizas aumentan la asimilación de fosfato por parte de las raicillas de las plantas hospedera, ya que producen la enzima fosfatasa que cataliza la hidrólisis de compuestos complejos de fósforo en compuestos disponibles a las plantas (Ho y Zak 1979). Por otra parte, una concentración alta de fósforo en el suelo inhibirá la actividad simbiótica de las micorrizas (Shemakhanova 1967, D. Hayman, com.pers. 1985).

Los contenidos de zinc y cobre en los suelos estudiados son bastante bajos, en comparación con los rangos conocidos para estos microelementos en los suelos de los trópicos. El contenido de manganeso es algo superior al valor medio de los suelos de América Central, lo cual se ajusta a lo antes apuntado como caracterización de los suelos ácidos.

Los valores de la capacidad de intercambio catiónico para este ensayo son algo superiores a la mediana de los suelos en los trópicos. Esto podría explicarse parcialmente debido a la acumulación de materia orgánica que se da en la región.

En general, los suelos provenientes de San Gerardo de Dota, presentan condiciones favorables al desarrollo de ectomicorrizas. Dichas condiciones pueden resumirse en humedad relativamente alta, acumulación de materia orgánica y humus en el suelo, suelos ácidos y deficientes en fósforo, temperaturas bajas que indirectamente promueven la acumulación de materia orgánica en los suelos. Ya que el ensayo se llevó a cabo en un invernadero en San José de la Montaña, donde las condiciones ambientales de humedad alta y suelos provenientes de San Gerardo de Dota, propician la formación de hongos, se esperaba una respuesta positiva a la inoculación del suelo.

En el cuadro 1 puede observarse que los suelos con un grado mayor de fertilidad son los provenientes del potrero. Este terreno experimentó varios meses atrás una quema lo que podría explicar parcialmente la mayor concentración de calcio, magnesio y potasio, elementos nutritivos que se acumulan en las cenizas (Fassbender 1975), y que pueden lixiviar-se fácilmente si las condiciones ambientales se prestan para ello. A su vez, esta liberación de calcio, manganeso y potasio en los suelos de potrero aumenta el pH (Fassbender 1975), lo cual también puede observarse en el cuadro 1. Se ha informado, además, que en condiciones similares los pastizales suelen mostrar suelos más fértiles que los de los bosques contiguos, quizás debido a una tasa más rápida de reciclaje de nutrientes en el caso del pastizal. Este hecho serviría para dar una explicación adicional a la mayor fertilidad evidente en los suelos del potrero.

Un aspecto del cuadro 1 que no se logra explicar claramente es la variabilidad existente en cada trío de suelos provenientes de un mismo lugar, con respecto a cada una de las variables analizadas de los suelos, excepto por el pH que se mantiene relativamente constante. Un segundo análisis (no disponible en el momento) de cada uno de los tipos de suelos, lograría marcar mejor las tendencias.

La esterilización de suelos con bromuro de metilo tiene algunas repercusiones conocidas, como por ejemplo, la liberación de nitrógeno y fósforo. Sin embargo, no es evidente en los suelos esterilizados (cuadro 1) una disminución del contenido de fósforo.

Aunque el presente informe es algo preliminar para evaluar el efecto de inoculación de plántulas de roble copey por medio de suelo micorrícico, por haber transcurrido únicamente cuatro meses, las plántulas inoculadas en todo el ensayo e indistintamente de la procedencia de los suelos, mostraron un mejor crecimiento en altura en relación al testigo (cuadro 2). Mirando separadamente la procedencia de los suelos (cuadro 3), es evidente también el mayor desarrollo en altura de las plántulas entre los tratamientos inoculado y testigo, en el caso de los suelos del bosque y del claro. Es entonces posible lograr un mayor crecimiento en estos casos para las plántulas inoculadas. En los suelos del potrero, la diferencia en crecimientos en altura de plántulas entre los tratamientos inoculado y testigo no es significativa.

El hecho que en los suelos esterilizados (cuadro 3) del bosque y el claro se evidenció un mayor desarrollo significativo, para la variable altura y para la variable diámetro al cuello de la raíz, respectivamente que en los suelos testigo, puede explicarse parcialmente debido al poco tiempo de crecimiento de las plántulas (poco tiempo de diferen-

ciación entre tratamientos) y por la presencia de cierto grado de contaminación en los suelos esterilizados (cuadro 4). Posibles causas de esta contaminación pueden ser que el agua de riego no se destiló, o descuido de parte de los trabajadores en el invernadero durante las labores. Las raicillas infectadas de las plántulas en suelo esterilizado se localizaron en la porción superior de la bolsa de polietileno.

En los suelos de potrero no hubo diferencias significativas con respecto a las variables altura y diámetro al cuello de la raíz (cuadro 3), en los diferentes tratamientos. Quizás esto se deba al hecho que el potrero, por poseer el mayor grado de fertilidad, no marcaría una diferencia entre los suelos inoculados y los que no lo están. En efecto, se ha informado que en suelos fértiles, las micorrizas no cumplen una función tan importante en el abastecimiento de nutrientes para las plántulas (Azcón - G. de Aguilar y Barea 1980).

Los resultados de las alturas medias en el caso de las tres procedencias de los suelos (cuadro 2B) muestra nuevamente que el mayor crecimiento en altura se obtuvo para el suelo del potrero. Esto significaría que a corto plazo es más importante el suelo fértil que la presencia de micorrizas en el desarrollo en altura de las plántulas. Será importante comparar estos resultados con los obtenidos a los seis meses de edad de las plántulas.

En el cuadro 2B se observa también que para la variable diámetro al cuello de la raíz, el mayor desarrollo se observó en el suelo del claro, el cual mostró el menor desarrollo en la variable altura media. A menudo las variables altura y diámetro se comportan como inversamente proporcionales en el crecimiento de las plántulas y este parece ser un caso similar, observable en el cuadro 3.

Finalmente se debe notar que la variable diámetro solo muestra diferencias significativas (cuadro 3) en el suelo del claro, para los casos del testigo sobre el tratamiento esterilizado y del testigo sobre el inoculado. Posibles explicaciones para este hecho se han dado anteriormente en este informe.

El cuadro 4 se refiere al grado (medido en porcentaje, según cuatro categorías), de infección que se encontró en las plántulas de cada tratamiento. Se puede observar que hay una notable diferencia en el grado de infección de las plántulas, según cada tratamiento. Mientras que alrededor de un 75% de las plántulas que se desarrollaron en suelo esterilizado no mostraron ningún tipo de infección, menos de un 25% de las plántulas en suelo testigo no habían sido infectadas. El mayor porcentaje de plántulas infectadas se mostró, como era de esperar, en las que se desarrollaron en suelo inoculado. Lo anterior demuestra que

sí es ventajoso, desde un punto de vista técnico, inocular con tierra vegetal, aunque según los datos de los cuadros 1 y 2 el resultado de la inoculación no es tan obvio en el desarrollo de la altura y el diámetro de plántulas de cuatro meses de edad.

Para el caso del suelo inoculado, todas las plántulas (n=60) mostraron cierto grado de infección; la mayoría de ellas mostraron que al menos un tercio (1-30%) de sus raicillas contenían micelio. Sin embargo, en el suelo inoculado del potrero, la mayor cantidad de plántulas mostraron que de 31 a 60% de sus raicillas poseían micelio. En general, en todo el ensayo el mayor número de plántulas mostró una infección correspondiente a menos de 30% de sus raicillas a los cuatro meses de edad. Se considera que el máximo desarrollo de micorrizas en plantas se presenta de los tres a los cinco años de edad de estas (Boullard 1978).

En general, debe tenerse en cuenta que aunque un mayor crecimiento para las plántulas del tratamiento inoculado pareciera ser lo deseable, existen otras variables importantes que consideran para calificar una inoculación como exitosa (Sieverding, com. pers.). Entre éstas, la sobrevivencia de las plántulas en el campo, al igual que un óptimo desarrollo en la plantación, son realmente las metas que se desean lograr a largo plazo a través de este ensayo. Igualmente deseables para las plántulas en el campo son características tales como la resistencia a la sequía y a agentes patógenos, los cuales han de considerarse como de mayor interés para el silvicultor y para el propietario de una plantación, que el crecimiento propiamente dicho durante los seis primeros meses de vida, en el invernadero o en el vivero. De hecho, algunos autores opinan que la inoculación micorrízica en plántulas en contenedores rara vez influye positivamente sobre el crecimiento en el vivero, ya que la colonización prolífica de micelio en el contenedor reduce la cantidad de fotosintatos disponibles para el crecimiento de la plántula (Shaw *et al* 1982). En este caso, el porcentaje de infección de las raicillas podría ser una variable de mayor importancia. Por las razones expuestas anteriormente se pretende, a manera de continuación de este trabajo, establecer una plantación de estudio donde se evalúen estos aspectos.

Este ensayo hace caso omiso de la variabilidad de una serie de factores que influyen sobre el crecimiento de las mismas, como por ejemplo, la variabilidad genética que diferencia, entre otros, el crecimiento de las plántulas entre sí. Además, aunque se considera que en la infección de las raicillas predominó un tipo de micorriza (no identificada), es probable que otras razas o especies de micorrizas sean más efectivas en el suministro de nutrientes y otros beneficios para la planta. Igualmente,

se ha dado por un hecho en este ensayo que las ectomicorrizas son de mayor importancia para los robles que las micorrizas vesículo-arbusculares, aunque recientemente se ha informado acerca de la presencia de estas en asociación con robles (Rothwell et al 1987).

Se debe considerar que los resultados de este ensayo son inherentes a las condiciones del invernadero donde se llevó a cabo. Por ejemplo, el hecho que la temperatura media dentro del invernadero haya sido superior a la del exterior o a la del bosque de donde procedían las semillas, implicó un mayor crecimiento relativo de las plántulas en altura.

CONCLUSIONES

1. La variable altura muestra diferencias más marcadas atribuidas a los tratamientos que la variable diámetro al cuello de la raíz.
2. De los tres tratamientos estudiados, el que mejor resultados tuvo fue el tratamiento de inoculación con suelo micorrícico.
3. Las plántulas que crecieron en suelos de potrero no mostraron en general mejor crecimiento atribuible a los tratamientos.
4. Debido a que en este caso específico los suelos del potrero resultaron más fértiles que los del bosque y los del claro del bosque, y basándose en los resultados de crecimiento de las plántulas de cuatro meses de edad, se recomendaría la utilización de suelos de este potrero para las labores de vivero.
5. A cuatro meses de edad gran parte de las plántulas del ensayo poseían menos de 30% o de 31 a 60% de sus raicillas infectadas con micelio.
6. Los suelos de las montañas altas de la cordillera de Talamanca son por lo general pobres: suelos ácidos con alto contenido de aluminio y bajo contenido de calcio, magnesio, potasio, fósforo, zinc y cobre. La capacidad de intercambio catiónico de los suelos es medianamente alta.
7. En estos suelos pobres las micorrizas deben jugar un papel muy importante de suministro de nutrientes a las plantas.
8. Las condiciones químicas de los suelos deben limitar la colonización de especies arbóreas no adaptadas a esas características edáficas.

AGRADECIMIENTOS

Por el préstamo del vivero de la finca y por la colaboración de sus trabajadores se agradece a Jorge Steinvorth. Por la supervisión de las labores del vivero se agradece a Sergio Jiménez. Por su colaboración en el establecimiento del ensayo y en diferentes etapas de su desarrollo, agradecemos a María de los Angeles Alfaro, Lorena Orozco, Gabriela Soto e Irma Zamora, al igual que a Gerardo Rojas, Florentino López y Reinaldo Zamora. Agradecemos a Fernando Ramírez y Victoria Porras, su colaboración en el análisis estadístico y la digitación de los datos, respectivamente, y a Paulina de Montes de Oca sus sugerencias con respecto a los resultados de los análisis de suelos.

Este estudio no se hubiera podido llevar a cabo sin el apoyo de la Universidad Nacional, a través de su proyecto de investigación NQ782090 y de la Fundación Internacional para la Ciencia (FIC), por medio de su apoyo y su donación D/788-1. A los participantes del taller sobre "Técnicas de investigación en micorrizas", organizado por la FIC en Turrialba, les agradecemos sus sugerencias.

LITERATURA CITADA

AZCON-G de AGUILAR, C. y BAREA, J. M. Micorrizas. Investigación y Ciencia. 47: 8-16. 1980.

BOULLARD, B. Un problema de ecología forestal: las micorrizas. En Pesson, P. Ecología forestal; el bosque: clima, suelo, árboles, fauna. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 1978. pp. 189-205.

BRISCOE, C.B. Early results of mycorrhizal inoculation for pine in Puerto Rico. The Caribbean Forester 20(3-4): 73-77. 1959.

CHAVERRI, A. et al. Importancia de la investigación forestal en las zonas boscosas de las tierras altas en Costa Rica. IX Congreso Forestal Mundial, México, D.F., México. 1-10 julio 1985. Mimeografiado. 16 p.

DUNCAN, D.B. Multiple range and multiple F test. Biometrics. 11:1-42. 1955.

- FASSBENDER, H.W. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, 1975. 398 p.
- GONZALEZ RODRIGUEZ, L.G. Neutralización del aluminio cambiante en diez suelos de la región San Carlos-Sarapiquí, Costa Rica. Tesis Ing. Agr. Universidad de Costa Rica, San José, 1978. 56 p.
- HO, I, y ZAK, B. Acid phosphatase activity of six ectomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany* 57: 1203-1205. 1979.
- JANOS, D.P. Mycorrhizae influence tropical succession. *Tropical Succession* 1: 56-64. 1980.
- MIKOLA, P. Forestación de zonas rasas; importancia y técnica de la inoculación micorrícica. s.d.t.
- MIKOLA, P. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. En Marks, C.G. y Kozlowski, T.T., eds. *Ectomycorrhizas; their ecology and physiology*. Academic Press, New York, 1973. pp. 383-411.
- MOLINA, R. Ectomycorrhizal fungi and forestry practice. En Walters T., ed. *Mushrooms and man, an interdisciplinary approach to mycology*. U.S. Department of Agriculture. 1977. pp. 147-161.
- MOLINA, R. Mycorrhizal inoculation and its potential impact on seedling survival and growth in southwest Oregon. En Hobbs, S.D. y Helgerson, O.T., eds. *Reforestation of skeletal soils. Proceedings of a workshop, Medford, Oregon. 17-19 november 1981*. Oregon State University, Corvallis, 1981. pp. 86-91.
- MOLINA, R. y TRAPPE, J.M. Applied aspects of ectomycorrhizae. En Subba Rao, N.S., ed. *Advances in agricultural microbiology*. Oxford & TBH, New Dehli, 1982. pp. 305-324.
- RAETS, G.H. Apuntes preliminares sobre el desarrollo de Pinus caribaea en el vivero en relación con la presencia o ausencia de la micorri-za. Mimeografiado. s.d.t. 15 p.
- ROTHWELL, F.M., HACSKAYLO, E. y FISHER, D. Ectomycorrhizal and endomy-
corrhizal fungus associations with Quercus imbricata. *Plant & Soil* 71: 309-313. 1983.

- SCHOENBERGER, N.M. y PERRY, D.A. The effect of soil disturbance on growth and ectomycorrhizae of Douglas-fir and western hemlock seedlings: a greenhouse bioassay. *Canadian Journal of Forest Research* 12(2): 343-353. 1982.
- SCHWEIZER LASSAGA, S. et al. Metodología para análisis de suelos, plantas y aguas. Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, 1980. 32 p.
- SHAW, C.G., III, MOLINA, R. y WALDEN, J. Development of ectomycorrhizae following inoculation of containerized Sitka and white spruce seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 12(2): 191-195. 1982.
- SHEMAKHANOVA, N. M. Mycotrophy of woody plants. United States Department of Agriculture y National Science Foundation. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1967. 329 p.
- SINGER, R. y MORELO, J.H. Ectotrophic forest tree mycorrhizae and forest communities. *Ecology* 41(3): 549-551. 1960.
- SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J. *Biometry*. Freeman, New York, 1981. 219 p.
- TRAPPE, J.M. y STRAND, R.F. Mycorrhizal deficiency in a Douglas-fir region nursery. *Forest Science* 15: 381-389. 1969.
- VEGA CONDORI, L. Efecto de la micorizas en el crecimiento inicial de coníferas tropicales. *Turrialba* 14(3): 151-155. 1964.

PRODUCCION Y MANEJO DE INOCULO. TECNICAS DE INOCULACION CON MEC

PRODUCCION Y MANEJO DE INOCULO. TECNICAS DE INOCULACION CON MEC

por

ISABEL ALVAREZ
Centro de Experimentación Agraria
Villaviciosa, Asturias

RESUMEN

La introducción artificial de hongos micorrícicos en un vivero puede hacerse con suelos naturalmente infestados, con plantas micorrizadas, con esporas o con micelio. El micelio de hongos micorrícicos seleccionados es considerado la mejor forma de inoculación. Sin embargo la inoculación con esporas es un método con gran potencial para desarrollo en el futuro. Es práctico, económico y muy útil en países que carecen de la infraestructura necesaria para la producción de inóculo vegetativo a gran escala.

ABSTRACT

The artificial introduction of mycorrhizal fungi in a nursery can be done via naturally infested soils, mycorrhizal plants, spores and mycelia. Mycelium of selected mycorrhizal fungi is considered the best form of inoculum. However, spore inoculation is a method with great potential for future development. It is practical, economical and very useful in countries lacking the infrastructure needed for production of vegetative inoculum at great scale.

La importancia de inocular especies forestales con hongos ectomicorrícicos está ampliamente documentada en la literatura, siendo ejemplos notables las inoculaciones de *Pinus caribaea* en Puerto Rico y las experiencias en la reforestación de las estepas rusas y las praderas norteamericanas (Mikola 1973).

Los géneros forestales de mayor importancia económica mundialmente: *Abies*, *Pinus*, *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga*, *Larix*, *Fagus* y *Quercus* son obligadamente ectomicorrícicos. La introducción de especies en estos géneros en zonas carentes de inóculo natural debe ir acompañada de la introducción de hongos ectomicorrícicos.

Los viveros situados cerca de masas forestales raramente carecen de inóculo natural. La mayoría de los hongos micorrícicos producen esporocarpos epigeos y las esporas son diseminadas por aire, agua, insectos y animales pequeños. Entre los hongos hipógeos la principal forma de diseminación son los animales pequeños que buscan ávidamente los esporocarpos como parte de su dieta. Sin embargo, las condiciones ambientales del vivero ejercen una presión selectiva. Destaca por su adaptación a estas condiciones *Thelephora terrestris*.

La introducción artificial de hongos micorrícicos se puede hacer de distintas maneras: suelo, plantas micorrizadas, esporas y micelio.

Suelo. El suelo debe ser recogido en un bosque natural o vivero de la misma especie que se desea inocular. Se debe tener cuidado que no haya patógenos, nematodos o malas hierbas, que puedan infestar el suelo del vivero. El suelo debe ser usado con la mayor rapidez posible, en un plazo inferior a los 8 días y mantenido húmedo hasta su uso. Se mezcla con el sustrato en proporciones que varían entre 5 y 20% en volumen, siendo 10% la proporción más usada. También se puede esparcer en una capa de 0,5-1 cm de grosor alrededor de los plantones, regándolos seguidamente para que el inóculo penetre en la zona de las raíces. Alternativamente se puede suspender en agua (1 kg de suelo en 20 l de agua), regando los plantones con esta suspensión. En estos dos últimos casos la operación debe repetirse 3 ó 4 veces a lo largo del período de producción de los plantones (Marx y Kenney 1982).

Si la obtención del inóculo es dificultosa y se quiere ahorrar en lo posible la cantidad a usar se puede inocular cada plantón poniendo una cucharadita de suelo en su base cuando se transplantan a contenedores (Mikola 1973).

La desventaja de la inoculación con suelo está en la falta de control sobre los tipos de ectomicorrizas introducidos. La formación de éstas puede ser errática. El grado de beneficio que representa para los plantones es desconocido aunque en programas de reforestación siempre cualquier micorriza es mejor que ninguna.

El peligro de introducir patógenos, nematodos o semillas de malas hierbas es también considerable aunque se tomen precauciones al respecto.

Plantas micorrizadas. Este método fue primeramente usado en Indonesia con *Pinus merkusii*. Consiste en plantar en las ramas de vivero plantones micorrizados a distancias entre 1 y 2 m. El crecimiento del micelio se

extiende, infectando los plantones próximos. En la recogida de los plantones se dejan plantas madres para la próxima producción. Este método también se usa para propagar *Tuber melanosporum* en algunos viveros franceses (Marx y Kenney 1982).

Este método no es utilizable en viveros mecanizados. Para estos últimos, se está tratando de desarrollar una variante consistente en aplicar raíces micorrizas obtenidas bien sea en el propio vivero después de levantar los plantones, recogiendo las raíces remanentes después del "undercutting" del sistema radicular, o alternativamente recogiendo raíces infectadas en bosques ya establecidos. La cantidad a usar no debe ser inferior a 1 kg de ectomicorrizas por cada m³ de suelo. Este método necesita más investigación antes que pueda convertirse en operacional.

Esporas. La inoculación con esporas está recibiendo una atención creciente por parte de los investigadores en micorrizas. En los últimos 10 años los trabajos realizados por Dr. Marx y su equipo en el desarrollo de tecnologías adecuadas para inocular viveros y semillas con esporas de *Pisolithus tinctorius* han sido extensivos y notables en sus resultados.

El uso de esporas como forma de inóculo es aplicable a hongos del grupo *Gastromycetes*, tales como *Rhizopogon*, *Scleroderma* y *Pisolithus*, capaces de producir numerosas esporas de fácil recolección y almacenamiento. Para hongos en otros grupos la obtención de grandes cantidades de esporas es difícil pero la técnica puede ser adaptada secando y triturando los esporocarpos, lo cual es otra forma de inoculación con esporas.

Los esporocarpos de *P. tinctorius* se recogen cuando están maduros y el peridio está intacto. Las esporas se recogen rompiendo el peridio sobre un tamiz y tamizando la parte superior del esporocarpo. Las esporas se dejan secar unos días y se almacenan en bolsas de plástico dentro de frascos de vidrio ámbar a 5°C. La cantidad de esporas obtenidas depende del tamaño del esporocarpo, en California no es infrecuente obtener 200 g de esporas por cada esporocarpo. Cada mg de esporas contiene alrededor de 1 millón de basidiosporas.

Aplicaciones de 1 mg de esporas en 800 cm³ de suelo es suficiente para la síntesis de micorrizas. El máximo nivel de síntesis se obtuvo con la concentración de 5,5 x 10⁷ esporas en 800 cm³ de suelo (Marx 1976). Para que los efectos beneficiosos de la inoculación con *P. tinctorius* sean patentes el sistema radicular debe tener al menos 50% de sus raíces capilares infectadas con *P. tinctorius* (Marx et al 1977). Para obtener este nivel de micorrización en abeto Douglas con esporas de *P. tinctorius* californiano se necesitó una aplicación de unas 8 x 10⁶ esporas/cm² (Alvarez y Trappe 1983b). Los pinos parecen necesitar niveles de aplicación inferiores al abeto Douglas.

Conviene recordar que la inexistencia de métodos estandarizados para determinar la viabilidad de las esporas hace que los resultados obtenidos por un investigador no son transferibles, ya que la capacidad germinativa de la colección de esporas con la que cada uno trabaja puede ser muy diferente. Los niveles de aplicación necesarios para una buena formación de micorrizas deben ser obtenidos para cada especie que se desea inocular en viveros con la colección de esporas que se vaya a usar. El uso excesivo de esporas es detrimental ya que la formación de micorrizas se reduce cuando los niveles de aplicación de esporas superan el nivel que produce la mayor cantidad de micorrizas (Marx 1976). Estos resultados fueron corroborados con *P. tinctorius* en California, tanto en el

bosque como en invernadero (Alvarez y Trappe 1983a y b). Este fenómeno se debe a la existencia de inhibidores endógenos en las esporas de *P. tinctorius* que limitan su germinación cuando las esporas se masifican.

Así pues antes de recomendar niveles de aplicación de esporas en viveros conviene hacer ensayos previos para determinar el margen de niveles de aplicación de esporas a los que se debe operar.

La forma en que se aplican las esporas en el vivero es flexible y adaptable al manejo ya existente en el vivero. Se pueden aplicar en una mezcla con vermiculita, caolín o arena, trabajando a continuación esta mezcla en los primeros centímetros del suelo del vivero. Si se inocula después de plantar las semillas, la aplicación se puede hacer en una suspensión en agua con un detergente como Tween-20 o con el hydromulch.

También se pueden usar esporas para encapsular las semillas. Las esporas van mezcladas con arcilla y un adhesivo.

Marx y Kenney (1982) resumen las ventajas y desventajas de las inoculaciones con esporas. Las ventajas se encuentran en: 1) no requieren un largo período de crecimiento bajo condiciones asépticas como ocurre con el inóculo micelial; 2) las esporas son ligeras de peso y 3) sobreviven bien al almacenamiento. Las desventajas se encuentran en: 1) la inexistencia de test para determinar su viabilidad; 2) la producción de esporocarpos puede ser errática; 3) la formación de ectomicorrizas tarda 3-4 semanas más que cuando se usa micelio y 4) se carece de una definición genética del inóculo usado.

La practicalidad de este método y su economía hacen que sea un método de inoculación con gran capacidad de desarrollo en el futuro. Urge encontrar métodos para determinar la viabilidad de las esporas.

Micelio. Las inoculaciones de viveros con cultivos de hongos micorrícicos son casi operacionales en U.S.A., aunque las especies de hongos disponibles sean muy limitadas.

La variabilidad entre cepas de una misma especie es muy alta en los hongos ectomicorrícicos. Moser (1958) estudiando la capacidad de *Suillus variegatus* de sobrevivir períodos de helada a -12°C y crecimiento desde 0°C hasta 5°C encontró que los ecotipos provenientes de elevaciones altas podían sobrevivir heladas durante 2 meses, mientras que los ecotipos provenientes de los valles morían a los 5 días. Resultados similares han sido reportados en la literatura para otros parámetros y otros hongos. Es bien conocida la flexibilidad de *P. tinctorius* en su adaptación a un ancho spectrum de temperaturas o pHs en el suelo. Igualmente es conocida la flexibilidad de *Cenococcum geophilum* en cuanto a condiciones de sequía y tolerancia a una diversidad de pHs (Marx y Kenney 1982).

La selección de la cepa del hongo que se va a usar en inoculaciones de vivero debe ser hecha minuciosamente teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- 1) Facilidad de aislamiento.
- 2) Capacidad de crecimiento en cultivo puro y resistencia a las manipulaciones a las que se verá sometida en el proceso de inoculación.
- 3) Capacidad de formación de simbiosis con un spectrum amplio de huéspedes.
- 4) Adaptación a las condiciones ecológicas de la localidad donde los plantones serán plantados, así como adaptación a las condiciones existentes en los viveros.
- 5) Producción de rizomorfos o de strands de hifas (se cree incrementa la

PRODUCCION Y MANEJO DE INOCULO. TECNICAS DE INOCULACION CON MEC

PRODUCCION Y MANEJO DE INOCULO. TECNICAS DE INOCULACION CON MEC

por

ISABEL ALVAREZ
Centro de Experimentación Agraria
Villaviciosa, Asturias

RESUMEN

La introducción artificial de hongos micorrhizales en un vivero puede hacerse con suelos naturalmente infestados, con plantas micorrizadas, con esporas o con micelio. El micelio de hongos micorrhizales seleccionados es considerado la mejor forma de inoculación. Sin embargo la inoculación con esporas es un método con gran potencial para desarrollo en el futuro. Es práctico, económico y muy útil en países que carecen de la infraestructura necesaria para la producción de inóculo vegetativo a gran escala.

ABSTRACT

The artificial introduction of mycorrhizal fungi in a nursery can be done via naturally infested soils, mycorrhizal plants, spores and mycelium. Mycelium of selected mycorrhizal fungi is considered the best form of inoculum. However, spore inoculation is a method with great potential for future development. It is practical, economical and very useful in countries lacking the infrastructure needed for production of vegetative inoculum at great scale.

La importancia de inocular especies forestales con hongos ectomicorrhizales está ampliamente documentada en la literatura, siendo ejemplos notables las inoculaciones de *Pinus caribaea* en Puerto Rico y las experiencias en la reforestación de las estepas rusas y las praderas norteamericanas (Mikola 1973).

Los géneros forestales de mayor importancia económica mundialmente: *Abies*, *Pinus*, *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga*, *Larix*, *Fagus* y *Quercus* son obligadamente ectomicorrhizales. La introducción de especies en estos géneros en zonas carentes de inóculo natural debe ir acompañada de la introducción de hongos ectomicorrhizales.

Los viveros situados cerca de masas forestales raramente carecen de inóculo natural. La mayoría de los hongos micorrhizales producen esporocarpos epigeos y las esporas son diseminadas por aire, agua, insectos y animales pequeños. Entre los hongos hipogeos la principal forma de diseminación son los animales pequeños que buscan ávidamente los esporocarpos como parte de su dieta. Sin embargo, las condiciones ambientales del vivero ejercen una presión selectiva. Destaca por su adaptación a estas condiciones *Thelephora terrestris*.

La introducción artificial de hongos micorrhizales se puede hacer de distintas maneras: suelo, plantas micorrizadas, esporas y micelio.

Suelo. El suelo debe ser recogido en un bosque natural o vivero de la misma especie que se desea inocular. Se debe tener cuidado que no haya patógenos, nematodos o malas hierbas, que puedan infestar el suelo del vivero. El suelo debe ser usado con la mayor rapidez posible, en un plazo inferior a los 8 días y mantenido húmedo hasta su uso. Se mezcla con el sustrato en proporciones que varían entre 5 y 20% en volumen, siendo 10% la proporción más usada. También se puede esparcer en una capa de 0,5-1 cm de grosor alrededor de los plántones, regándolos seguidamente para que el inóculo penetre en la zona de las raíces. Alternativamente se puede suspender en agua (1 kg de suelo en 20 l de agua), regando los plántones con esta suspensión. En estos dos últimos casos la operación debe repetirse 3 ó 4 veces a lo largo del período de producción de los plántones (Marx y Kenney 1982).

Si la obtención del inóculo es dificultosa y se quiere ahorrar en lo posible la cantidad a usar se puede inocular cada plánton poniendo una cucharadita de suelo en su base cuando se transplantan a contenedores (Mikola 1973).

La desventaja de la inoculación con suelo está en la falta de control sobre los tipos de ectomicorrizas introducidos. La formación de éstas puede ser errática. El grado de beneficio que representa para los plántones es desconocido aunque en programas de reforestación siempre cualquier micorriza es mejor que ninguna.

El peligro de introducir patógenos, nematodos o semillas de malas hierbas es también considerable aunque se tomen precauciones al respecto.

Plantas micorrizadas. Este método fue primeramente usado en Indonesia con *Pinus merkusii*. Consiste en plantar en las ramas de vivero plántones micorrizados a distancias entre 1 y 2 m. El crecimiento del micelio se

extiende, infectando los plantones próximos. En la recogida de los plantones se dejan plantas madres para la próxima producción. Este método también se usa para propagar *Tuber melanosporum* en algunos viveros franceses (Marx y Kenney 1982).

Este método no es utilizable en viveros mecanizados. Para estos últimos, se está tratando de desarrollar una variante consistente en aplicar raíces micorrizas obtenidas bien sea en el propio vivero después de levantar los plantones, recogiendo las raíces remanentes después del "undercutting" del sistema radicular, o alternativamente recogiendo raíces infectadas en bosques ya establecidos. La cantidad a usar no debe ser inferior a 1 kg de ectomicorrizas por cada m² de suelo. Este método necesita más investigación antes que pueda convertirse en operacional.

Esporas. La inoculación con esporas está recibiendo una atención creciente por parte de los investigadores en micorrizas. En los últimos 10 años los trabajos realizados por Dr. Marx y su equipo en el desarrollo de tecnologías adecuadas para inocular viveros y semillas con esporas de *Pisolithus tinctorius* han sido extensivos y notables en sus resultados.

El uso de esporas como forma de inóculo es aplicable a hongos del grupo *Gastromycetes*, tales como *Rhizopogon*, *Scleroderma* y *Pisolithus*, capaces de producir numerosas esporas de fácil recolección y almacenamiento. Para hongos en otros grupos la obtención de grandes cantidades de esporas es difícil pero la técnica puede ser adaptada secando y triturando los esporocarpos, lo cual es otra forma de inoculación con esporas.

Los esporocarpos de *P. tinctorius* se recogen cuando están maduros y el peridio está intacto. Las esporas se recogen rompiendo el peridio sobre un tamiz y tamizando la parte superior del esporocarpo. Las esporas se dejan secar unos días y se almacenan en bolsas de plástico dentro de frascos de vidrio ámbar a 5°C. La cantidad de esporas obtenidas depende del tamaño del esporocarpo, en California no es infrecuente obtener 200 g de esporas por cada esporocarpo. Cada mg de esporas contiene alrededor de 1 millón de basidiosporas.

Aplicaciones de 1 mg de esporas en 800 cm³ de suelo es suficiente para la síntesis de micorrizas. El máximo nivel de síntesis se obtuvo con la concentración de 5,5 x 10⁷ esporas en 800 cm³ de suelo (Marx 1976). Para que los efectos beneficiosos de la inoculación con *P. tinctorius* sean patentes el sistema radicular debe tener al menos 50% de sus raíces capilares infectadas con *P. tinctorius* (Marx et al 1977). Para obtener este nivel de micorrización en abeto Douglas con esporas de *P. tinctorius* californiano se necesitó una aplicación de unas 8 x 10⁶ esporas/cm² (Alvarez y Trappe 1983b). Los pinos parecen necesitar niveles de aplicación inferiores al abeto Douglas.

Conviene recordar que la inexistencia de métodos estandarizados para determinar la viabilidad de las esporas hace que los resultados obtenidos por un investigador no son transferibles, ya que la capacidad germinativa de la colección de esporas con la que cada uno trabaja puede ser muy diferente. Los niveles de aplicación necesarios para una buena formación de micorrizas deben ser obtenidos para cada especie que se desea inocular en viveros con la colección de esporas que se vaya a usar. El uso excesivo de esporas es detrimental ya que la formación de micorrizas se reduce cuando los niveles de aplicación de esporas superan el nivel que produce la mayor cantidad de micorrizas (Marx 1976). Estos resultados fueron corroborados con *P. tinctorius* en California, tanto en el

bosque como en invernadero (Alvarez y Trappe 1983a y b). Este fenómeno se debe a la existencia de inhibidores endógenos en las esporas de *P. tinctorius* que limitan su germinación cuando las esporas se masifican.

Así pues antes de recomendar niveles de aplicación de esporas en viveros conviene hacer ensayos previos para determinar el margen de niveles de aplicación de esporas a los que se debe operar.

La forma en que se aplican las esporas en el vivero es flexible y adaptable al manejo ya existente en el vivero. Se pueden aplicar en una mezcla con vermiculita, caolín o arena, trabajando a continuación esta mezcla en los primeros centímetros del suelo del vivero. Si se inocula después de plantar las semillas, la aplicación se puede hacer en una suspensión en agua con un detergente como Tween-20 o con el hydromulch.

También se pueden usar esporas para encapsular las semillas. Las esporas van mezcladas con arcilla y un adhesivo.

Marx y Kenney (1982) resumen las ventajas y desventajas de las inoculaciones con esporas. Las ventajas se encuentran en: 1) no requieren un largo período de crecimiento bajo condiciones asépticas como ocurre con el inóculo micelial; 2) las esporas son ligeras de peso y 3) sobreviven bien al almacenamiento. Las desventajas se encuentran en: 1) la inexistencia de test para determinar su viabilidad; 2) la producción de esporocarpos puede ser errática; 3) la formación de ectomicorrizas tarda 3-4 semanas más que cuando se usa micelio y 4) se carece de una definición genética del inóculo usado.

La practicalidad de este método y su economía hacen que sea un método de inoculación con gran capacidad de desarrollo en el futuro. Urge encontrar métodos para determinar la viabilidad de las esporas.

Micelio. Las inoculaciones de viveros con cultivos de hongos micorrícicos son casi operacionales en U.S.A., aunque las especies de hongos disponibles sean muy limitadas.

La variabilidad entre cepas de una misma especie es muy alta en los hongos ectomicorrícicos. Moser (1958) estudiando la capacidad de *Suillus variegatus* de sobrevivir períodos de helada a -12°C y crecimiento desde 0°C hasta 5°C encontró que los ecotipos provenientes de elevaciones altas podían sobrevivir heladas durante 2 meses, mientras que los ecotipos provenientes de los valles morían a los 5 días. Resultados similares han sido reportados en la literatura para otros parámetros y otros hongos. Es bien conocida la flexibilidad de *P. tinctorius* en su adaptación a un ancho spectrum de temperaturas o pHs en el suelo. Igualmente es conocida la flexibilidad de *Cenococcum geophilum* en cuanto a condiciones de sequía y tolerancia a una diversidad de pHs (Marx y Kenney 1982).

La selección de la cepa del hongo que se va a usar en inoculaciones de vivero debe ser hecha minuciosamente teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- 1) Facilidad de aislamiento.
- 2) Capacidad de crecimiento en cultivo puro y resistencia a las manipulaciones a las que se verá sometida en el proceso de inoculación.
- 3) Capacidad de formación de simbiosis con un spectrum amplio de huéspedes.
- 4) Adaptación a las condiciones ecológicas de la localidad donde los plantones serán plantados, así como adaptación a las condiciones existentes en los viveros.
- 5) Producción de rizomorfos o de strands de hifas (se cree incrementa la

capacidad del hongo de absorber agua y nutrientes) o producción de esclerotios.

6) Agresividad y competitividad con otros tipos de hongos existentes en los viveros.

Otras características pueden ser añadidas según el objetivo específico que se persiga con la inoculación. Se puede añadir: capacidad de resistencia a hongos patógenos específicos, capacidad de tolerancia a compuestos tóxicos existentes en el suelo, etc. Ver Trappe (1977) y Molina y Trappe (1982).

La posesión de datos amplios de campo y laboratorio sobre cada uno de los cultivos existentes en la micoteca ayuda enormemente en la determinación de las características mencionadas.

La producción de inóculo vegetativo usa como sustrato una mezcla de vermiculita, turba y MMN líquido. La vermiculita y turba son tamizadas para eliminar las partículas de tamaño inferior a 0,5 cm. Las proporciones a usar son 28:1 (V/V), vermiculita:turba. El MMN se aplica al 50% del volumen total de materia seca. Así para matraces Erlenmeyer de 2 l las cantidades a usar serían 1.400 ml de vermiculita, mezclados con 50 ml de turba mojando esta mezcla con 750 ml de MMN líquido. Se esteriliza y el pH final estaría entre 4,5 y 5,5.

Se puede usar como contenedor cualquiera que permita la esterilización y el mantenimiento de humedad durante el período de incubación.

La inoculación se puede hacer con cultivos líquidos o sólidos. Cuando más inóculo inicial se ponga más rápida será la colonización del sustrato. Como indicación de inóculo inicial se puede usar entre 4 y 6 cultivos sólidos/l de sustrato o entre 10 y 15 ml/l de sustrato si se usa cultivo líquido. El período de incubación varía entre 2 y 3 meses para hongos micorrícicos de crecimiento rápido y entre 8 y 10 meses para aquellos de crecimiento lento. Durante el período de incubación conviene agitar la mezcla periódicamente.

Al final del período de incubación se elimina cualquier contenedor contaminado y se elimina el exceso de nutrientes lavando el inóculo, envuelto en varias capas de gasa en agua corriente. Una vez finalizada esta operación se deja secar a temperatura ambiente durante la noche. A la mañana siguiente se empaqueta en bolsas de plástico (6 l/bolsa) y se refrigera hasta su uso. El inóculo debe ser usado en un plazo inferior a 40 horas.

La cantidad que se debe usar en viveros a raíz desnuda varía según el tipo de inóculo y el grado de presencia de *Thelephora* en el vivero. Una cantidad orientativa es 2 l/m² que se incrementará si el peligro de infección con *Thelephora* es alto. El inóculo se aplica a los 10-12 cm superiores del suelo inmediatamente antes de plantar las semillas.

En inoculaciones de plantones en contenedores las proporciones recomendadas para *Laccaria laccata* y *Hebeloma crustuliniforme* es 1:64 ó 1:128 (V:V) inóculo:sustrato en contenedor. Igualmente que para viveros a raíz desnuda se aumenta la proporción de inóculo si existe peligro de contaminación con *Thelephora* pasando a 1:8 ó 1:4 (Hung 1984).

Una vez inoculados los plantones se debe cuidar que en el manejo del vivero no se incluyan prácticas perjudiciales para el establecimiento y desarrollo de los hongos micorrícicos.

LITERATURA CITADA

Alvarez, I.F. y J.M. Trappe. 1983a. Dusting roots of *Abies concolor* and other conifers with *Pisolithus tinctorius* spores at outplanting time proves ineffective. *Can. J. For. Res.* 13:1021-1023.

Alvarez, I.F. y J.M. Trappe. 1983b. Effects of application rate and cold soaking pretreatment of *Pisolithus* spores on effectiveness as nursery inoculum on western conifers. *Can. J. For. Res.* 13:533-537.

Hung, L.L. 1984. Ectomycorrhizal inoculation of Douglas-fir nursery stock with commercially produced inoculum. Ph.D. Thesis. Oregon State Univ., Corvallis.

Marx, D.H. 1976. Synthesis of ectomycorrhiza on loblolly pine seedlings with basidiospores of *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.* 22:13-20.

Marx, D.H. y D.S. Kenney. 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum. *In Methods and principles of mycorrhizal research. Editado por* N.C. Schenck. Amer. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota. 244 pp.

Marx, D.H., W.C. Bryan y C.E. Cordell. 1977. Survival and growth of pine seedlings with *Pisolithus* ectomycorrhizae after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. *Forest Sci.* 23:363-373.

Mikola, P. 1973. Applications of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. *In Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. Editado por* G.C. Marks y T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.

Molina, R. y J.M. Trappe. 1982. Applied aspects of ectomycorrhizae. *In Advances in agricultural microbiology. Editado por* N.S. Subba Rao. Oxford & IBH Publ. Co., New Delhi. 704 pp.

Moser, M. 1958. Die Einfluss tiefer Temperaturen auf das Wachstum und die Lebenstätigkeit höherer Pilze mit spezieller Berücksichtigung von Mykorrhizapilzen. *Sydowia* 12:386-399.

Trappe, J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15:203-222.

INTERACCION DE LOS HONGOS MVA CON MICROORGANISMOS
PATOGENOS Y EFECTO DE LOS PESTICIDAS

FOR
EWALD SIEVERDING
Centro Internacional de Agricultura Tropical
Apartado Aéreo 6713
Cali, Colombia

RESUMEN

Los hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular (MVA) pueden aumentar, no tener ningún efecto o disminuir, la intensidad de las enfermedades en las plantas. Aunque las generalidades no son buenas, aparentemente las plantas micorrizadas son menos susceptibles a patógenos del sistema radicular, mientras que el desarrollo de patógenos en la parte aérea puede aumentar. Con respecto a la interacción con nematodos, los reportes son inconsistentes, la MVA incrementa o disminuye (en la mayoría de los casos) los ataques.

Los mecanismos de la MVA para reducir la intensidad de las enfermedades pueden ser: A) una mejor nutrición de la planta, lo cual hace que sea más tolerante b) el área radicular afectada por patógenos, puede ser sustituido por las hifas del hongo MVA, c) una protección directa de la raíz por la presencia del hongo dentro y fuera de ella y cambios morfológicos en ella, d) competencia en la rizofera entre los hongos MVA y los microorganismos patogenicos por carbohidratos.

Los efectos de los pesticidas (fungicidas, insecticidas, nematocidas, herbicidas) se han estudiado casi exclusivamente sobre los hongos MVA y no sobre la interacción hongos MVA-enfermedades. Entre los pesticidas evaluados se encuentran productos favorables como también perjudiciales para la MVA, siendo los reportes muy inconsistentes. En algunos trabajos se ha determinado que los pesticidas pueden cambiar la composición cuantitativa de las especies de hongos MVA en el campo. En la práctica, el uso de pesticidas para proteger la planta de patógenos foliares tiene preferencia, considerando que en una planta defoliada o muerta, la MVA no tiene ninguna función.

INOCULACION DE Pisolithus tinctorius EN LA PRODUCCION DE PLANTULAS DE PINO EN EL ESTADO DE DURANGO, MEXICO.

POR

Manuel Quintos Escalante
Laboratorio de Microbiología
CIIDIR IPN Dgo.
Hidalgo No 120
Vicente Guerrero, Durango
México.

y

María Valdés
L. Microbiología
Agrícola
B.N.C.B. - I.P.N.
Apdo: 63-246
02800 México, D.F.

RESUMEN

El estado de Durango tiene cerca de 4 millones de hectáreas de bosque forestal. Este es un recurso esencial, sin embargo es severamente explotado.

Solo en este Estado hay 160 aserraderos. Esta excesiva explotación del bosque no es adecuada y como resultado el reestablecimiento natural del ecosistema no se lleva a cabo.

Algunas veces en los viveros se utiliza suelo como inóculo el cual es deficiente en hongos ectomicorrícicos.

Con el objetivo de cooperar en la producción de plántulas de pino sanas para reforestación, estamos llevando a cabo este proyecto utilizando cultivos puros de hongos ectomicorrícicos.

La evaluación de la supervivencia y el crecimiento de las plántulas aún no se ha realizado.

Espero tener algunos resultados en la Reunión de Septiembre.

ABSTRACT

Inoculation with Pisolithus tinctorius to pine seedlings. Production at Durango State, México.

Durango State has about 4 million hectares of pine forest. This essential resource, however is seriously threatened. There are only in this State 160 sawmills. This excessive exploitation of forest is not adequate and as a result the natural ecosystem is not able to reestablish itself.

Some times nurseries soils utilized as inoculum are deficient in ectomicorrizal fungi.

With the aim to cooperate in the production of healthy pine seedlings for reforestation purposes, we are carrying out this project utilizing ectomicorrhizal pure cultures.

Survival and seedlings growth measurements have not still been done.

I hope to give you some results in September.

INTRODUCCION

Durango es el segundo Estado en importancia forestal en México, posee cerca de 4 millones de hectáreas de bosque la mayor parte de la entidad es bosque y existen alrededor de 160 aserraderos, lo que refleja una intensa actividad forestal. Esta no se realiza adecuadamente y va acompañada de una modificación ambiental que en muchas ocasiones da origen a la erosión.

La solución a este problema es la reforestación, sin embargo en el caso de México la reforestación no ha representado una solución porque las campañas respectivas no se han aplicado con criterios técnicos.

Generalmente, en los viveros se utiliza suelo de monte con el fin de suministrar a la planta los simbioses necesarios para su desarrollo, transportando a su vez gran cantidad de patógenos. Debido a la mala ubicación de los viveros y al desequilibrio ecológico causado por la extracción de suelo, los insumos necesarios para el transporte del mismo resultan bastante caros. De ahí la necesidad de proporcionar cultivos puros de hongos micorrícicos los cuales por los beneficios que aportan a las plantas han sido considerados los óptimos.

La obtención en nuestro vivero de plántulas de pino micorrizadas inoculando con suelo de bosque cercanos, fué muy deficiente. Se hizo, incluso un estudio de la flora fúngica micorrícica de los suelos utilizados en nuestro vivero y muy pocas especies eran micorrícicas. Motivados por esta razón y por el hecho conocido del papel tan importante de los hongos ectomicorrícicos en la nutrición de las plantas, decidimos llevar a cabo este trabajo inoculado con cultivos de Pisolithus tinctorius plántulas de pino representantes de la región.

MATERIAL Y METODOS

La especie elegida de Pino fué Pinus engelmannii por ser una de las más representativas de la región donde de lleva a cabo el estudio.

El cultivo de Pisolithus tinctorius (No. 250 Athens GA) fue desarrollado en frascos de un litro de capacidad que

contenían agrolita, turba y solución mineral del medio Melin Norkrans Modificado. Después de cuatro meses, el contenido fue removido, lavado y exprimido para eliminar el exceso de agua. El contenido se empaquetó en bolsas de polietileno y se refrigeró hasta su uso.

La aplicación se llevó a cabo en una proporción de un litro de inoculante por metro cuadrado de almácigo, donde el suelo fue previamente desinfectado con bromuro de metilo.

El diseño estadístico seleccionado para este estudio fue el de bloques al azar con tres repeticiones.

Los parámetros a observar serán: Porcentaje de micorriza, peso seco de planta, altura de la parte aérea, longitud de la raíz y diámetro de la corona.

Espero tener datos de la primera evaluación para la reunión de Septiembre.

POTENCIAL DE MICORRIZACION DE ALGUNOS SUELOS
MARGINALES DEL ESTADO DE OAXACA, MEXICO

POR

L. Varela, B. Cuenca y M. Valdés.

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Departamento de Microbiología
Laboratorio de Microbiología Agrícola
Apartado Postal 63-246
México 02800, D.F.

RESUMEN

Debido a que se pretende reforestar con plantas de *Leucaena esculenta* algunos suelos marginales del Edo. de Oaxaca (altiplano) se consideró importante acumular el mayor número de datos ecológicos necesarios para una mejor planeación del experimento en condiciones de campo, por lo que se determinó el potencial de micorrización de estos suelos. Paralelamente se contó el número de esporas/g de suelo.

SUMMARY

We pretend to carry out the forestation of some marginal soils from the State of Oaxaca with plants of *Leucaena*. We consider important to accumulate more basic ecological data needed for planning later field-scale experiments. For this reason, we determined the colonization potential of these soils. At the same time, we assessed the fungal spore number.

INTRODUCCION

Leucaena (huaque) es una planta subutilizada con un alto potencial de uso como forrajera, como alimento humano y para el control de erosión. Por otro lado Oaxaca es uno de los Estados de la República Mexicana más erosionados, con urgente necesidad de reforestación y con deficit forrajero del 60% (INIA, 1981).

En nuestro laboratorio se inicia en la actualidad un proyecto de investigación en zonas marginales de Oaxaca con

nativos para evaluar su capacidad de influir en el crecimiento de esta planta a través del aporte de diferentes nutrientes minerales (P, N, K, Zn, Cu, etc.).

Como se pretende en un futuro cercano llevar a campo ensayos con plántulas inoculadas con hongos micorrizicos VA para evaluar su respuesta a la inoculación, consideramos importante conocer el potencial de micorrización de esos suelos; por otro lado, algunas especies de *Leucaena* son originarias de esta zona y la planta crece espontáneamente, por lo que podría encontrarse abundante número ó variedad de hongos MVA.

MATERIALES Y METODOS

Para determinar el potencial de micorrización de estos suelos se usó el método del número más probable (Daniels & Skipper, 1982).

Se hicieron diluciones en cada suelo problema de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} usando suelos esterilizados en autoclave como diluyente.

El suelo se colocó en pequeñas recipientes (30cc) con pequeñas perforaciones en su base y éstas cubiertas con nylon para evitar que se saliera el suelo. Se hicieron 5 repeticiones por dilución. Cada recipiente fué sembrado con semillas pregerminadas de treból blanco. Las plantas fueron colocadas en un solarío y regadas individualmente por capilaridad cada vez que fué necesario.

A las seis semanas de crecimiento las plantas se sacaron y sus raíces fueron lavadas, aclaradas y teñidas según la técnica de Kormanik et al. 1980. Posteriormente se examinaron al microscopio para determinar si había o no infección.

El número más probable de propágulos se calculará usando las tablas de Fisher y Yates, 1963.

Para cuantificar el número de esporas/g de suelo se agregó un gramo de suelo a 9 ml de agua destilada y se agitó vigorosamente. Inmediatamente se pipeteó 1 ml en filas paralelas en un disco de papel filtro de 9 cm colocado en una caja de Petri. Las esporas se contaron con ayuda de un estereomicroscopio.

LITERATURA CITADA

Daniels, B. y H. D. Skipper, 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: Schenck, N. C. ed. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society. Minnesota. 22 pp.

Fisher, R. A. y F. Yates, 1963. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. Oliver and Boyd: Edinburgh, p. 146.

Kormanik, P. P., W. C. Bryman y R. C. Shultz, 1980. Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay. Can. J. Microbiol. 26: 536-538.

INIA, 1981. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el Estado de Oaxaca. SARH, Publicación especial No 1: 64-65.

IDENTIFICACION DE HONGOS MICORRICICOS
VESICULO-ARBUSCULARES AISLADOS DE ALGUNOS
SUELOS MARGINALES

POR

Lucía Varela y María Valdés

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Departamento de Microbiología
Laboratorio de Microbiología Agrícola
Apartado Postal 63-246
México 02800, D.F.

RESUMEN

Con el objeto de evaluar posteriormente la capacidad de incrementar el crecimiento de *Leucaena esculenta* de los hongos micorrícicos vesículo-arbusculares de algunos suelos marginales de altiplanicies (rigosoles, vertisoles y litosoles) procedimos primeramente a indentificar taxonómicamente el material a estudiar. Para ello se aislaron las esporas y/o esporocarpos de dichos hongos por las técnicas de tamizado húmedo y decantación y la de flotación y burbujeo. Dichas esporas y esporocarpos sirvieron como base para la identificación de las especies de los hongos. Los especímenes identificados serán depositados en el herbario ENCB.

SUMMARY

With the aim to evaluate in the near future the capacity of the VAM fungi from some marginal soils (rigosols, vertisols and lito sols) to increase the growth of *Leucaena*, we proceed to identify the material of study. We isolate spores and sporocarps of fungi by wet sieving and decanting and by flotation bubbling techniques. Such spores and sporocarps were the basis for the identification of the species of VAM fungi. The identified specimens will be deposited at the ENCB Herbarium.

INTRODUCCION

Poca atención han recibido los hongos endomicorrícicos vesículo-arbusculares desde el punto de vista taxonómico por

los investigadores mexicanos, por lo que el material bibliográfico que hace referencia a especies mexicanas, es prácticamente inexistente. Las investigaciones que se han hecho sobre estos hongos han sido fundamental encaminadas a su aplicación en vivero utilizando material fúngico importado o en algunos casos cepas nativas sin identificar.

Debido a la importancia reconocida de estos hongos se consideró primordial conocer las especies nativas con las que se cuenta para poder iniciar cualquier otro tipo de estudios.

MATERIALES Y METODOS

La identificación de las especies de hongos micorrícicos vesículo-arbusculares se basó en esporas y/o esporocarpos aislados de suelos marginales provenientes del Edo. de Oaxaca.

El suelo se muestreó de 0 a 20 cm. de profundidad y se le determinaron sus características con pH, textura, capacidad de intercambio iónico, capacidad de retención de agua fósforo total, etc.

Para el aislamiento de las esporas y esporocarpos se siguieron las técnicas de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) y de flotación y burbujeo (Furlan y Formann y Nicolson, 1963) y de flotación y burbujeo (Furlan y Fortin, 1975). Las esporas extraídas se examinaron al estereomicroscopio y se aislaron con ayuda de una pipeta Pasteur de acuerdo a forma, color, tamaño y ornamentación. Se elaboraron preparaciones microscópicas permanentes con cada tipo de espora para su identificación posterior.

La identificación de las especies se hizo utilizando las claves elaboradas por Trappe (1982) fundamentalmente. La revisión de Gerdemann y Trappe (1974), las claves de Hall y Fish (1979) y el trabajo de Schenck y Smith (1982) también fueron consultados. En algunos casos fué necesario consultar también la descripción original de las especies.

RESULTADOS

Hasta el momento no se han identificado el total de especies aisladas. Durante el curso se presentaran los resultados completos.

LITERATURA CITADA

- Furlan, V. y J. A. Fortin, 1975. A flotation-bubbling system for collecting Endogonaceae spores from sieved soil. *Naturaliste Can.* 102:663-667.
- Gerdemann, J. W. y T. H. Nicolson, 1963. Spores of mycorrhizal *Endogona* extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46:235-244.
- Gerdemann, J. W. y J. M. Trappe, 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Men.* 5:1-76.
- Hall, I.R. y B. J. Fish, 1979. A key to the Endogonaceae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 73:261-270.
- Schenck, N.C. y G. S. Smith, 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia* 71:77-92.

Estudio de la asociación micorrícica vesículo-arbuscular Rhizobium en Phaseolus vulgaris, L.
(frijol común)

por

Carmen Ida Infante Meléndez
Universidad de Costa Rica
Escuela de Biología
San Pedro de Montes de Oca
San José, Costa Rica

RESUMEN

Se investigó la posibilidad de incrementar la productividad del cultivo de Phaseolus vulgaris, L (frijol común), induciendo asociaciones simbióticas tipo bacterial y fúngicas. Realizando para tal efecto los siguientes tratamientos: Frijol abonado (FA); Frijol Micorrizado (FM); Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM); Frijol sin esterilizar (FSE) y el testigo (F). Se trabajó con un suelo pobre en fósforo y se evaluaron los parámetros tales como: altura, peso seco foliar, peso seco radical, porcentaje de fósforo y nitrógeno, ausencia o presencia de la micorrización y la acción bacterial en cada uno de los casos. Concluyéndose que el suelo empleado no permite en sus condiciones naturales un buen desarrollo, crecimiento y nutrición de las plantas. Sin embargo, al adicionar una fuente de abono adecuada en fósforo y nitrógeno el comportamiento de las plantas es marcadamente positivo. Al inducir asociaciones simbióticas de tipo fúngico y bacterial, las plantas responden bastante bien a las limitaciones del medio, en donde la presencia de inóculos bacteriales y fúngicos nativos fueron menos eficientes que los aplicados artificialmente.

SUMMARY

They made a research on the possibility of increasing the production of the common bean (Phaseolus vulgaris, L) by leading symbiotic association such as bacteria and fungi types. To do such research we tried with: fertilized beans (FA); mycorrhizal beans (FM); Rhizobium beans (FR); Rhizobium mycorrhizal beans (FRM); unsterilized beans (FSE) and the control (F).

It was worked with a poor soil lacked of phosphorus and several degrees were evaluated such as: altitude, root dry weight, the percentage of phosphorus and nitrogen, presence or absence of the mycorrhizal factor and the bacterial activity in each of the cases. Finally conclude that the used soil did not let a good development under natural

conditions. It doesn't let a good growth and it doesn't let a good plant nutrition. Nevertheless if we supply an adequate source of fertilizar such as phosphorus and nitrogen the plant reaction could be positive. If we supply symbiotic association such as fungi and bacterial ones, the plants will react pretty good to the limits of the environment where the presence of the bacterial inoculum and native fungi were less efficient than the inoculum which were applied artificially.

INTRODUCCION

Las micorrizas vesículo-arbuscular pueden mejorar satisfactoriamente el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas hospederas, especialmente en suelos en donde la cantidad de fósforo y otros elementos esenciales son un factor limitante (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968). Los hongos endomicorrízicos incrementan la absorción de fósforo (Gray y Gerdemann, 1967).

Sin embargo, la capacidad de acción de la micorrización va a depender de la cantidad de inóculo presente, el tipo, viabilidad y densidad del mismo, que va a estar directamente ligado a las condiciones ambientales (Hall, 1976; Ferguson, 1981; Manjunath y Bagyaraj, 1981; Daniels y Skipper, 1982).

El estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares se ha orientado hacia plantas de interés agrícola e industrial como: el cultivo de uvas (Possinghan, 1971); maíz (Gerdemann, 1964); tomate (Daft y Nicolson, 1966); cebolla (Furlan y Fortin, 1973) y también árboles forestales como arce (Medve, 1971) y álamo amarillo (Clark, 1963).

Con miras a estudiar las posibilidades de incrementar la productividad del cultivo de frijol dentro del campo biológico, con la intención o finalidad primordial de inducir las asociaciones simbióticas de microorganismos de tipo bacterial y fúngico en el frijol, es que se estructuró la presente investigación.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se inició el 26 de marzo de 1984 en los invernaderos de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica. El suelo empleado para el mismo se colectó en (Villa) Colón, analizado químicamente, indicó que era un suelo pobre en nutrientes especialmente en fósforo (5 ppm); y un pH = 5. Se esterilizó en autoclave y con bromuro de metilo; empacándose en bolsas negras de polietileno de 23 por 23 centímetros, previamente esterilizadas con alcohol de

95, la cantidad de sustrato empleado por bolsa fue de 2.100 gramos.

Se trabajó con semilla de *Phaseolus vulgaris*, L var. **Mexico**, esterilizada con alcohol de 95 y hipoclorito de sodio, puestas en imbibición por 24 horas y a pregerminar en un medio de agar-agua al 1%, hasta que las raicillas alcanzaron un centimetro de largo.

Los tratamientos realizados fueron: FR (plantas de frijol con *Rhizobium*); FM (plantas de frijol con hongo micorrizico); FRM (plantas de frijol con *Rhizobium* y hongo micorrizico); FA (frijol sin inóculo pero abonado); FSE (plantas de frijol en suelo sin esterilizar) y F (control).

Como inóculo micorrizico se empleo raicillas micorrizadas de *Emilia fosbergii* Nicolson (mala hierba) y esporas extraidas del suelo circundante a las raicillas por medio de método de decantado o filtrado (Gerdemann y Nicolson, 1963; Mosse y Jones, 1968). El inóculo bacterial estuvo formado por la cepa de *Rhizobium phaseoli* var. **Mexico**. La fuente de abono fue una solución de 3.45 g de $(NH_4)_2HPO_4$ y 1.24 g de K_2SO_4 en 225 ml de agua estéril.

Preparación de los diferentes tratamientos: FR: Las semillas germinadas se sembraron en el suelo preparado a 1cm de profundidad y con una pipeta estéril se les adicionó, en su contorno, 1 ml de inóculo bacterial suspendido en una solución salina (NaCl 0.85%). FM: A las bolsas que correspondían a este tratamiento, se les extrajo, en cada caso, una capa de sustrato de aproximadamente 2 cm de grosor, se colocó en el centro de la bolsa un pequeño círculo de papel de filtro, esterilizado con rayos ultra violeta, al que se le adicionó 1 g de raicillas micorrizadas de *Emilia fosbergii* y 10 esporas del micobionte. Esto se cubrió con una capa de un cm del sustrato extraído.

Colocándose la semilla de tal forma que su radícula quedara en contacto con el papel de filtro, por último se cubrió con el suelo restante. FRM: se siguió el mismo procedimiento que los tratamientos de FM y FR. F: este correspondió al testigo, al que no se le adicionó ningún tipo de inóculo o abono. FA: Las plántulas se sembraron en la bolsa correspondiente al suelo estéril y se dejó pasar 6 días con el fin de que adquirieran un tamaño adecuado y se adaptaran al nuevo sustrato. Se adicionó con una pipeta estéril 15 ml de la solución del abono por planta. FSE: las plántulas fueron sembradas en un sustrato sin esterilizar, es decir en condiciones naturales.

Variabes evaluadas: Altura, cada semana se tomaron los datos de altura en cm de cada una de las plantas en los diferentes tratamientos; peso seco foliar y radical, a las 10 semanas de haber montado el experimento se evaluaron estos parámetros. Se secaron las muestras en una estufa a 65°C hasta alcanzar un peso constante y posteriormente se pesaron; contenido de fósforo, se determinó a nivel de planta, según el método colorimétrico (Briceño et al.,

1984); el contenido de nitrógeno a nivel de planta se determinó con la ayuda del método de Kjeldhal (Muller, 1961); la micorrización se determinó con la ayuda del método de tinción de Phillips y Hayman, 1970; el número y el peso de los inóculos bacterianos se determinó removiendo de los sistemas radicales los mismos, contándolos y secándolos a 65°C hasta lograr un peso constante, para pesarlos posteriormente.

El análisis estadístico se realizó con 10 muestras en cada tratamiento, aplicándose el análisis de varianza, la prueba de Duncan y la prueba de T de Student.

RESULTADOS

Estadísticamente se dedujo que hubo un incremento notable en la altura de la parte aérea de la plantas de frijol, en el tratamiento de frijol abonado. También se pudo concluir que el tratamiento de FM muestra una diferencia significativa al 1% con respecto a los tratamientos de FRM, FR, FSE y el testigo. El resto de los tratamientos no presentaron diferencia significativa entre ellos.

El frijol abonado presentó una diferencia al 1% para los parámetros de peso seco radical y foliar, mientras que el resto de tratamientos presentaron una mayor uniformidad, sin embargo si se observa, el cuadro 1 se puede notar que existió cierta diferencia entre promedios con respecto a algunos tratamientos para estas variables, sobre todo para la del peso seco radical.

La evaluación del contenido de fósforo nos indicó que el FA presentó una diferencia significativa de un 1% con respecto al resto de tratamientos, sin embargo, la T de Student demostró la existencia de una diferencia significativa con respecto a los siguientes tratamientos: FM-FR; FM-FSE; FM-F; FR-FRM; FR-FSE y FR-F. El contenido de nitrógeno también denotó una diferencia significativa al 1% del FA con respecto a los otros tratamientos y la T de Student reveló una diferencia significativa del FM-FSE; FM-F; FR y F.

Se visualizó la presencia de la micorrización vesículo-arbuscular en los tratamientos de FM, FRM y FSE.

La formación de nódulos bacterianos se visualizó en los tratamientos de FR, FRM, FSE; se pudo establecer una diferencia significativa entre ellos en cuanto al número y el peso de los nódulos del tratamiento del FR con respecto al FRM y FSE.

DISCUSION

Al adicionar una fuente externa de nutrientes a base de nitrógeno y fósforo al sustrato, se logró observar, en todos los parámetros evaluados, una mayor respuesta por parte de las plantas abonadas, siendo este comportamiento lógico, ya que se le dió el suministro adecuado a las plantas para su mejor desarrollo anatómico y fisiológico.

A pesar de la pobreza en fósforo y otros nutrientes del suelo, éste permitió que se desarrollara perfectamente la asociación micorrizica vesículo-arbuscular. Al observar los resultados en los tratamientos de FM,FR,FRM se puede hipotetizar sobre una posible competencia entre los diferentes simbiontes en sus primeros estadios de colonización de la rizosfera, tomando en cuenta desde luego que el inóculo nativo tanto bacterial como fúngico fue menos eficiente que el aplicado artificialmente.

En torno al parámetro del contenido de fósforo los resultados obtenidos indican que el fósforo en suelos de baja fertilidad es el nutriente más importante que ésta involucrado, en la respuesta de la asociación micorrizica vesículo-arbuscular y que se localiza en mayor concentración en plantas micorrizadas en relación con plantas no micorrizadas (cuadro 1) como lo reportan estudios de otros investigadores (Gerdemann, 1975). Esto se puede explicar asumiendo que el micelio externo del endófito micorrizico actúa como una malla o red que amplía la relación de la planta con el suelo; así se puede absorber más fósforo y trasladarlo a las raíces, donde es transferido al hospedante micorrizico, aumentando de esta manera el volumen de suelo utilizado, al aumentar también el sistema de absorción de nutrientes por la planta (Baylis, 1959; Gerdemann, 1964).

El contenido de nitrógeno indicó que la acción del inóculo micorrizico también influye en la absorción de nitrógeno, esto podría deberse a un efecto secundario, debido al mejor suministro de fósforo a las raíces de las plantas. La importancia de la acción micorrizica en la nutrición del fósforo por parte de plantas en ambientes precarios, podría compararse a la de *Rhizobium* en la nutrición del nitrógeno.

La presencia de un micelio bien desarrollado, arbusculas en diferentes estadios de desintegración y vesículas bien formadas, indicaron un excelente desarrollo de la micorrización en los tratamientos de FM y FRM, en el FSE se manifestaron estas estructuras pero en menor cantidad y desarrollo, debido probablemente a la poca eficiencia del inóculo nativo del sustrato.

Es preciso mencionar que éste es uno de lo primeros intentos del estudio de las endomicorrizas en nuestro país y que éste trabajo se abre las puertas a una serie de interrogantes a cerca del comportamiento en nuestro medio,

Cuadro 1: Promedios de los diferentes parámetros evaluados al concluir un periodo de 10 semanas.

TRATAMIENTO	ALTURA (cm)	PESO SECO RAD. (g)	PESO FOL. (g)	FOSF +	NITR +	NUM NOD *	PESO NOD. (g)
Testigo	11.37	0.05	0.15	0.115	4.21	---	---
Frijol abonado (FA).....	78.40	0.34	2.61	3.61	97.38	---	---
Frijol sin esterilizar(FSE)	12.08	0.09	0.20	0.125	4.20	9.1	0.003
Frijol <i>Rhizobium</i> (FR)	11.93	0.11	0.19	0.012	8.97	20.7	0.007
Frijol <i>Rhizobium</i> Micorriza(FRM.)	12.17	0.14	0.16	0.138	9.31	11.6	0.005
Frijol micorriza (FM)	16.51	0.09	0.18	0.23	8.27	---	---

+ Contenido a nivel de planta en mg
* Número de nódulos

de este tipo de asociación simbiótica con plantas de interés agrícola e industrial.

En torno al parámetro del contenido de fósforo los resultados obtenidos indican que el fósforo en suelos de baja fertilidad es el nutriente más importante que ésta involucrado, en la respuesta de la asociación micorrizica vesículo-arbuscular y que se localiza en mayor concentración en plantas micorrizadas en relación con plantas no micorrizadas (cuadro 1) como lo reportan estudios de otros investigadores (Gerdemann, 1975). Esto se puede explicar asumiendo que el micelio externo del endófito micorrizico actúa como una malla o red que amplía la relación de la planta con el suelo; así se puede absorber más fósforo y trasladarlo a las raíces, donde es transferido al hospedante micorrizico, aumentando de esta manera el volumen de suelo utilizado, al aumentar también el sistema de absorción de nutrientes por la planta (Baylis, 1959; Gerdemann, 1964).

El contenido de nitrógeno indicó que la acción del inóculo micorrizico también influye en la absorción de nitrógeno, esto podría deberse a un efecto secundario, debido al mejor suministro de fósforo a las raíces de las plantas. La importancia de la acción micorrizica en la nutrición del fósforo por parte de plantas en ambientes precarios, podría compararse a la de *Rhizobium* en la nutrición del nitrógeno.

La presencia de un micelio bien desarrollado, arbusculas en diferentes estadios de desintegración y vesículas bien formadas, indicaron un excelente desarrollo de la micorrización en los tratamientos de FM y FRM, en el FSE se manifestaron estas estructuras pero en menor cantidad y desarrollo, debido probablemente a la poca eficiencia del inóculo nativo del sustrato.

Es preciso mencionar que este es uno de los primeros intentos del estudio de las endomicorrizas en nuestro país y con este trabajo se abre las puertas a una serie de interrogantes a cerca del comportamiento en nuestro medio, de este tipo de asociación simbiótica con plantas de interés agrícola e industrial.

LITERATURA CITADA

- 1- Baylis G. 1959. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of *Grisebinia littoralis* (Cornaceae). *New Phytol.*, 58:274-280.
- 2- Briceño J., Pacheco R., González M. y López C. 1984 Métodos analíticos para el estudio de suelos y plantas. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rit12vp10H
- 3- Clark, F. 1963. Endotrophic mycorrhizal influence yellow poplar seedling growth. *Science, N.Y.*, 140: 1220-1221.
4. Daft, M. y Nicolson, T. 1966. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. *New Phytol*, 65:343-350.
5. Daniels, B. and Skipper, H. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In N.C. Schenck, *Methods and Principales of Mycorrhizal Research*, The American Phytopathological Society. 29-35 pp.
6. Ferguson, J. 1981 Inoculum production and field application of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Ph. D. Dissertation. University of California, Riverside. 117 pp.
7. Furlan, V. and Fortin, J. 1973. Formation of endomycorrhizal by endogone *Calospora* on *Allium cepa* under three temperature regimes. *Naturaliste Canadien*, 100 (5):467-477.
8. Gerdemann, J. 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. *Mycologia*, 56:342-349.
9. _____ 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol*, 6:397-418.
10. _____ 1975. Vesicular- arbuscular mycorrhizae. In the development and function of roots (J.G. Torrey and D.T. Clarkson, eds.) Academic Press London. 575-591 pp.
11. _____ and Nicolson, T. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol.*, 46:235-244.
12. Gray, L.E., and Gerdemann, J. 1967. Influence of versicular-arbuscular mycorrhizas on the uptake of phosphorus-32, by *Liriodendron tulipifera* and *liquidambar styraciflua*. *Nature (London)*, 213:106-107.

13. Hall, I.R. 1976. Response of Coprosma robusta to different forms of endomycorrhizal inoculum. Trans. Br. Mycol. Soc. 67:409-411.
14. Manjunath, A. and Bagyaraj, D. 1981. Components of V.A. mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. New Phytol., 87:355-363.
15. Mosse, B. and Jones, G. 1968. Separation of Endogone spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns. Trans. Br. Mycol. Soc., 51:604-608.
16. Muller, L. 1961. Un aparato micro Kjeldhal simple para análisis rutinarios rápidos de materias vegetales Turrialba, 11:17-25.
17. Phillips, J.M. & Hayman, D.S. 1970 Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55:158-160.
18. Possingham, J. and Groot, J. 1971. Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines. Vitis, 10: 120-130.

ENSAYOS DE INVERNADERO PREVIOS A EXPERIENCIAS DE CAMPO Y
ENSAYOS DE CAMPO PROPIAMENTE DICHOS

por

JOSE-MIGUEL BAREA

Departamento de Microbiología, Estación Experimental
del Zaidín, CSIC, Prof. Albareda, 1,
18008-Granada, España.

RESUMEN

Para llevar a cabo este tipo de ensayos, el primer aspecto a tener en cuenta es que los principios generales descritos en la literatura científica, aunque deben ser bien conocidos y analizados críticamente por los investigadores deben ser matizados en cada caso para adaptarlos a las condiciones experimentales, disponibilidades y objetivos que interesan individualmente. Teniendo presentes dichas premisas en este Laboratorio se han llevado a cabo una serie de estudios en este sentido para lo cual se ha seguido la metodología siguiente:

(1) Ensayos de invernadero

- (a) Estudio del grado de dependencia de la planta a las MVA
- (b) Selección de hongos VA (aislados localmente y de colección) de acuerdo con criterios de compatibilidad y eficacia en el ecosistema suelo-planta estudiado.
- (c) Evaluación de situaciones en las cuales la micorrización es necesaria.

Se discuten algunos ejemplos en los que se utilizaron sistemas leguminosa-Rhizobium y otros en los que se emplearon plantas arbóreas de interés en la región.

(2) Ensayos de campo

Se van a analizar dos tipos de ensayos según que la planta sea:

(a) Leguminosas forrajeras

Dada la dificultad para producir inóculo los ensayos de campo han de ser desarrollados en parcelas de pequeño tamaño que permitan aplicar varios tratamientos manteniendo un número de repeticiones adecuado (unas 5). Estos ensayos en microparcelas tienen un significado apreciable ya que permiten establecer una serie de bases ecofisiológicas de las interacciones de las leguminosas con sus dos tipos de microsimbiontes.

Las conclusiones obtenidas en los diversos ensayos, que van a ser discutidos, pueden ser resumidas como sigue:

- (i) En suelos con un bajo número de propágulos de las MVA la planta ensayada (Medicago sativa) no respondieron a la inoculación con Rhizobium a no ser que se inoculara simultáneamente un hongo VA previamente seleccionado.
- (ii) Los efectos de la inoculación microbiana (Rhizobium+ Glomus mosseae) persisten en cortes sucesivos.
- (iii) La introducción en "nuevos habitats" de una leguminosa (Hedysarum coronarium) se favorece de forma significativa por la inoculación de un doble inóculo (Rhizobium + hongo VA) seleccionados para dicha planta.
- (iv) Utilizando una técnica en la que se emplea ¹⁵N se demuestra que las MVA contribuyen de forma importante a la fijación de N₂ por sistemas Rhizobium-leguminosa.

(b) Plantas arbóreas

Las MVA son ya una biotecnología aplicable al cultivo de estas plantas. En este sentido se analizan los resultados obtenidos en unos ensayos en vivero en los que es posible producir plantas de almendro, naranjo y olivo con micorrización optimizada. Se somete a discusión un esquema metodológico sobre la aplicación práctica de las MVA a estos cultivos.

13. Hall, I.R. 1976. Response of Coprosma robusta to different forms of endomycorrhizal inoculum. Trans. Br. Mycol. Soc. 67:409-411.
14. Manjunath, A. and Bagyaraj, D. 1981. Components of V.A. mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. New Phytol., 87:355-363.
15. Mosse, B. and Jones, G. 1968. Separation of Endogone spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns. Trans. Br. Mycol Soc., 51:604-608.
16. Muller, L. 1961. Un aparato micro Kjeldhal simple para análisis rutinarios rápidos de materias vegetales. Turrialba, 11:17-25.
17. Phillips, J.M. & Hayman, D.S. 1970 Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55:158-160.
18. Possingham, J. and Groot, J. 1971. Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines. Vitis, 10: 120-130.

ENSAYOS DE INVERNADERO PREVIOS A EXPERIENCIAS DE CAMPO Y
ENSAYOS DE CAMPO PROPIAMENTE DICHOS

por

JOSE-MIGUEL BAREA

Departamento de Microbiología, Estación Experimental
del Zaidín, CSIC, Prof. Albareda, 1,
18008-Granada, España.

RESUMEN

Para llevar a cabo este tipo de ensayos, el primer aspecto a tener en cuenta es que los principios generales descritos en la literatura científica, aunque deben ser bien conocidos y analizados críticamente por los investigadores deben ser matizados en cada caso para adaptarlos a las condiciones experimentales, disponibilidades y objetivos que interesan individualmente. Teniendo presentes dichas premisas en este Laboratorio se han llevado a cabo una serie de estudios en este sentido para lo cual se ha seguido la metodología siguiente:

(1) Ensayos de invernadero

- (a) Estudio del grado de dependencia de la planta a las MVA
- (b) Selección de hongos VA (aislados localmente y de colección) de acuerdo con criterios de compatibilidad y eficacia en el ecosistema suelo-planta estudiado.
- (c) Evaluación de situaciones en las cuales la micorrización es necesaria.

Se discuten algunos ejemplos en los que se utilizaron sistemas leguminosa-Rhizobium y otros en los que se emplearon plantas arbóreas de interés en la región.

(2) Ensayos de campo

Se van a analizar dos tipos de ensayos según que la planta sea:

(a) Leguminosas forrajeras

Dada la dificultad para producir inóculo los ensayos de campo han de ser desarrollados en parcelas de pequeño tamaño que permitan aplicar varios tratamientos manteniendo un número de repeticiones adecuado (unas 5). Estos ensayos en microparcels tienen un significado apreciable ya que permiten establecer una serie de bases ecofisiológicas de las interacciones de las leguminosas con sus dos tipos de microsimbiontes.

Las conclusiones obtenidas en los diversos ensayos, que van a ser discutidos, pueden ser resumidas como sigue:

- (i) En suelos con un bajo número de propágulos de las MVA la planta ensayada (Medicago sativa) no respondieron a la inoculación con Rhizobium a no ser que se inoculara simultáneamente un hongo VA previamente seleccionado.
- (ii) Los efectos de la inoculación microbiana (Rhizobium+ Glomus mosseae) persisten en cortes sucesivos.
- (iii) La introducción en "nuevos habitats" de una leguminosa (Hedysarum coronarium) se favorece de forma significativa por la inoculación de un doble inóculo (Rhizobium + hongo VA) seleccionados para dicha planta.
- (iv) Utilizando una técnica en la que se emplea ¹⁵N se demuestra que las MVA contribuyen de forma importante a la fijación de N₂ por sistemas Rhizobium-leguminosa.

(b) Plantas arbóreas

Las MVA son ya una biotecnología aplicable al cultivo de estas plantas. En este sentido se analizan los resultados obtenidos en unos ensayos en vivero en los que es posible producir plantas de almendro, naranjo y olivo con micorrización optimizada. Se somete a discusión un esquema metodológico sobre la aplicación práctica de las MVA a estos cultivos.

Principios y metodología para la producción de inóculo y técnicas de inoculación en el campo de MVA

D.S. Hayman - Lecture 3

The ultimate objective of practical work with VAM is to achieve crop benefits from inoculation under realistic field conditions.

1. Factors, Principles and Techniques in the Production of VAM Inoculum and Inoculation in the Field

(1) Initial planning

(a) Basic principles

(1) The native endophyte population

- both size and innate symbiotic efficiency of the native endophytes are important
- may be useful to manipulate the native endophytes in situ

(2) Soil fertility

- generally the largest benefits from inoculation occur in P-deficient soils. ∴ analyse soil P.
- for best results inoculum will be combined with some added P fertilizer

∴ for inoculum use endophytes adapted to reasonable levels of soil P.

(3) Crop species

- select mycotrophic crops
- many legumes are highly responsive to mycorrhiza
- cultivar differences
- N.B. effects of VAM on seedling establishment

(4) Cultivation practices

- take into account local control measures against pests and diseases
- avoid cross-contamination of field plots
- minimum soil tillage disrupts the native mycorrhiza less than ploughing

(5) Accessibility

- must be able to reach site without great difficulty

(6) Tripartite system

- mycorrhizal symbiosis = 3-way interaction - plant-fungus-soil

(b) Experimental design

- need at least 4 treatments: \pm VAM \pm P
- can test different VAM species and P levels or forms
- calculate minimum plot size and amount of inoculum needed, e.g. 6 m² plots x 4 replicates x 8 treatments would require about 20 kg inoculum at rate of 1 t/ha
- test >1 site and >1 crop if possible.

(ii) Establishment of culture collection

- isolate native endophytes (from wet-sievings, individual spores, infected roots, baiting)
- inoculate onto stock plants → pot cultures
- screen on representative crops and soils
- select best isolates for establishing in culture collection.

(iii) Choice of endophytes for inoculum

- decide on most suitable endophyte(s) for particular conditions, e.g. low soil pH
- try mixed inoculum (2 to 4 endophytes)
- consider incorporating beneficial bacteria in the inoculum.

(iv) Production of inoculum

- produce inoculum in bulk on easily maintained stock plants in suitable soil mix
- raise endophytes separately for mixed inocula
- use stock plants unrelated to test crop (disease problems)

(v) Choice of inoculation methods

- must concentrate inoculum near the seed
- (a) Pre-inoculated transplants
- (b) Seed coating
- (c) Multi-seeded pellets
- (d) Furrow inoculation (Banding?)
- (e) Fluid drilling and slurry inoculation
- (f) Highly infective soil

(vi) Form of inoculum

- (a) Soil (with spores, infected roots and mycelium) from stock plant cultures
- (b) Wet-sievings from stock plant cultures
- (c) Infected roots (e.g. from nutrient film technique, NFT)
- (d) Pure cultures (not yet achieved)
- (e) Inoculum in situ (strongly mycorrhizal pre-crop).

2. Examples of Field Experiments with VAM

(i) In fumigated soils

- mainly in the U.S. A. in soils treated with methyl bromide and chloropicrin
- soybean - inoculation paralleled effect of adding P fertilizer
- citrus - inoculation overcomes stunting of seedlings of certain cultivars (P effect); seedlings can be pre-inoculated in the greenhouse prior to transplanting to the field
- peas - responses to inoculation reported in the field in soil of moderate P fertility.

(ii) In unsterile soils

- benefits from inoculation have been reported for maize, wheat and barley in low P soils with low native endophyte population; however, except for maize, total yields are likely to be well below those obtainable with P fertilizer
- land reclamation schemes - usually involve poor soils with little or no native mycorrhiza

- white clover in temperate upland grasslands responds to VAM inoculation under certain conditions - depends on native endophytes, soil moisture, temperature; pelleted inoculum (multi-seeded pellets) has given good results

- several other examples in the literature, e.g. cassava, lucerne, cowpea

3. Conclusions

- choose the most suitable endophytes on strongly mycotrophic crops in low-P soils as the most likely way of achieving benefits from inoculation. i.e. be selective
- need some input of P fertilizer
- assess relative costs
- inoculum must be in a form which is easy to handle
- assess role of native mycorrhiza, manipulate where appropriate
- timing is important - benefits may be too slow with some annual crops, better with perennials
- fumigated soils are a special case
- care in extrapolation from pot experiments
- probably more impact in tropical than in temperate regions.

ESTRATEGIA NUTRICIONAL DE LOS BOSQUES TROPICALES;

LA ESTERA RADICAL Y LAS MICORRIZAS VA

por

R. A. Herrera, M. E. Rodríguez, M. O. Orozco, R. L. Ferrer, M. Ruiz y E. Furrasola
Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Calzada del Carro No. 1257, Habana 6, Cuba.

RESUMEN

Se realizó una investigación para conocer la influencia de las características estructurales y texturales de dos suelos sobre las biomásas de micelio extramatricio vesículo-arbuscular (MEVA). Ambos suelos, homogeneizados por separado con turba de musgo y arena silicea dieron mezclas con contenidos similares y abundantes de material orgánico. Las mezclas permanecieron durante 7 meses en dos ecosistemas de bosque y un pastizal húmedo de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. Fue examinada la influencia de ambas mezclas sobre las biomásas de raicillas y MEVA, relaciones MEVA:raicilla y cantidades de material orgánico descompuesto durante el período experimental. Se concluye que no sólo la materia orgánica, sino también las cantidades de raicillas presentes en el ecosistema, los factores climáticos, edáficos, así como otros factores pueden influir, directa o indirectamente, sobre las biomásas de MEVA. Se proponen algunas hipótesis acerca de las tasas de renovación características para el MEVA en cada formación vegetal.

ABSTRACT

An investigation was performed in order to know the influence of two soils with different textural and structural characteristics on the VA extramatricial mycelial (MEVA) biomasses. Both soils, separately homogenized with peat moss and coarse sand gave mixtures with similar and abundant organic material. The mixtures rested during 7 months in two forests and one humid grassland ecosystem at the Biosphere Reserve Sierra del Rosario. The influence of both mixtures on the fine root and MEVA biomasses, MEVA: fine root rates and decomposed quantities of organic material during the experimental time was examined. That not only the organic matter influence, but of fine roots quantities, as well as climatic and edaphic factors among others might be of main importance determining directly or indirectly the VA mycelial biomass is concluded. Several hypothesis about the VA mycelium turnover rates at each plant formation are proposed.

INTRODUCCION

La hipótesis de Went y Stark (1968) acerca del ciclo de nutrientes en los bosques tropicales parece haber ganado muchos seguidores en los últimos años, sobre todo (teniendo en cuenta las investigaciones que se realizan) en el campo de la Ecología de los bosques tropicales. La hipótesis en cuestión plantea que los nutrientes son liberados a partir de la hojarasca por los hongos micorrizógenos y transferidos directamente a través de las hifas hasta las raicillas vivas de los árboles. Tal hipótesis en su forma original elimina prácticamente la posibilidad de que los nutrientes liberados por la descomposición microbiana sean tomados por las hifas de los hongos VA para su traslado a las raicillas (Stark, 1970), lo cual, según la autora podría ocurrir sólo en las áreas de sabanas arenosas con vegetación más rala donde el ambiente excluye a las especies vegetales formadoras de micorrizas superficiales (estera radical). La hipótesis de Went y Stark (1968) parte del criterio de que los hongos VA son capaces de digerir la celulosa. De acuerdo con el trabajo de Stark (1970) las especies vegetales se agruparían formando bosques cuando las condiciones ambientales permiten el crecimiento de aquellas con raicillas micorrízicas dependientes de la hojarasca, o formando una vegetación rala en sabanas arenosas nutricionalmente pobres y con poco contenido de materia orgánica cuando las condiciones no permiten el crecimiento de tales especies, y por la ausencia de hojarasca, las micorrizas no pueden desarrollarse bien.

La conexión completa hoja-hongo VA-raicilla fue demostrada por Herrera et al. (1978 a). El experimento demostró con una alta seguridad, que el fósforo fue transferido directamente desde la hoja, a través de la hifa, hasta la raicilla micorrízica, aunque la evidencia fue circunstancial ya que las bacterias no fueron eliminadas del experimento (Golley, 1983). El mecanismo, por lo tanto no descarta la existencia de una hifafera como intermediaria entre la hoja y la hifa, en la cual los microorganismos celulolíticos, solubilizadores de fósforo, etc., podrían estar implicados (Orozco et al., 1984).

Los últimos trabajos acerca de los ciclos de nutrientes en los bosques de América Tropical señalan que los dos mecanismos de conservación nutricional más relevantes en éstas formaciones cuando son oligotróficas, están constituidos: 1) por la presencia de una estera radical (capas de fermentación y humus con presencia de abundantes raíces finas en la forma de un colchón sobre el suelo mineral en el piso del bosque) y 2) por la presencia de micorrizas VA que se responsabilizan en esta capa con el transporte de los productos de la descomposición orgánica, además de realizar otras funciones (Herrera et al., 1978 b). ¿Cómo sería entonces el papel de las micorrizas VA en los bosques más ricos en nutrientes, donde la estera radical es muy fina o ausente, o en las sabanas y pastizales del trópico típicamente pobres nutricionalmente, donde Stark (1970) reporta un papel poco relevante para las mi-

corrizas?

Los trabajos de St. John et al. (1983 a y b) reportan que tanto las raicillas como las hifas VA responden ante micrositios ricos en nutrientes de los bosques tropicales, con un aumento extraordinario en sus biomásas correspondientes. Los micrositios de la estera radical son influidos directamente por las cantidades de materia orgánica y su descomposición, debido a lo cual el efecto de este componente del suelo, así como los procesos que dirigen a ambos órganos de absorción (raicillas o hifas) a su explotación, han sido referidos como los causantes de la formación de la estera (Sr. John, 1983).

Herrera et al. (1985 a), sin embargo, responsabilizan principalmente al grado de esclerofilia del ecosistema con este fenómeno, de modo que la estera radical parece presentarse en aquellos sitios donde la esclerofilia es alta, las hojas demoran más en descomponerse y por tanto tienen la posibilidad de acumularse sobre el piso del bosque, y se presenta con muy poco grosor o está ausente, en aquellos sitios donde la esclerofilia es baja, las hojas se descomponen muy rápidamente y por tanto no pueden acumularse.

Por otra parte, también ha sido demostrado que no tanto las raicillas como sus pelos radicales y el micelio VA parecen ser los órganos que responden con aumentos grandes de sus biomásas a los incrementos de nutrientes liberados durante la descomposición (Herrera et al., 1985 b) en tanto que los niveles de materia orgánica parecen influir notablemente sobre las biomásas de MEVA (Mosse et al., 1981; Mosse, 1982; Gianninazzi-Pearson y Diem, 1982; St. John et al., 1983 a y b; Herrera et al., 1985 b).

Los reportes de Stark (1970) y sus hipótesis acerca de la falta de condiciones en las sabanas arenosas de Surinam para el crecimiento de especies de plantas micorrizo-dependientes, formadoras de hojarasca, y donde las micorrizas VA no prosperan, implicarían la existencia en tales ecosistemas, pobres en nutrientes y materia orgánica, de biomásas de MEVA muy pequeñas. Sin embargo, en las dunas arenosas de Escocia, ecosistemas típicamente pobres a nivel mundial, fueron reportadas (aunque sobrevaloradas) cantidades considerables de MEVA (Nicolson y Johnston, 1979) y en Cuba, las mayores biomásas, a nivel de ecosistema, fueron observadas en un pastizal húmedo pobre en comparación con dos formaciones boscosas con y sin estera radical de la Sierra del Rosario (Herrera et al., 1985c).

Tales resultados sugieren que no sólo la materia orgánica influye sobre las biomásas de MEVA, y que al parecer es necesario revisar los criterios de Stark (1970) en cuanto a la existencia de hongos micorrizógenos VA afines a la descomposición de la hojarasca y presentes sólo en los sitios donde esta se presenta, Además, P.B. Tinker (1975) encontró una fuerte correlación entre las cantidades de raicillas infecta-

das con hongos VA y las cantidades de MEVA. También se ha reportado que el desarrollo del MEVA está influido por las condiciones del suelo y en particular por la aereación (Mosse, 1982) y por las concentraciones de elementos nutritivos (Mosse y Thompson, 1984).

El presente trabajo intenta reorganizar los resultados obtenidos por algunos autores sobre la base de otros experimentos realizados en Cuba y reportados por separado (Herrera et al., 1985 a, b, c, e; Orozco et al., 1985) además de un nuevo experimento realizado en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo de la Sierra del Rosario para conocer la influencia de las características texturales, estructurales y químicas de dos suelos, además de otros factores, sobre las biomásas de MEVA.

MATERIALES Y METODOS

El experimento fue realizado en dos formaciones boscosas denominadas Vallecito y Majagual situadas a 400 msnm en la loma El Salón al Sur de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. El otro ecosistema seleccionado fue un pastizal húmedo situado al Este de la propia Reserva, aproximadamente a 10 km de los otros. En Vallecito predomina la asociación Mataybaeo-Pseudolmedietum spurseae compuesta principalmente por Pseudolmedia spuria (Sw.) Griseb., Oxandra lanceolata (Sw.) Baill., Matayba apetala (Maof.) Radlk., Trophis racemosa (L.) Urb., y Alchornea latifolia Sw. (Capote et al., 1983). En Majagual predomina (más del 80% de los árboles) la especie Hibiscus elatus Sw. El piso del bosque está constituido en Majagual y Vallecito respectivamente, por las Fases III y IV de la estera radical (Herrera et al., 1985 a). El pastizal húmedo está constituido principalmente por Axonopus compressus (Sw.) Beauv., Paspalum conjugatum Berg., Desmodium triflorum (L.) D.C. y otras especies.

El clima de los tres sitios estudiados es aproximadamente el mismo. En general llueve durante todo el año, pero la época de menor pluviosidad va de diciembre a marzo. El clima ha sido clasificado como Euthermoxérico (Vilamajó, 1985), con una precipitación media anual de 2011 mm y una temperatura media anual de 24,4°C. Los suelos en las dos formaciones boscosas son del mismo tipo, arcillas loamosas con un alto contenido de arena de cuarzo, y han sido clasificadas como Pardos fersialíticos (Hernández y Menéndez, 1985). En el Pastizal el suelo es un loam arenoso pardo amarillento del tipo Guane (Bennett y Allison, 1928).

Características de los suelos y mezclas utilizadas en el experimento. Para examinar la influencia de la textura y estructura del suelo, además de otros resultados, fueron seleccionados dos suelos, uno arcilloso rojo y otro loam arenoso pardo amarillento, cuyos promedios en contenidos de arena,

arcillas y limo fueron similares a los del suelo presente en Vallecito y Majagual (Tabla 1). El suelo rojo, colectado en San Antonio de los Baños, La Habana, perteneció a la Serie Perico, y el pardo amarillento, colectado a 13 km de Guane, Pinar del Río, fue clasificado como perteneciente a la Serie Guane, en ambos casos según la clasificación de Bennett y Allison (1928). Ambos suelos presentaron características bien diferentes en cuanto a capacidades de retención máxima de agua (C_{max}), porosidad (P), densidades aparentes (d), densidades reales (D_r), textura y estructura (Tabla 1). El análisis granulométrico en seco produjo en el suelo rojo un 97,9% de gránulos duros de 0,2 a 5,0 mm de diámetro; en el amarillo, sin embargo, este tamaño de gránulos representó sólo el 41,8%.

Para el experimento fueron preparadas dos mezclas con suelo rojo (MR) o amarillo (MA). En ambos casos los suelos fueron tamizados por 5 mm y mezclados con turba de musgo tamizada por 5 mm y arena silíceo pura (partículas de 0,5 a 2,0 mm). Las proporciones utilizadas en ambos casos fueron suelo:turba:arena, 2:1:1, V/V, equivalentes a 133,15 o 169,88 g de suelo rojo o amarillo respectivamente, 110,45 g de arena y 10,12 g de turba considerando el volumen de una barrena de 5 cm de diámetro interno y 15 cm de profundidad (294,55 cm³). La Tabla 2 resume las características físicas de las mezclas y los contenidos de material orgánico a descomponer (partículas mayores de 0,040 mm) considerando además de la turba las partículas propias de cada suelo. La Tabla 3 resume las características químicas de los dos suelos utilizados y la turba al inicio del experimento.

Descripción del experimento. En cada uno de los ecosistemas seleccionados, Vallecito (Va), Majagual (Ma) y el Pastizal (Pa) fueron escogidos tres sitios separados entre sí 10 m y previamente usados para otros experimentos (Herrera et al., 1985). En cada sitio-replica fueron abiertos dos huecos, separados entre sí 1 m, con una barrena de 5 cm de diámetro interno y hasta 15 cm de profundidad y llenados con las mezclas MA o MR. Después de colocadas cada mezcla fue regada con 250 ml de agua. El experimento fue montado el 27 de diciembre de 1984 y colectado el 22 de julio de 1985, aproximadamente a los 7 meses con la misma barrena.

Después de colectadas las muestras en cada ecosistema fueron transportadas al laboratorio y analizadas inmediatamente. Fueron analizadas las biomasa de raicillas (menores de 1 mm de grosor), de micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA), cantidades de MEVA por peso de raicilla, el material orgánico descompuesto durante el experimento y el pH de las muestras al ser colectadas.

Las biomasa de MEVA fueron determinadas por el método de Herrera et al. (1985) utilizando dos alícuotas de tamizado para calcular la biomasa de hongo en cada una de las 18 muestras estudiadas (2 mezclas x 3 replicas x 3 áreas). Parte

Tabla 1. Características texturales y estructurales de los suelos relacionados en este trabajo

Indicador	Vallecito y Majagual	Pastizal	San Antonio (suelo R)	Macurijes (suelo A)	Perfil 1 (a)	Perfil 13 (a)
Textura	Ar					
ra	41,3	71,0	18,6	73,0	23,5	76,9
l	45,7	13,5	72,4	10,0	70,0	10,7
L	13,0	15,5	9,0	17,0	6,5	12,4
L/A	0,28	1,15	0,12	1,70	0,09	1,16
D_r (g.cm ⁻³)	n.d.	n.d.	2,91	2,77	2,66	2,60
d (g.cm ⁻³)	b	1,44	0,95	1,33	1,01	1,43
P (%)	n.d.	n.d.	67,5	52,0	60,0	45,0
Gran (%)	b	b	68,6	31,8	62,4	31,5
Textura	Arcilla loam mosa	Loam arenoso	Arcilloso	Loam arenoso	Arcilloso	Loam arenoso
Estructura	Prismática	Sin estructura	Esferoidal o granosa	Sin estructura	---	---
Clasificación	Pardo ferruginoso	Guane	Perico	Guane	Perico	Guane

a, Perfiles descritos en Klimes et al. (1980); b, descritos en las Tablas 4 o 5; n.d., no determinado; o, de acuerdo con la clasificación genética del ISACC (Hernández y Hernández, 1985).

Tabla 2. Características físicas y contenidos de material orgánico en las mezclas utilizadas

INDICADORES	MEZCLA ROJA	MEZCLA AMARILLA
D _r (g.cm ⁻³)	2,44	2,42
d (g.cm ⁻³)	0,90	1,03
P (%)	63,2	57,5
C _{max} (%)	73,7	48,5
Drenaje después de 15 horas de saturación (ml.min ⁻¹)	0,97	0,41
pH a las 15 horas de saturación (en agua)	5,7	5,6
Contenido de partículas mayores de 0,040mm (g)	11,37	10,68

de los tamizados entre 0,040 y 0,250 mm fueron sometidos a ignición a 525° para conocer la cantidad de turba no descompuesta en esta fracción, y una vez restada de ésta la cantidad total de MEVA, y sumada a la turba no descompuesta en la fracción mayor de 0,250 mm pudieron obtenerse las cantidades de material orgánico descompuesto en cada caso. El pH final de las 18 muestras fue medido en fresco manteniendo las proporciones de suelo y agua a soln. de KCl 1N establecidas (1:2,5).

Para la determinación de los tanto por ciento de humedad (base seca) y su dinámica en los tres ecosistemas fueron colectadas periódicamente muestras de suelo separadas en Va y Ma de 0-3 cm (estera radical o capa orgánica respectivamente) y 3-7 cm (primeros 5 cm de suelo mineral; y en el pastizal, de 0-5 y 5-10 cm. También fueron determinadas las capacidades máximas de retención de agua en las capas estudiadas. De cada réplica fueron colectadas siempre 3 muestras. También fueron tomados los datos de precipitación mensual durante el experimento.

Otros resultados incluidos en el presente trabajo. Fueron utilizados en el trabajo los resultados acerca de las características físico-químicas y su distribución vertical en los suelos de los tres ecosistemas reportadas por separado (Hernández *et al.*, 1985). También se incluye el análisis de la distribución vertical de las raíces (Herrera *et al.*, 1985 e) en los tres ecosistemas.

Tabla 3. Características químicas de los dos suelos y la turba utilizados para las mezclas

Suelo	pH	Materia orgánica (%)	% N tot.	P ppm	% P tot.	Cationes intercambiables (mmol)						
						K	Ca	Mg	Na	Suma		
A	5,9	5,4	0,65	2,30	0,33	0,14	8,0	320,0	100,0	300,0	90,0	50,0
R	7,2	6,9	2,81	10,81	0,94	0,24	8,0	1440,0	125,0	4000,0	600,0	75,0
T	3,6	2,5	51,60	97,48	---	0,84	89,8	2880,0	175,0	160,0	160,0	150,0

A, suelo amarillo; R, suelo rojo; T, turba; a, digestión con bicloruro de potasio en solución gelida; b, digestión a 525°C; o, partículas orgánicas mayores de 0,040mm.

Para el análisis estadístico de los resultados fueron utilizados los análisis de varianza y Test de Rangos Múltiples de Duncan en cada caso. Los datos correspondientes a las biomásas de MEVA (x) fueron transformados a $x' = \log(x + 1)$ para su normalización. También fueron empleados los análisis de regresión para conocer cuando fue necesario los coeficientes de correlación (r).

Para el cálculo de las tasas de renovación (turnover) del MEVA, fueron empleados los valores de biomásas máximo y mínimo en cada caso. Las tasas de renovación Tr fueron calculadas por la fórmula utilizada por Singh y Singh (1981) para calcular la Tr de raíces que establece que:

$$Tr = \frac{X_{max} - X_{min}}{X}$$

Los valores de Tr fueron calculados partiendo de los datos reportados por Nicolson y Johnston (1979) considerando que la sobrevaloración en sus resultados fue igual para todos los casos; también fueron calculados para los resultados obtenidos en Cuba utilizando como mínimos las biomásas de MEVA reportadas para el mes de enero (Herrera et al., 1985 c), mes de menor pluviosidad, y como máximo las biomásas de MEVA correspondientes a la mezcla amarilla en el presente experimento, sobre la base de que en este sustrato hubo una mayor actividad microbiana y similitud con los suelos de cada ecosistema (ver resultados). También, partiendo de los valores de Tr, fueron calculados los de D₅₀ (tiempo que tarda en descomponerse el 50% de la biomasa de MEVA) utilizando para ello la fórmula de Olson (1963):

$$D_{50} = \frac{\ln 0,5}{Tr}$$

RESULTADOS Y DISCUSION

Los nutrientes y las raíces en los tres ecosistemas.

La mezcla con suelo rojo utilizada, MR (Tabla 2) presentó por sus características de textura una estructura mejor con mayor porosidad que posibilitó al parecer una mayor aereación de las muestras colocadas en el campo, lo cual se demostró porque a pesar de tener una C_{max} mayor, dejó fluir el agua con una mayor velocidad después de la saturación completa. Estas características del suelo Perico (Tabla 1) presentes también en la MR (Tabla 2), han hecho afirmar a varios autores que tal suelo constituye por su estructura y textura uno de los mejores del país (Klimes et al., 1980). En cuanto a la mezcla amarilla, MA, la porosidad fue menor debido al contenido de arena considerablemente mayor que en el suelo rojo. En este suelo, por lo tanto se dan características agrícolas menos satisfactorias que en el rojo, y en el caso de su mezcla (MA) el agua fluyó después de la saturación a una velocidad menor que en la MR.

El bajo pH de la turba utilizada (Tabla 3) no pareció influir mucho sobre el de las mezclas, pues a las 15 horas de saturación ya se había elevado en ambas a valores cercanos a 6,0. La poca influencia del pH de la turba sobre las mezclas quizás

pudo deberse a sus bajos contenidos de cationes y a su estado poco descompuesto (Tabla 2). La turba utilizada tuvo menos del 2% en contenido de partículas menores de 0,040mm. Las características químicas y físicas de este material permitieron al parecer una adaptación fácil a las características de los suelos utilizados en cada mezcla. Los contenidos iniciales de materia orgánica, fósforo total, calcio y magnesio, y los valores de pH en los dos suelos mostraron diferencias (Tabla 3), pero los contenidos totales de material orgánico a descomponer (partículas mayores de 0,040 mm) fueron en ambas mezclas similares (Tabla 2).

La Tabla 4 muestra las características físico-químicas de los suelos en las tres áreas estudiadas (Vallequito, Majagual y Pastizal, Va, Ma y Pa respectivamente). Como se observa, el suelo más pobre desde todos los puntos de vista fue el del Pa. Así como los pH de las distintas capas de suelo fueron menores de 6,0, los contenidos de materia orgánica (determinados por ignición) fueron bajos, al igual que los de todos los nutrientes examinados. Para este suelo se demuestra en la Tabla 4 que las concentraciones de nutrientes y materia orgánica son sólo ligeramente mayores en la capa superficial (0-5 cm).

Tabla 4. Características físico-químicas de los suelos en Va, Ma y Pa y sus variaciones verticales.

CAPA	pH		%	%	PPM			(d)	
	H ₂ O	KCl			P	K	Ca		Mg
VALLECITO									
0-3	6,03	5,70	33,8	1,12	32,3	276,3	11166,7	880,0	0,50
3-5	5,43	5,00	14,4	0,40	10,8	104,0	5116,7	410,0	0,82
5-10	5,50	5,00	9,1	0,24	6,0	81,3	4500,0	220,0	1,01
10-15	5,67	5,16	8,2	0,21	6,2	78,0	4533,0	160,1	1,16
15-20	6,33	6,20	8,4	0,21	6,0	78,0	5050,0	150,0	1,20
MAJAGUAL									
0-3	7,17	6,77	26,3	1,11	36,3	286,3	14016,7	1140,0	0,99
3-5	6,70	6,37	15,9	0,49	11,0	97,5	7283,3	360,0	1,09
5-10	6,43	6,07	10,3	0,29	6,3	78,0	5350,0	270,0	1,03
10-15	6,33	5,93	7,8	0,23	5,8	78,0	4833,0	150,0	1,35
15-20	6,20	5,77	7,5	0,17	5,5	78,0	4583,0	150,0	1,27
PASTIZAL									
0-5	5,63	4,50	5,4	0,16	9,3	181,3	1153,3	546,7	1,30
5-10	5,35	4,12	3,4	0,16	3,5	78,7	800,0	600,0	1,44
10-15	5,52	4,17	2,6	0,08	2,8	52,6	733,3	280,0	1,59
15-20	5,48	4,05	3,5	0,08	3,7	40,3	1033,3	400,0	1,49

M.O., materia orgánica determinada por pérdida por ignición; N, nitrógeno total determinado por destilación; P, fósforo asimilable determinado por extracción con fluoruro de amonio; K, Ca y Mg, cationes intercambiables; d, densidad aparente.

Los contenidos nutrimentales de los suelos en Va y Ma fueron, sin embargo, muy superiores a los del Pastizal tanto en la capa más superficial como en las subyacentes. En espe-

cial en la estera radical de Va o capa orgánica en Ma (0-3 cm) y en las capas subyacentes de 3 a 5 cm de suelo mineral para ambos sitios, las concentraciones de nutrientes y materia orgánica fueron bastante mayores.

En cuanto a las densidades aparentes en los suelos de las tres áreas se observa una tendencia a disminuir hacia la superficie probablemente debido al aumento en los contenidos de materia orgánica. Los valores d más altos en el suelo de Ma hacen pensar que allí los contenidos de arcillas (no determinados) son ligeramente mayores que en Va. El suelo del Pa mostró la densidad más alta en todo el perfil, como es característico para un suelo loam arenoso.

La Tabla 5 muestra las variaciones de precipitación y porcentajes de humedad en los tres ecosistemas durante el período experimental. En Va, se ha observado que la hojarasca, con una mayor producción en los meses de menor pluviosidad forma una capa que sirve de cubierta para el suelo e impide que con valores altos de precipitación mensual el agua pase libremente al suelo mineral, al menos durante los primeros meses lluviosos (abril a julio). Efectos parecidos han sido considerados como uno de los mecanismos de conservación de nutrientes en los bosques tropicales (Herrera *et al.*, 1978 b). En el Ma, sin embargo, la hojarasca, aunque también más abundante en los meses menos lluviosos (diciembre a marzo) no produce este efecto, en primer lugar, porque las hojas, de mayor tamaño se ordenan espacialmente en forma diferente y no permiten que el agua pase de una hoja a la otra, y en segundo lugar porque la descomposición es más rápida debido la esclerofilia menor del ecosistema (Herrera *et al.*, 1985 a), por lo cual, probablemente desde abril, aumentó considerablemente el nivel de humedad en el suelo mineral con respecto a los meses anteriores.

Tabla 5. Dinámica de los contenidos de agua (base seca) de 0-3 cm (estera radical en Va o capa orgánica en Ma) y de 3-7 cm (suelo mineral) en Va y Ma, y de 0-5 y 5-10 en Pa de diciembre de 1984 a julio de 1985. Los datos son media de tres réplicas colectadas siempre al final de cada mes.

CAPA	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	Capacidad máxima de retención
VALLECITO									
0-3	40,8	50,8	41,2	33,0	---	53,7	---	65,3	159,3
3-7	25,2	31,8	25,7	21,2	---	23,6	---	30,6	62,0
MAJAGUAL									
0-3	30,3	44,9	36,5	31,9	---	99,6	---	81,4	111,7
3-7	26,1	32,0	27,9	23,8	---	54,8	---	42,5	66,0
PASTIZAL									
0-5	14,1	24,0	16,3	---	---	---	---	---	(0-10)2,0
5-10	13,4	21,3	18,5	---	---	---	---	---	
mm de lluvia	5	72	27	5	208	162	121	146	

Datos en %; ---, no determinado.

En Pa, aunque sólo pudieron ser colectados los datos de humedad correspondientes a los meses menos lluviosos, y aunque la capacidad máxima de retención de agua es allí menor que en Va o Ma, la ausencia de una capa de hojarasca y las características loamo-arenosas del suelo permitieron probablemente durante los meses de abril a julio niveles de humedad también inferiores a los de los dos bosques. Si se observan las precipitaciones mensuales y los niveles de humedad para este suelo en la Tabla 5, parece evidente que las primeras determinan más directamente a los segundos en los meses de diciembre a febrero, de modo que de acuerdo con las precipitaciones caídas los valores pudieron estar cercanos al 32% (C max del suelo de Pa) a partir de abril.

La Tabla 6 muestra la variación vertical de las biomásas de raíces en los tres ecosistemas. Aunque en la tabla (datos de septiembre de 1984) de 0 a 25 cm Ma presenta una biomasa ligeramente mayor de raíces con respecto a Va, se ha demostrado (Herrera *et al.*, 1985 e) que en realidad durante el año Va presentó biomásas mucho mayores (por ejemplo en junio de 1984 fue de 318 g.m⁻²). Las biomásas medias anuales en ambos ecosistemas de bosque fueron para Va y Ma respectivamente 230,7 y 149,6 g.m⁻² (Herrera *et al.*, 1985 e).

Tabla 6. Distribución vertical de las raíces (mayores de 1 mm de grosor), raíces (menores de 1 mm de grosor) y porcentajes de raíces con respecto al total de raíces en cada capa (%A) o al total de raíces de 0 a 25 cm (%B) en Va, Ma y Pa, en septiembre de 1984.

CAPA	g.m ⁻²		%A	%B
	RAICES	RAICILLAS		
VALLECITO				
0-3	168(49)	93(14)a	35,7	45,6
3-5	98(42)	38(19)b	27,9	18,6
5-10	40(17)	25(9)b	38,6	12,3
10-15	156(63)	20(5)b	11,4	9,8
15-20	55(31)	13(3)b	18,9	6,4
20-25	149(94)	15(5)b	8,9	7,3
MAJAGUAL				
0-3	118(67)	50(13)ab	29,7	23,4
3-5	142(92)	60(9)a	29,8	28,0
5-10	89(63)	40(6)abc	30,5	18,7
10-15	19(9)	34(9)bc	64,3	15,9
15-20	49(25)	20(2)cd	28,8	9,3
20-25	25(14)	10(1)d	28,8	4,7
PASTIZAL				
0-5	94(14)	352(41)a	78,9	53,1
5-10	40(8)	154(33)b	79,6	23,2
10-15	19(7)	50(7)c	72,0	7,5
15-20	9(3)	52(11)c	85,2	7,8
20-25	10(3)	55(12)c	84,9	8,3

Datos en media y (error estándar). Medias con igual letra no difieren para p menor de 0,05.

Como se observa en la Tabla 6 la biomasa de raicillas en la estera radical de Va (0-3 cm) fue significativamente mayor que en las capas subyacentes. En la estera también fueron mayores las proporciones de raicillas con respecto a las raíces de esta capa (%A) y sus porcentajes con respecto al total de raicillas de 0 a 25 cm (%B). En Ma, sin embargo, las raicillas se distribuyen más uniformemente, no existiendo diferencias significativas entre las biomásas presentes de 0 a 10 cm. En este bosque (Ma) una cantidad relativamente mayor de raicillas se presenta en la capa de 3-5 cm (28% del total), bajo la capa rica en materia orgánica (0-3 cm); tal resultado ha sido atribuido a la mayor velocidad de descomposición de las raicillas en la capa superficial de 0-3 cm (Rodríguez, et al., 1985). Las proporciones de raicillas en cada capa con respecto al total de raíces en ella fueron mayores y mejor distribuidas verticalmente en Ma (Tabla 6 valores %A), y parece evidente que la distribución de las raicillas con respecto al total en el perfil varió poco de 0 a 15 cm.

En el Pa, con una biomasa compuesta en un 80% por raicillas se nota que éstas se agrupan en cantidades significativamente mayores en los primeros 10 cm de suelo. La proporción de las raicillas es alta en cada capa, y con respecto al total de raicillas del perfil existe un porcentaje mayor de 0 a 10 cm (53,1% de 0-5 cm). Debe aclararse que debido a las dimensiones del monolito utilizado para las colectas (10 x 10 cm), en el pastizal pueden considerarse las proporciones de raicillas como reales, pero en los dos bosques, donde la técnica elimina la posibilidad de coleccionar raíces mayores de 1 cm, debe tenerse en cuenta que en realidad las raicillas representan menos del 5 % del total de raíces del ecosistema (Herrera, 1985a).

La distribución de las raicillas en los tres ecosistemas parece sugerir estrategias de absorción de los nutrientes distintas. En Va, la concentración alta de raicillas en la estera radical (0-3 cm) parece responder a la mayor eficiencia de estas y el MEVA asociado para absorber los nutrientes liberados en la descomposición de la hojarasca, que siendo más lenta, al parecer por un mayor grado de esclerofilia, se acumula en mayor proporción que en Ma. En este último (Ma), la distribución más uniforme de las raicillas en el perfil, coincidiendo con una descomposición más rápida de la hojarasca (con un grado de esclerofilia menor), que no se acumula en tanta cantidad y no presenta la formación de una estera radical bien definida (Fase III en Herrera et al., 1985 a) parece responder a una mayor liberación de los nutrientes que se lixivian a través del suelo mineral y son de allí tomados por las raicillas (Herrera et al., 1985 a y e).

En el caso del Pa nos encontramos que como es típico para estos ecosistemas, la mayor concentración y renovación de la biomasa total de raíces y raicillas está concentrada en los 10 cm superiores. En particular, de 0 a 5 cm está contenido el 53% del total de raicillas en el perfil, que además representan el 79% del total de raíces en esa capa. La proporción de raicillas y su distribución asemejan el Pa a Va. La mayor con-

centración de nutrientes de 0 a 10 cm, y en especial de N, K, Ca, y además de M.O., en este suelo "relativamente pobre" (ver Tabla 4) denotan que la mayor actividad de absorción tiene que realizarse a este nivel. En este sentido Va y Pa tienen en común una distribución semejante de raíces concentrada en las capas superiores del suelo.

A pesar de que la distribución de los nutrientes en los tres ecosistemas (Tabla 4) fue parecida, los resultados obtenidos hacen pensar que en Va, tanto la cubierta de hojarasca como la concentración de raicillas y MEVA en la estera radical disminuyen la lixiviación de los nutrientes, lo que no ocurre en Ma, donde parte de los nutrientes pueden ser lixiviados hacia las capas más profundas motivando la distribución más homogénea de las raicillas (Tabla 6). Las características de la biomasa aérea en el Pa, compuesta por gramíneas ricas en contenidos de agua, hacen pensar que allí al igual que en Ma, la descomposición procede rápidamente y por lo tanto, los nutrientes tienen mayor probabilidad de lixivarse. La velocidad de descomposición de las raicillas durante 5 meses fue decreciente en el orden Pa - Ma > Va (Rodríguez, et al., 1985), lo cual constituye una evidencia para generalizar los datos acerca de la descomposición microbiana en los tres ecosistemas.

Biomásas de MEVA y descomposición de la turba.

La Tabla 7 muestra las biomásas de raicillas, MEVA, cantidad de MEVA por peso de raicilla, turba descompuesta y pH final correspondientes a las mezclas con suelo amarillo o rojo (MA y MR) en los tres ecosistemas estudiados. Como se observa, las diferencias texturales y estructurales de las mezclas utilizadas no produjeron diferencias significativas en las biomásas de raicillas producidas durante el período experimental, considerando cada ecosistema por separado. No obstante esto, las cantidades resultantes fueron ligeramente mayores en la mezcla de suelo rojo en Va y Pa. Al comparar los tres ecosistemas se observa que las biomásas de raicillas fueron mayores en Pa, significativamente menores en Ma, e intermedias en Va, aunque no hubo diferencias significativas entre Va y Ma. Tal resultado concuerda con los referidos anteriormente con respecto a las biomásas características en cada formación.

La biomasa de MEVA en ambas mezclas fue similar en Va. En Ma fue significativamente menor en la MR, y en Pa, significativamente mayor en la MR (Tabla 7). En Pa, durante los meses menos lluviosos de diciembre a marzo, la mayor C max de la MR con relación a la MA debió ser para el MEVA una fuente adicional de humedad. Durante todo el período de estudio, por otra parte, el contenido de nutrientes, mayor en el suelo rojo pudo influir también sobre la producción de MEVA en este suelo (Mosse y Thompson, 1984).

En Va, pudieron presentarse condiciones similares al Pa (Tabla 7) y ya vimos su semejanza en cuanto a estrategia de distribución de las raicillas. Allí, la biomasa de MEVA en la MR fue mayor que en la MA, aunque no significativamente. Aunque no se observaron diferencias significativas entre las biomásas de raicillas de ambos ecosistemas (Va y Pa) en el expe-

TRATAM.	Raicillas		MEVA		MEVA:Raicilla		Turba descompuesta (f)		PH H ₂ O
	g.dm ⁻³ (a)	mg.dm ⁻³ (b)*	μg.mg ⁻¹	Por Mezcla	Por Mezcla	Por sitio	Por sitio		
Va-MA	2,80(0,21)bo	46,4(3,7)b	16,6(0,6)b	4,93(1,23)bd	46,2	3,38(0,80)b	30,7	5,8	
Va-MR	2,95(0,66)bo	57,6(12,9)b	20,8(9,2)ab	2,50(0,73)f	22,0			7,0	
Ma-MA	2,42(0,33)co	40,4(4,3)b	16,8(1,0)b	5,65(0,84)b	52,9	4,99(0,54)a	45,3	6,0	
Ma-MR	2,23(0,29)co	26,2(4,9)ob	12,0(3,6)b	4,32(0,90)ode	38,0			7,1	
Pa-MA	4,07(1,48)ab	59,6(20,5)b	14,7(3,1)b	6,91(0,84)a	64,7	5,45(0,51)a	49,4	6,0	
Pa-MR	4,83(0,62)a	135,7(22,2)a	28,1(2,3)a	3,98(0,36)de	35,0			6,7	
ES	0,42	7,3	2,7	0,35				0,37	

Los datos se dan en media y (desviación estándar). Las medias con igual letra dentro de cada columna (indicador) no son diferentes significativamente para p menor de 0,05. ES: error estándar obtenido por el test de Duncan. Va, Ma y Pa, Vallecito, Magdalena y Pastil-sal respectivamente; MA y MR, mezclas amarilla y roja respectivamente. Para convertir los datos a g.m⁻² dividir por 6,67 (a y b) y además multiplicar por 1000 en g. *, datos x transformados a x' = log (x + 1).

rimento para las MA, la producción de raicillas típicamente menor en Va que en Pa, pudo influir sobre las cantidades de MEVA menores en las MA y MR del primero que en las correspondientes de Pa (Tabla 7). Debe tenerse en cuenta, por lo tanto, que en ambos ecosistemas la mezcla MR tuvo una influencia adicional sobre las biomásas de raicillas y de MEVA, ligeramente mayores que en las MA en Va y significativamente mayores en Pa, por lo que cabe pensar que en las MR las características físicas y químicas pudieron influir notablemente.

Las MA se caracterizaron probablemente por una mayor adaptación a las características del suelo circundante. Los bajos valores de pH y las características físicas (bajo contenido de arcillas), unidos a los bajos contenidos de Ca y Mg, que probablemente ocasionaron bajas capacidades de cambio básico, hicieron que este suelo dependiera más de las características del medio exterior donde fue colocado. Probablemente debido a esto, las biomásas de MEVA en las MA de los tres ecosistemas no difirieron significativamente aunque sí fueron diferentes en las MR. En Ma, la biomasa de MEVA fue significativamente menor en la MR que en la MA. Consideramos que en este ecosistema las características del suelo Perico, tan beneficiosas para la producción de MEVA en Pa y Va, fueron perjudiciales en Ma. La humedad, considerablemente mayor en los meses de abril a julio en este ecosistema, ocasionó probablemente condiciones de anaerobiosis similares a las demostradas en otros trabajos (Herrera et al., 1985 b) obtenidas también en un sitio de exposición Oeste al igual que Ma, y perjudiciales para las micorrizas VA (Saif, 1983). En la Tabla 5 se observa que de 3-7 cm en Ma se presentaron niveles de humedad mayores durante todos los muestreos con respecto a Va y Pa y sobre todo en los meses de mayor pluviosidad (abril a julio). La estructura más densa del suelo en Ma con un contenido de arcillas probablemente mayor que en Va (Tabla 4) y, como se señaló, su exposición Oeste, más sombreada durante el día, pudieron tal vez contribuir a que la mezcla MR se mantuviera durante un tiempo más largo en valores cercanos a su C max.

Por razones contrarias las MA de Ma parecieron producir mejores condiciones de aereación probablemente no tanto por su porosidad que fue menor que en las MR, como por sus C max, mucho menores. Las velocidades de drenaje para ambas mezclas, medidas en condiciones de saturación (Tabla 2) y con un valor menor en las MA no contradicen el criterio anterior pues tales datos se refieren a condiciones de inundación que nunca pudieron presentarse en ninguno de los ecosistemas en forma permanente.

La Tabla 8 muestra la comparación entre las biomásas obtenidas en el actual experimento y las que se presentaron en el mes de enero (Herrera et al., 1985 c). En los tres ecosistemas, las biomásas obtenidas en julio para las mezclas MR y MA fueron significativamente mayores que en enero, y en comparación con Va y Ma, sólo la biomasa del Pa fue significativamente mayor en dicho mes. Tales resultados por lo demás evidencian una gran variación estacional en las biomásas de MEVA en las tres formaciones vegetales, al igual que en las dunas arenosas de

Escocia (Nicolson y Johnston, 1979). Por otra parte se observó que aunque en Pa los contenidos nutrimentales son mucho menores (Tabla 4), al igual que los de materia orgánica, las cantidades de MEVA fueron en general significativamente mayores que en Va o Ma, tanto en condiciones naturales durante el período de menor pluviosidad, como en las del experimento (comparar entre sí los valores E con los de MA o MR).

Tabla 8. Comparación de las biomásas de MEVA y cantidades de MEVA por peso de raicilla obtenidas para Va, Ma y Pa en los meses de enero (E) y julio (MA o MR) de 1985.

TRATAMIENTO	BIOMASA DE MEVA mg.dm ⁻³	MEVA:RAICILLA ug.mg ⁻¹	%C
Va-E	12,5(5,7) e	9,0(2,8) de	0,89
Va-MA	46,4(3,7) b	16,6(0,6) bo	1,63
Va-MR	57,6(12,9) b	20,8(9,2) b	2,04
Ma-E	14,8(1,9) e	13,8(1,5) bod	1,36
Ma-MA	40,4(4,3) bo	16,8(1,0) bo	1,63
Ma-MR	26,2(4,9) d	12,0(3,6) ode	1,19
Pa-E	28,1(7,9) cd	5,6(2,3) e	0,56
Pa-MA	59,6(20,5) b	14,7(3,1) bod	1,45
Pa-MR	135,7(22,2) a	28,0(2,3) a	2,72

Va, Ma y Pa, Vallecito, Majagual y Pastizal respectivamente; E, colecta de enero; MA y MR, mezclas amarilla y roja respectivamente; %C, porcentaje de MEVA en la biomasa de raicillas y MEVA. Los datos en media y (desviación estándar). Las medias con igual letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes para p menor de 0,05.

En cuanto a las cantidades de MEVA por peso de raicilla, no se presentaron diferencias para las MA en las tres áreas (Tablas 7 y 8), pero sí para las MR al comparar los resultados de Pa con Va y Ma. Sin embargo en enero los valores de esta relación fueron significativamente menores excepto en Ma, debido a lo cual puede pensarse que la variación estacional demostrada para las biomásas de MEVA existe también en cuanto a las cantidades de micelio que pueden producirse por peso de raicilla, sobre todo en el pastizal, donde para enero y julio fueron obtenidos el menor y el mayor valor conocido; y donde probablemente las fluctuaciones de humedad del suelo entre los meses monos y más lluviosos fueron también extremas. Es interesante constatar de nuevo la semejanza de comportamiento entre Pa y Va en que a pesar de las diferencias en cantidad de biomasa de MEVA y raicillas observadas (Tablas 7 y 8) no presentaron diferencias significativas entre las relaciones MEVA:Raicilla en enero en condiciones naturales. También debe señalarse que las MA homogenizan al parecer las condiciones en los tres ecosistemas en cuanto a la producción de MEVA y a la

relación MEVA:Raicilla, muy semejante y no significativa.

La Tabla 8 también muestra los porcentajes que corresponden al MEVA dentro de la biomasa total de raicillas y MEVA. Estos valores variaron para Va entre 0,89 y 2,04, y para Pa entre 0,56 y 2,72 considerando respectivamente los períodos de menor y mayor pluviosidad. En Ma, sin embargo, los valores variaron entre 1,36 y 1,63, y en el caso de las MR se redujeron a 1,19. Estos resultados que por lo demás coinciden con los valores de MEVA:Raicilla, de donde provienen, concuerdan con los reportados en la literatura que han sido desde 1,0% considerando el sistema radical completo del trébol (Bevege *et al.*, 1975) hasta 5,0% considerando el peso de raicillas muy infectadas de manzana (Mosse, 1956). Adicionalmente tales resultados evidencian la veracidad de las mediciones de MEVA realizadas y la sobrevaloración de los datos obtenidos por otros autores (Nicolson y Johnston, 1979). El valor más alto conocido en este sentido fue de 49,4% y se encontró en un tronco en descomposición donde el MEVA pudo desarrollar cierto saprofitismo facultativo (Orozco *et al.*, 1985).

En el presente experimento asumimos que la materia orgánica no constituyó una fuente de variación, pues sus cantidades para ambas mezclas fueron similares. Es lógico pensar, por lo tanto, que la mayor biomasa de MEVA en el pastizal se debió primariamente a las cantidades de raicillas comúnmente mucho mayores que en Va o Ma, y en segundo lugar, a las características texturales, estructurales y nutrimentales de la mezcla con suelo rojo.

El hecho de que las mayores biomásas de raicillas pueden implicar también mayores biomásas de MEVA (Mosse, 1982) nos llevó a correlacionar los valores de ambos órganos de absorción en las muestras colectadas en enero y julio. Aunque para las colectas de enero en los tres ecosistemas ambos órganos de absorción se correlacionaron sólo significativamente (0,76*, para 9 pares de valores), en las de julio el valor de r fue altamente significativo (0,80**, para 18 pares de valores), lo cual evidencia que la proporción de raicillas presente en el ecosistema es un factor de gran importancia al considerar las biomásas de MEVA asociadas, y explica por qué en el pastizal han sido encontradas cantidades de hongo sólo comparables a las existentes en los troncos en descomposición de Vallecito (Orozco *et al.*, 1985) a pesar de los bajos contenidos de materia orgánica y nutrientes en el primero (Tabla 4). P.B. Tinker (1975) encontró también una fuerte correlación entre las cantidades de raicillas infectadas y las de MEVA.

La Tabla 7 refiere también los valores correspondientes al material orgánico descompuesto durante el período experimental. Como puede observarse, para las MA, Pa, Ma y Va llegaron a descomponer (consideradas como descompuestas las partículas mayores de 0,040 mm) respectivamente el 64,7, 52,9 y 46,2% del material original, lo cual parece confirmar que la descomposición microbiana en los tres ecosistemas procede en forma diferente. Mientras que en Va la alta esclerofilia motiva descomposiciones relativamente lentas de la hojarasca,

en Ma, con una esclerofilia menor, la descomposición procede bastante más rápidamente (Rodríguez y Ricardo, 1983; Herrera et al., 1985 a). En este sentido la turba en la MA de Pa se descompuso, como se había supuesto, en una mayor proporción que en Ma y Va. En las MR, sin embargo, la actividad microbiana participante en la descomposición pareció disminuir, tal vez debido entre otros factores a los pH más altos de estas muestras atípicas para los tres ecosistemas, por lo cual los porcentajes descompuestos fueron menores en ellas. Entre las MR, las ubicadas en Ma presentaron la mayor descomposición (Tabla 7), y en este ecosistema se ha demostrado que la capacidad buffer del suelo tiende a valores de pH cercanos al neutro (Ruiz y Herrera, 1985), fenómeno que además puede observarse en las variaciones verticales de los valores de pH (Tabla 4) y en los pH de las mezclas al final del experimento (Tabla 7). Al comparar MA y MR en cada sitio se observa que los mayores porcentajes descompuestos coincidieron con valores de pH más bajos, teniendo la MR, además, una capacidad buffer probablemente mayor en los tres ecosistemas. Considerando los valores promedio para la descomposición del material original en los tres ecosistemas (medias de MA y MR en cada uno), se observa que la descomposición en Pa y Ma fue significativamente mayor que en Va.

Los coeficientes de correlación (r) al comparar las cantidades de MEVA y el material descompuesto en cada muestra, partiendo de los datos correspondientes al suelo colectado con la barrena de 5 cm de diam. interno (15 de profundidad) fueron los siguientes: 1) considerando los 18 pares de valores, es decir, todas las mezclas MA y MR de los tres ecosistemas, $r = -0,20$ n.s. (no significativo); 2) considerando sólo los valores correspondientes a las MA o MR para las tres áreas, los valores de r fueron respectivamente 0,067 n.s. y 0,068 n.s.; y 3) considerando los pares de valores para las MA y MR de cada ecosistema, los valores de r fueron para Va, Ma y Pa respectivamente $-0,43$ n.s., $0,88^{**}$, y $-0,97^{**}$ (en los dos últimos casos altamente significativo).

Los resultados concuerdan con los esperados si se tiene en cuenta que en las MR, en general con mayores biomasa de MEVA, fueron descompuestas menores cantidades del material original, debido a lo cual los valores de r fueron negativos para los pares de valores considerados en 1, o en 3 para Va y Pa. Esto quiere decir que la descomposición fue menor en las mezclas con mayores cantidades de MEVA en estos ecosistemas. En Ma, el comportamiento de la producción de raicillas y MEVA en la MA fue contrario que en Va y Pa, coincidiendo aquí que a mayor cantidad de MEVA mayor descomposición, probablemente debido a mejores condiciones RedOx para los microorganismos descomponedores. Esto, unido a la menor cantidad de MEVA en las MR de Ma fue la causa de la correlación positiva entre las cantidades de MEVA y el material descompuesto.

Si se tienen en cuenta los resultados obtenidos y los reportados anteriormente (Herrera et al., 1985 b), la sola presencia de la materia orgánica en mayores cantidades no explica la existencia de mayores biomasa de MEVA como se ha reportado

anteriormente (St. John et al., 1983 a y b). La mayor cantidad de MEVA no implicó en todos los casos una mayor descomposición. Estos resultados evidencian por lo tanto, que, al menos para nuestras condiciones, el principal mecanismo de conservación de nutrientes en que participaron las micorrizas VA a través de su MEVA, se llevó a efecto más probablemente por utilización de los productos de la descomposición microbiana que por una actividad celulolítica causante del ciolaje directo reportado por otros autores (Went y Stark, 1968; Stark, 1970; Herrera et al., 1978 a).

El hecho de que tanto los hongos endo-VA como ectomicorrizógenos pueden crecer en forma saprofítica ha sido demostrado (Warner y Mosse, 1980; Tan y Nopamornbodi, 1979). No obstante, las fuentes probables de carbono para este crecimiento parecen ser los inositoles y fitatos para los hongos VA (Mosse y Phillips, 1971), el ácido fúlvico para *Pisolithus arrhizus* (Tan y Nopamornbodi, 1979) y tal vez otras sustancias por las cuales no necesitan competir con otros microorganismos. La actividad saprofítica de los hongos VA justificaría por lo tanto las grandes biomasa de MEVA presentes en los troncos en descomposición de Va (Orozco, et al., 1985), donde también han sido reportadas poblaciones de microorganismos celulolíticos si no mayores en número, sí mucho más activas que en los países templados (Rodríguez, 1983).

Como se señaló antes, en la estera radical de Va, con un contenido mucho mayor de materia orgánica y nutrientes, la biomasa de MEVA es menor que en el Pastizal, con contenidos mucho menores. Estos resultados unidos a los correspondientes a la descomposición de la turba en las mezclas MA y MR, en las tres áreas estudiadas no justifican la teoría del ciolaje directo de los nutrientes a través de las hifas VA en sitios donde abunda la hojarasca, y descartan a los contenidos de materia orgánica de distintos ecosistemas, como la única causa que posibilita el aumento de las biomasa de MEVA.

Probablemente el ciolaje de los nutrientes en ecosistemas arbóreos o herbáceos debe ocurrir principalmente en forma indirecta gracias a que las MVA recuperan una parte de los nutrientes liberados durante la descomposición microbiana. En las esteras radicales o capas orgánicas, la abundancia de hojarasca o cualquier material listo para descomponer hacen que las hifas VA estén espacialmente mejor incluidas en el proceso. En este caso, correspondiente a las Fases III y IV de las esteras radicales mencionadas por Herrera et al. (1985 a), el ciolaje es probablemente directo, pero no en el sentido expuesto por Went y Stark (1968), sino que tal vez se lleva a efecto con la participación de la hifosfera micorrizica (Orozco et al., 1984) o al menos en presencia de una asociación muy fuerte entre las hifas VA y otros microorganismos biofertilizadores y celulolíticos. En las micorrizas *vesiculares* de tejidos muertos (Stasz y Sakai, 1984) o senescentes, como en el caso de los nódulos de las leguminosas (Mosse y Thompson, 1984) y las raicillas de numerosas especies micorrizicas, no se han observado aparentes celulolisis, y la distribución de las hifas más finas en el interior de la célula muerta hacen pensar

más en su actividad para colectar sustancias (probables fuentes de carbono) que para obtenerlas directamente (Figura 2E en Stasz y Sakai, 1984). Sin embargo, la multiplicación profusa de las vesículas en estos tejidos evidencian al parecer una gran actividad de almacenamiento. De existir, la actividad celulolítica de los hongos VA, sería probablemente un proceso muy lento.

La distribución más uniforme de las raicillas y el micelio VA en ecosistemas con mayores velocidades de descomposición, donde las biomasa de MEVA disminuyen verticalmente en forma menos abrupta como en el Majagual (Herrera et al., 1985c) demuestran que allí los nutrientes son lixiviados hacia las capas más profundas. En Pa el ciclaje de nutrientes, al parecer muy rápido, contribuiría también a impedir la lixiviación. En Va, donde las biomasa de raicillas y MEVA en los primeros 5 cm, incluyendo la estera radical, son significativamente mayores y también existe una cubierta de hojarasca protectora permanente que durante al menos 8 meses en el año, de diciembre a julio (coincidiendo con el período de mayor descomposición, Rodríguez y Ricardo, 1983) impide que el agua pase en grandes cantidades al suelo subyacente a la estera radical, la lixiviación de existir sería muy lenta. La existencia de grietas en el suelo tanto en los bosques similares a Va como en los lluviosos del Brasil, podría contribuir a la existencia del "efecto teja" según fue descrito en su forma original (Herrera et al., 1978 b). La estera radical y su funcionamiento, que incluye la actividad micorrízica, representaría así un mecanismo de conservación de nutrientes útil para cualquier bosque con estera radical, bien sea con un período seco bien definido (bosques semidecíduos), como en los de clima muy lluvioso (bosques siempreverdes muy húmedos y pluvilsilvas).

En los ecosistemas herbáceos el ciclaje indirecto nunca podría presentarse paralelamente a una participación pobre de las MVA. El criterio de Stark (1970) acerca de que en las sabanas arenosas de Surinam las micorrizas VA no prosperan, parece ser infundado, pues han sido observadas grandes cantidades de MEVA en Pa, en las dumas arenosas de Escocia (Nicolson y Johnston, 1979), y en las sabanas de arenas blancas de Itabo, Isla de la Juventud, donde probablemente son mayores que en el Pa, a pesar de sus contenidos de materia orgánica y nutrientes mucho menores (observaciones personales). Por otra parte, la existencia de micorrizas VA afines a la descomposición de la hojarasca (litter-decomposing mycorrhiza, Stark, 1970) aún no ha sido demostrada, ni consideramos que pueda serlo (a menos que existan ecotipos evolutivamente adaptados al bosque) teniendo en cuenta que en Va y Ma predominan Glo-mus fasciculatum y varias especies de Acaulospora, al igual que en el pastizal, donde adicionalmente se presenta en forma abundante Gigaspora margarita (resultados no publicados).

En las sabanas y pastizales, y otros ecosistemas herbáceos, donde se presentan siempre biomasa de raicillas mucho mayores que en los bosques, las biomasa de MEVA parecen ser también altas, a pesar de los niveles de infección VA de las raicillas típicamente bajos en las gramíneas predominantes en

tales sitios. Estas cantidades de MEVA podrían garantizar la existencia de una red muy eficaz de hifas VA capaces de atrapar los nutrientes liberados. Teniendo en cuenta esta hipótesis, las biomasa de MEVA estarían determinadas en primer lugar por: 1) las cantidades de raicillas en el ecosistema; 2) las especies vegetales predominantes con relaciones micelio: raicilla probablemente variables para las distintas especies; y 3) la capacidad saprofítica facultativa de las distintas especies de hongos VA pues ha sido observado que, por ejemplo, Gigaspora margarita produce cantidades de MEVA mucho mayores que otras especies (observaciones personales). Cierta afinidad de las Gigaspora spp. con los ecosistemas herbáceos podrían también responder por las biomasa de MEVA encontradas y tal aspecto amerita una investigación más profunda pues se cuenta con algunas evidencias (Herrera, 1985 b).

En segundo lugar, las cantidades de material orgánico, podrían influir sobre las biomasa de MEVA dentro de un mismo ecosistema. En este sentido la madera en descomposición representa un caso extremo donde han sido encontradas las mayores biomasa hasta la fecha (Orozco et al., 1985), con un peso similar, deben ser también considerados los balances nutricionales y sus variaciones (naturales o antropogénicas) dentro de cada ecosistema. Mosse y Thompson (1984) demostraron en este sentido, que con soluciones nutritivas de distintas concentraciones, las producciones de MEVA fueron diferentes.

Por último, las variaciones estacionales de los factores abióticos (precipitaciones, etc.), y las características texturales y estructurales de cada suelo podrían influir directamente sobre las biomasa de MEVA como ha sido demostrado en el presente trabajo y reportado anteriormente (Mosse, 1982).

Probables tasas de renovación del MEVA.

La Tabla 9 muestra con resultados muy preliminares las tasas de renovación (Tr) de las biomasa de MEVA calculadas para los valores máximos y mínimos encontrados por Nicolson y Johnston (1979) para cuatro sitios de dumas arenosas (A) y los reportados en el presente trabajo (B). En nuestro caso para el análisis escogimos los valores de biomasa de MEVA correspondientes a las MA basándonos en el criterio de su mayor actividad microbiana. El error más probable en nuestro caso estaría dado por el máximo seleccionado para el pastizal, pues en este ecosistema el contenido de materia orgánica es menor que en la mezcla utilizada.

Como se observa en la Tabla 9 A los valores de Tr en el experimento de Escocia aumentaron desde el sitio a hasta el d, y los valores correspondientes al D₅₀ por nosotros calculados, indican que serían necesarios aproximadamente 4 meses para que se descomponga el 50% de la biomasa de MEVA, excepto en el sitio d, donde sería necesario un tiempo doblemente mayor. La única explicación posible para el resultado en d, dado que los autores no señalan más datos, es la existencia en este sitio de mayores contenidos de materia orgánica, una vegetación probablemente más densa, y contenidos de humedad ma-

yores en el suelo, si en este caso se trató de una duna estabilizada similar a las reportadas en México (Castillo, 1984). De ser así, la biomasa en d tardaría más en descomponerse, entre otros factores, gracias a los niveles mayores de humedad que posibilitan la persistencia de las hifas en el suelo por períodos largos (Jackson, 1965).

En cuanto a los datos correspondientes a Va, Ma y Pa (Tabla 9 B), los valores de Tr fueron para los tres ecosistemas respectivamente 1,152, 0,465 y 0,719 lo que implicaría, siguiendo el mismo orden, valores de D₅₀ ascendentes a 7,2, 17,9 y 11,6 meses.

Tabla 9. Probables tasas de renovación y tiempos necesarios para descomponer el 50% de la biomasa de MEVA en varios ecosistemas de Escocia (A) en dunas costeras (Nicolson y Johnston, 1979) y Cuba (B) en Va, Ma y Pa.

SITIO	X MAX	X MIN	X	Tr	D ₅₀	= meses
A*	mg . dm ⁻³					
a	1313	63	688	1,82	0,381	4,6
b	2625	63	1344	1,91	0,363	4,4
c	4563	63	2313	1,95	0,355	4,3
d	1638	88	1588	0,98	0,707	8,5
B						
Va	46,37	12,47	29,42	1,152	0,602	7,2
Ma	40,44	14,78	27,61	0,465	1,491	17,9
Pa	59,62	28,08	43,86	0,719	0,964	11,6

*, datos aproximados, asumiendo que el % de sobrevaloración fue igual para todos los casos. X MAX, biomasa máxima; X MIN, biomasa mínima; X, media; Tr, tasa de renovación; D₅₀, tiempo necesario para que se descomponga el 50% de la biomasa, en años, o meses al final.

Los criterios que poseemos acerca de las probables tasas de renovación del MEVA en ecosistemas cubanos son muy preliminares, no obstante, podrían adelantarse algunas hipótesis de trabajo al respecto.

En la Tabla 10 se muestran algunas relaciones que dan una idea de los valores de Tr en Va, Ma y Pa (relación entre la biomasa producida en un mes y la biomasa total; o % de raicillas vivas), además, se muestran los valores reales de Tr de raíces calculados a partir de las biomasa colectadas periódicamente durante un año (Herrera et al., 1985 e). El análisis de la tabla evidencia que en Va la Tr de las raíces es baja, lo cual quiere decir que tanto la producción como la descomposición de las raíces son procesos lentos. En Ma y Pa, sin embargo, existen una tendencia a mayores producciones y velocidades de descomposición (Tabla 10 y otros resultados no publicados), lo cual equivaldría a valores mayores de Tr. Los resultados acerca de las velocidades de descomposición de las

raicillas en los tres ecosistemas (Rodríguez et al., 1985) corroboran los criterios anteriores. Aunque las relaciones B/A de la tabla están corroboradas por los Tr sólo para Va y Ma, cabe esperar que para el pastizal existe un Tr tal alto como el de Ma pues así lo señalan los porcentajes de raicillas vivas en los tres ecosistemas medidos en septiembre de 1984 (K. Fiala, resultados no publicados).

Tabla 10. Algunas características de las raíces en los tres ecosistemas estudiados.

INDICADOR	VALLECITO	MAJAGUAL	PASTIZAL
Biomasa total (A) de 0-15 cm. (g.m ⁻²)*	638,0 ⁺	552,0 ⁺	709,0
Producción de raíces 0-15 cm (g.m ⁻²)* (B)	30,5	24,1	126,3
B/A	0,048	0,044	0,178
% de raicillas vivas*	30,0	56,0	74,1
Tr real de raíces	0,453	0,80	n.d.

*, datos correspondientes a septiembre de 1984; +, consideradas las raíces menores de 5 mm de grosor.

Otro aspecto interesante es que se ha comprobado que mientras en Ma los porcentajes de raicillas vivas varían entre los períodos de menor y mayor pluviosidad respectivamente desde un 41,3 hasta un 56,3% en septiembre y quizás más en junio, en Va estas variaciones se presentan desde un 21,7% en enero, hasta un 30,2% en septiembre y llegando hasta 57,7% en junio, el mes de máxima producción (Herrera et al., 1985 e) lo cual implica en Va un salto considerable en las cantidades de raicillas vivas de enero a junio, mientras que en majagual se mantienen aproximadamente iguales.

Volviendo de nuevo a la Tabla 9 B y teniendo en cuenta los resultados anteriores podrían plantearse las siguientes hipótesis:

a) En Vallecito, donde el Tr del MEVA fue mayor y la descomposición de este último sería más rápida, las causas fundamentales podrían deberse a las grandes diferencias entre los valores mínimo y máximo de sus biomasa causadas por las diferencias también grandes entre los valores mínimo y máximo de las biomasa de raicillas. En este ecosistema la explosión en la producción de raicillas durante los meses lluviosos, y el simultáneo aumento de los porcentajes de raicillas vivas podrían responder por las biomasa también mayores de MEVA. Las condiciones de humedad no demasiado altas durante 8 meses en el año quizás podrían responder por la rápida descomposición del micelio.

b) En Majagual, donde el Tr del MEVA fue el menor, y la descomposición de este último sería mucho más lenta, las causas fundamentales podrían estar dadas por las diferencias menores entre los valores mínimo y máximo de las biomasa de raíces y por un mantenimiento durante el año de porcentajes similares de raíces vivas que ayudadas por los niveles de humedad casi constantemente altos garantizarían, siguiendo el criterio de Jackson (1965) que las biomasa de MEVA perduraran durante un tiempo mas largo en el ecosistema.

o) En el Pastizal, aunque repetimos que el dato correspondiente a julio podría estar sobrevalorado teniendo en cuenta los niveles de materia orgánica presentes en las MA y mayores que en el ecosistema, teniendo en cuenta las renovaciones más rápidas de las raíces, sobre la base de sus mayores velocidades de descomposición y producciones, cabría esperar un mantenimiento durante el año de porcentajes altos de raíces vivas que podrían disminuir durante los meses más secos. Esto respondería por las diferencias entre los valores máximo y mínimo de las biomasa de MEVA probablemente parecidas o mayores que en Vallecito, y justificaría las semejanzas entre ambos ecosistemas como fue señalado antes. Sin embargo, si la producción de MEVA en el Pastizal hubiera sido realmente similar a la de Va, los valores de Tr en el primero se hubieran reducido haciéndose más semejantes al de Majagual. Teniendo en cuenta estos aspectos, es necesario además considerar para el pastizal la probable influencia de los niveles de humedad del suelo más dependientes de las precipitaciones que causarían permanencias más largas del MEVA en el ecosistema (Jackson, 1965).

Los mecanismos que dirigen las tasas de renovación de las raíces y el MEVA en los ecosistemas vegetales ameritan una investigación más profunda en el futuro pues aún no se cuenta con resultados generales. A pesar de que las especulaciones mostradas se hacen demasiado prematuramente, es necesario pensar ya en la realización de experimentos y colectas para: a) reafirmar el conocimiento acerca de los valores de Tr de raíces en las tres áreas estudiadas; b) conocer la dinámica anual y valores de Tr correspondientes a las biomasa de MEVA; c) conocer las velocidades de descomposición del MEVA en las tres áreas así como la influencia de los niveles de humedad sobre este proceso; d) conocer si existen diferencias entre las velocidades de descomposición de raicillas con y sin endófitos VA; y e) conocer la verdadera ecofisiología del MEVA en ecosistemas tropicales partiendo de las distintas causas que pueden modificar sus biomasa.

CONCLUSIONES

- 1.- Consideramos que las biomasa de MEVA están determinadas en los distintos ecosistemas vegetales existentes por las siguientes causas:
- a.- Las biomasa de raicillas en el ecosistema que pueden determinar mayores biomasa de MEVA incluso en comparación con otras formaciones con mayores contenidos de materia orgánica.

- b.- Las cantidades de MEVA que las raicillas de distintas especies vegetales son capaces de producir sobre la base de sus balances endófito VA - MEVA característicos.
- c.- La capacidad saprofitica facultativa de las distintas especies de hongos VA que en sitios determinados (por ejemplo, madera en descomposición), puede producir valores extremadamente altos de la relación MEVA:raicilla.
- d.- La capacidad de producción de MEVA de cada especie de hongo VA, aspecto este que es necesario investigar.
- e.- Las cantidades de material orgánico presentes en el ecosistema de cuya velocidad de descomposición por la acción de los microorganismos resulta la mayor o menor cantidad de nutrientes liberados que probablemente tienen mucho que ver con la distribución vertical de las raicillas y el micelio VA en dependencia de si esta liberación es concentrada en una capa (esfera radical) presente en los bosques con un grado de esclerofilia alto, o más distribuida espacialmente si los nutrientes pueden lixivarse hacia capas más profundas, lo que ocurre en los bosques sin esfera radical y bajo grado de esclerofilia, y en otros ecosistemas herbáceos como las sabanas y pastizales.
- f.- Los balances y concentraciones nutritivas y las alteraciones naturales o antropogénicas que pueden modificarlos alterando así las biomasa de MEVA y las relaciones MEVA:raicilla.
- g.- Las variaciones estacionales de los factores abióticos (precipitaciones, etc.) que pueden influir directamente al cambiar las condiciones físicas (humedad, etc.) del substrato, o indirectamente a través de sus efectos sobre las plantas huéspedes del ecosistema (iluminación, temperatura, fenología, etc.).
- h.- Las características texturales y estructurales de cada suelo que pueden determinar cambios importantes en las densidades aparentes, reales, porosidad, capacidades máximas de retención de agua, etc., y cuya demostración ha constituido el objetivo del presente trabajo.

2.- Aunque los resultados son preliminares, las tasas de renovación parecen estar íntimamente relacionadas con los cambios estacionales en el caso del MEVA, y el de las raíces. Especialmente, las tasas de renovación del MEVA parecieron altamente dependientes de los cambios ocurridos en los porcentajes de raicillas vivas. No obstante, aún no pueden realizarse generalizaciones en este sentido.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa ayuda brindada por los técnicos de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. De los autores (R.H. y M.O) agradecen la importante contribu-

ción de la Fundación Internacional para la Ciencia a través de los Proyectos D-251 y D-790.

REFERENCIAS

- Bennett, H.H. y Allison, R.V. (1928): Los suelos de Cuba. Comisión Nacional Cubana de la UNESCO, La Habana, 1962. 380 p.
- Capote, R.P., García, E.E. y Sánchez, C. (1983): La vegetación de la Estación Ecológica Sierra del Rosario. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 4:97-143.
- Castillo, S. (1984): Descripción preliminar de la vegetación de dunas costeras de los estados de Tabasco y de Campeche. Tesis de Maestro en Ciencias, México, D.F.. 177 p.
- Gianinazzi-Pearson, V. y Diem, H.G. (1982): Endomycorrhizae in the tropics. En Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity (Y.R. Dommergues y H.G. Diem, eds.) Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, pp. 209-251.
- Golley, F.B. (1983): Decomposition. En Tropical Rain Forest Ecosystems, A. Structure and Function (F.B. Golley, ed.), Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam. Cap. 10, pp. 157-166.
- Hernández, A. y Menéndez, L. (1985): Los suelos de la Sierra del Rosario. En Estudio ecológico del bosque siempreverde submontano de Sierra del Rosario. Proyecto MAB No. 1, 1974-1984. Capítulo 3 (R.A. Herrera, L. Menéndez y M. Rodríguez, eds.). Tomo I (en preparación).
- Hernández, G., Herrera, R.A., Lescaille, M., Izquierdo, I., y Hernández, L. (1985): Variaciones físico-químicas del sustrato en relación con la distribución vertical de las raicillas en un bosque siempreverde tropical. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985, ACC. En prensa.
- Herrera, R., Merida, T., Stark, N., y Jordan, C.F. (1978 a): Direct phosphorus transfer from leaf litter to roots. *Naturwissenschaften*, 65:108-109. En Golley, 1983.
- Herrera, R., Jordan, C.F., Klinge, H., y Medina, E. (1978 b): Amazon ecosystems. Their structure and functioning with particular emphasis on nutrients. *Interciencia*, 3:223-232.
- Herrera, R.A. (1985 a): Características de los sistemas radicales de algunas especies arbóreas y ecosistemas de Cuba. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985, ACC. En prensa.
- Herrera, R.A. (1985 b): Las micorrizas vesículo-arbusculares como ayuda para la repoblación forestal en Cuba. (en esta publicación).
- Herrera, R.A., Furrázola, E., García, E.E., Capote, R.P. y Ruiz, M. (1985 a): Génesis y significación ecológica de las esteras radicales en bosques tropicales. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985. (En prensa).
- Herrera, R.A., Rodríguez, A., Ruiz, M., y Furrázola, E. (1985b): Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramítico VA en un bosque tropical. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985. (En prensa).
- Herrera, R.A., Orozco, M.O., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrázola, E. (1985 c): Biomasa y producción de micelio extramítico vesículo-arbuscular en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985. (En prensa).
- Herrera, R.A., Rodríguez, A. y Furrázola, E. (1985 d): Método para determinar la biomasa de micelio extramítico vesículo-arbuscular. (En esta publicación).
- Herrera, R.A., Ruiz, M., Rodríguez, M., Carrillo, M., Rodríguez, A. y Furrázola, E. (1985 e): Biomasa de raíces en varios ecosistemas boscosos de Cuba. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985. En Prensa.
- Jackson, R.A. (1965): Studies of fungi in pasture soils. II. Fungi associated with plant debris and fungal hyphae in soil. *N.Z. J. agric. Res.*, 8:865-877.
- Klimes, A., Suárez, O., Mesa, A., y Pena, J. (1980): Suelos de Cuba. Editorial Orbe, Ciudad de La Habana, 2 Tomos, 352 y 328 p.
- Mosse, B. (1956): Studies on the endotrophic mycorrhiza of some fruit plants. Ph.D. thesis. Univ. of London, London, England. En Mosse, 1982.
- Mosse, B. (1982): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Res. Bull. No. 194, Hawaii Inst. Trop. Agric. and Human Resources, Univ. Hawaii, Honolulu, Hawaii, 82p.
- Mosse, B. y Phillips, J.M. (1971): The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *Jour. Gen. Microbiol.*, 69: 157-166.
- Mosse, B., Stribley, D.P. y Lo Tacon F. (1981): Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. En Advances in Microbial Ecology (M. Alexander, ed.), Plenum Press. pp. 137-209.
- Nicolson, T.H. y Johnston, C. (1979): Mycorrhiza in the Gramineae. III. Glepus fasciculatus as the endophyte of pioneer grasses in maritime sand dune. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 72:261-268.
- Olson, J.S. (1963): Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological system. *Ecology*, 44:322-331.
- Orozco, M.O., Fernández, C., Prikryl, Z., Vanoura, V., y Herrera, R.A. (1984): Observaciones del micelio extramítico de las micorrizas vesículo-arbusculares al microscopio electrónico de barrido. *Acta Botánica Cubana No. 20 (Especial)*, ACC. pp. 88-92.
- Orozco, M.O., Rodríguez, M.E., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L.

- (1985): Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. (En esta publicación).
- Rodríguez, M.E. (1983): Decomposition of organic matter in a tropical submontane evergreen forest at the Ecological Station in Sierra del Rosario, Cuba. Tesis de Candidato a Doctor (Ph.D) Praga. 250p.
- Rodríguez, M.E. y Ricardo, N. (1983): Descomposición de la hojarasca en tres lugares del bosque siempreverde de la Estación Ecológica Sierra del Rosario, Provincia de Pinar del Río, Cuba. Ciencias Biológicas, ACC, 9:55-65.
- Rodríguez, M.E., Martínez, M.A., Herrera, R.A. y Carrillo, M. (1985): Descomposición de las raicillas y mesofauna asociada en tres ecosistemas de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985, ACC. (En prensa).
- Ruiz, M. y Herrera, R.A. (1985): Influencia de la materia orgánica sobre la capacidad reguladora del pH de las capas superficiales de los suelos de bosque tropical. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. (En prensa).
- Saif, S.R. (1983): Soil temperature, soil oxygen and growth of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of Eupatorium odoratum L. and development of Glomus macrocarpum. Angew. Botanik, 57:143-155.
- Singh, K.P. y Singh, R.P. (1981): Seasonal variation in biomass and energy of small roots in tropical dry deciduous forest, Varanasi, India. Oikos, 37:88-92.
- Stark, N. (1970): The nutrient content of plants and soils from Brazil and Surinam. Biotropica, 2:51-60.
- St. John, T.V. (1983): Response of tree roots to decomposing organic matter in two lowland Amazonian rain forests. Can. J. Forest Res., 13:346-349.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 a): Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. Ecology, 64:957-959.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 b): Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity.
- Stass, T.E. y Sakai, W.S. (1984): Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in scale-like leaves of Zingiberaceae. Mycologia 76:754-757.
- Tan, K.H. y Nopamornbodi, V. (1979): Fulvic acid and the growth of the ectomycorrhizal fungus Pisolithus tinctorius. Soil Biol. Biochem., 11:651-653.
- Vilamajó, D. (1985): Características climáticas de la Sierra del Rosario. En Estudio ecológico del bosque siempreverde submontano de Sierra del Rosario. Proyecto MAB No.1, 1974-1984. Capítulo 1 (R.A. Herrera, L. Menéndez y M.E. Rodríguez, eds.) Tomo I. (En preparación).

- Warner, A. y Mosse, B. (1980): Independent spread of vesicular-arbuscular fungi in soil. Trans. Br. mycol. Soc., 74:407-410.
- Went, F.W. y Stark, N. (1970): Mycorrhiza. Bioscience, 18: 1035-1038. En Golley, 1983.

NOTA:

- Mosse, B. y Thompson, J.P. (1984): Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (Phaseolus vulgaris) in nutrient flow culture. Can. J. Bot., 62:1523-1530.

METODO PARA DETERMINAR LA BIOMASA DE MICELIO

EXTRAMATRICO VESICULO- ARBUSCULAR .

por

R.A. HERRERA, A. RODRIGUEZ y E. FURRAZOLA
Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Departamento de Ecofisiología Vegetal. Calzada del Cerro 1257, Habana 6, Cuba

RESUMEN

El método descrito permite el cálculo indirecto del peso del micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA) presente en una muestra. Se parte del criterio de que las características del MEVA son similares para todos los ecosistemas, y se demuestra que 1 mg de MEVA equivale a una longitud de 42 146,26 mm. Tomando alícuotas de la fracción de tamizado de suelo entre 0,040 y 0,250 mm, y dispersándolas en glicerina bajo un cubreobjetos de 22 x 22 mm, pueden contarse las intersecciones de las hifas VA con 4 de las 20 líneas del retículo imaginario en el cubreobjetos, separadas entre sí 2 mm. El promedio de las intersecciones contadas en las 4 líneas multiplicado por el factor 0,000745 da directamente el peso del MEVA en la alícuota y su extrapolación puede servir para conocer la biomasa total en la muestra. Se discuten los coeficientes de variación del método.

ABSTRACT

Using the described method the indirect measurement of the vesicular-arbuscular extramatrical mycelium (MEVA) weight is possible. The criterium that MEVA characteristics are similar for different plant ecosystems is used, and that 1 mg of MEVA is equivalent to a length of 42 146,26 mm is showed. Taking sieved soil aliquots from the 0,040 - 0,250 mm fraction and scattering them in glicerol under a 22 x 22 mm cover glass, VA hyphal intercepts with 4 of the 2 mm separated 20 imaginary lines of the grid in the cover glass can be computed. The intercepts media coming from the 4 computed lines multiplied by the factor 0,000745 give directly the aliquot MEVA weight which can be extrapolated in order to know the sample MEVA weight. The method coefficients of variation are discussed.

INTRODUCCION

El micelio extramático VA (MEVA) está constituido según T.H. Nicolson (1959) por hifas de 2 a 27 mm de diámetro, con paredes de grosor variable. B. Mosse (1959) señaló que la trama formada por este micelio está integrada en una alta proporción (75% o más) por hifas generalmente aseptadas y gruesas (hasta 20 µm de diámetro) con proyecciones angulares muy características que han sido reportadas como rasgos distintivos de la fase externa de los endófitos VA. Estudios similares fueron realizados también por Dowding (1959). Años más tarde B. Mosse (1982) señaló que el MEVA está compuesto por hifas principales ramificadas dicotómicamente y gruesas, en general de 8 a 12 µm, pero a veces hasta 20 µm de diámetro, y por manojos de hifas mucho más finas, ramificadas y efímeras.

El componente externo de las MVA, sin embargo, no posee la capacidad de formar agregados miceliales como en los hongos superiores que pueden organizarse en cuerdas (strands) o rizomorfos (Mosse et al., 1981). Su distribución espacial en el suelo está constituida por una red bastante densa de hifas que crece en los espacios libres asociándose con numerosas partículas minerales u orgánicas por contacto y/o penetración (Mosse, 1982). El micelio extramático de las micorrizas VA puede distinguirse morfológicamente del de otros hongos debido a sus características particulares (Gerdemann, 1968; Mosse, 1982).

St. John et al. (1983 a y b) utilizaron la técnica de medición de longitudes en intersecciones de líneas (Marsh, 1971) para cuantificar las longitudes de MEVA en tratamientos con o sin aplicación de material orgánico. Lamentablemente, estos autores, y otros que han utilizado tal procedimiento, han hecho referencia a la técnica original (Marsh, 1971) pero sin hacer mención al desarrollo de la medición.

Marsh (1971) reportó que cuando los lados de los cuadrillos que forman un retículo son 14/11 veces mayores que la unidad de medida que se desee (mm, cm, m, km, etc.) la superposición de dos planos, formado uno por el retículo y el otro por las longitudes que quieran medirse, permiten lecturas directas contando las intersecciones entre el retículo y la muestra (hilos, raíces, caminos, etc.). Así, por ejemplo, si los lados del cuadrillo miden 0,5 pulgadas, cada intersección vale 1 cm, y si los lados del cuadrillo son de 0,63 pulgadas cada intersección vale 0,5 pulgadas, etc.

Por considerar necesaria una descripción más detallada de la técnica de Marsh (1971) cuando se trate de medir longitudes de hifas decidimos la realización del presente trabajo que reporta además una nueva posibilidad, la transformación de los resultados en longitud a pesos del material fungico.

MATERIALES Y METODOS

Ensayos previos. Si no desde el punto de vista teórico, al menos en la práctica resulta difícil aplicar la técnica de Marsh (1971) con retículos de cuadros de 0,5 pulgadas de lado con el fin de medir la longitud de hifas con un grosor variable de hasta 30 µm. Teniendo en cuenta que tal retículo se ha utilizado para raicillas de aproximadamente 0,5 mm de grosor, fue calculado que proporcionalmente para las hifas, con un diámetro medio asumido de aproximadamente 10 µm resultaría apropiado un retículo de cuadros de 2 mm de lado. Tal retículo se corresponde con una longitud de 1,57 mm para cada intersección.

Para comprobar la confiabilidad de las proporciones del retículo seleccionado y la muestra, fueron utilizadas 3 cuerdas de poliéster de 35mm de largo compuestas cada una por 18 hilos de 16,8 ± 0,6 µm de grosor (siendo la longitud total aproximada de todos los hilos de una cuerda igual a 630 mm). Cada cuerda se cortó en segmentos de 5 mm de largo y a continuación los pedacitos de hilo fueron dispersados en glicerina en una placa a cuyo fendo se fijó un retículo de cuadros de 2 mm de lado. Para realizar los conteos fueron hechas las mediciones en un microscopio compuesto con aumentos de 200 a 400 x.

Finalmente, para realizar el conteo de las intersecciones se decidió utilizar cubreobjetos de 22 x 22 mm. Tales cubreobjetos están compuestos por 20 líneas, 10 horizontales y 10 verticales al ser divididos imaginariamente para formar un retículo con cuadrillos de 2 mm de lado. Fueron realizadas varias observaciones para determinar el número de líneas mínimo cuyas intersecciones con las hifas debían ser contadas.

Para coleccionar el micelio del suelo se utilizaron siempre dos tamices, uno de 0,250 mm y otro de 0,040 mm. El de 0,250 mm fue colocado dentro de un embudo grande y se insertó un cilindro de cartulina en las paredes interiores del tamiz. Bajo el vástago fue colocado un tamiz de 0,040 mm. En todos los casos el lavado se realizó con agua a presión fuerte. El sistema mencionado permite observar constantemente el tamiz inferior que tiende siempre a rebosarse y además impide que las partículas del tamiz superior se pierdan al salpicar por la presión del agua. Los tamices de 100 y 71 µm fueron utilizados como pasos adicionales para tratar de concentrar el micelio en el tamizado recuperado cuando fue necesaria la obtención de MEVA limpio para las determinaciones que se describen en el epígrafe siguiente.

Relación entre el peso y la longitud del MEVA. Para este ensayo fue preparada una mezcla esterilizada de arena silíceo (partículas de 0,5 a 1,0 mm) y suelo amarillo loam arenoso coleccionado a una profundidad de 15 a 20 cm para eliminar en lo posible la contaminación con material orgánico, y tamizado por malla de 0,5 mm. La mezcla (1:1, V/V) fue colocada en un hueco cilíndrico de 6 cm de diámetro y 15 cm de profundidad en un

en un pastizal húmedo compuesto por *Axonopus compressus* (Sw.) Beauv. y *Paspalum conjugatum* Berg. entre otras especies, en la Sierra del Rosario, lugar de donde había sido coleccionada el suelo. La muestra fue regada con 250 ml de agua y coleccionada un mes después con una barrena de 5 cm de diámetro interno.

La técnica del tamizado del decantado de una mezcla de suelo y agua (wet sieving and decanting, Gerdemann y Nicolson, 1963) fue utilizada para conocer los hongos endógenos presentes en el pastizal húmedo donde permaneció la mezcla.

Todo el material fue colocado en un recipiente al cual se añadió un poco de agua para desbaratar bien todos los agregados. Después la muestra pasó a un tamiz de 250 µm colocado dentro del embudo tal como se describió antes. Se lavó con agua a presión para recuperar todo el micelio posible y a continuación se repitió el proceso colocando en el embudo otro tamiz de 71 µm para lavar el tamizado recuperado en el tamiz de 40 µm en el primer paso. Siguiendo la técnica de Pacovsky y Bethlenfalvai (1982) fueron obtenidas las masas de micelio limpiando las cuantas fue posible por cambios sucesivos en agua limpia y comprobando su estado en un estereomicroscopio. En este proceso se hizo énfasis en recuperar el micelio limpio sin importar las pérdidas que este conllevó. El micelio coleccionado, prácticamente puro tomó un color pardo muy claro al ser secado al igual que en casos anteriores (Herrera et al., 1984). El material fúngico coleccionado fue empleado para conocer la relación entre el peso y la longitud de las hifas pesando tres alícuotas de 1,42, 0,37 y 0,46 mg en una balanza de torsión de 10 mg. Las muestras secas fueron entonces dispersadas en glicerina lo más uniformemente posible y cubiertas con un cubreobjetos de 22 x 22 mm para realizar el conteo de las intersecciones. No fue necesaria la tinción del material fúngico para el conteo.

En los conteos fueron consideradas las intersecciones de hifas y otras de material coloidal e impurezas en suspensión (material orgánico, pechos radicales, etc.) con vistas a calcular el porcentaje de contaminación de las muestras.

Confiabilidad del método. Para demostrar la confiabilidad del método se discuten los coeficientes de variación obtenidos para conteos de biomasa de micelio en distintos experimentos. En cada caso el experimento se describe en los resultados y discusión, y en todos se trató de coleccionar que fueron realizadas en distintos ecosistemas de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario para conocer las biomasa de MEVA e su producción durante un mes

RESULTADOS Y DISCUSION

Los tres conteos realizados a los hilos de poliéster para comprobar la confiabilidad del retículo de cuadrillos de 2 mm dieron por resultado longitudes de 643 ± 16 mm con un coeficiente

de variación de 2,57% y una sobrestimación de 2,06% con respecto a los 630 mm de longitud que debieron obtenerse en cada caso.

Los conteos en estereomicroscopio resultaron insuficientes para determinar las características típicas de Endogonaceae en el micelio o para determinar la exactitud de la intersección de una hifa con la línea imaginaria del retículo debido al poco grosor de la primera. Con líneas reales marcadas en una placa esto tampoco fue posible. Para el conteo de las intersecciones en el microscopio compuesto sólo es necesario fijar en uno de los oculares una guía para el conteo, bien sea un retículo ocular, escala micrométrica o cualquier marca insertada en su interior. Los conteos en las líneas imaginarias se realizan desplazando en un sentido la platina del microscopio con ayuda del tornillo micrométrico para ir observando el campo en profundidad.

Como se señaló antes, cada cubreobjeto cuenta con un retículo formado por 10 líneas verticales y 10 horizontales separadas entre sí 2 mm. Teniendo en cuenta el centro del cubreobjetos como referencia, resultó óptimo considerar para cada conteo las intersecciones correspondientes a 4 líneas, 2 verticales y 2 horizontales a ambos lados del centro. Los conteos realizados para líneas situadas en los bordes del cubreobjeto subvaloraron las cantidades de intersecciones pues el material tendió ligeramente a reagruparse hacia el interior. Por otra parte, no sería práctico contar todas las intersecciones en cada muestra analizada pues para biomasa media de micelio estas podrían llegar a 500 o más para las 20 líneas del cubreobjetos. En todo caso el número de líneas cuyas intersecciones se cuenten dependerá de la seguridad que se quiera tener en la medición pero creemos que esto sería innecesario.

La mejor posibilidad de extraer el MEVA del suelo fue la descrita antes con los tamices de 0,040 y 0,250, y el embudo grande. La utilización de tamices de 0,100 o 0,071 mm para recuperar el micelio más limpio tuvo que ser descartada pues en el segundo lavado estos tamices retuvieron grandes cantidades de MEVA. Si el objetivo es obtener micelio muy limpio sin importar que se pierda cierta cantidad, entonces pueden utilizarse estos tamices intermedios para eliminar tanto suelo como sea posible y entonces aplicar el método de Pacovsky y Bethlenfalvai (1982) consistente en agitar 100 veces en redondo bajo agua corriente el material colectado en el tamiz de 0,040 mm y después llevando el material contra el borde del tamiz redistribuyéndolo a continuación en toda su superficie moviendo lentamente 12 veces. La aplicación de estos movimientos si garantiza como se señaló antes la colecta de material fungico en forma de grandes masas que en nuestro caso fueron utilizadas para extraer MEVA lo más puro posible. Al parecer, esta técnica es utilizable pero no en todos los tipos de suelo (Bethlenfalvai y Pacovsky, 1983). Si se aplicara para un suelo de bosque, por otra parte, los controles para eliminar la

quitina proveniente de otros componentes no micorrizicos deberian ser seleccionados con extremo cuidado si es que esto es posible. Por otra parte, partir de raíces micorrizicas para extraer el MEVA unido a ellas lavando sobre un tamiz de 0,040 mm no tiene en cuenta el micelio que quedó desprendido en el sustrato.

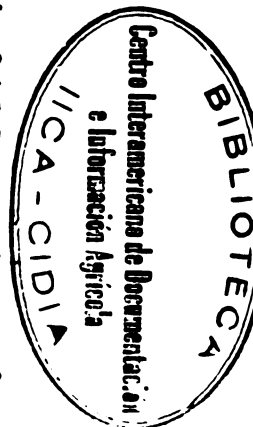
Los hongos endogonáceos presentes en el pastizal fueron principalmente Glomus fascioulatum y Gigaspora margarita, y además se presentaron Glomus macrocarpum, Glomus magnicula, Glomus Tipo C-27, Acaulospora lasvis, A. foveata, y A. scrobiculata. Se asume por tanto que el dato de longitud para 1 mg de MEVA, discutido más adelante, es útil para cualquier muestra de MEVA pues el cálculo se hizo en un material integrado por hifas provenientes de 3 géneros de Endogonaceae. Por otra parte el grosor hasta 30 μ m de las hifas de Endogonaceae parece ser un carácter general según la literatura (Nielsen, 1959; Mosse, 1959; 1982) y observaciones personales.

Al utilizar el método que se describe a continuación, partiendo de las intersecciones contadas para tres muestras de micelio puro de peso conocido, la longitud de hifas por mg de hongo ascendió a $42\,146,26 \pm 4\,268,02$ mm ($\bar{X} \pm s$) para un coeficiente de variación de 10,1%. Las réplicas utilizadas para los conteos presentaron del 2 al 4 % de contaminantes que fueron considerados para basar los cálculos en peso de micelio puro.

Descripción del método. Para determinar la biomasa de MEVA las muestras de suelo deben ser colectadas con barrena u otro medio que posibilite conocer los volúmenes y superficies que servirán como referencia. Adicionalmente pueden ser calculadas las densidades aparentes por capas o total hasta la profundidad deseada si el dato piensa entregarse por peso de suelo. En nuestro caso utilizamos siempre barrenas de 5 cm de diámetro con posibilidad de perforar hasta 25 cm.

Posteriormente, las muestras son desmenuzadas en agua hasta desbaratar bien todos los terrones, y pasadas a través de un tamiz de 0,250 mm de modo que el material se colecte en otro de 0,040 mm como se describió antes. El lavado con agua a presión fuerte permite que el micelio se desprenda de las partículas de material orgánico, suelo o raicillas. Adicionalmente debe chequearse la fracción colectada en el tamiz superior para conocer si se ha desprendido casi todo el micelio (siempre quedan algunas hifas en esta fracción). Normalmente el tiempo invertido para colectar el micelio de una muestra, desde su colocación en un recipiente para destruir los agregados hasta el momento en que la fracción del tamiz de 0,040 mm se pone a secar al aire, es de aproximadamente 30 minutos. El lavado con agua a presión puede efectuarse colectando a intervalos (3 o 4) las fracciones que vayan pasando al tamiz inferior.

La fracción del tamiz inferior es finalmente pasada a un



embase de papel de filtro grueso u otro similar que permita, una vez conectado a una bomba de vacío, extraer de la fracción tanta agua como sea posible antes de ponerla a secar al aire.

Posteriormente las muestras son secadas hasta peso constante en estufa a 80°C. Si además quieren contarse las esporas, debe pensarse la muestra seca al aire y separar una parte antes de ser colocada en la estufa con el fin de conocer el contenido de agua y no dañar las esporas vivas. En todo caso siempre deberá conocerse el peso seco de la muestra.

Después de secas las muestras son homogeneizadas a mano, pasándolas en seco por un tamiz de 0,250 mm. Debe tenerse mucho cuidado al homogeneizar y seleccionar las alícuotas para el análisis microscópico pues siempre la materia orgánica tiende a separarse de las partículas de suelo. La homogeneización, por otra parte, garantiza que las hifas, frágiles después del secado, se fraccionen en pequeños pedazos lo que ayuda a su distribución uniforme en la muestra.

De la muestra seca se toman alícuotas de 30 a 50 mg si el material es suelo o de 10 a 15 mg si es orgánico. Cada alícuota es entonces dispersada en glicerina de modo que ocupe una superficie igual a la del cubreobjetos de 22 x 22 mm. De cada muestra deben prepararse por lo menos dos alícuotas.

En el microscopio compuesto se cuentan entonces las intersecciones correspondientes a 4 líneas (dos horizontales y dos verticales) a ambos lados del centro del cubreobjetos, y se calcula el promedio para una línea.

El peso de micelio (en mg) en una muestra colocada bajo un cubreobjetos de 22 x 22 mm es igual al número de intersecciones para una línea (promedio de 4) multiplicado por el factor 0,000745. Este factor ha sido calculado multiplicando el total de líneas posibles en un cubreobjetos de 22 x 22 mm (20) por el valor de una intersección (1,57 mm) y dividiendo el producto por la longitud de hifas que contiene un mg de MEVA (42 146,26 mm).

El peso de MEVA correspondiente a una alícuota (promedio de por lo menos 2) puede ser entonces extrapolado a toda la muestra de la cual se conoce el peso seco total.

Como una alternativa, el método permite calcular la biomasa fungica debida a otros hongos no micorrizógenos teniendo en cuenta que las hifas de hongos endogonáceos pueden distinguirse de las de otras familias. Cuando se trate de experimentos de producción de micelio debe realizarse, además, el conteo del MEVA presente en el sustrato inicial.

Confiabilidad del método. El método fue empleado para conocer las biommas de MEVA totales o producidas durante un mes en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo (Herrera et al.,

1985 a). En estas mediciones fueron utilizadas 2 alícuotas por muestra y el promedio de ambas fue utilizado para calcular la biomasa total de MEVA en cada muestra. Los coeficientes de variación para las dos alícuotas de cada muestra fueron de aproximadamente 26,9% (valor medio) y variaron entre 2,2 y 104,6%. Para el caso de las tres muestras-réplicas, considerando separadamente las distintas capas de suelo estudiadas, estos valores estuvieron alrededor de 37,9% variando entre 14,4 y 66,5%. Considerando la biomasa total de 0 a 15 cm (3 réplicas) los coeficientes de variación fueron de 12,9 a 45,9% para un valor medio aproximado de 29,0%. Los coeficientes de variación fueron de 6,4 a 16,8% (12,07) para las mezclas iniciales esterilizadas, y de 4,5 a 36,2% (19,27) para las biommas producidas durante un mes (Herrera et al., 1985 a).

En otro experimento realizado para conocer los cambios en las producciones de MEVA al añadir distintas dosis de material orgánico (Herrera et al., 1985 b), el método se aplicó a las masas de micelio y material orgánico adherido extraídas de cada una de las tres réplicas. Debido a la escasez del material colectado fue analizada sólo una alícuota por réplica. Los coeficientes de variación fueron entre 21,9 y 44,9% presentando un máximo para el tratamiento con más contenido de material orgánico cuyas réplicas fueron influenciadas por su ubicación en la localidad estudiada (Herrera et al., 1985 b).

Para el caso del MEVA presente en seis muestras de madera en descomposición (Orasco et al., 1985) los valores variaron entre 6,8 y 38,1% con un valor medio de aproximadamente 24,4%. En estos conteos fueron utilizadas tres alícuotas por muestra.

Por último, en otro experimento hecho para conocer la influencia de las características físicas de dos suelos sobre la producción de MEVA (Herrera et al., 1985 c), los coeficientes de variación fueron de 1,7 a 29,4% (11,8) para las dos alícuotas correspondientes a cada una de las 18 muestras estudiadas. Las medias de MEVA (mg.dm⁻³) de las 3 réplicas de cada suelo (rojo o amarillo) en los 3 ecosistemas (6 tratamientos en total) dieron coeficientes de variación de 7,9 a 34,3% (18,4). En este experimento los tamizados secos habían sido mejor homogeneizados.

Los resultados demuestran que con una buena homogeneización pueden reducirse notablemente las variaciones de los resultados para las alícuotas, pero para reducir las provenientes de las réplicas sería necesario aumentar el número de éstas, solución que consideramos como innecesaria, ya que coeficientes de variación menores de 25% son ecológicamente aceptables. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que el método de por sí es muy laborioso.

El método de las intersecciones de Marsh (1971) se conoce por su exactitud en los datos que entrega (Giovannetti y Mosse, 1980). La determinación de biommas de micelio, sin

embargo, es altamente compleja debido a la variabilidad con que pueden presentarse los agregados miceliales en el suelo (Mosse, 1982; St. John, et al., 1983 b). A pesar de esto, consideramos que el método propuesto brinda una buena posibilidad para estas mediciones pues debe considerarse que los trabajos publicados acerca de las biomasa de MEVA en distintos experimentos o ecosistemas, o no mencionan los coeficientes de variación obtenidos, o estos son tan altos como los obtenidos por nosotros, como los reportados por Pacovsky y Bethlenfalvay (1982) que variaron entre 12 y 39%; o incluso mucho mayores como en los experimentos de St. John et al. (1983 a y b) donde variaron entre 58,4 y 117,0%.

En cuanto a la utilización de la técnica directa (extracción del MEVA en estereomicroscopio) para cuantificar la biomasa fungica en distintos experimentos o ecosistemas, consideramos que debe ser utilizada sólo en casos estrictamente necesarios. Aquellos que han dependido para la realización de su trabajo de la extracción de los agregados miceliales de las raicillas (Sanders y Tinker, 1973; Sanders et al., 1977; Nicolson y Johnston, 1979; Orozco et al., 1984) conocen perfectamente cuan difícil resulta tal procedimiento y que en la mayoría de los casos el MEVA se encuentra altamente contaminado con partículas de material orgánico, pelos radicales, y otras más pesadas de arena o suelo cuyo desprendimiento resulta prácticamente imposible. Consideramos que debido a esto los resultados de Nicolson y Johnston (1979) fueron altamente sobrevalorados (hasta 4,5g.dw⁻³). Tal criterio se demuestra por el hecho de que esta biomasa de MEVA sería igual que el peso de la biomasa de raicillas en un pastizal húmedo y mayor que el peso de la biomasa de raicillas en dos formaciones boscosas de la Sierra del Rosario (Herrera, 1985).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es parte del Proyecto D-231 de la Fundación Internacional para la Ciencia. El primer autor agradece profundamente a la Fundación la ayuda prestada así como el haber hecho posible su presentación en el Ciclo Lectivo sobre Micorrizas celebrado en Costa Rica del 18 al 28 de septiembre de 1985.

REFERENCIAS

Bethlenfalvay, G.J. y Pacovsky, R.S. (1983): Light effects in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiol.*, 73:969-972.
 Dowding, E.S. (1959): Ecology of Endogone. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:449-457.
 Gerdemann, J.W. (1968): Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu. Rev. Phytopath.*, 6:397-418.
 Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963): Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 46:235-244.
 Giovannotti, M. y Mosse, B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infec-

tion in roots. *New Phytol.*, 84:489-500.
 Herrera, R.A. (1985): Distribución de frecuencias de las biomasa de micelio extramatricio vesículo-arbuscular. (Preparado para publicar).
 Herrera, R.A., Ferrer, R.L. y Prikryl, Z. (1984): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripan. II. Comparación con otros métodos. *Acta Botánica Cubana*, No. 20 (Especial), ACC, pp. 159-175.
 Herrera, R.A., Orozco, M.O., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985 a): Biomasa y producción de micelio extramatricio VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985, ACC (En prensa).
 Herrera, R.A., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985b): Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramatricio VA en un bosque tropical. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985 (En prensa).
 Herrera, R.A., Orozco, M.O., Ferrer, R.L., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985): Estrategia nutricional de los bosques tropicales; la estera radical y las micorrizas VA. (En esta publicación).
 Marsh, B. a'B. (1971): Measurement of length in random arrangements of lines. *J. appl. Ecol.*, 8:265-267.
 Mosse, B. (1959): Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:439-448.
 Mosse, B. (1982): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. *Res. Bull. No. 194*, Hawaii Inst. Trop. Agric. and Human Resources, Univ. Hawaii, Honolulu, Hawaii, 82 p.
 Mosse, B., Stribley, D.P. y LeTacon, F. (1981): Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. En *Advances in Microbial Ecology* (M. Alexander, ed.) Plenum Press, pp. 157-209.
 Nicolson, T.H. (1959): Mycorrhiza in the Gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:421-438.
 Nicolson, T.H. y Johnston, C. (1979): Mycorrhiza in the Gramineae. III. *Glomus fasciculatus* as the endophyte of pioneer grasses in maritime sand dune. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 72: 261-268.
 Orozco, M.O., Fernández, C., Prikryl, Z., Vanoura, V. y Herrera, R.A. (1984): Observaciones del micelio extramatricio de las micorrizas vesículo-arbusculares al microscopio electrónico de barrido. *Acta Botánica Cubana* No. 20 (Especial)ACC, pp. 88-92.
 Orozco, M.O., Rodríguez, M.E., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L.

embase de papel de filtro grueso u otro similar que permita, una vez conectado a una bomba de vacío, extraer de la fracción tanta agua como sea posible antes de ponerla a secar al aire.

Posteriormente las muestras son secadas hasta peso constante en estufa a 80°C. Si además quieren contarse las esporas, debe pensarse la muestra seca al aire y separar una parte antes de ser colocada en la estufa con el fin de conocer el contenido de agua y no dañar las esporas vivas. En todo caso siempre deberá conocerse el peso seco de la muestra.

Después de secas las muestras son homogeneizadas a mano, pasándolas en seco por un tamiz de 0,250 mm. Debe tenerse mucho cuidado al homogeneizar y seleccionar las alícuotas para el análisis microscópico pues siempre la materia orgánica tiende a separarse de las partículas de suelo. La homogeneización, por otra parte, garantiza que las hifas, frágiles después del secado, se fraccionen en pequeños pedazos lo que ayuda a su distribución uniforme en la muestra.

De la muestra seca se toman alícuotas de 30 a 50 mg si el material es suelo o de 10 a 15 mg si es orgánico. Cada alícuota es entonces dispersada en glicerina de modo que ocupe una superficie igual a la del cubreobjetos de 22 x 22 mm. De cada muestra deben prepararse por lo menos dos alícuotas.

En el microscopio compuesto se cuentan entonces las intersecciones correspondientes a 4 líneas (dos horizontales y dos verticales) a ambos lados del centro del cubreobjetos, y se calcula el promedio para una línea.

El peso de micelio (en mg) en una muestra colocada bajo un cubreobjetos de 22 x 22 mm es igual al número de intersecciones para una línea (promedio de 4) multiplicado por el factor 0,000745. Este factor ha sido calculado multiplicando el total de líneas posibles en un cubreobjetos de 22 x 22 mm (20) por el valor de una intersección (1,57 mm) y dividiendo el producto por la longitud de hifas que contiene un mg de MEVA (42 146,26 mm).

El peso de MEVA correspondiente a una alícuota (promedio de por lo menos 2) puede ser entonces extrapolado a toda la muestra de la cual se conoce el peso seco total.

Como una alternativa, el método permite calcular la biomasa fúngica debida a otros hongos no micorrizógenos teniendo en cuenta que las hifas de hongos endogonáceos pueden distinguirse de las de otras familias. Cuando se trate de experimentos de producción de micelio debe realizarse, además, el conteo del MEVA presente en el sustrato inicial.

Confiability del método. El método fue empleado para conocer las biomases de MEVA totales o producidas durante un mes en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo (Herrera *et al.*,

1985 a). En estas mediciones fueron utilizadas 2 alícuotas por muestra y el promedio de ambas fue utilizado para calcular la biomasa total de MEVA en cada muestra. Los coeficientes de variación para las dos alícuotas de cada muestra fueron de aproximadamente 26,9% (valor medio) y variaron entre 2,2 y 104,6%. Para el caso de las tres muestras-réplicas, considerando separadamente las distintas capas de suelo estudiadas, estos valores estuvieron alrededor de 37,9% variando entre 14,4 y 66,5%. Considerando la biomasa total de 0 a 15 cm (3 réplicas) los coeficientes de variación fueron de 12,9 a 45,9% para un valor medio aproximado de 29,0%. Los coeficientes de variación fueron de 6,4 a 16,8% (12,07) para las mezclas iniciales esterilizadas, y de 4,5 a 36,2% (19,27) para las biomases producidas durante un mes (Herrera *et al.*, 1985 a).

En otro experimento realizado para conocer los cambios en las producciones de MEVA al añadir distintas dosis de material orgánico (Herrera *et al.*, 1985 b), el método se aplicó a las masas de micelio y material orgánico adherido extraídas de cada una de las tres réplicas. Debido a la escasez del material colectado fue analizada sólo una alícuota por réplica. Los coeficientes de variación fueron entre 21,9 y 44,9% presentando un máximo para el tratamiento con mas contenido de material orgánico cuyas réplicas fueron influenciadas por su ubicación en la localidad estudiada (Herrera *et al.*, 1985 b).

Para el caso del MEVA presente en seis muestras de madera en descomposición (Orasco *et al.*, 1985) los valores variaron entre 6,8 y 38,1% con un valor medio de aproximadamente 24,4%. En estos conteos fueron utilizadas tres alícuotas por muestra.

Por último, en otro experimento hecho para conocer la influencia de las características físicas de dos suelos sobre la producción de MEVA (Herrera *et al.*, 1985 c), los coeficientes de variación fueron de 1,7 a 29,4% (11,8) para las dos alícuotas correspondientes a cada una de las 18 muestras estudiadas. Las medias de MEVA (mg.dm⁻³) de las 3 réplicas de cada suelo (rojo o amarillo) en los 3 ecosistemas (6 tratamientos en total) dieron coeficientes de variación de 7,9 a 34,3% (18,4). En este experimento los tamizados secos habían sido mejor homogeneizados.

Los resultados demuestran que con una buena homogeneización pueden reducirse notablemente las variaciones de los resultados para las alícuotas, pero para reducir las provenientes de las réplicas sería necesario aumentar el número de éstas, solución que consideramos como innecesaria, ya que coeficientes de variación menores de 25% son ecológicamente aceptables. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que el método de por sí es muy laborioso.

El método de las intersecciones de Marsh (1971) se conoce por su exactitud en los datos que entrega (Giovannetti y Mosse, 1980). La determinación de biomases de micelio, sin

embargo, es altamente compleja debido a la variabilidad con que pueden presentarse los agregados miceliales en el suelo (Moase, 1982; St. John, et al., 1983 b). A pesar de esto, consideramos que el método propuesto brinda una buena posibilidad para estas mediciones pues debe considerarse que los trabajos publicados acerca de las biomasa de MEVA en distintos experimentos o ecosistemas, o no mencionan los coeficientes de variación obtenidos, o estos son tan altos como los obtenidos por nosotros, como los reportados por Pacovsky y Bethlenfalvay (1982) que variaron entre 12 y 39%; o incluso mucho mayores como en los experimentos de St. John et al. (1983 a y b) donde variaron entre 58,4 y 117,0%.

En cuanto a la utilización de la técnica directa (extracción del MEVA en estereomicroscopio) para cuantificar la biomasa fúngica en distintos experimentos o ecosistemas, consideramos que debe ser utilizada sólo en casos estrictamente necesarios. Aquellos que han dependido para la realización de su trabajo de la extracción de los agregados miceliales de las raicillas (Sanders y Tinker, 1973; Sanders et al., 1977; Nicolson y Johnston, 1979; Orozco et al., 1984) con ~~con~~ perfectamen- resulta tal procedimiento y que en la mayoría de los casos el MEVA se encuentra altamente contaminado con partículas de material orgánico, pelos radicales, y otras mas pesadas de arena o suelo cuyo desprendimiento resulta prácticamente imposible. Consideramos que debido a esto los resultados de Nicolson y Johnston (1979) fueron altamente sobrevalorados (hasta 4,5g.dw³). Tal criterio se demuestra por el hecho de que esta biomasa de MEVA sería igual que el peso de la biomasa de raicillas en un pastizal húmedo y mayor que el peso de la biomasa de raicillas en dos formaciones boscosas de la Sierra del Rosario (Herrera, 1985).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es parte del Proyecto D-251 de la Fundación Internacional para la Ciencia. El primer autor agradece profundamente a la Fundación la ayuda prestada así como el haber hecho posible su presentación en el Ciclo Lectivo sobre Micorrizas celebrado en Costa Rica del 18 al 28 de septiembre de 1985.

REFERENCIAS

- Bethlenfalvay, G.J. y Pacovsky, R.S. (1983): Light effects in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiol.*, 73:969-972.
- Dowding, E.S. (1959): Ecology of Endogone. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:449-457.
- Gerdemann, J.W. (1968): Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annu. Rev. Phytopath.*, 6:397-418.
- Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963): Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 46:235-244.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infec-

- tion in roots. *New Phytol.*, 84:489-500.
- Herrera, R.A. (1985): Distribución de frecuencias de las biomasa de micelio extramatricio vesículo-arbuscular. (Preparado para publicar).
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L. y Prikryl, Z. (1984): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripén. II. Comparación con otros métodos. *Acta Botánica Cubana*, No. 20 (Especial), ACC, pp. 159-175.
- Herrera, R.A., Orozco, M.O., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985 a): Biomasa y producción de micelio extramatricio VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de Julio de 1985, ACC (En prensa).
- Herrera, R.A., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985b): Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramatricio VA en un bosque tropical. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de Julio de 1985 (En prensa).
- Herrera, R.A., Orozco, M.O., Ferrer, R.L., Ruiz, M. y Furrasola, E. (1985): Estrategia nutricional de los bosques tropicales; la estera radical y las micorrizas VA. (En esta publicación).
- Marsh, B. a'B. (1971): Measurement of length in random arrangements of lines. *J. appl. Ecol.*, 8:265-267.
- Mosse, B. (1959): Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:439-448.
- Mosse, B. (1982): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. *Res. Bull. No. 194, Hawaii Inst. Trop. Agric. and Human Resources, Univ. Hawaii, Honolulu, Hawaii*, 82 p.
- Mosse, B., Stribley, D.P. y LeTacon, F. (1981): Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. En *Advances in Microbial Ecology* (M. Alexander, ed.) Plenum Press, pp. 157-209.
- Nicolson, T.H. (1959): Mycorrhiza in the Gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 42:421-438.
- Nicolson, T.H. y Johnston, C. (1979): Mycorrhiza in the Gramineae. III. *Glomus fasciculatus* as the endophyte of pioneer grasses in maritime sand dune. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 72: 261-268.
- Orozco, M.O., Fernández, C., Prikryl, Z., Vancura, V. y Herrera, R.A. (1984): Observaciones del micelio extramatricio de las micorrizas vesículo-arbusculares al microscopio electrónico de barrido. *Acta Botánica Cubana* No. 20 (Especial) ACC, pp. 88-92.
- Orozco, M.O., Rodríguez, M.E., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L.

- (1985): Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. (En esta publicación).
- Pacovsky, R.S. y Bethlenfalvay, G.J. (1982): Measurement of the extraradical mycelium of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil by chitin determination. *Plant and Soil*, 68: 143-147.
- Sanders, F.E.T. y Tinker, P.B.H. (1973): Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.*, 4:385-395.
- Sanders, F.E.T., Tinker, P.B.H., Black, R.L.B. y Palmerley, S. M. (1977): The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophytes. *New Phytol.*, 78: 257-268.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 a): Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. *Ecology*, 64:957-959.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 b): Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity. *Plant and Soil*, 71:487-493.

PERSPECTIVAS PARA LA UTILIZACION DE LAS MICORRIZAS VESICULO ARBUSCULARES EN EL CULTIVO DE LOS CITRICOS EN CUBA

N. BOUZA¹, R. A. HERRERA², R. L. FERRER², y J. PRIETO¹

1 Estación Experimental de Cítricos, Ministerio de la Agricultura, Torriente, Matanzas, Cuba.

2 Instituto de Botánica, Academia de Ciencias de Cuba, Habana, Cuba.

RESUMEN

Se diseñaron dos experimentos, uno para conocer el efecto de varias especies de hongos micorrizógenos VA sobre el crecimiento de Citrus aurantium y otro en el que se ensaya el efecto de dos especies, Glomus fasciculatum y Glomus epigaeum sobre tres patrones de cítricos (Citrus aurantium, Citrus rostrum Citrus macrophylla) utilizados comúnmente en la propagación de plantas en los viveros de la Empresa de Cítricos "Victoria de Girón" Jagüey Grande. En el experimento 1, algunas de las especies inoculadas no desarrollaron su infección posiblemente debido al pH del suelo. La especie Glomus mossoni produjo la mayor respuesta en Citrus aurantium. En el experimento 2 fue Glomus fasciculatum el hongo más eficiente en los tres patrones. Para ambos experimentos se analiza la densidad de infección micorrizica y la infección total, se reflejan las dinámicas de crecimiento y los valores de todos los caracteres evaluados. Además, se hacen algunas consideraciones sobre el pH de las especies más eficientes.

ABSTRACT

Two trials were order to know the effect of some species of VA mycorrhizal fungi on the growth of Citrus aurantium and the effect of two species, Glomus fasciculatum and Glomus epigaeum on three Citrus rootstocks (Citrus aurantium, Citrus rostrum and Citrus macrophylla) commonly used in the propagation of plants in the nurseries of the "Victoria de Girón" Citrus Enterprise (Jagüey Grande). In the first trial some of the inoculated species do not develop its infection, probably due to the soil pH. The specie Glomus mossoni gave the mayor response in sour orange. In the second trial, the most effective fungi on the three rootstocks was Glomus fasciculatum. The mycorrhizal infection density and total infection are analyzed in both trials. Growth dynamics and the values of all features evaluated are present. Moreover, some considerations on the pH of the most effective species are made.

INTRODUCCION

El estudio de los hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares cobra cada vez mayor importancia. El conocimiento de sus efectos sobre la nutrición y la fisiología en general de la planta, son aspectos de vital interés en la comprensión del papel que estos desempeñan en la naturaleza y que permitirán la explotación efectiva de sus propiedades como fertilizante biológico.

Algunos estudios han demostrado que las plantas no responden de igual forma a los hongos micorrizógenos VA y que estos a su vez varían en su habilidad para estimular el crecimiento de la planta (Menge et al., 1978; Menge & Johnson, 1978).

Los investigadores coinciden en plantear la alta dependencia micorrizica que poseen las especies de cítricos cultivados en la actualidad (Menge et al., 1977; Nemeo, 1978). En los estudios realizados en Sudáfrica (Lee et al., 1978) y en los Estados Unidos (Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Newcomb, 1975; Schenck & Tucker, 1974; Timmer & Leyden, 1978; Nemeo & Patterson, 1979; Ferguson & Menge, 1981) se han encontrado incrementos en el crecimiento de las plantas cítricas, siendo éstos de hasta 26 veces más que el control en suelos esterilizados (Kleinschmidt & Gerdemann, 1972).

Los resultados de algunos investigadores al estudiar la dependencia micorrizica en los patrones de cítricos son contradictorios (Martin et al., 1963; Kleinschmidt & Gerdemann, 1972; Tucker & Anderson, 1972; Newcomb, 1975; Davis & Menge, 1981) y esta puede variar debido a factores como la fertilidad del suelo (Menge et al., 1978) y específicamente debido a la cantidad de fósforo disponible (Mosse, 1973) y la presencia o no de pelos radicales (Daylis, 1970).

Diversos autores plantean la gran influencia que tiene el pH del suelo sobre los hongos micorrizógenos VA (Kruckelmann, 1975; Nemeo et al., 1981) y el comportamiento diferencial de las distintas especies de hongos micorrizógenos ante diferentes condiciones de pH (Moawad, 1979).

Recientemente se han comenzado en Cuba, los estudios sobre los hongos micorrizógenos en el cultivo de los cítricos. El objetivo de este trabajo es demostrar la conveniencia del uso de estos hongos para su explotación en la citricultura cubana para la consecución de este objetivo se realizaron dos experimentos; el primero, para conocer el efecto de distintas especies de hongos micorrizógenos VA sobre el crecimiento de plantas de Citrus aurantium L. y otro, en el que se utilizan tres patrones, Citrus aurantium L., Citrus rostrum Hort. ex Tan. y Citrus macrophylla Vester para estudiar la influencia de Glomus fasciculatum (Thaxter) Gerdemann & Trappe y Glomus epigaeum Daniels & Trappe.

MATERIALES Y METODOS

Experimento 1. Se sembraron semillas de naranjo agrio (*Citrus aurantium*) en un suelo amarillo tropical (loam arenoso), esterilizado durante 2 horas a 70°C. El suelo fue enonado con 1g de Ca CO3 por kilogramo de suelo para aumentar el pH hasta 6,7. Al alcanzar de 5 a 6 cm de altura, las plántulas se trasplantaron a bolsas con suelo ferralítico rojo (arcilloso) esterilizado de igual forma que la descrita anteriormente.

Las especies utilizadas como inóculos fueron *Glomus mosseae* (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe, *Glomus fasciculatum*, *Glomus macrocarpum* Tul & Tul, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus caledonium* (Nicolson & Gerdemann) Trappe & Gerdemann y un inóculo compuesto por distintas especies con predominio de *Gigaspora heterogama* (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe. Para el tratamiento JAG se utilizó un tuzizado de suelo procedente de plantas sanas cultivadas en un vivero de cítricos de la empresa "Victoria de Girón" (Jagüey Grande). Para el control no estéril (CHE), las plantas se sembraron en suelo no esterilizado, en el que se encontraron fundamentalmente esporas de *Glomus mosseae* y *G. geosporum*. El control estéril (CE) no recibió inoculación.

Las plantas se fertilizaron con solución de NH4 NO3 cada tres semanas, hasta completar 240mg de nitrógeno por bolsa. Cada tratamiento estuvo constituido por cuatro plantas. Se siguió la dinámica de crecimiento de las plantas. Después de cinco meses de crecimiento se obtuvieron los pesos secos de follaje, raicillas y raíz principal. Se determinaron los contenidos de macroelementos foliares (P, K, Na, Ca y Mg) de cuatro tratamientos (2 micorrízicos y 2 no micorrízicos) según los métodos de Herrera et al., 1980.

Experimento 2. Semillas certificadas de naranjo agrio, mandarina 'Cleopatra' (*Citrus reshui*) y limón 'Macrófila' (*Citrus macrophylla*) se sembraron en un suelo ferralítico rojo (arcilloso), esterilizado con bromuro de Metilo + 2% de Cloropiridin durante 18 horas en un recipiente hermético. A los 45 días de germinadas, las plantas se trasplantaron a macetas de barro con suelo estéril y se inocularon con dos especies de hongos micorrizógenos, *G. fasciculatum* y *G. epigaeum*. Además, se utilizó un control con suelo no estéril y otro con suelo estéril no inoculado. Se usaron 5 réplicas de 4 plantas por tratamiento. Las plantas se fertilizaron con solución nutritiva, 10-0-10-2 cada 2 meses.

Se siguieron las dinámicas de crecimiento de las plantas y cuando alcanzaron 36 semanas, se determinó la altura final, peso seco de follaje, diámetro del tallo, peso seco de raíz y de raicillas.

En ambos experimentos, se determinó la densidad de infección:

micorrízica (D.I) expresada en mg de azul de tripán por gramo de peso seco de raicillas, por el método de elución del azul de tripán descrito por Herrera et al. (1984 a y b), a muestras previamente teñidas según la técnica de Phillips & Hayman (1970). Además, se calculó la infección total (I.T.) multiplicando la D.I. por el peso seco de raicillas de cada planta expresada como mg de azul de tripán. Se realizaron los análisis de varianza y la prueba de Duncan, para determinar las diferencias entre los tratamientos para los distintos caracteres evaluados.

Los resultados del análisis del suelo empleado en los dos experimentos se muestran en la Tabla 1.

RESULTADOS Y DISCUSION

Dinámica de crecimiento.

En la Fig.1 se grafican las mediciones de altura a partir de las 7 semanas posteriores a la inoculación hasta las 16 semanas, fecha en que concluyó el primer experimento. Como se observa, las pendientes de las curvas de crecimiento para los tratamientos inoculados con *Glomus mosseae*, mezcla de suelo de Jagüey y el control no estéril fueron mucho más pronunciadas, mientras que los demás presentaron un crecimiento mucho más lento y con similares tendencias entre sí. Al parecer, a las 7 semanas, las plantas de los tratamientos CHE e inoculadas con *G. mosseae* estaban mucho más favorecidas por la simbiosis que las inoculadas con suelo de Jagüey, ya que este último tenía valores inferiores, incluso que los tratamientos no infectados, no obstante, a partir de este momento la pendiente de la curva de crecimiento es notablemente alta.

En la Fig.2,3 y 4 se presentan las dinámicas de naranjo agrio, mandarina 'Cleopatra' y limón 'Macrófila' respectivamente en el segundo experimento. Estas siguen la misma tendencia en los cuatro tratamientos utilizados. Al igual que en el experimento 1, las plantas inoculadas de los tres patrones en estudio alcanzaron mayores tallas que las plantas control. Además, el tratamiento con *G. fasciculatum* produjo un crecimiento superior en estos patrones.

Si consideramos que en ambos experimentos las plantas control no mostraron infección micorrízica, podemos afirmar que estos resultados son similares a los obtenidos por otros investigadores que encontraron que las plantas con micorrizas crecen más rápido y más saludables, sobre todo a bajas concentraciones de nutrientes en el suelo.

Producción de materia vegetal.

En la Tabla 2, se expresan los resultados de los análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples de Duncan, en la producción de materia seca de plantas de naranjo agrio con y sin inóculos en el experimento 1. El análisis de varianza mostró una diferencia altamente significativa entre los tratamientos 2, 3 y 4 (CBE, JAG y MOS respectivamente) y los demás, lo que indica que las plantas micorrizicas tienen amplias ventajas, con respecto a las no micorrizicas, para todos los caracteres evaluados y concuerda con los resultados de otros investigadores.

Aun cuando en los tratamientos 5, 6, 7, 8 y 9 (Tabla 2) se utilizaron inóculos de *G. caldonium*, *Gigaspora margarita*, *Gigaspora heterogama*, *G. macrocarpum* y *G. fasciculatum* respectivamente, estos no se desarrollaron. Sin embargo, el análisis de las cepas demostró alta infectividad en otras condiciones de suelo y con otras especies de plantas. Sin duda, algún factor del suelo debió incidir negativamente en su desarrollo. El pH pudo haber desempeñado un papel importante, ya que parece ser determinante en el desarrollo de algunas especies de hongos VA. Por otra parte, las especies de hongos que no produjeron micorrizas en este experimento fueron en general típicas de suelo con pH ácido.

La prueba de Duncan mostró que entre los tratamientos más eficientes (CBE, JAG y MOS) no existieron diferencias para los valores de altura final. Sin embargo, el tratamiento con mezcla de suelo de Jagüey presentó en todos los análisis de peso seco valores inferiores con respecto a los demás.

Las Fig. 5, 6, 7 y 8 muestran las diferencias en formación de biomasa para ambos experimentos, en los cuales los controles presentaron los síntomas típicos de achaparramiento, plantas pequeñas con hojitas cloróticas, necróticas en los bordes y que caen prematuramente como han sido encontradas por Kleinschmidt y Gerdemann (1972) en viveros esterilizados.

Las Tablas 3, 4 y 5 refieren los valores de altura final, diámetro del tallo, peso seco de follaje y raíz de las plantas de los tres patrones usados en el experimento 2, las plantas inoculadas con *G. fasciculatum* alcanzaron un crecimiento significativamente superior al obtenido por las plantas que crecieron en el suelo no estéril y las inoculadas con *G. opigaeum*, expresado en todos los caracteres morfológicos evaluados en los tres patrones.

Los tratamientos 2 y *G. opigaeum* en *Citrus aurantium* (Tabla 3) difirieron significativamente en la altura y peso seco de follaje, mientras que en el diámetro del tallo y en el peso seco de raíz no presentaron diferencias significativas, sin embargo en la mandarina 'Cleopatra' (Tabla 4) y el limón 'Macrófila' (Tabla 5) no hubo diferencias para ningún carácter. El comportamiento de los tres patrones estudiados (agrio, 'Cleopatra' y 'Macrófila') fue muy similar, las plantas con-

troles se quedaron pequeñas y los dos hongos micorrizógenos inoculados produjeron una respuesta similar en estos patrones.

Homoa (1976) consideró al naranjo agrio como el extremo de la dependencia micorrizica en cítricos. Martin et al. (1963), encontraron en suelos esterilizados de los viveros que la mandarina 'Cleopatra' fue muy sensible al achaparramiento. Por su parte Tucker & Anderson (1972) en Florida encontraron que la mandarina 'Cleopatra' fue achaparrada, mientras que en Illinois (Kleinschmidt & Gerdemann, 1972) la mandarina 'Cleopatra' y el naranjo agrio fueron progresivamente menos dependientes. Estos resultados son contradictorios y dependen de factores tales como las especies micorrizicas que participan en la simbiosis (Hesse, 1972), tipo de suelo (Daylis, 1967), fertilidad y específicamente fósforo disponible (Hosse, 1973).

Hongo et al. (1978), han explicado que las diferencias encontradas en la dependencia micorrizica en los suelos fumigados es debido, posiblemente, al efecto de diferentes regímenes de nutrientes sobre la micorrización; ellos encontraron que la concentración de fósforo en el tejido foliar de cítricos no micorrizicos se correlacionó inversamente con la dependencia micorrizica a un nivel de fertilidad dado, y que otros nutrientes, además del fósforo, pueden alterarla. También observaron que al variar el suplemento de elementos (manteniendo constante y bajo el fósforo) se alteró sustancialmente la dependencia en agrio y 'Macrófila'.

Otro factor involucrado en la dependencia micorrizica es la presencia o no de pelos radicales (Daylis, 1970). Pelos radicales cortos indican un alto grado de dependencia y viceversa. En nuestro experimento, en raras ocasiones se observaron pelos radicales en la epidermis de los segmentos analizados, lo que unido al retraso que sufrieron las posturnas controles, nos confirma que los patrones que se usan actualmente en nuestra empresa son dependientes de las micorrizas en suelos fumigados con bajo contenido de fósforo asimilable (4,6 ppm) y que la posibilidad de esterilización de los suelos en los viveros de cítricos, debe estar estrechamente vinculada al estudio de las micorrizas VA o al aumento de la fertilización de dichos suelos.

Densidad de infección micorrizica e infección total.

En la tabla 2 se muestran también los valores de la densidad de infección y de infección total en plantas de *Citrus aurantium*, la D.I. se presentó con un valor significativamente superior para el inóculo JAG, no obstante, el desarrollo del sistema radical en este fue más pobre, por lo que se igualaron los valores de infección total. Dada la alta D.I. obtenida para las plantas inoculadas con el tratamiento de Jagüey y

teniendo en cuenta la lentitud con que estas plantas alcanzaron su máximo crecimiento, cabe pensar la posibilidad de que se hubiera obtenido una eficiencia superior en este tratamiento si la infectividad y efectividad del inóculo hubiera sido alta desde un inicio, como al parecer fue para el CBE y MOS (ver Fig.1). Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que las especies VA presentes en JAG tengan como característica dar su máximo efecto a niveles altos de D.I., caso en el cual la primera hipótesis quedaría eliminada. Vale la pena observar, que en los tratamientos más eficientes CBE y MOS, la D.I. fue en cifras la mitad de la obtenida en JAG, lo cual indica una mayor eficiencia simbiótica.

Las plantas de Citrus aurantium inoculadas con G. epigaeum (Tabla 3) presentaron una densidad de infección micorrizica superior a la obtenida en el control no estéril y las plantas inoculadas con G. fasciculatum, aun cuando en este último tratamiento se obtuvo la mejor respuesta de las plantas. La infección total no difirió significativamente entre los tratamientos inoculados con ambas especies de Glomus, pero fue marcadamente diferente en el control no estéril.

A diferencia del comportamiento bastante parejo que presentaron estos patrones ante los mismos tratamientos, la densidad de infección y la infección total tuvieron una tendencia diferente. En mandarina 'Cleopatra' (Tabla 4) la D.I. obtenida en las plantas inoculadas con Glomus fasciculatum fue superior a la G. epigaeum, sin embargo los valores de infección total no difirieron entre tratamiento, aunque se presentaron respuestas diferentes al crecimiento.

La Tabla 5 refleja los valores de D.I. e infección total en Citrus macrophylla, este al igual que el naranja agrio presentó valores de densidad de infección superiores en las plantas inoculadas con G. epigaeum, sin embargo, la infección total tuvo valores superiores en el tratamiento con G. fasciculatum, mientras que hubo diferencias en este carácter entre el CBE y G. epigaeum; en este patrón la mayor infección se alcanzó en las plantas con mayor desarrollo.

Estos resultados un tanto contradictorios, nos hacen pensar que la D.I. o la cantidad de infección total, no siempre son estimadores adecuados para evaluar la eficiencia, sino que hay que tener en cuenta la especie de hongo micorrizógeno que participe en ella; aunque indudablemente la determinación de estos valores mediante el método propuesto por Herrera et al. (1984 a y b) nos dan aproximaciones más cercanas a la realidad que otros métodos visuales de cuantificación de estos. Los excesos de azul de tripan en los controles no micorrizicos fueron menores de 1,2 mg/planta.

Macroelementos foliares

En el experimento 1, para los dos inóculos que mostraron mejores resultados CBE y MOS (2 y 4) fue realizado el análisis foliar, cuyos valores medios se muestran en la Tabla 6. Los resultados fueron comparados con los análisis foliares para los tratamientos no micorrizicos CE (1) y FAS (9). No fue posible efectuar los análisis de varianza para los tratamientos 1 y 9 por la falta de réplicas. Como era de esperar, en todos los casos los valores de fósforo, potasio, sodio, calcio y magnesio alcanzaron valores superiores para las plantas micorrizicas con respecto a las no micorrizicas.

El análisis de varianza entre los tratamientos CBE y MOS mostró valores de fósforo superiores significativamente para el tratamiento MOS, lo que indica una ventaja de este inóculo micorrizico puro y concentrado con respecto a la combinación de especies presentes en el CBE, a pesar de haberse encontrado en el mismo G. mossonae en forma predominante. Esta ventaja se refuerza si consideramos que el inóculo puro no trae asociados patógenos, ya que aun cuando el tratamiento CBE llevara a valores comparables con el tratamiento MOS, en el orden práctico, este último, sería la variante idónea para el éxito en el desarrollo de la postura.

Los valores para potasio, sodio, calcio y magnesio no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos mencionados anteriormente.

Prospectivas para la utilización de las micorrizas en el área de estudio.

Los resultados provenientes de los experimentos 1 y 2 evidencian el gran beneficio que puede esperarse al utilizar como inóculos para los patrones de cítricos los hongos micorrizógenos Glomus mossonae y Glomus fasciculatum.

Se ha demostrado que la especie G. mossonae posee cierta afinidad hacia los suelos de pH cercano a neutro o alcalino (Rosso & Thompson, 1984; Herrera 1985), aunque se han obtenido efectos específicos de la cepa sobre el cedro en subsuelos de pH muy ácido (Perron et al., 1985).

En cuanto a Glomus fasciculatum, se han informado afinidades hacia pH cercanos a 6 al menos en las cepas provenientes de Europa (Rosso & Thompson, 1984) que fueron también las utilizadas en el experimento 1. Sin embargo, la cepa colocada en Topes de Collantes, Cuba, que se presentó inicialmente en los controles no estériles de majagua y cedro (Perron et al., 1985) en el subsuelo pH ácido, y de la que posteriormente fue logrado su cultivo en macetas, parece tener un comportamiento mucho más amplio en cuanto a los valores de pH. Por otra parte, en Cuba hemos encontrado G. fasciculatum en suelos completamente distintos en textura, estructura y nutrientes y con valores de pH desde 4,8 hasta 8,0 (Herrera, 1985).

Los resultados ameritan por tanto, intentar la producción de las cepas de hongos VA más productivas (G. mossense y G. fasciculatum) con vistas a su introducción a gran escala en los viveros de cítricos de la región.

CONCLUSIONES

- 1- Las plantas micorrízicas en todos los patrones presentaron valores significativamente superiores de altura y peso seco de las diferentes partes de la planta, con respecto a las no micorrízicas.
- 2-En Citrus aurantium en el experimento 1, todos los valores de peso seco fueron significativamente menores en el inóculo con suelo de Jagüey que con CIB y NOS.
- 3-Los patrones estudiados (naranja agrio, mandarina 'Cloopa tin' y limón 'Macrófila') en el experimento 2 produjeron una respuesta superior al inocularse con Glomus fasciculatum que con Glomus epigaeum, con valores de altura final y peso seco significativamente superiores.
- 4-El pH del suelo fue al parecer, el factor principal que ocasionó la formación de micorrizas a partir de los inóculos utilizados en el experimento 1. Para el pH del suelo utilizado en ese experimento (7,7), cinco inóculos fallaron en producir micorrizas por preferir suelos de pH ácido.
- 5-En el experimento 1, a pesar de las diferencias entre los tratamientos micorrízicos, la cantidad de infección total no mostró diferencias significativas entre ellos, ya que aunque el tratamiento JAG tenía una densidad de infección significativamente superior, su sistema radical fue más pobre.
- 6-En el experimento 2, aun cuando los patrones tuvieron una respuesta similar, la densidad de infección y la infección total no se comportaron de la misma forma.
- 7-Las plantas de agrio micorrízicas tuvieron cantidades significativamente superiores de fósforo, potasio, sodio, calcio y magnesio foliares, que las no micorrízicas, y al comparar los tratamientos NOS y CIB, el primero mostró valores superiores significativamente en la cantidad de fósforo foliar y no se encontraron diferencias en las cantidades de potasio, sodio, calcio y magnesio.
- 8-Se comprobó que la teoría de Daylis acerca de que la dependencia micorrízica de las especies vegetales está inversamente relacionada con el desarrollo de su sistema de pelos radicales parece tener un valor predominante en el papel ecológico de los endófitos VA.

RECOMENDACIONES

Estos resultados avalan la posibilidad de intentar la esterilización de los suelos en los viveros y su posterior inoculación con hongos micorrizógenos eficientes, lo que posibilitará la obtención de patrones de cítricos sanos y mejor desarrollados.

Debido a que estos cambios que se recomiendan no se aplican en la tecnología actual de viveros en nuestra Empresa, se hace necesario probar varios esterilizantes del suelo, así como métodos efectivos de inoculación de las plantas. Además se recomienda la producción de inóculos de los hongos Glomus fasciculatum y Glomus mossense, con vistas a su aplicación en la práctica agrícola.

REFERENCIAS

DAYLIS, G. T. S. (1967): Experiments on the ecological significance of phycomycetous mycorrhizas. New Phytol., 66:231.

----- (1970): Root hairs and phycomycetous mycorrhizas in phosphorous-deficient soil. Plant Soil, 33:713.

DAVIS, R. H., y MENGE, J. A. (1981): Phytophthora parasitica inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Citrus. New Phytol., 87:705-715.

MURPHY, J. J., y MENGE, J. A. (1981): Inoculum production and field application of endomycorrhizal fungi. Phytopathology, 71:873.

MURPHY, A., MENGER, R. L., y HERRERA, R. A. (1985): Influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de posturas de Hibiscus elatus Sw. (majagua) y Cedrella mexicana J. R. Rose (cedro). Memorias del Primer Simposio Cubano de Botánica, La Habana, 2-5 de Julio de 1985 (en prensa).

HERRERA, R. A. (1985): Las micorrizas vesículo-arbusculares como ayuda para la repoblación forestal en Cuba. Ciclo Lectivo sobre Micorrizas, Turrialba, Costa Rica, 15-25 de Septiembre de 1985. IPS Reporte Provisional (en prensa).

-----, MURPHY, R. L., y MENGER, J. (1984a): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripán. I. Descripción del método. Acta Botánica Cubana, (20):143-158.

-----, ----- y ----- (1984b): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripán. II. Comparación con otros métodos. Acta Botánica Cubana, (20):159-175.

HERRERA, R. S., GONZALEZ, S. B., HADDY, C., PEDRERO, D. H., GARCIA, H., SERNA, A., RIOS, C., GARCIA, R., ERIGTERA, D., y CUESTA, A. (1980): Análisis químico del pasto: Metodología para las tablas de composición. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, 108pp.

HEINSCHEIDT, G. D. y GERDENHAGEN, J. W. (1972): Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soils related to the absence of endomycorrhizae. Phytopathology, 62(12): 1447-1453.

KRUCHENHAGEN, H. W. (1975): Effects of fertilizers, soils, soil tillage, and plants species on the frequency of Endogone chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soils. En Endomycorrhizas (P. D. SANDERS, B. HOSSE y P. D. TERNER, eds.), Academic Press, Londres.

LEE, A. T. C., VON DROEBMSEN, L. A., y HATTEIGH, H. J. (1978): Endomycorrhizal fungi enhance growth of rough lemon seedlings in fumigated nursery soil. Citrus Sub-tropical Fruit J., 536:5-8.

MARTIN, J. P., BAILEY, R. C., y PAGE, A. L. (1963): Observations on the occasional temporary growth inhibition of citrus seedlings following heat or fumigation treatment of the soil. Soil Sci., 95:175-185.

RENCE, J. A., LEHRWRIGHT, H., y JOHNSON, E. L. V. (1977): Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1:129-132.

-----, y JOHNSON, E. L. V. (1978): Commercial production of mycorrhizal inoculum may benefit citrus groves. Citrograph, 63(6): 139-143.

-----, -----, y PLATT, R. G. (1978): Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. New Phytol., 81:553-559.

HOAGLAND, H. (1979): Ecophysiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza in the tropics. En The Soil-root Interface (J. I. HARLEY, y R. SCOTT, eds.), Academic Press, Londres, 197-209.

HOSSE, B. (1972): The influence of soil type and Endogone strains on the growth of mycorrhizal plants in phosphate-deficient soils. Rev. Ecol. Biol. Sol., 9:529-537.

----- (1973): Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. A. Rev. Phytopathol., 11:171-186.

HOSSE, B., y THOMPSON, J. F. (1984): Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (Vicia vulgaria) in nutrient flow culture. Can. J. Bot., 62:1523-1530.

HEBER, S. (1978): Response of six citrus rootstocks to three species of Glomeris, a mycorrhizal fungus. Proc. Florida State Hort. Soc., 91:10-14.

-----, y PATTERSON, M. (1979): Comparative growth of mycorrhizal and nonmycorrhizal citrus in the field in Florida. Citrus Industry, 60(7): 31-40.

-----, RENCE, J. A., PLATT, R. G., y JOHNSON, E. L. V. (1981): Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus in Florida and California and notes on their distribution and ecology. Mycologia, 73(1): 112-127.

HEWSON, D. A. (1975): Mycorrhiza effects following soil fumigation. Proc. Int. Plant Propagators' Soc., 25:102-104.

PHILLIPS, J. M., y HAYMAN, D. S. (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc., 55: 158-161.

SCHENCK, N. C., y TUCKER, D. P. H. (1974): Endomycorrhizal fungus and the development of citrus seedlings in Florida fumigated soils. J. Am. Soc. Hort. Sci., 99:284-287.

TERNER, L. W., y LEYDEN, R. F. (1978): Relationship of seedbed fertilization and fumigation to infection of sour orange seedlings by mycorrhizal fungi and Phytophthora parasitica. J. Am. Soc. Hort. Sci., 103:537-541.

TUCKER, D. P. H., y ANDERSON, C. A. (1972): Correction of citrus seedlings stunting on fumigated soils by phosphate application. Proc. Florida State Hort. Soc., 85:10-12.

Tabla 2. Influencia de varias líneas de hongos micorrizógenos VA sobre el crecimiento y la densidad de infección de plántulas de Citrus aurantium en el Experimento 1.

Trat.	Alt. Final (cm)	Peso Seco de follaje (g)	Peso Seco de raíces (g)	Peso Seco raíz ppal. (g)	D.I. mg AT/gPSr	Cantidad total de infección (mg AT)
CE(1)	11,02(1,67)b	0,38(0,07)d	0,11(0,03)e	0,18(0,04)d	0 o 0	b
CNE(2)	22,90(7,05)a	1,90(0,53)b	0,43(0,10)a	0,52(0,10)b	3,00(0,89)b	1,34(0,59)a
JAG(3)	23,63(1,43)a	1,34(0,24)c	0,27(0,04)b	0,31(0,04)c	6,08(0,17)a	1,64(0,27)a
MOS(4)	26,05(2,06)a	2,25(0,33)a	0,45(0,01)a	0,74(0,11)a	3,10(0,92)b	1,39(0,39)a
LAM(5)	11,95(0,87)b	0,32(0,08)d	0,12(0,02)e	0,16(0,04)d	0 o 0	b
MAR(6)	11,25(0,54)b	0,38(0,04)d	0,12(0,02)e	0,18(0,02)d	0 o 0	b
PAN(7)	11,95(1,32)b	0,37(0,05)d	0,11(0,03)e	0,16(0,03)d	0 o 0	b
MAC(8)	10,68(0,76)b	0,35(0,04)d	0,09(0,02)e	0,15(0,03)d	0 o 0	b
FAS(9)	10,58(0,70)b	0,29(0,05)d	0,12(0,02)d	0,15(0,01)d	0 o 0	b

Nota: Letras distintas denotan diferencias significativas entre las medias.
P < 0,01

Tabla 1. Análisis del suelo ferralítico utilizado en los dos experimentos.

MI	1 asim.	2 tot.	3 asim.	Ca	Mg	Fe*	Mn*	Mo*	Cu*	Zn*			
						mg/1000 g de suelo							
1.1	7,7	7,0	0,09	170,94	1,02	2712,0	213,0	3000	10-100	1,0	10-20	10-100	3,0
			MB		MA		MA						
2.2	6,1	7,5	4,66	n.d	n.d	4500,0	610,0	n.d	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			MB			MA	MA						

MB= muy bajo

MA= muy alto

* Análisis semicuantitativos; n.d. (No determinado)

Tabla 4. Caracteres evaluados en plantas de Citrus reshni con y sin inoculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

-224-

Tratamiento	Altura Final (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raíz (g)	D.I. mg AT/g PSr	I.T. mg AT
Control Esteril	6,03(0,76)c	1,28(0,14)c	0,03(0,02)c	0,11(0,04)c	0	0
Control no Esteril	19,47(1,74)b	3,57(0,33)b	1,39(0,26)b	1,07(0,29)b	3,63(0,84ab)	2,07(0,80)a
<u>Glomus fasciculatum</u>	36,00(1,31)a	4,47(0,21)a	3,05(0,41)a	1,87(0,28)a	4,51(1,44)a	3,14(1,42)a
<u>Glomus epigaeum</u>	18,26(3,97)b	3,16(0,52)b	1,12(0,48)b	1,23(0,51)b	3,05(0,67)b	2,69(1,47)a

Nota: Valores medios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para $P < 0,01$

Tabla 3. Caracteres evaluados en plantas de Citrus aurantium con y sin inoculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

-223-

Tratamientos	Altura Final (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raíz (g)	D.I. mg AT/g PSr	I.T. mg AT
Control Esteril	5,93(0,28)d	1,73(0,08)c	0,04(0,01)d	0,83(0,05)c	0	0
Control no Esteril	16,17(4,23)b	3,63(0,67)b	1,53(0,74)b	1,67(0,76)b	1,70(0,41)b	1,81(0,87)b
<u>Glomus fasciculatum</u>	22,84(3,42)a	4,90(0,41)a	3,20(0,68)a	3,38(0,54)a	2,34(0,48)b	3,50(0,57)a
<u>Glomus epigaeum</u>	10,27(1,01)c	3,17(0,24)b	0,80(0,15)c	1,26(0,22)b	5,31(0,94)a	3,46(1,53)a

Nota: Valores medios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para $P < 0,01$

Tabla 6. Valores medios totales(mg) de los distintos elementos en el análisis foliar de las plantas en el experimento 1.

Trat.	D.I.	P	K	Na	Ca	Mg
		Cantidades	totales	extraídas	por	la
					planta	
CNE(2)	3,00(0,89)a	2,78(0,29)b	24,04(5,52)a	34,00(6,34)a	52,16(7,93)a	2,64(0,62)a
MDS(4)	3,10(0,92)a	4,01(0,78)a	22,67(4,99)a	39,69(4,96)a	67,28(9,59)a	2,44(1,24)a
CE (1)	0	0,20	4,18	7,41	11,95	0,56
FAS(9)	0	0,14	3,01	5,61	9,35	0,32

Nota: Letras distintas denotan diferencias significativas entre las medias.

Los valores pertenecientes a CE y FAS se corresponden con el análisis de una muestra mezcla de las 4 réplicas del tratamiento en cada caso.

-226-

Tabla 5. Caracteres evaluados en plantas de *Citrus macrophylla* con y sin inóculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

Tratamientos	Altura Final (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raíz (g)	D. I. mg AT/g FSR	I.T. mg AT
Control Estéril	8,04(0,63)c	1,27(0,09)d	0,01(0,01)c	0,07(0,03)c	0	0
Control no Estéril	16,62(4,83)b	3,17(0,59)b	0,91(0,65)b	0,58(0,44)b	1,78(0,44)b	0,73(0,49)b
<u>Glomus fasciculatum</u>	35,45(2,12)a	4,76(0,22)a	2,72(0,34)a	1,83(0,37)a	2,43(0,37)b	1,33(0,53)a
<u>Glomus epigaeum</u>	15,56(3,08)b	2,33(0,43)c	0,45(0,22)b	0,33(0,15)b	3,17(0,31)a	0,54(0,40)b

Nota: Valores promedios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para P<0,01

-225-

Tabla 4. Caracteres evaluados en plantas de Citrus reshni con y sin inoculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

-224-

Tratamiento	Altura Final (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raiz (g)	D.I. mg AT/g PSr	I.T. mg AT
Control Estéril	6,03(0,76)c	1,28(0,14)c	0,03(0,02)c	0,11(0,04)c	0	0
Control no Estéril	19,47(1,74)b	3,57(0,33)b	1,39(0,26)b	1,07(0,29)b	3,63(0,84ab)	2,07(0,80)a
<u>Glomus fasciculatum</u>	36,00(1,31)a	4,47(0,21)a	3,05(0,41)a	1,87(0,28)a	4,51(1,44)a	3,14(1,42)a
<u>Glomus epigaeum</u>	18,26(3,97)b	3,16(0,52)b	1,12(0,48)b	1,23(0,51)b	3,05(0,67)b	2,69(1,47)a

Nota: Valores medios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para $P < 0,01$

Tabla 3. Caracteres evaluados en plantas de Citrus aurantium con y sin inoculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

-223-

Tratamientos	Altura Final (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raiz (g)	D.I. mg AT/g PSr	I.T. mg AT
Control Estéril	5,93(0,28)d	1,73(0,08)c	0,04(0,01)d	0,83(0,05)c	0	0
Control no Estéril	16,17(4,23)b	3,63(0,67)b	1,53(0,74)b	1,67(0,76)b	1,70(0,41)b	1,81(0,87)b
<u>Glomus fasciculatum</u>	22,84(3,42)a	4,90(0,41)a	3,20(0,88)a	3,38(0,54)a	2,34(0,48)b	3,50(0,57)a
<u>Glomus epigaeum</u>	10,27(1,01)c	3,17(0,24)b	0,80(0,15)c	1,26(0,22)b	5,31(0,94)a	3,46(1,53)a

Nota: Valores medios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para $P < 0,01$

Tabla 6. Valores medios totales (mg) de los distintos elementos en el análisis foliar de las plantas en el experimento 1.

Trat.	D.I.	P	K	Na	Ca	Mg
		Cantidades totales		extraídas	por	la planta
CNE(2)	3,00(0,89)a	2,78(0,29)b	24,04(5,52)a	34,00(6,34)a	52,16(7,93)a	2,64(0,62)a
MDS(4)	3,10(0,92)a	4,01(0,78)a	22,67(4,99)a	39,69(4,96)a	67,28(9,59)a	2,44(1,24)a
CE (1)	0	0,20	4,18	7,41	11,95	0,56
FAS(9)	0	0,14	3,01	5,61	9,35	0,32

Nota: Letras distintas denotan diferencias significativas entre las medias.

Los valores pertenecientes a CE y FAS se corresponden con el análisis de una muestra mezcla de las 4 réplicas del tratamiento en cada caso.

-226-

Tabla 5. Caracteres evaluados en plantas de *Citrus macrophylla* con y sin inóculos de hongos micorrizógenos VA en el experimento 2.

Tratamientos	Altura Plantal (cm)	Diam. Tallo (mm)	Peso Seco Follaje (g)	Peso Seco Raíz (g)	D. I. mg AT/g Tsr	I.T. mg AT
Control Estéril	8,04(0,63)c	1,27(0,09)d	0,01(0,01)c	0,07(0,03)c	0	0
Control no Estéril	16,62(4,83)b	3,17(0,59)b	0,91(0,65)b	0,58(0,44)b	1,78(0,44)b	0,73(0,49)b
<u>Glomus fasciculatum</u>	35,45(2,12)a	4,76(0,22)a	2,72(0,54)a	1,83(0,37)a	2,43(0,37)b	1,33(0,53)a
<u>Glomus epigaeum</u>	15,56(3,08)b	2,33(0,43)c	0,45(0,22)b	0,33(0,15)b	3,17(0,31)a	0,54(0,40)b

Nota: Valores promedios y desviaciones estandar (entre paréntesis). Letras distintas denotan diferencias entre las medias para P<0,01

-225-

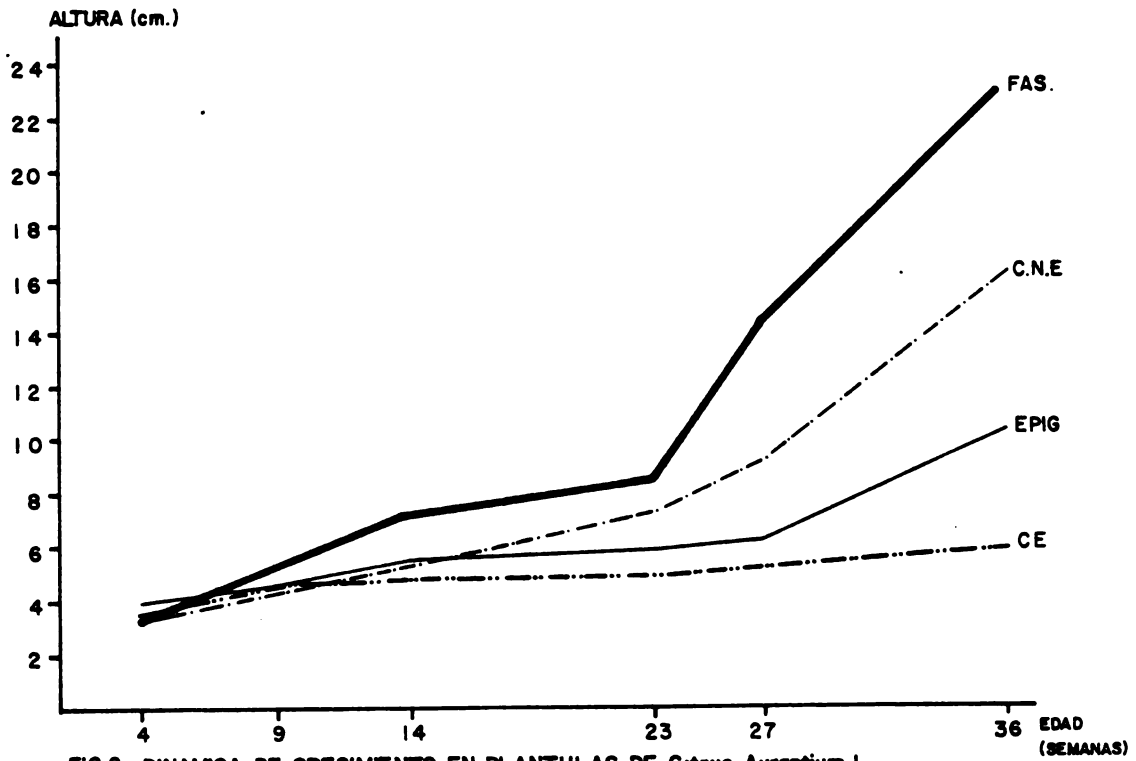


FIG. 2 DINAMICA DE CRECIMIENTO EN PLANTULAS DE Citrus Aurantium L. INOCULADAS CON DISTINTAS ESPECIES DE M.V. A. EN EL EXPERIMENTO 2.

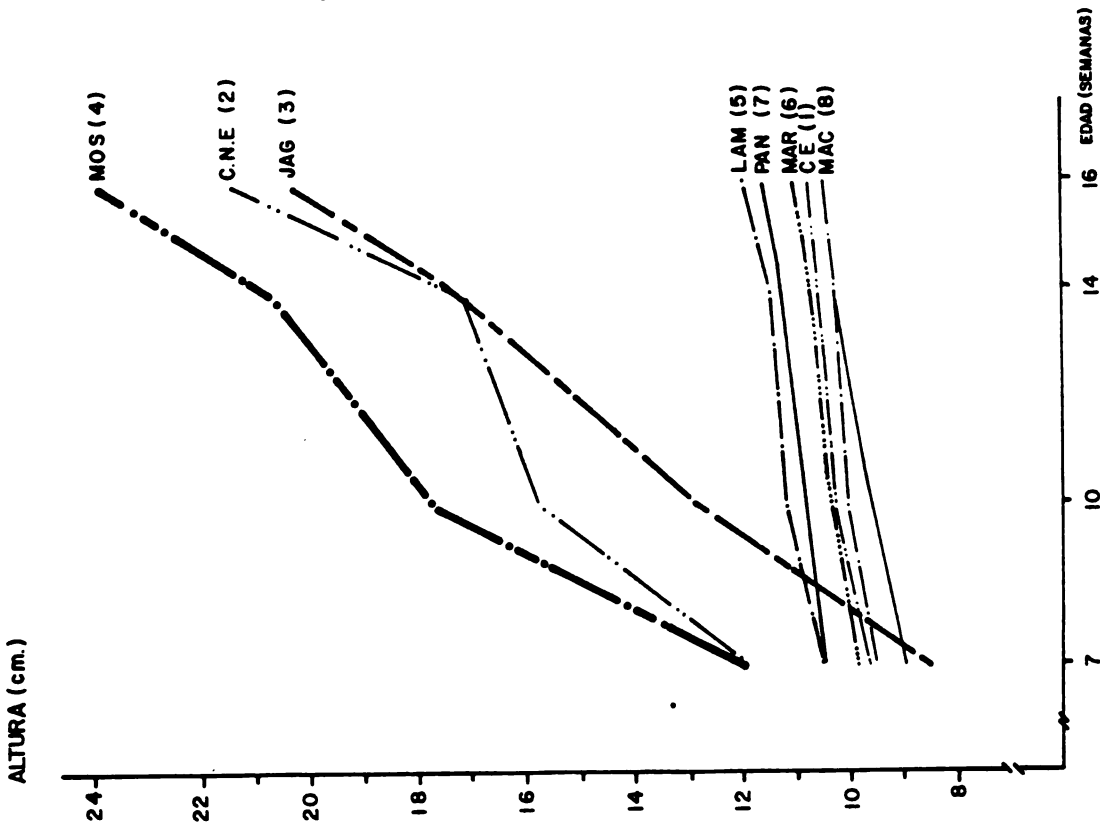


FIG. 1 DINAMICA DE CRECIMIENTO EN PLANTULAS DE Citrus Aurantium L. INOCULADAS CON DISTINTAS ESPECIES DE M.V.A EN EL EXPERIMENTO 1

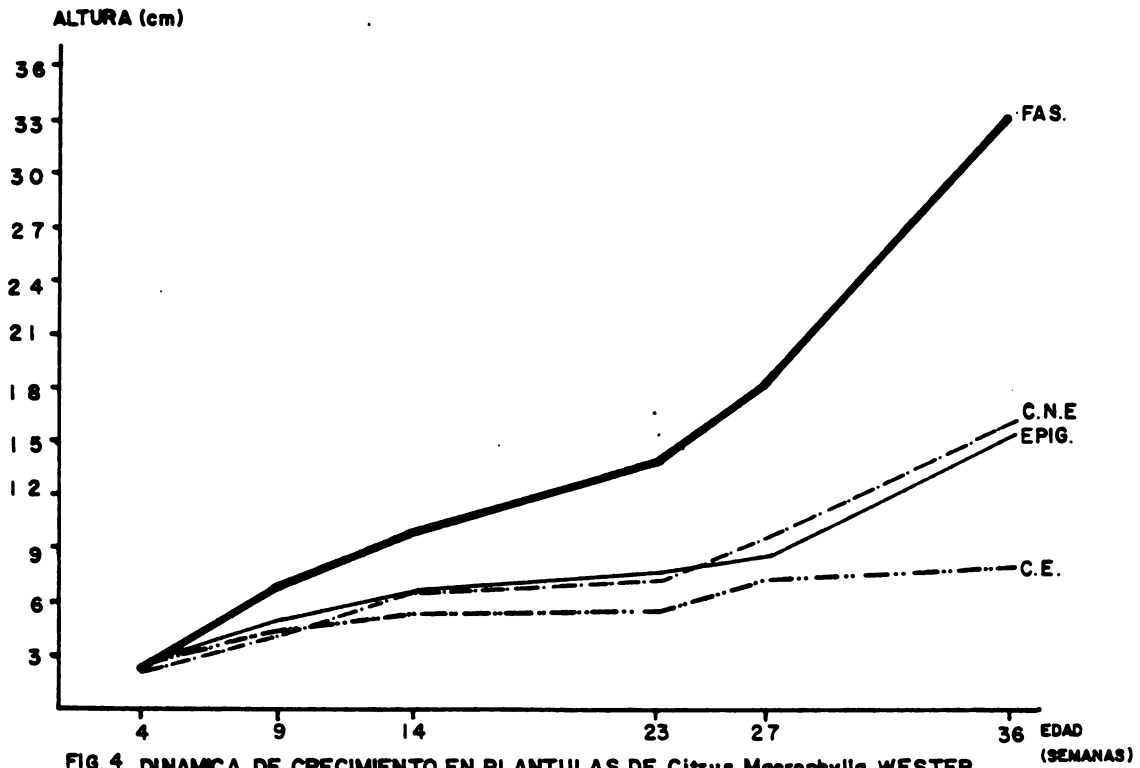


FIG. 4 DINAMICA DE CRECIMIENTO EN PLANTULAS DE Citrus Macrophylla WESTER INOCULADAS CON DISTINTAS ESPECIES DE M.V.A EN EL EXPERIMENTO 2.

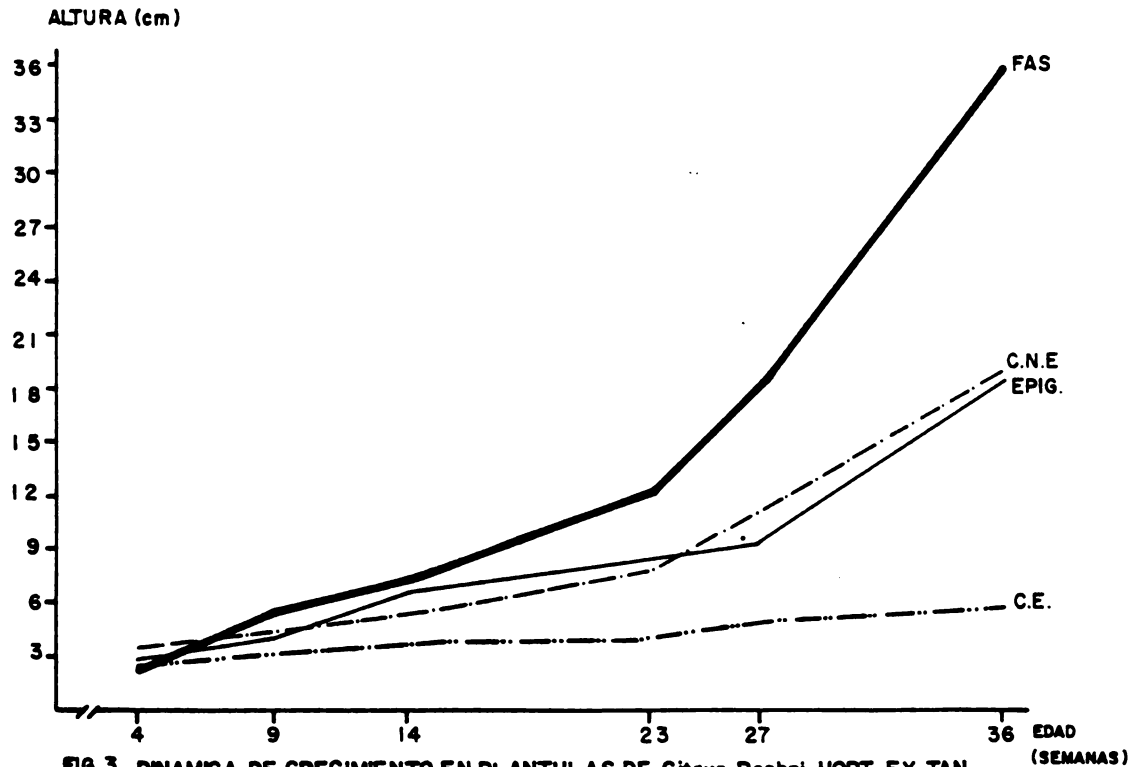


FIG. 3 DINAMICA DE CRECIMIENTO EN PLANTULAS DE Citrus Reshni HORT EX TAN INOCULADAS CON DISTINTAS ESPECIES DE M.V.A. EN EL EXPERIMENTO 2

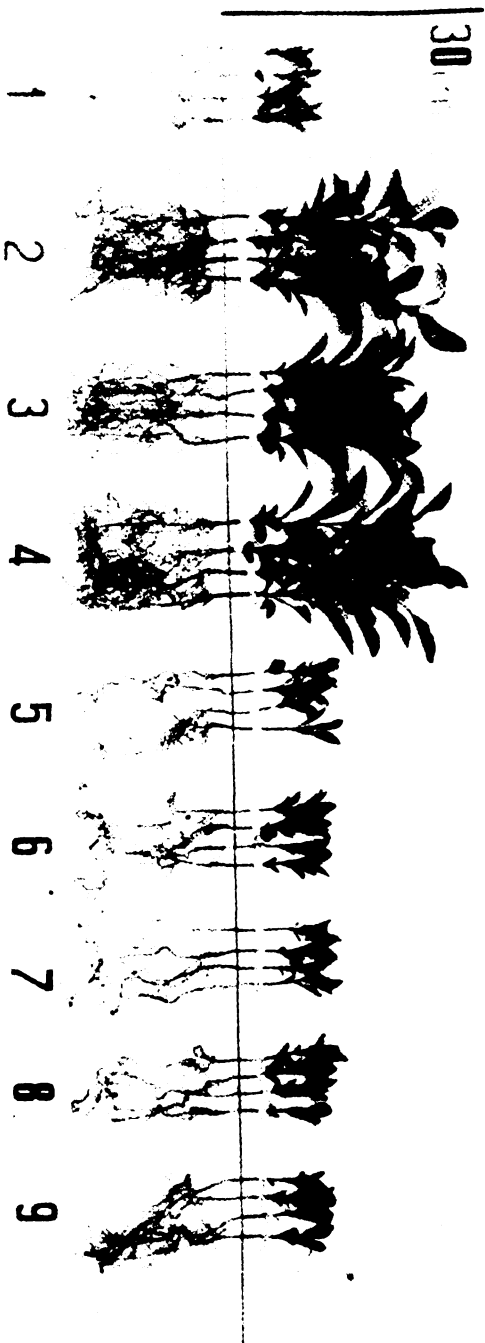


FIG. 6. PLANTULAS DE Citrus Aurantium L. CON Y SIN INOCULOS M.V.A EN EL EXPERIMENTO I :
(1) CONTROL ESTERIL (2) CONTROL NO ESTERIL ; (3) SUELO DE JAGUEY ; (4) Glomus
Mosseae ; (5) Glomus Caledonium ; (6) Gigaspora Margarita ; (7) Gigaspora Heterogama ;
(8) Glomus Macrocarpum ; (9) Glomus Fasciculatum.

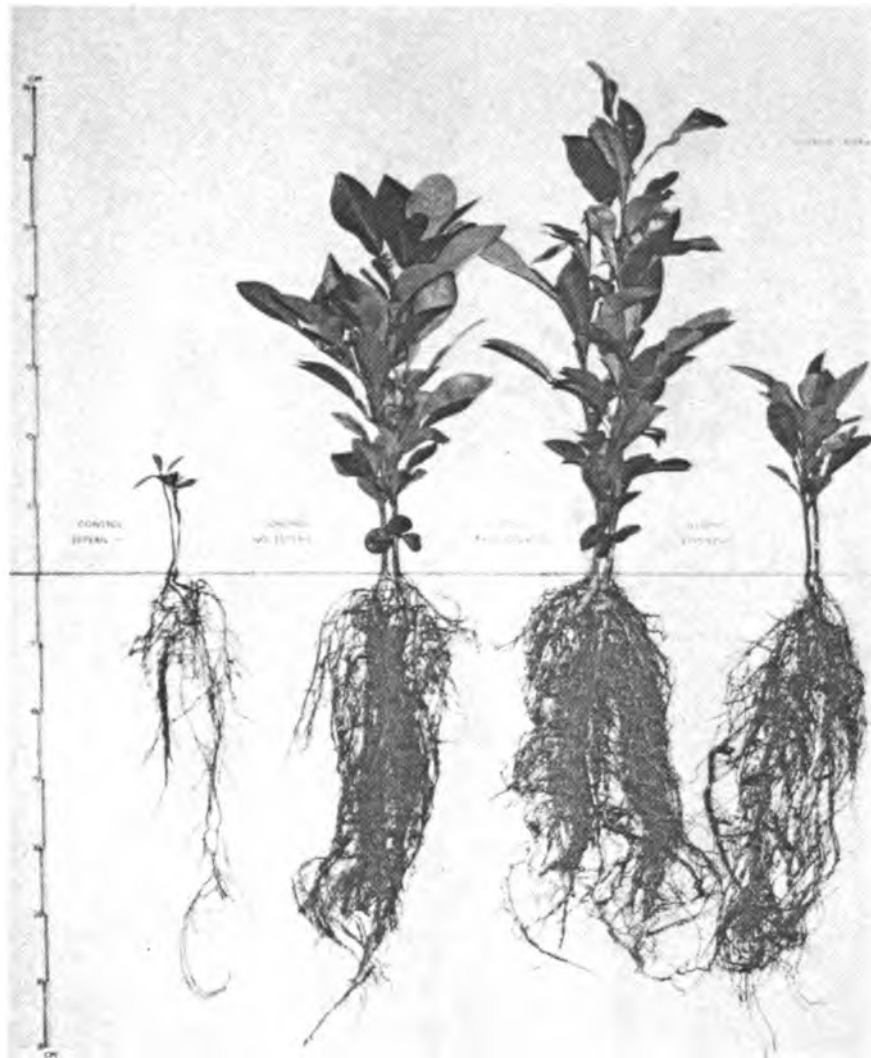


FIG.6 PLANTULAS DE Citrus Aurantium L. CON Y SIN INOCULOS M.V.A EN EL EXPERIMENTO 2

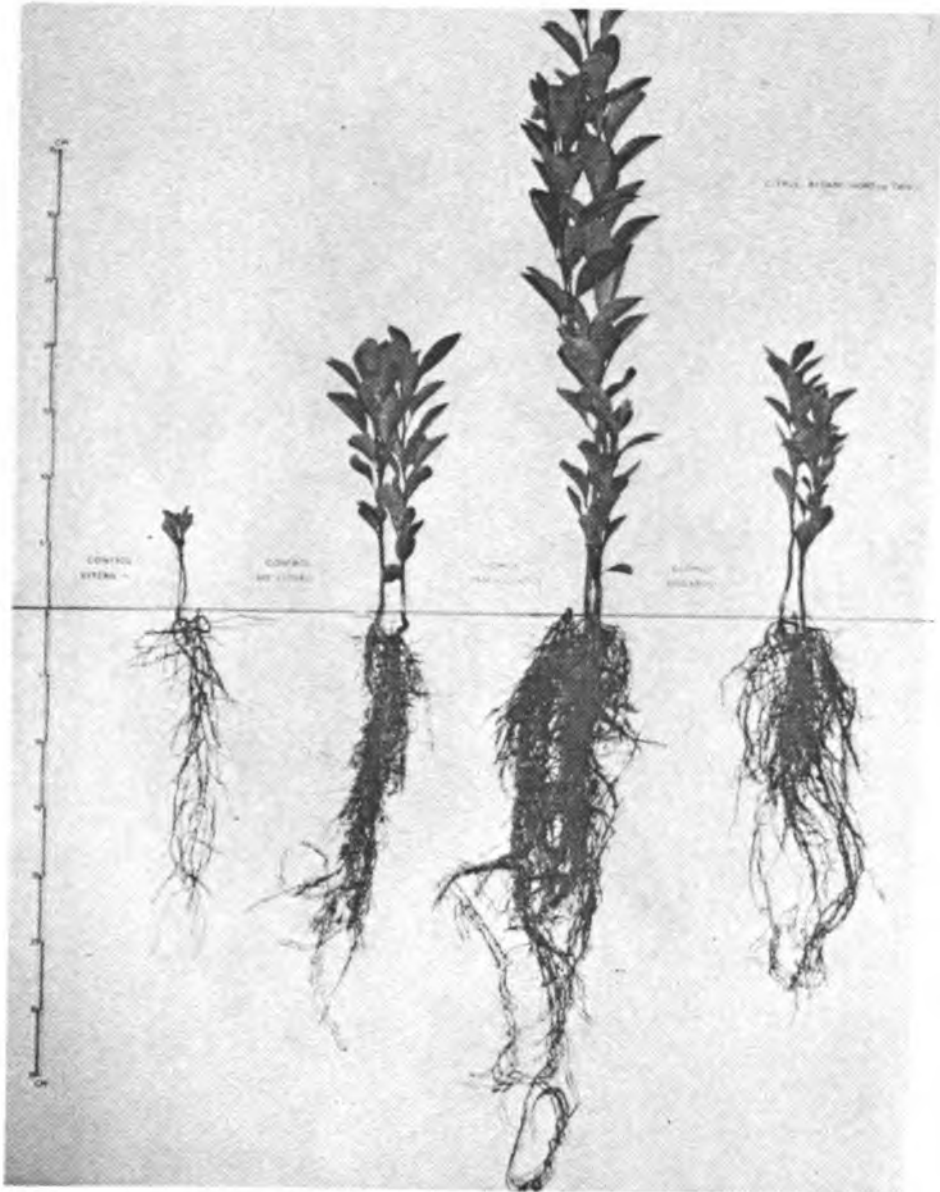


FIG. 7 PLANTULAS DE Citrus Reshni HORT. EX TAN. CON Y SIN INOCULOS M.V.A EN EL EXPERIMENTO 2 .

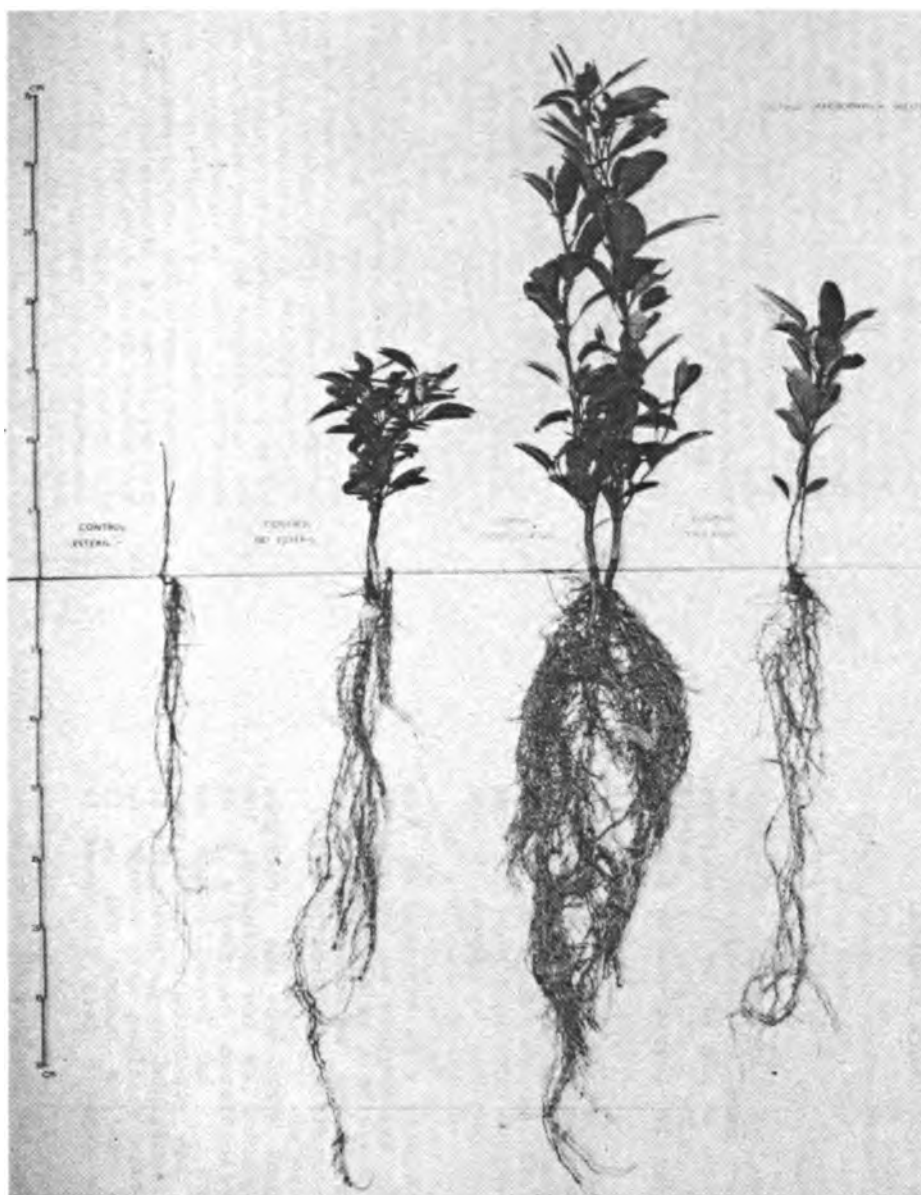


FIG.8 PLANTULAS DE Citrus Macrophylla WESTER CON Y SIN INOCULOS M.V.A. EN EL EXPERIMENTO 2.

**RESULTADOS DE LA INVESTIGACION EN EL CIAT, SOBRE
LA UTILIZACION PRACTICA DE LA MVA**

**POR
EWALD SIEVERDING
Centro Internacional de Agricultura Tropical
Apartado Aéreo 6713
Cali, Colombia**

RESUMEN

En el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, se están investigando las posibilidades del uso práctico de la MVA en la agricultura tropical, principalmente en yuca, frijol y pastos tropicales. Las estrategias de la investigación son las siguientes:

A) Con base en el conocimiento de que los hongos MVA están presentes en todos los suelos tropicales y que la mayoría de los cultivos agronómicos dependen de la asociación con MVA en suelos con baja disponibilidad de fósforo, se ha intentado de manejar los hongos MVA nativos con las prácticas agronómicas, de tal manera que la planta obtenga un óptimo beneficio de ellos.

B) Dado que la calidad (efectividad) y la cantidad de los hongos MVA nativos es altamente heterogénea en los suelos, otro método evaluado es la introducción a la rizosfera de la planta en el campo, de los hongos seleccionados como altamente eficientes en cierta condición edafoclimática.

El manejo de los hongos MVA con las prácticas agronómicas, tales como la rotación de los cultivos, los sistemas de siembra, las aplicaciones de abonos y de agroquímicos se ha estudiado. La investigación es restringida por la falta de una metodología rápida para determinar la cantidad y la efectividad de la población de los hongos MVA en el campo. Para utilizar este método, se debe saber cuáles especies de los hongos MVA de la población total se tienen que manejar para favorecer la planta.

Los efectos de las inoculaciones de los cultivos agronómicos en el campo se investigó después de seleccionar los hongos MVA bajo condiciones controladas. Los rendimientos de yuca y de frijol se han aumentado un 20-30% en promedio, en varios ensayos. También se tuvo éxito con este método con plantas forrajeras. Se discuten los pasos necesarios de la investigación, antes de la inoculación de los cultivos con hongos MVA seleccionados, en el campo.

APLICACIONES DE LAS MEC EN LA PRACTICA FORESTAL

por

ISABEL ALVAREZ
Centro de Experimentación Agraria
Villaviciosa, Asturias

RESUMEN

Los hongos ectomicorrícicos pueden ser usados para incrementar la sobrevivencia y el crecimiento de las especies forestales. Han sido usados con éxito en el establecimiento de plantaciones y en la revegetación con especies forestales de escombreras de minas y otros suelos marginales. Actualmente sólo unos pocos hongos ectomicorrícicos han sido seleccionados para incrementar la sobrevivencia y el crecimiento en una variedad de estaciones. Se necesita mucha más investigación para extender los beneficios de las ectomicorrizas a la diversidad de especies y condiciones existentes en la dasonomía mundial.

ABSTRACT

Ectomycorrhizal fungi can be used to increase survival and growth of forest species. They have been used successfully in the establishment of man-made forests and in the revegetation with forest species of mine spoils and other marginal soils. At present only a few ectomycorrhizal fungi have been selected to increase survival and growth in a variety of sites. Much research needs to be done to extend the benefits of ectomycorrhizae to the diversity of species and conditions in world forestry.

APLICACIONES DE LAS MEC EN LA PRACTICA FORESTAL

Se conocen actualmente alrededor de 140 géneros de plantas, en 43 familias, formadores de ectomicorrizas. La mayoría de las plantas huésped son especies arbóreas pero también existen especies herbáceas (Barley y Smith 1983). Bajo condiciones naturales, los miembros de la familia Pinaceae y algunas angiospermas son ectomicorrícicos obligados. Entre las plantas ectomicorrícicas facultativas se encuentran especies de *Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Corylus*, *Cupressus*, *Eucalyptus*, *Juniperus*, *Pyrus*, *Salix* y *Ulmus* (Meyer 1973). Los géneros *Arbutus*, *Cupressus*, *Eucalyptus*, *Juniperus*, *Malus*, *Pyrus* y *Tilia* (Meyer 1973) así como *Populus* (Voizzo y Baccaylo 1974) y *Alnus* (Rose 1980) pueden formar ecto- o endomicorrizas, dependiendo de las condiciones ambientales bajo las que se encuentran. Esta elasticidad de adaptación a diversas condiciones ecológicas hace que en estos géneros se encuentren las especies pioneras en la sucesión del bosque y las primeras colonizadoras de terrenos marginales.

Existe asimismo gran variabilidad entre los géneros de plantas en cuanto a especificidad ectomicorrícica. Para *Pseudotsuga menziesii* se estima que el número de hongos ectomicorrícicos se eleva a 2000 (Trappe 1977) mientras que *Alnus* parece ser un género muy especializado en cuanto a sus asociaciones ectomicorrícicas (Molina 1981).

La especificidad de los hongos micorrícicos ha sido menos estudiada. Se conoce la amplitud de huéspedes y la universalidad de su distribución para algunos hongos como *Cenococcium geophilum* (Trappe 1964) y *Pisolithus tinctorius* (Grand 1976). La exclusividad en huéspedes no ha sido todavía claramente probada aunque se conoce la existencia de variedades dentro de una especie determinadas por su capacidad simbiótica. Tal es el caso de *Russula zerampelina* con cinco variedades asociadas respectivamente con *Quercus*, *Populus*, *Betula*, *Fagus* y *Ulmus* (Trappe 1962).

La sucesión de especies en el bosque puede ser paralela a una sucesión de hongos micorrícicos con lo que los hongos asociados en la fase juvenil de una especie sería distinta de los asociados en la etapa adulta.

El conocimiento de los tipos de micorrizas, especies de hongos asociados y circunstancias ambientales bajo las que se produce la asociación para una especie forestal se traducirá en el mejor manejo de esta especie en la práctica forestal.

Establecimiento de plantaciones

En suelos naturales no es frecuente encontrar deficiencias de inóculo endomicorrícico dada la abundancia de plantas formadoras de esta simbiosis. Sin embargo la deficiencia de inóculo ectomicorrícico ha sido reportado en distintas regiones del mundo: Andes peruanos, Asia, Australia, Africa, Puerto Rico, estepas rusas y en suelos que han sido dedicados a usos agrícolas o con carencia de vegetación arbórea durante muchos años (Marx 1977). La reforestación de estas zonas con especies ectomicorrícicas será problemática a menos que los hongos ectomicorrícicos sean introducidos junto con las especies forestales. Un ejemplo ilustrativo es la introducción de pinos en Puerto Rico. De 1930 a 1950 se trató de establecer pinos, probando 6 especies distintas: *P. attenuata*, *P. canariensis*, *P. caribaea*, *P. pinaster*, *P. radiata* y *P. torreyana*. Las semillas germinaban produciendo plántulas de 7 a 10 cm que morían a los pocos meses. Se ensayaron distintos regímenes de fertilización sin que tuviesen nin-

gún éxito. En 1955 se introdujo suelo de una plantación de pinos de Carolina del Norte y se inocularon 32 árboles, dejando igual número como control. En 1956 la mayoría de los controles habían muerto y los árboles inoculados habían formado micorrizas alcanzando el más alto de ellos, 1,5 m de altura (Vozzo y Bacskaylo 1971).

Una vez que el vivero ha sido inoculado con suelo, plantas micorrizadas, esporas o micelio del hongo ectomicorrícico deseado, el manejo subsiguiente de los plantones en el vivero debe ir orientado a la promoción del desarrollo de las ectomicorrizas. En general, las prácticas conducen a la obtención de plantones de buena calidad también favorecen el desarrollo de las ectomicorrizas. El problema surge en la definición de calidad. En la mayor parte de los países existen estándares de calidad basados en características morfológicas de la planta, principalmente altura y diámetro, pero se presta poca atención a la estandarización de la calidad fisiológica. El test final de la calidad del plantón está en su capacidad de sobrevivencia una vez plantado en el bosque. La sobrevivencia de la planta está directamente relacionada con la producción de raíces inmediatamente después de ser plantada (Lavender y Hermann 1976). La capacidad de regeneración de raíces (CRR) es una medida de la calidad fisiológica del plantón, relacionada con el clima, el suelo y las prácticas de cultivo en el vivero. Mide la longitud total de raíces nuevas producidas por la planta bajo condiciones estandarizadas durante un mes (Stone 1970).

La CRR ha sido tentativamente determinada para plantones de las siguientes especies forestales: *P. contorta*, *P. taeda*, *P. ponderosa*, *P. jeffreyi*, *Pseudotsuga menziesii*, *Abies concolor*, *A. magnifica*, *A. procera*, *Acer saccharinum*, *A. saccharum* y *Fraxinus americana*. Se ha determinado que para abetos la CRR debe tener un valor de 60-100 cm/plantón; para pino ponderosa 80 cm/plantón y para abeto Douglas 10-20 cm/plantón si los plantones van a ser plantados en una zona de buena calidad y 20-50 cm/plantón si la calidad de la zona es inferior (Ritchie 1979).

Entre las prácticas de vivero que afectan directamente el desarrollo de las micorrizas y la calidad de los plantones se encuentra el uso de fertilizantes, irrigación y biocidas. El uso de N, P y K debe ser moderado y equilibrado para obtener un desarrollo óptimo. El uso excesivo, sobre todo de N, reduce la intensidad de la formación de micorrizas. Asimismo el uso excesivo tanto de fertilizantes como de agua pueden afectar negativamente la calidad fisiológica del plantón interfiriendo con la inducción de su reposo vegetativo. El efecto de los biocidas es complejo pudiendo estimular, reprimir o no tener efecto sobre la formación de ectomicorrizas. Es aconsejable considerar cada caso individualmente según sea el hongo ectomicorrícico que se quiera establecer en el vivero. Trappe y sus colaboradores (1984) han publicado una revisión muy completa de la literatura existente.

Los ejemplos de antagonismo entre hongos ectomicorrícicos y patógenos de raíces son innumerables (Marx 1973) y potencialmente utilizables en el desarrollo de control biológico en viveros (Sinclair et al. 1982). Cabe destacar por la frecuencia con que estos patógenos se encuentran en viveros la inhibición de *Pythium* por *Laccaria lacmata*, *Suillus luteus* y *Sclerotium bovista*; la inhibición de *Phytophthora* por *Lactarius deliciosus*, *S. luteus* y *S. bovista*, y la inhibición de *Fusarium oxysporum* por *L. lacmata*. *Leuoparillus cerealis* var. *piceina* inhibió casi todos los patógenos contra los que fue probado, entre los que se encontraban 24

especies de *Pythium* y 9 de *Phytophthora*, pero no inhibió *F. oxysporum* f. sp. *pini* (Marx 1973).

Repoblación de escombreras de minas

El desarrollo de la tecnología usada en las explotaciones mineras hace que el movimiento de grandes masas de terrenos sea práctica normal en la minería. El impacto ambiental que estas explotaciones causan es enorme. El material que queda expuesto en la superficie suele ser rocoso, con gradientes elevados, de color oscuro lo que causa temperaturas altas en la superficie, pHs extremos y con una composición química poco deseable para el crecimiento de las plantas. La revegetación natural de estos terrenos suele ser difícil y tardaría muchos años en producirse. La necesidad de establecer una cubierta vegetal suele ser apremiante para impedir la progresiva erosión de zonas adyacentes.

Los primeros estudios sobre la importancia de las micorrizas en la colonización vegetal de las escombreras de minas las realizó Schramm (1966) en Pennsylvania. Observó que las únicas plantas capaces de sobrevivir las condiciones existentes en las escombreras de antracita eran especies capaces de fijar nitrógeno y algunas especies de árboles ectomicorrícicos. Basado en sus cuidadosos estudios, Schramm concluyó que la pronta formación de ectomicorrizas era esencial para el establecimiento de plantones de las siguientes especies: *Betula lenta*, *B. populifolia*, *Pinus rígida*, *P. virginiana*, *Populus tremuloides*, *Quercus rubra* y *Q. velutina*. Los hongos que fructificaban cerca de los árboles sobrevivientes eran *Inocybe laeora*, *Thelephora terrestris*, *Amanita rubescens*, *Sclerotium aurantium* y *Pisolithus tinctorius*, todos ellos ectomicorrícicos.

El micelio de *P. tinctorius* se extendía 5 m de distancia del plantón micorrícico y este hongo estaban siempre asociado con los plantones que crecían mejor. El trabajo de Schramm sugirió que solamente unos pocos hongos ectomicorrícicos eran capaces de adaptarse a las condiciones de las escombreras.

P. tinctorius ha sido también descrito como el hongo simbiótico con *B. lenta*, *B. pendula*, *B. populifolia*, *Populus grandidenta*, *P. tremuloides* y *Salix humilis* en Alemania (Meyer 1968).

Marx (1975) encontró *P. tinctorius* asociado con *P. virginiana*, *P. taeda*, *P. resinosa* y varias especies de *Betula* en escombreras de Kentucky habían sido plantadas cinco años consecutivos con pinos con una mortalidad casi total cada año. En 1974 se plantaron con *P. virginiana* inoculado con *P. tinctorius* y *T. terrestris*. La sobrevivencia de los plantones con *Pisolithus* fue 45,5% y con *Thelephora* 1,5%. Resultados similares se obtuvieron con *P. taeda* en Ohio y Virginia.

En estudios realizados con *P. contorta*, *P. flexilis* y *Picea engelmannii* inoculados con *C. geophilum*, *P. tinctorius*, *Suillus granulatus* y un hongo desconocido, en una escombrera de molibdeno con pH 8, situada a 3.200 m en Colorado se obtuvo una sobrevivencia de 58% al cabo de 4 años. El mejor crecimiento se obtuvo con *Suillus*, posiblemente mejor adaptado a la alta elevación que *Cenococcum* o *Pisolithus* (Grossnickle y Reid 1982).

La inoculación con hongos ectomicorrícicos adaptados a las extremas condiciones existentes en las escombreras de diversa minería parece ser el vehículo más seguro para conseguir el establecimiento de especies

arbóreas. Los trabajos de Schramm y Marx han demostrado la importancia de *P. tinctorius* como simbionte. La investigación en otras zonas y con otras especies arbóreas identificará otros hongos ectomicorrícicos usables para remediar los drásticos impactos ambientales causados por la minería actual.

Otras consideraciones

Las investigaciones llevadas a cabo en los últimos 10 años en Oregon sobre los hábitos alimenticios y ecología de roedores, ardillas, y otros pequeños mamíferos del bosque demuestran la gran importancia que éstos tienen como diseminadores de hongos micorrícicos en el bosque (Fogel y Trappe 1978, Maser et al 1978).

Se sugiere que en los ecosistemas de bosques de coníferas evolucionó una relación obligada entre árbol, hongos micorrícicos y mamíferos, necesitando los hongos micorrícicos hipógeos la presencia de los mamíferos para dispersar sus esporas (Fogel y Trappe 1978, Hunt y Maser 1984). La frecuente práctica forestal de envenenar estos animales no sólo es costo sa sino que probablemente perjudicial.

En masas forestales establecidas los hongos ectomicorrícicos no son drásticamente afectados por las prácticas habituales silvícolas, incluyendo el fuego controlado (Mikola 1973, Mikola et al 1964).

LITERATURA CITADA

Fogel, R.D. y J.M. Trappe. 1976. Fungus consumption (mycophagy) by small mammals. Northwest Sci. 52:1-31.

Grand, L.F. 1976. Distribution, plant associates and variation in basidiocarps of *Pisolithus tinctorius* in the United States. Mycologia 68:672-678.

Grossnickle, S. y C.P.P. Reid. 1982. The use of ectomycorrhizal conifer seedlings in the revegetation of a high elevation mine site. Can. J. For. Res. 12:354-361.

Harley, J.L. y S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York. 483 pp.

Hunt, G.A. y Z. Maser. 1984. consumption of hypogeous fungi by the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*). Proc. 6 NACOM, Bend, Oregon.

Lavender, D.P. y R.K. Hermann. 1976. Role of forest tree physiology in producing planting stock and establishing plantations. Proc. XVI IUFRO Congress. Div. II, Norway.

Marx, D.H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases. En *Ectomycorrhizae; their ecology and physiology*. Editado por G.C. Marks y T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.

Marx, D.H. 1975. Mycorrhizae and establishment of trees on strip-mined land. Ohio J. Sci. 75:288-297.

Marx, D.H. 1977. The role of mycorrhizae in forest production. TAPPI Conf. Pap., Annu. Meet., Feb. 14-16, Atlanta, Georgia.

Maser, C., J.M. Trappe y R.A. Nussbaum. 1978. Fungal-small mammal interrelationships with emphasis on Oregon coniferous forests. Ecology 59: 799-809.

Meyer, F.H. 1968. Mykorrhiza. En *Halbenbegrünung im Ruhrgebiet*. Editado por K. Mellinghoff. Schriftenr. Siedlungsverb. Ruhrkohlenbezirk 22: 118-123.

Meyer, F.H. 1973. Mycorrhizae in native and man-made forests. En *Ectomycorrhizae; their ecology and physiology*. Editado por G.C. Marks y Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.

Mikola, P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. En *Ectomycorrhizae; their ecology and physiology*. Editado por G.C. Marks y Kozlowski. Academic Press, New York. 444 pp.

Mikola, P., O. Laiho, J. Erikäinen y K. Kuvaja. 1964. The effect of slash burning on the commencement of mycorrhizal associations. Acta Forest. Fenn. 77:1-12.

- Molina, R. 1981. Ectomycorrhizal specificity in the genus *Alnus*. Can. J. Bot. 59:325-334.
- Ritchie, G.A. 1979. Root growth capacity-what are its limitations? Symp. Regeneration and management of young true fir stands, Redding, California.
- Rose, S.L. 1980. Mycorrhizal associations of some actinomycete nodulated nitrogen-fixing plants. Can. J. Bot. 58:1449-1454.
- Schramm, J.E. 1966. Plant colonization studies on black wastes from anthracite mining in Pennsylvania. Amer. Philoso. Soc. 56:1-94.
- Sinclair, W.A., D.M. Sylvia y A.O. Larsen. 1982. Disease suppression and growth promotion in Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. Forest Sci. 28:191-201.
- Stone, E. 1970. Variation in the root-growth capacity of ponderosa pine transplants. En Regeneration of ponderosa pine. *Editado por* R.K. Hermann. Oregon State Univ., Corvallis. 125 pp.
- Trappe, J.M. 1962. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. Bot. Rev. 28:538-606.
- Trappe, J.M. 1964. Mycorrhizal hosts and distribution of *Cenococcum graniforme*. Lloydia 27:100-106.
- Trappe, J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. Ann. Rev. Phytopathol. 15:202-222.
- Trappe, J.M., R. Molina y M. Castellano. 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhizal formation to pesticides. Ann. Rev. Phytopathol. 22:331-359.
- Vozzo, J.A. y E. HacsKaylo. 1971. Inoculation of *Pinus caribaea* with ectomycorrhizal fungi in Puerto Rico. Forest Sci. 17:239-245.
- Vozzo, J.A. y E. HacsKaylo. 1974. Endo-y ectomycorrhizal associations in five *Populus* species. Bull. Torrey Bot. Club 101:182-186.

Interacciones planta-hongo-suelo

D.S. Hayman - Lecture 4

The influence of mycorrhizal fungi on plant growth is central to studies on mycorrhiza. A fundamental understanding of the mycorrhizal system is a prerequisite for effective exploitation of its beneficial effects.

1. Soil-Plant-Fungus Interactions in VA Mycorrhizas

- 3-component system, influenced by environment, in which movement of P is a prime factor.

(i) The Soil

- soil fertility, especially levels of soluble phosphate (Olsen test)
- largest growth response where least soil P
- soil population of indigenous VAM fungi - affect response to introduced inoculants

(ii) The Plant

- different plant species vary considerably in their response to mycorrhiza - from very much, e.g. *Stylosanthes*, to very little, e.g. some grasses
- generally plants with coarse roots and few root hairs are the most mycotrophic

(iii) The Fungus

- different species and strains of VAM fungi vary considerably in their symbiotic effectiveness
- specificity towards particular soils - affected by soil pH, fertility, etc.
- efficiency not necessarily related to infectivity, but possibly to distribution of external mycelium, development of arbuscules, speed of infection, etc.

(iv) The Environment

- the growth response to mycorrhiza is generally larger at high temperatures, high light intensities and long daylengths, but is inhibited by fungicides

2. Mechanisms of Increased P-uptake

- experiments in ^{32}P -labelled soils, where VAM plants absorbed more P but with the same specific activity as P absorbed by non-mycorrhizal plants, indicate no solubilization mechanism
- the kinetics of phosphate movement in soil and the morphology of VA mycorrhizas indicate a physical mechanism
- a phosphate-depletion zone develops around roots that absorb phosphate ions faster than they diffuse through soil
- VAM hyphae by-pass this zone, absorb phosphate from the undepleted soil and translocate it up to several cm into the root via the appressoria
- thus the fungal hyphae greatly increase the soil-root interface.

3. Other Effects of VA Mycorrhiza on Plant Growth(i) Lowering of P-uptake threshold

- in very P-deficient soils, mycorrhizal plants absorbed ^{32}P but non-mycorrhizal plants did not

(ii) Increased avidity for phosphate

- greater accumulation of P in mycorrhizal than in non-mycorrhizal roots
- physical mechanism will largely override this effect

(iii) Increased uptake of trace elements

- especially Zn, also Cu and possibly S.

(iv) Hormones

- evidence from breaking of dormancy, changes in growth habit, comparisons with ectomycorrhiza
- cytokinin levels increased by VAM

(v) Chlorophyll content

- can be higher in plants that are mycorrhizal

(vi) Other effects

- VAM may alleviate water stress
- carbon drain - may be compensated for by increased photosynthesis by plant that is mycorrhizal
- interactions with disease and beneficial organisms

(vii) Legumes - a special case

- P-deficiency can prevent response to N
- increased uptake of P by VAM leads to better nodulation and nitrogen-

fixation by Rhizobium

- VAM may lead to increased N and protein in seeds
- synergistic interaction between VAM, P fertilizer and Rhizobium in highly mycotrophic legumes.

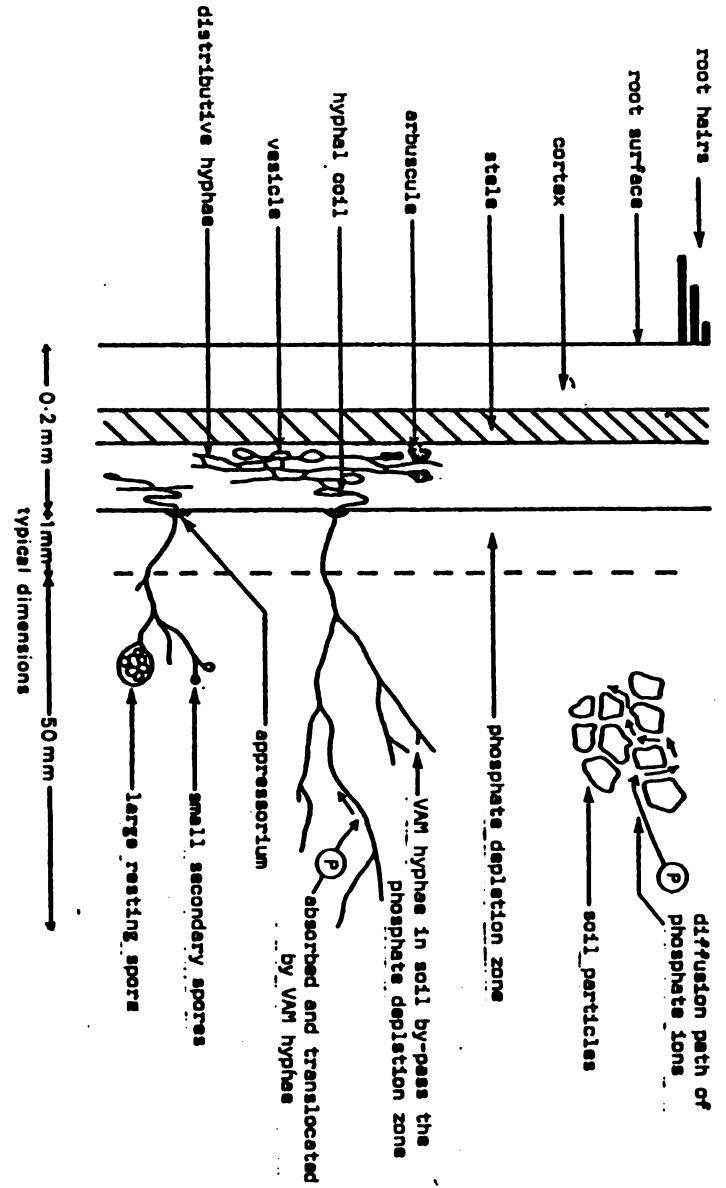


Diagram not to scale.

FISIOLOGIA DE LA SIMBIOSIS MVA

por

JOSE-MIGUEL BAREA

Departamento de Microbiología, Estación Experimental del
Zaidín, CSIC. Prof. Albareda 1,
18008- Granada, España.

RESUMEN

Estudios recientes en este area temática estan estableciendo nuevos conocimientos sobre las bases fisiologicas que permiten explicar procesos y efectos típicos de las MVA. Estas se refieren a los siguientes aspectos:

(1) Formación de las MVA

Parece ser que la contribución de la planta en las ineracciones mutualísticas en MVA comienzan antes de que el hongo VA se establezca en la raíz. Hay indicaciones de ciertos efectos de los exudados radicales, ejercidos bien directamente o indirectos, a través de estimular previamente a los microorganismos rizosféricos, sobre los propágulos de las MVA en el suelo. Así mismo, las hormonas vegetales paeren implicadas en los fenómenos de micorrización en VA.

(2) Dependencia, Compatibilidad y Especificidad en MVA

Los conceptos a los que aluden los terminos anteriores estan siendo siendo matizados por los nuevos conocimientos sobre el tema. La evaluación de dichas propiedades simbióticas se muestra como un pre-requisito casi indispensable para la aplicación racional de las MVA en Agricultura, Silvicultura, Fruticultura y Praticultura.

(3) Efecto de las MVA en la distribución de fitomasa entre parte aérea y raíz

Este hecho, descrito hace algún tiempo, se puede discutir a la luz de los

conocimientos sobre el control "feed-back" ejercido por el aporte de nutrientes propio de las MVA, sobre la bajada de fotosintatos a la parte heterotrófica del sistema. Esto tiene una gran transcendencia desde el punto energético ya que representa una ventaja para el desarrollo de la parte productiva (autotrófica) con respecto a la consumidora.

(4) Transporte de P en MVA

Los procesos de Captación de fosfato desde el suelo por las hifas externas de las MVA, de Tránslocación hacia el micelio interno y de Transferencia del nutriente desde el hongo a las células radicales del hospedador han sido objeto de numerosos estudios en los ultimos años. Por ello se conocen nuevas reacciones y actividades enzimáticas implicadas en dichos procesos. Los datos hoy disponibles al respecto permiten explicar el funcionamiento de los sistemas de autoregulación típicos de las MVA.

(5) Nutrición carbonada y coste energético de las MVA

Los distintos ensayos llevados a cabo sobre este, en particular los que utilizan técnicas isotópicas son discutidos

(6) Absorción de otros nutrientes, distintos del P, por MVA

Este es un tema de estudio bastante controvertido ya que es difícil separar efectos indirectos, mediados por un aporte de fosfato, que mejora la fisiología de la planta, de un efecto directo de la MVA sobre la captación de otros nutrientes de difusión lenta. La nutrición nitrogenada en MVA está siendo objeto de atención, basada en la aplicación de técnicas isotópicas.

(7) Otras acciones de las MVA no mediadas por el aporte de nutrientes

Se discuten ciertos aspectos relacionados con las alteraciones de equilibrios hormonales, protección frente a agentes patógenos, resistencia de las plantas a la sequia etc.

MICORRIZAS VA, MICELIO EXTRAMATRICO Y OTRAS POBLACIONES

MICROBIANAS ASOCIADAS A TRONCOS EN DESCOMPOSICION EN UN

BOSQUE TROPICAL

por

M. O. Orozco, M. E. Rodríguez, R. A. Herrera y R. L. Ferrer
Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Cal-
zada del Cerro No. 1257, Habana 6, Cuba.

RESUMEN

Fueron colectadas 6 muestras de madera en descomposición per-
tenecientes a distintas especies arbóreas en un bosque siempre-
verde submontano de Sierra del Rosario. Las muestras fueron
proceadas para tratar de clasificar su estado de descomposi-
ción así como para determinar las biomásas de raíces, raicillas
y micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA), proporciones
de raicillas micorrízicas VA, y las poblaciones de esporas de
hongos endogámicos, microorganismos totales, celulolíticos y
solubilizadores de fósforo. Las características físicas y quí-
micas tan diversas probablemente en las muestras afectaron en
formas muy diferentes los indicadores medidos. No obstante, pu-
dieron realizarse algunas generalizaciones. Se hace referencia
al probable saprofitismo facultativo del MEVA en la madera en
descomposición ya que la biomasa de hongo alcanza valores muy
altos en este sustrato. Se proponen algunas hipótesis acerca
de los procesos que se llevan a cabo durante la colonización
de la madera en descomposición por las raíces y el MEVA tenien-
do en cuenta la mayor producción de pelos radicales que pudo
observarse en las muestras con respecto a la estera radical
del piso del bosque.

ABSTRACT

Six decomposing wood samples belonging to different tree spe-
cies were collected at the evergreen premontane forest of Si-
erra del Rosario. All the samples were processed trying to
classify their decomposition status in addition to measure the
root, rootlet and VA extramatricial mycelium (MEVA) biomasses,
the proportion of VA mycorrhizal rootlets, and the endogona-
cocous fungi, total, cellulolytic and phosphate-solubilizing
microorganisms populations. The probable large diversity in
physical and chemical wood characteristics affected differen-
tly all the measured parameters. Several generalizations, how-
ever were possible to realize. Since the VA fungal biomasses
reached very high values in decomposing woods references are
done about the probable facultative saprophytism of MEVA. Some
hypothesis about the occurring processes during the decomposing
wood colonization by roots and MEVA are proposed additionally
considering the observed improved root hair production in the
samples with respect to the forest floor root mat.

INTRODUCCION

El aporte de materia orgánica muerta, principalmente hojas, ra-
mas y troncos, que llega al suelo, se descompone por la acción
de saprófagos y microorganismos. A través de este proceso se o-
riginan los ciclos de nutrientes, de cuyo flujo depende el e-
quilibrio del ecosistema, de modo tal que la producción total
de hojarasca está en relación con la velocidad de descomposi-
ción de la misma (Olson, 1963).

Numerosos factores bióticos y abióticos influyen en la
descomposición de la materia orgánica, entre los primeros pode-
mos citar las poblaciones de organismos descomponedores que in-
cluyen bacterias, hongos, protozoos, nemátodos, oligoquetos y
micro y macroartrópodos entre otros.

Con respecto a los factores abióticos la composición quí-
mica del material así como la temperatura y la humedad resul-
tan particularmente importantes (Singh y Gupta, 1977).

El aporte de biomasa muerta en el bosque siempreverde sub-
montano de Sierra del Rosario, donde se llevó a cabo el presen-
te trabajo fue como promedio (1977-1981) de 9,0 ton.há⁻¹. De
este valor el 25% estuvo constituido por ramitas. La caída a-
nual de troncos en el bosque no ha sido evaluada; sin embargo,
se ha estimado que un aproximado de 66 ton.há⁻¹ de madera, per-
manecen en el suelo como resultado de los troncos que se caen.
Al comparar estos valores con los reportados por Edwards y
Grubb (1982) para bosques de Brasil, Ghana Nueva Guinea encon-
tramos que el bosque cubano estaría cercano a la producción más
alta de biomasa muerta que fue reportada para Ghana.

En los ecosistemas de bosques tropicales, caracterizados
por su alta productividad, existe una elevada reserva de ele-
mentos en la biomasa vegetal, y de ésta, la cantidad correspon-
diente a tallos y ramas es relativamente mayor que la de cual-
quiera de los otros compartimentos orgánicos (Golley, 1983).
De aquí, la importancia que para el ciclo de nutrientes tie-
ne esa enorme cantidad de madera que llega al suelo en los bos-
ques maduros, y de cuya descomposición depende el que los nu-
trientes largamente inmovilizados en su estructura, sean libe-
rados y restituidos al suelo ó al componente biótico del eco-
sistema.

La hipótesis del ciclo directo de nutrientes de la hoja-
rasca a las raíces a través de las micorrizas como uno de los
mecanismos de conservación de nutrientes, ha sido planteada
por diversos autores (Vent y Stark, 1968; Herrera *et al.*, 1978;
Herrera y Jordan, 1981).

Acercos de la influencia de las micorrizas y su papel en
el ecosistema boscoso se han propuesto algunas hipótesis pero
pocas han sido demostradas. Resulta aún más difícil encontrar
referencias de las mediciones de los endófitos y en muchos ca-
sos ni siquiera se reportan.

Teniendo como antecedentes los estudios realizados en dos bosques (Vallecito y Majagual) de la región de Sierra del Rosario con relación a la distribución vertical de la biomasa de micelio extramitótico vesículo-arbuscular (MEVA) (Herrera et al., 1985 a), así como la influencia que ejerce el contenido de materia orgánica sobre la producción de MEVA (Herrera et al., 1985 b), y la dinámica anual de los niveles de infección micorrízica VA (Ferrer et al., 1985); el presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar la presencia de las micorrizas VA y otras poblaciones microbianas en troncos en descomposición donde se había observado una gran proliferación de raíces. Estos resultados podrían contribuir a dilucidar el papel de la simbiosis VA y sus relaciones con otros microorganismos en este bosque tropical.

MATERIALES Y METODOS

La Estación Ecológica Sierra del Rosario se encuentra ubicada en la loma El Salón a una altura de 375 a 525 msnm en la parte más oriental del sistema montañoso de Guaniguanico en la provincia de Pinar del Río. En cuanto a las características climáticas, presenta una temperatura promedio mensual de 24,4°C y precipitaciones anuales promedio de 2014 mm. Otros datos climáticos, geológicos, edáficos, vegetación etc., pueden ser consultados por separado (Herrera et al., 1985 o).

El área de muestreo denominada Vallecito pertenece a la asociación Mataybaeo-Pseudolmediatum spureae (Capote et al., 1983) donde las especies de árboles más abundantes son Pseudolmedia spuria (Sw.) Griseb., Oxandra lanceolata (Sw.) Baill., Matayba apetala (Macf.) Radlk., Trophis racemosa (L.) Urb., y Alchornea latifolia Sw.

En esta área fueron colectadas 6 muestras de troncos en descomposición pertenecientes a Hibiscus elatus Sw., Cedrela mexicana M.J. Room, Ocotea floribunda (Sw.) Mez., Alchornea latifolia, Pseudolmedia spuria y Matayba apetala. El tronco de C. mexicana (CH), cedro, fue encontrado en la forma de fragmentos sobre el piso del bosque que conservaban la "forma" del tronco, pero muy descompuesto y humificado, en el la corteza del árbol había desaparecido y aparentemente fue la muestra más descompuesta; la fecha de caída se desconoce pero fue anterior a 1979. Los troncos de H. elatus, O. floribunda, P. spuria y A. latifolia (que son referidos en este trabajo también como HE, OF, PS y AL, respectivamente) cayeron, el primero, durante el ciclón Frederick en septiembre de 1979, y los otros tres en abril de 1982 cuando el ciclón Alberto. Finalmente, el tronco de M. apetala (MA) cayó en junio de 1982 debido al paso de un tornado.

En el caso de HE, el árbol al caer quedó arraigado durante un tiempo y rebrotó, después de lo cual finalmente murió y gracias a esto probablemente su estadio de descomposición fue semejante al de AL aunque tal vez la destrucción en la parte en contacto con el suelo fue bastante anterior. Todos los troncos referidos aquí se encontraban en posición horizontal sobre el piso del bosque y en contacto con la estera radical.

En todos los casos se colectó la parte del tronco en contacto con el suelo y colonizada por las raíces del ecosistema tratando de tomar la muestra sin romper la distribución espacial de las raicillas. El tronco de HE se encontró descompuesto y blando en la mitad más cercana al suelo. En el caso de AL, la corteza se encontraba muy destruida y la madera presentaba una estructura muy esponjosa al tacto y al momento de la colecta fueron hallados numerosos individuos y larvas de Pascalus interstitialis Pascoe que habían colonizado el tronco formando las galerías características de este escarabajo cuya actividad pudo influir notablemente en el aceleramiento de la descomposición (Rodríguez, 1983).

Los troncos de PS y MA fueron encontrados en un estadio de descomposición similar al de HE en cuanto a su apariencia exterior, presencia de la corteza más o menos intacta, pero la colonización por las raíces se presentó más cercana al suelo de modo que más de la mitad horizontal de la madera estaba aún intacta y dura. En el caso de OF, y a pesar de la fecha de caída similar a la de otras muestras la descomposición se encontró en un estadio muy inicial pues sólo fueron encontradas las raíces en la parte del tronco muy pegada a la estera radical pero no en contacto con ella. En esta muestra probablemente su situación en un espacio más expuesto al sol influyó sobre el retraso en la descomposición.

En el laboratorio las muestras fueron procesadas para determinar las cantidades de raíces (mayores de 1 mm) y raicillas (menores de 1 mm). Además, 250 mg de raicillas fueron cortadas en segmentos menores de 1 cm, procesados hasta tinción (Phillips y Hayman, 1970) y observados en el estereomicroscopio para determinar la infección micorrízica VA mediante el método de las intersecciones (Giovannetti y Mosse, 1980). Al mismo tiempo se fue determinando la presencia o ausencia de pelos radicales en los segmentos.

Para conocer el grado de fragmentación por análisis mecánico las muestras de los troncos fueron mezcladas con agua hasta un volumen final de 750 ml y batida durante 30 segundos en una batidora (15 seg a 10 000 rpm), seguidamente fue separada en fracciones mayores de 1 mm, de 0,5 a 1,0 mm y de 0,1 a 0,5 mm empleando para ello tamices de 1, 0,5 y 0,1 mm respectivamente. En todos los casos se partió de volúmenes conocidos de muestra antes de procesar. Todas las fracciones separadas en los tamices fueron secadas al aire (dentro del laboratorio) durante 48 horas y al cabo de este tiempo una parte de cada muestra fue colocada en estufa a 80°C durante 24 horas para calcular el peso seco de cada fracción. De las muestras originales también fueron obtenidos los pesos secos para conocer el % de humedad al momento de la colecta.

De la fracción de 0,1 a 0,5 mm secadas en estufa, fueron tomadas tres alícuotas para determinar la biomasa fúngica según Herrera et al. (1985 d). En esta misma fracción se calculó la densidad aparente (g.cm⁻³).

De las 6 muestras estudiadas también se realizaron siem-

MICORRIZAS VA, MICELIO EXTRAMATRICO Y OTRAS POBLACIONES

MICROBIANAS ASOCIADAS A TRONCOS EN DESCOMPOSICION EN UN

BOSQUE TROPICAL

por

M. O. Orozco, M. E. Rodríguez, R. A. Herrera y R. L. Ferrer
Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Cal-
zada del Cerro No. 1257, Habana 6, Cuba.

RESUMEN

Fueron colectadas 6 muestras de madera en descomposición per-
tenecientes a distintas especies arbóreas en un bosque siempre-
verde submontano de Sierra del Rosario. Las muestras fueron
procesadas para tratar de clasificar su estado de descomposi-
ción así como para determinar las biomasa de raíces, raicillas
y micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA), proporciones
de raicillas micorrízicas VA, y las poblaciones de esporas de
hongos endogámicos, microorganismos totales, celulolíticos y
solubilizadores de fósforo. Las características físicas y quí-
micas tan diversas probablemente en las muestras afectaron en
formas muy diferentes los indicadores medidos. No obstante, pu-
dieron realizarse algunas generalizaciones. Se hace referencia
al probable saprofitismo facultativo del MEVA en la madera en
descomposición ya que la biomasa de hongo alcanza valores muy
altos en este sustrato. Se proponen algunas hipótesis acerca
de los procesos que se llevan a cabo durante la colonización
de la madera en descomposición por las raíces y el MEVA tenien-
do en cuenta la mayor producción de pelos radicales que pudo
observarse en las muestras con respecto a la estera radical
del piso del bosque.

ABSTRACT

Six decomposing wood samples belonging to different tree spe-
cies were collected at the evergreen premontane forest of Si-
erra del Rosario. All the samples were processed trying to
classify their decomposition status in addition to measure the
root, rootlet and VA extramatrical mycelium (MEVA) biomasses,
the proportion of VA mycorrhizal rootlets, and the endogona-
cocous fungi, total, cellulolytic and phosphate-solubilizing
microorganisms populations. The probable large diversity in
physical and chemical wood characteristics affected differen-
tly all the measured parameters. Several generalizations, how-
ever were possible to realize. Since the VA fungal biomasses
reached very high values in decomposing woods references are
done about the probable facultative saprophytism of MEVA. Some
hypothesis about the occurring processes during the decomposing
wood colonization by roots and MEVA are proposed additionally
considering the observed improved root hair production in the
samples with respect to the forest floor root mat.

INTRODUCCION

El aporte de materia orgánica muerta, principalmente hojas, ra-
mas y troncos, que llega al suelo, se descompone por la acción
de saprófagos y microorganismos. A través de este proceso se o-
riginan los ciclos de nutrientes, de cuyo flujo depende el e-
quilibrio del ecosistema, de modo tal que la producción total
de hojarasca está en relación con la velocidad de descomposi-
ción de la misma (Olson, 1963).

Numerosos factores bióticos y abióticos influyen en la
descomposición de la materia orgánica, entre los primeros pode-
mos citar las poblaciones de organismos descomponedores que in-
cluyen bacterias, hongos, protozoos, nemátodos, oligoquetos y
micro y macrocartrópodos entre otros.

Con respecto a los factores abióticos la composición quí-
mica del material así como la temperatura y la humedad resul-
tan particularmente importantes (Singh y Gupta, 1977).

El aporte de biomasa muerta en el bosque siempreverde sub-
montano de Sierra del Rosario, donde se llevó a cabo el presen-
te trabajo fue como promedio (1977-1981) de 9,0 ton.há⁻¹. De
este valor el 25% estuvo constituido por ramitas. La caída a-
nual de troncos en el bosque no ha sido evaluada; sin embargo,
se ha estimado que un aproximado de 66 ton.há⁻¹ de madera, per-
manecen en el suelo como resultado de los troncos que se caen.
Al comparar estos valores con los reportados por Edwards y
Grubb (1982) para bosques de Brasil, Ghana Nueva Guinea encon-
tramos que el bosque cubano estaría cercano a la producción más
alta de biomasa muerta que fue reportada para Ghana.

En los ecosistemas de bosques tropicales, caracterizados
por su alta productividad, existe una elevada reserva de ele-
mentos en la biomasa vegetal, y de ésta, la cantidad correspon-
diente a tallos y ramas es relativamente mayor que la de cual-
quiera de los otros compartimentos orgánicos (Golley, 1983).
De aquí, la importancia que para el ciclo de nutrientes tie-
ne esa enorme cantidad de madera que llega al suelo en los bos-
ques maduros, y de cuya descomposición depende el que los nu-
trientes largamente inmovilizados en su estructura, sean libe-
rados y restituidos al suelo ó al componente biótico del eco-
sistema.

La hipótesis del ciclo directo de nutrientes de la hoja-
rasca a las raíces a través de las micorrizas como uno de los
mecanismos de conservación de nutrientes, ha sido planteada
por diversos autores (Vent y Stark, 1968; Herrera *et al.*, 1978;
Herrera y Jordan, 1981).

Acercos de la influencia de las micorrizas y su papel en
el ecosistema boscoso se han propuesto algunas hipótesis pero
pocas han sido demostradas. Resulta aún más difícil encontrar
referencias de las mediciones de los endófitos y en muchos ca-
sos ni siquiera se reportan.

Teniendo como antecedentes los estudios realizados en dos bosques (Vallecito y Majagual) de la región de Sierra del Rosario con relación a la distribución vertical de la biomasa de micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA) (Herrera et al., 1985 a), así como la influencia que ejerce el contenido de materia orgánica sobre la producción de MEVA (Herrera et al., 1985 b), y la dinámica anual de los niveles de infección micorrízica VA (Ferrera et al., 1985); el presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar la presencia de las micorrizas VA y otras poblaciones microbianas en troncos en descomposición donde se había observado una gran proliferación de raíces. Estos resultados podrían contribuir a dilucidar el papel de la simbiosis VA y sus relaciones con otros microorganismos en este bosque tropical.

MATERIALES Y METODOS

La Estación Ecológica Sierra del Rosario se encuentra ubicada en la loma El Salón a una altura de 375 a 525 msnm en la parte más oriental del sistema montañoso de Guaniguanico en la provincia de Pinar del Río. En cuanto a las características climáticas, presenta una temperatura promedio mensual de 24,4°C y precipitaciones anuales promedio de 2014 mm. Otros datos climáticos, geológicos, edáficos, vegetación etc., pueden ser consultados por separado (Herrera et al., 1985 o).

El área de muestreo denominada Vallecito pertenece a la asociación Matayba-Pseudolmediatum spureae (Capote et al., 1983) donde las especies de árboles más abundantes son Pseudolmedia spuria (Sw.) Griseb., Oxandra lanceolata (Sw.) Baill., Matayba apetala (Macf.) Radlk., Trophis racemosa (L.) Urb., y Alohornea latifolia Sw.

En esta área fueron colectadas 6 muestras de troncos en descomposición pertenecientes a Hibiscus elatus Sw., Cedrela mexicana M.J. Roem., Ocotea floribunda (Sw.) Mez., Alohornea latifolia, Pseudolmedia spuria y Matayba apetala. El tronco de C. mexicana (CH), cedro, fue encontrado en la forma de fragmentos sobre el piso del bosque que conservaban la "forma" del tronco, pero muy descompuesto y humificado, en el la corteza del árbol había desaparecido y aparentemente fue la muestra más descompuesta; la fecha de caída se desconoce pero fue anterior a 1979. Los troncos de H. elatus, O. floribunda, P. spuria y A. latifolia (que son referidos en este trabajo también como HE, OF, PS y AL, respectivamente) cayeron, el primero, durante el ciclón Frederick en septiembre de 1979, y los otros tres en abril de 1982 cuando el ciclón Alberto. Finalmente, el tronco de M. apetala (MA) cayó en junio de 1982 debido al paso de un tornado.

En el caso de HE, el árbol al caer quedó arraigado durante un tiempo y rebrotó, después de lo cual finalmente murió y gracias a esto probablemente su estadio de descomposición fue semejante al de AL aunque tal vez la destrucción en la parte en contacto con el suelo fue bastante anterior. Todos los troncos referidos aquí se encontraban en posición horizontal sobre el piso del bosque y en contacto con la estera radical.

En todos los casos se colectó la parte del tronco en contacto con el suelo y colonizada por las raíces del ecosistema tratando de tomar la muestra sin romper la distribución espacial de las raicillas. El tronco de HE se encontró descompuesto y blando en la mitad más cercana al suelo. En el caso de AL, la corteza se encontraba muy destruida y la madera presentaba una estructura muy esponjosa al tacto y al momento de la colecta fueron halladas numerosos individuos y larvas de Pasalus interstitialis Pascoe que habían colonizado el tronco formando las galerías características de este escarabajo cuya actividad pudo influir notablemente en el aceleramiento de la descomposición (Rodríguez, 1983).

Los troncos de PS y MA fueron encontrados en un estadio de descomposición similar al de HE en cuanto a su apariencia exterior, presencia de la corteza más o menos intacta, pero la colonización por las raíces se presentó más cercana al suelo de modo que más de la mitad horizontal de la madera estaba aún intacta y dura. En el caso de OF, y a pesar de la fecha de caída similar a la de otras muestras la descomposición se encontró en un estadio muy inicial pues sólo fueron encontradas las raíces en la parte del tronco muy pegada a la estera radical pero no en contacto con ella. En esta muestra probablemente su situación en un espacio más expuesto al sol influyó sobre el retraso en la descomposición.

En el laboratorio las muestras fueron procesadas para determinar las cantidades de raíces (mayores de 1 mm) y raicillas (menores de 1 mm). Además, 250 mg de raicillas fueron cortadas en segmentos menores de 1 cm, procesados hasta tinción (Phillips y Hayman, 1970) y observados en el estereomicroscopio para determinar la infección micorrízica VA mediante el método de las intersecciones (Giovannetti y Mosse, 1980). Al mismo tiempo se fue determinando la presencia o ausencia de pelos radicales en los segmentos.

Para conocer el grado de fragmentación por análisis mecánico las muestras de los troncos fueron mezcladas con agua hasta un volumen final de 750 ml y batida durante 30 segundos en una batidora (15 seg a 10 000 rpm), seguidamente fue separada en fracciones mayores de 1 mm, de 0,5 a 1,0 mm y de 0,1 a 0,5 mm empleando para ello tamices de 1, 0,5 y 0,1 mm respectivamente. En todos los casos se partió de volúmenes conocidos de muestra antes de procesar. Todas las fracciones separadas en los tamices fueron secadas al aire (dentro del laboratorio) durante 48 horas y al cabo de este tiempo una parte de cada muestra fue colocada en estufa a 80°C durante 24 horas para calcular el peso seco de cada fracción. De las muestras originales también fueron obtenidos los pesos secos para conocer el % de humedad al momento de la colecta.

De la fracción de 0,1 a 0,5 mm secadas en estufa, fueron tomadas tres alícuotas para determinar la biomasa fúngica según Herrera et al. (1985 d). En esta misma fracción se calculó la densidad aparente (g.cm⁻³).

De las 6 muestras estudiadas también se realizaron siem-

bras microbiológicas por la técnica de dilución en placa con el fin de realizar conteos de microflora total en medio agar nutriente, solubilizadores de fósforo inorgánico en medio con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, y osulolíticos aeróbicos en medio selectivo para este grupo fisiológico según Pochon y Tardieux (1962).

Por último fueron tomadas de los mismos troncos algunas muestras aún no descompuestas para comprobar las características anatómicas de las especies estudiadas y comprobar su clasificación. Para esto fueron utilizadas las técnicas usualmente empleadas en este sentido (Carreras y Vales, 1985).

Los pH de las muestras de troncos en descomposición fueron determinadas por el método potenciométrico en agua.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1, los resultados del análisis mecánico denotan que el % de partículas menores de 0,5 mm coincide con ser elevado en las muestras que se observaron más descompuestas, siendo OF la que presentó menor descomposición. Debido a que estos valores estuvieron en general relacionados con el grado de descomposición de la muestra, el valor de CM debió ser más alto. Sin embargo, un estado muy avanzado de descomposición, llegando casi a una humificación total produjo al parecer una aglutinación secundaria del material, que unido a numerosas partículas semejantes a cogarrutas de insectos (frass), con un color oscuro (Rodríguez, 1983) que estuvieron presentes en el material, pudieron aumentar el contenido de la fracción mayor de 0,5 mm.

En el caso del porcentaje de raíces presentes (mayores y menores de 1 mm), se observa en la Tabla 1 que para CM las raíces mayores de 1 mm ocuparon el 4,25% de la muestra y representaron el 64% aproximadamente del total de raíces encontradas en ella. Estos valores son mayores que los observados para las demás especies y al parecer estuvieron determinados por la presencia de raíces lignificadas de edad más avanzada.

Ahora bien, como independientemente de la fecha en que cayeron los troncos, su velocidad de descomposición depende de características intrínsecas de la madera, así como del ataque de insectos taladradores y de la actividad de la microflora (Maarik, 1974; Rodríguez, 1983), podría aceptarse que las muestras con mayores porcentajes de raíces mayores de 1 mm y contenidos más grandes en la fracción menor de 0,5 mm se encuentran en fases de descomposición más avanzadas. Por otra parte, la presencia de raíces menores de 1 mm indica que debe existir en ese sustrato una actividad de absorción grande, y a su vez, ésta se produciría cuando en dichos sustratos existiera una fuente de liberación de nutrientes y condiciones de humedad apropiadas. De este modo, el índice de raíces mayores de 1 mm indicaría la "vejez" del sustrato desde el punto de vista del avance relativo de su descomposición, y el índice de raíces menores de 1 mm la riqueza actual del mismo en cuanto a ofrecer condiciones específicas para la absorción de nutrientes.

Tabla 1. Características generales, grado de descomposición por análisis mecánico y raíces presentes en los troncos en descomposición estudiados. Muestras colectadas el 28 de noviembre de 1984.

Especie	Fecha de caída	Peso seco total (g) madera + raíces	Densidad inicial a 0,1 a 0,5 mm	Densidad aparente a 0,5 mm b	a/b	Fracción menor de 0,5mm (%)	Humedad de base fresca %	% de Raíces >1mm	% de Raíces <1mm	Total	% de <1mm
HE	Sept-79	41,1	0,715	0,077	9,29	93,6	70,1	0,53	3,31	3,84	86,0
CM	Antes de 1979	46,9	0,560	0,073	7,67	84,3	73,1	4,25	2,40	6,65	36,0
AL	Apr-82	44,6	0,720	0,061	11,80	92,2	71,5	1,37	1,32	2,69	49,0
MA	Jun-82	56,6	0,821	0,100	8,21	91,2	73,7	1,51	1,10	2,61	42,0
PS	Apr-82	48,0	0,925	0,144	6,42	90,9	73,9	0,83	1,00	1,83	55,0
OF	Apr-82	74,6	0,575	0,250	2,30	73,9	61,1	0,00	0,52	0,52	100,0

a, datos tomados de Forz (1975); b, determinación volumétrica, promedio de tres réplicas de la fracción de 0,1 a 0,5 mm.

En la muestra de CM los resultados concuerdan con un proceso avanzado de descomposición-humificación ya comentados. En cuanto a las raicillas menores de 1 mm (dedicadas fundamentalmente a la absorción de nutrientes y formación de micorrizas) en general el porcentaje de las mismas fue disminuyendo de las muestras más descompuestas a las menos descompuestas, alcanzando el menor valor (0,52%) en OF, lo que unido a la ausencia de raíces mayores de 1 mm en esta muestra corrobora el criterio de que también visualmente este tronco comenzaba a descomponerse al momento de la colecta. En el caso de OF el contenido de la fracción menor de 0,5 mm también fue el menor (73,9%) al igual que su humedad (61,1%) que evidencia el efecto de la exposición más abierta al sol.

El porcentaje de raíces totales presentó el mismo comportamiento descrito anteriormente para las raíces menores de 1 mm, es decir, sus porcentajes en las muestras fueron mayores en las muestras más descompuestas y viceversa.

Un indicador que también fue útil para conocer la fase de descomposición en que se encontraban las muestras fue el porcentaje de raicillas con respecto al total de raíces en cada tronco. Como se observa en la Tabla 1, mientras en OF las raicillas (menores de 1 mm de grosor) representaron el 100% del total de raíces, en CM este valor disminuyó a 36% lo cual señala en forma muy clara la fase más avanzada de la descomposición en el segundo y concuerda con los criterios expuestos en párrafos anteriores.

En cuanto a los valores de densidad de las maderas de las especies estudiadas y la densidad aparente del material descompuesto, así como el contenido de humedad, se observó una disminución drástica de los valores de densidad y una retención elevada de humedad a pesar de que las muestras fueron colectadas el 28 de noviembre y durante este mes se registraron sólo 66,5 mm de precipitación. Estos datos, por lo demás son característicos del proceso de descomposición y han sido reportados antes (Rodríguez, 1983).

En la Tabla 2A se observa una marcada diferencia en cuanto a la longitud total de raicillas entre las muestras de HE y OF, siendo este valor 8 veces mayor en la primera con respecto a la segunda. Si tenemos en cuenta que el tronco de HE se encontraba en una fase más avanzada de descomposición, pudiera pensarse que el mayor número de raicillas estuvo en función de una absorción elevada de los nutrientes liberados durante la descomposición de la materia orgánica, como ya analizamos, lo que también coincide con el mayor porcentaje de micorrización alcanzado.

Aunque resulta difícil hacer generalizaciones a partir de los datos obtenidos, se observa una tendencia hacia el aumento de la longitud total de raicillas y los valores de micorrización de la muestra menos descompuesta OF a la más descompuesta, pasando por una serie de fases donde el proceso de micorrización pareció ser más activo en HE. En el caso del cedro, al encontrarse la madera en una etapa más avanzada de descom-

Tabla 2.- Características de las micorrizas VA, micelio extramático VA (MEVA), relaciones MEVA:Raicilla, poblaciones de esporas de hongos endogámicos y pH en los troncos en descomposición estudiados

A- Micorrizas y pelos radiciales

Especie	Longitud total de raicilla (cm)	Longitud de raicillas MVA (cm)	% de longitud micorrizica	% de longitud con pelos radiciales	Raicillas Con pelos %	MVA Sin pelos %
HE	4553	2910	63,9	87,6	56,1	7,8
CM	1962	1043	52,7	68,2	45,3	7,4
AL	1015	538	53,0	87,2	45,6	7,4
MA	1759	1013	57,6	79,8	42,3	15,3
PS	608	281	46,2	35,8	3,3	42,9
OF	599	181	30,2	6,8	3,7	26,5

B- Micelio extramático y poblaciones de esporas

Especie	Biomasa fúngica (mg.g ⁻¹) MEVA <u>a</u>	Otros <u>a</u> (mg.g ⁻¹)	MEVA mg.dm ⁻³	Relación MEVA:RAICILLA*	No. de esporas por g	pH
HE	12,05(1,92)	0,59(0,15)	1362,0	350	528	6,6
CM	0,66(0,09)	0,00	82,6	26	213	5,9
AL	13,27(0,52)	1,59(0,27)	1645,4	976	0	7,8
MA	0,63(0,14)	0,00	99,1	58	0	8,4
PS	0,88(0,08)	0,00	118,3	92	10	6,9
OF	0,47(0,09)	0,05(0,01)	99,7	89	33	5,8

a, Datos en media y (desviación estándar); *, expresado en /ug.mg⁻¹.

posición en el cual el material se encontraba todo prácticamente descompuesto, se observó una longitud de las raicillas menor que en HE que concordó con la mayor cantidad de raices viejas y lignificadas encontradas en el primero. Probablemente en la fase de descomposición en que se encontraba CM no había ya una absorción intensa de nutrientes, pues supuestamente la mayoría de los mismos habían sido liberados y absorbidos o lixiviados, a pesar de que aún el 52,7% de las raicillas presentes estaban micorrizadas. La Figura 1 brinda un buen ejemplo de esta fase.

Sobre este aspecto, los cambios encontrados en las densidades de las muestras brindan alguna información. Los valores resultantes de la división de las densidades iniciales probables (a) por las densidades finales de la fracción menor de 0,5 mm (b), es decir, a/b, evidencian que las texturas de la madera cambiaron más bruscamente en AL e HE para los cuales la fracción menor de 0,5 mm tomó una apariencia muy esponjosa. Los valores a/b fueron menores para MA, CM, y PS, mientras que en OF fue el más pequeño. En el caso del CM las mismas características explicadas al inicio de este epígrafe pudieron afectar los valores obtenidos para a/b. En todo caso, debe tenerse en cuenta que estos valores dependen de la densidad inicial y del estado de fragmentación-descomposición del material.

Ferrer et al. (1985) reportaron durante tres muestreos periódicos realizados en junio y septiembre de 1984 y enero de 1985, proporciones de raicillas con pelos radicuales que variaron respectivamente desde 0,00 a 0,09 y hasta 1,50% en muestras tomadas en la capa de 0 a 15 cm. Estos valores son notablemente inferiores al valor promedio de 60,9% obtenido en las muestras de madera, y al parecer la mayor cantidad de nutrientes liberados en la descomposición estimulan la producción de pelos radicuales.

Aunque algunos autores han planteado el hecho de que los pelos radicuales y la producción de micorriza están estrechamente relacionados de forma tal que tienden a ser mutuamente excluyentes (Baylis, 1970; Chilvers y Daft, 1980), y esto fue demostrado en el bosque donde fueron colectados los troncos (Ferrer et al., 1985), en el caso de las muestras de madera en descomposición analizadas el fenómeno no se presentó pues los datos indican una proporción elevada de segmentos micorrízicos que además presentaron pelos radicuales.

Esta evidencia sugiere que en este caso especial, debido a la concentración elevada de nutrientes, liberados durante la descomposición de la madera, la absorción debe incrementarse significativamente por lo que las funciones de los pelos radicuales y las micorrizas en este sentido no se excluyen sino que se adicionan. Probablemente este puede ser otro mecanismo de conservación que impediría que los nutrientes liberados en un sustrato tan rico pudieran perderse al ser arrastrados por las fuertes lluvias, de modo que el sistema pone en juego todas sus posibilidades, profusión de raicillas, pelos radicuales y micorrizas para conservarlos y devolverlos al componente biótico donde son almacenados con más seguridad.

En cuanto a la producción de micelio extramático vesículo-arbuscular (MEVA), en la Tabla 2B se observa una tendencia en los troncos aparentemente en fase de descomposición más avanzada (ver Tabla 1) a alcanzar los valores mayores con excepción del CM en el cual como ya se explicó anteriormente existen consideraciones particulares. Las cantidades de micelio de otras especies fueron notablemente inferiores que las de la familia Endogonaceae en todas las muestras. Las mayores cantidades de MEVA en HE y AL confirmadas por observaciones microscópicas produjeron la textura tan esponjosa de las fracciones menores de 0,5 mm en las cuales pudieron verse las partículas de madera unidas por abundantes hifas VA.

Si tenemos en cuenta que el valor promedio obtenido para las biomasa de MEVA en las 6 especies estudiadas fue de 568 mg.dm⁻³, mientras que para la estera radical en esta misma área se reportan 20,6 mg.dm⁻³ (Herrera et al., 1985b), resulta interesante que el valor promedio calculado para los troncos sea 28 veces mayor que el de la estera radical. Estos resultados indican que la madera en descomposición constituye un medio altamente favorable para la producción de MEVA lo que apoya lo reportado en la literatura acerca de que las hifas de las micorrizas VA se asocian preferentemente con partículas de materia orgánica en descomposición en el suelo (Koike et al., 1975; Nicolson y Johnston, 1979; St. John et al., 1983 a y b).

En general las cantidades mucho mayores de raicillas, pelos radicuales y MEVA encontradas en las muestras analizadas hacen pensar en una absorción intensa de los nutrientes liberados durante la descomposición de la madera, evitando probablemente que los mismos pasen a la solución del suelo. Este proceso ha sido denominado ciclaje directo de nutrientes (Went y Stark, 1968) y ha sido reportado por diversos autores entre los mecanismos de conservación de los nutrientes en el ecosistema (Herrera et al., 1978; Herrera y Jordan, 1981). R.A. Herrera et al. (1985 c) aceptan la hipótesis, pero con la participación de la hifosfera micorrízica o una relación muy estrecha entre los hongos VA y otros microorganismos con actividad celulolítica o biofertilizadora.

Por otra parte el análisis de la relación MEVA:Raicilla resulta interesante y demuestra que no existe una relación directa entre el MEVA producido y la cantidad de raicillas presentes cuyos valores son mucho menores en la estera radical del propio ecosistema. Sin embargo, como fue mencionado antes, si se observó en general una relación positiva entre la cantidad de raicillas menores de 1 mm y el grado de descomposición excepto en CM, ya comentado. Al parecer, las raicillas y el MEVA, en general más abundantes en este sustrato que en el suelo o la estera radical dentro del mismo bosque, pudieran estar influidos por las condiciones particulares de la madera de cada especie estudiada y/o por la etapa de descomposición en que las mismas se encuentran, y por el balance y actividad de los otros microorganismos allí presentes. Además, esto pudiera ser explicado si admitimos que en el sustrato estudiado los hongos micorrizógenos tienen cierta actividad saprofítica lo que

ha sido reportado por Mosse (1959) y por Warner y Mosse (1980). Además, los resultados obtenidos por Tan y Nopamornbodi (1979), acerca de la influencia del ácido fúlvico sobre el crecimiento del hongo ectomicorrizógeno Picolithus arrhizus constituyen otro indicio que hace pensar en el saprofitismo facultativo de las micorrizas a través del MEVA.

En cuanto a las cantidades totales de esporas presentes en las muestras, se observó que los valores mayores se alcanzaron en los de los troncos más descompuestos (HE y CM), y en general la densidad de esporas promedio de todas las muestras fue 131 (esporas por gramo de madera seca), valor 15 veces mayor que el reportado por Ferrer et al. (1985) para la capa de suelo de 0 a 20 cm de profundidad en la misma área de trabajo, si bien es necesario considerar que un gramo de la fracción 0,1-0,5 mm representa un volumen mucho mayor que un gramo de estera radical e suelo. Las especies de hongos endogonáceos presentes en los troncos han sido reportadas en otros trabajos (Ferrer et al., 1985; Herrera, 1985); en general se trató de Glomus fasciculatum, Acaulospora laevis, A. foveata, y otras tres especies pertenecientes a Glomus sp., Gigaspora sp., y Soleroocystis sp.

Por otra parte encontramos que en aquellos troncos con valores mayores de 6,9 no se observaron esporas de ninguna de las especies de endófitos estudiadas en el área (Ferrer et al., 1985), mientras que en las muestras con pH entre 5,8 y 6,9 existieron al parecer condiciones para la producción de esporas.

Según Herrera (1985) este comportamiento podría ser explicado por la adaptación de las especies de hongos VA del área a valores ligeramente ácidos de pH que han sido reportados como 5,7 y 6,03 para el suelo y la estera radical respectivamente y similares a los valores de pH encontrados en las muestras de madera donde hubo producción de esporas.

Al comparar AL con HE, en el primero, la proporción menor de raicillas con respecto al total de raíces (49% en AL y 86% en HE) evidenciaron que probablemente la micorrización se encontraba allí en un estadio más inicial. Por lo tanto, la fase más joven en el proceso de micorrización o el pH tan alto de la madera pudieron ser las causas que motivaron la no aparición de esporas VA en AL a pesar del aspecto saludable y la gran biomasa de MEVA que presentó la muestra.

Algunos autores han referido cierto efecto de inhibición de la infección micorrizica VA en condiciones de altas concentraciones de fósforo en el sustrato (Mosse, 1982; Hepper, 1983; Herrera et al., 1984). Sin embargo, no han sido bien explicados aún los elevados niveles de infección encontrados en determinadas condiciones caracterizadas por la riqueza de macronutrientes (Sutton, 1973; Crush, 1975; Hayman et al., 1976) aunque ha sido señalado (Herrera, et al., 1984) que en tales casos las concentraciones relativas de los mismos han estado probablemente balanceadas.

Menge et al. (1978) reportaron producciones elevadas de

clamidósporas, arbuscúlos e hifas de Glomus fasciculatum en viales que contenían suelo con alta concentración de fósforo (600 ppm). Además señalaron la posibilidad de un efecto especial en los viales, debido a las concentraciones de las raíces, dentro de un volumen pequeño que favoreció un desarrollo más rápido del hongo micorrizógeno bajo estas condiciones.

En las condiciones de Sierra del Rosario, cuando un tronco cae al suelo o se parte o queda muerto en pie, comienza a desarrollarse un proceso de descomposición intenso que es acelerado por la intervención de insectos xilófagos que al mezclar el serrín de la madera con sus heces forman un sustrato muy rico y más fácilmente degradable. Una actividad elevada de la microflora lignolítica y celulolítica tiene lugar al mismo tiempo que avanzan los procesos de humificación en este material (Rodríguez, 1983). En estas condiciones, un tronco en descomposición ofrece una fuente de humedad y de liberación de nutrientes que lo asemejan a un vial gigante. Volviendo al caso de AL, esta situación, con la participación de P. interstitialis pudo dar lugar a condiciones ideales para la producción de MEVA.

Probablemente la colonización paulatina de la madera de un tronco muerto, en posición horizontal o vertical, se explica por un "efecto vial" similar al reportado por Menge et al. (1978) y gracias al cual las raicillas, pelos radicales y MEVA van "consumiendo" poco a poco los nutrientes liberados del sustrato (Figura 1) ayudados por las poblaciones microbianas existentes, y por el probable carácter saprofitico facultativo del MEVA. Este efecto vial, según se ha explicado constituye, a nuestro alcance, la única explicación posible a las grandes biomásas de MEVA y relaciones MEVA:Raicillas encontradas en los troncos en descomposición.

En experimentos realizados en esta misma área de estudios, Rodríguez (1983) reportó que las concentraciones de N, P y K, y en especial las de N y K, aumentaron a medida que avanzaba la descomposición en troncos de Matayba apetala y Alchornea latifolia, en los cuales la actividad del escarabajo Passalus interstitialis y de termitas fue observada. Mosse et al., (1981) señalaron como vectores importantes en la diseminación de las micorrizas VA a los escarabajos, termitas, lombrices y otros componentes de la fauna edáfica.

Por su parte, Hernández et al. (1985) encontraron mayores concentraciones de NPK en la estera radical, bien diferenciada en este bosque.

En la Tabla 3 aparecen los valores de conteo de la microflora en las distintas muestras de madera en descomposición. Se observó que no se produjo una relación directa entre los valores de conteo y las etapas de descomposición, pues como muestran los datos HE y OF presentaron valores totales muy semejantes, pero se encontraban en etapas de descomposición muy diferentes. Si se analizan los grupos de microorganismos en particular, observamos que en CM, que estaba en un estado muy avanzado de descomposición, la cantidad de solubilizadores de fós-

foro fue de 1 a 2 órdenes de veces más alto que en las otras muestras. Probablemente una mineralización intensa de los compuestos orgánicos del fósforo tiene lugar durante la descomposición. También fue notable para esta especie la ausencia de actinomicetos en los conteos. Este último resultado parece semejante al obtenido para AL en una fase no tan avanzada de descomposición y es completamente contrario a lo obtenido en MA en una fase de descomposición casi humificada, como en el caso del cedro en este mismo bosque pero en una fecha anterior (Rodríguez, 1983).

En general las bacterias fueron los organismos predominantes y representaron un 95% del total incluso en las siembras de organismos celulolíticos. Esto es peculiar dado que en la mayoría de los resultados obtenidos para bosques templados los hongos presentaron valores muy elevados y se dice que tienen un papel muy importante en la descomposición de la madera. Los conteos de celulolíticos obtenidos en estas muestras de AL y MA en el actual experimento, están dentro del rango de los valores obtenidos por Rodríguez (1983) en las mismas especies y dentro de la misma área. Sin embargo, los valores de bacterias fueron más altos que los reportados para el suelo de este bosque y los hongos y actinomicetos de las muestras representaron proporciones muy bajas sobre todo teniendo en cuenta su porcentaje con respecto al total.

En resumen, con relación a la microflora y al balance de los grupos de microorganismos, parece ponerse en evidencia como ha sido planteado antes (Rodríguez, 1983) que para cada especie tiene lugar un patrón característico de sucesiones de microorganismos y de algunos artrópodos durante el proceso de descomposición. Estas características probablemente influyen en el desarrollo de las raicillas y del MEVA en esos "viales naturales" que son los troncos en descomposición, como ya habíamos discutido antes.

Tabla 3.- Conteos de bacterias (B), micromicetos (H), actinomicetos (A), solubilizadores de fósforo inorgánico (SP), organismos celulolíticos (CE) y microflora total (TOTAL) en la madera en descomposición de las seis especies estudiadas. (Datos en No. de colonias x g de madera x 10⁴)

Especie	B	H	A	SP	CE	TOTAL
HE	1467,0	34,0	11,2	6,72	1,42	1520,3
CM	3236,0	1,4	0,0	386,0	2,84	3628,6
AL	129,6	1,2	1,2	12,0	6,00	150,0
MA	4609,0	0,0	16,7	11,7	2,79	4640,4
PS	77,3	7,8	4,5	2,2	10,08	101,9
OF	1037,0	1,1	16,6	0,1	3,33	1057,9
X	1759,0	7,6	8,4	69,8	4,41	1850,0

Por último, y tratando de generalizar los resultados obtenidos considerando el papel de las raicillas, las micorrizas VA y el MEVA en la madera en descomposición, podría pensarse

que el proceso ocurre en la forma siguiente. En las fases o estadios principales del proceso, al caer un tronco y situarse horizontalmente sobre el suelo o en otras condiciones al morir aún en pie, se iniciaría el ataque de la microflora lignolítica y celulolítica y de los hongos descomponedores de la madera, que con o sin la participación de los insectos xilófagos prepararían el terreno para la entrada de las primeras raicillas que atravesarían la corteza del árbol provenientes de la estera radical o el suelo e iniciarían la colonización de la madera ya blanda y las galerías de los insectos ya abandonadas.

En una segunda fase las proporciones de raicillas con respecto al total de raíces variarían desde un 100% en un inicio al comenzar la colonización de las raicillas, hasta un porcentaje probablemente similar al que normalmente se presenta en el bosque (35% aproximadamente considerando las raíces menores de 5 mm de grosor). En esta fase ocurrirían algunos estadios sucesionales entre los que podrían destacarse uno inicial, con producciones rápidas de raicillas, micorrizas e inicio de la colonización por parte del MEVA; uno intermedio, que correspondería al inicio del saprofitismo facultativo del MEVA que ocasionaría una producción grande de su biomasa; y uno final en el que los porcentajes de raicillas micorrízicas, pelos radicales y MEVA funcionarían a plena capacidad y para el cual el proceso de micorrización alcanzaría su máxima actividad dando lugar a la producción de esporas.

La tercera fase, correspondiente al proceso de humificación partiría de la estabilización de las características mencionadas para el final de la segunda, y en ella el proceso de micorrización y las características de los órganos de absorción presentes en la madera muerta ya muy descompuesta se irían pareciendo cada vez más a las de la estera radical del propio ecosistema hasta pasar a formar parte integral de ella. Tales fases pueden durar años y con toda seguridad los períodos correspondientes desde la caída o muerte del árbol hasta su integración a la estera o capa orgánica del suelo dependen con mucho de las características físicas y químicas de la madera de cada especie.

Tentativamente las muestras estudiadas en este trabajo podrían ubicarse en las fases siguientes: OF, al final de la primera fase; MA y PS, al inicio de la segunda; AL, en el estadio intermedio de la segunda fase; HE, en el estadio final de la segunda fase; y CM en la tercera fase, de humificación.

La Figura 2 representa esquemáticamente la participación hipotética en el tiempo de los principales componentes del proceso de descomposición. Las tres etapas por orden de aparición se han denominado Destructiva, Aprovechamiento y Humificación. En la Fase Destructiva, la mayor participación estaría representada por los insectos xilófagos que iniciarían la devolución de los nutrientes al bioma hacia el término de la fase gracias a la formación de heces y a la intervención de los microorganismos lignolíticos y celulolíticos.

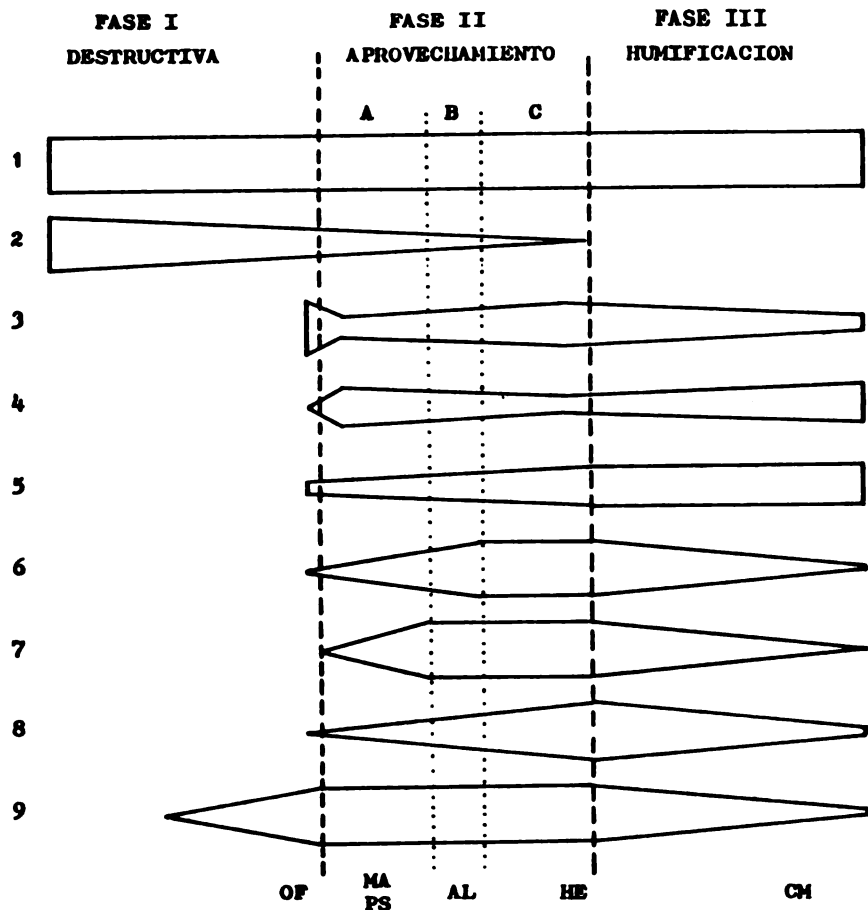


Figura 2. Representación esquemática de la participación en el tiempo de los principales componentes del proceso de descomposición de la madera. A, inicial; B, intermedia; C, final. 1) Microorganismos lignolíticos y celulolíticos; 2) Insectos xilófagos; 3) Proporción de raicillas con respecto al total de raíces; 4) Lignificación de las raíces; 5) Proporción de raicillas infectadas con hongos VA; 6) Biomasa de MEVA; 7) Proporción de raicillas con pelos radicales; 8) Poblaciones de esporas de hongos VA; y 9) Aprovechamiento nutricional, ciclaje de recuperación hacia el bioma. La máxima participación (biomasas o proporciones) se representan por 1 cm. Debajo se ubican las muestras estudiadas en los estadios probables de su descomposición.

En la Fase II, de aprovechamiento, todos los componentes del sistema se pondrían en función de la recuperación de los nutrientes para devolverlos al bioma. En esta fase los insectos xilófagos concluyen su participación. Las proporciones de raicillas que al comienzo serían de un 100% se reducirían en los estadios iniciales preparándose durante algún tiempo (años?) para penetrar poco a poco los tejidos de la madera y hacia el final de la fase con una mayor posibilidad de liberación de nutrientes aumentarían hasta máximos más provechosos. Un proceso inverso ocurriría para la lignificación. Las biomasas de endófitos VA, MEVA y pelos radicales aumentarían mientras tanto haciéndose máximos hacia el final de la fase dando lugar a un aumento simultáneo en las poblaciones de esporas.

En la Fase III, de humificación, la madera iría poco a poco integrándose al ecosistema disminuyendo así paulatinamente la participación de todos los componentes activos en la recuperación de nutrientes hasta alcanzar los niveles normales del bosque.

El esquema propuesto amerita una investigación más profunda para su demostración práctica.

CONCLUSIONES

- 1.- Se observó una relación inversa entre la densidad de la madera y su grado de descomposición para porcentajes de humedad similares.
- 2.- En general las cantidades de raíces mayores de 1 mm y raicillas presentes en los troncos, se relacionaron directamente con sus grados de descomposición, como por ejemplo en el caso de C. mexicana donde se presentaron muchas raíces lignificadas.
- 3.- Se observó una tendencia hacia el aumento de la longitud total de raicillas y los valores de micorrización de las muestras menos descompuestas a las más descompuestas, hasta un determinado grado de descomposición.
- 4.- Se observa una relación no excluyente entre los pelos radicales y la producción de micorrizas en las muestras estudiadas en general, con valores más altos en los troncos más descompuestos. Suponemos que este comportamiento en los troncos sea debido a un incremento de la absorción que permita que las funciones de los pelos radicales y las micorrizas se adicionen, allí donde la liberación de nutrientes puede ser elevada y las condiciones reproducen un "efecto vial".
- 5.- El valor promedio del MEVA en las seis especies de troncos estudiadas fue 28 veces mayor que el reportado en la estera radical, y la densidad promedio de esporas fue 15 veces mayor que en el suelo incluyendo la estera radical.
- 6.- Los valores obtenidos en los conteos microbianos difirieron apreciablemente para las seis especies estudiadas. En general las bacterias predominaron en todos los casos y repre-

sentaron el 95% del total.

7.- Las relaciones MEVA:Raicilla observadas hacen pensar en cierta independencia del MEVA con respecto al endófito VA, lo que podría corresponder con una actividad saprofítica facultativa del hongo en este sustrato.

8.- La producción de esporas en las muestras estudiadas estuvo relacionada con valores de pH entre 5,8 y 6,9. Para valores mayores de 6,9 no se observaron esporas.

9.- En general las cantidades significativamente elevadas de raicillas, pelos radicales y MEVA encontradas en las muestras hacen pensar en una absorción intensa de los nutrientes liberados durante la descomposición de la madera evitando que los mismos pasen a la solución del suelo, lo cual apoya en cierta medida la teoría del ciclaje directo de los nutrientes planteada por Went y Stark en 1968. No obstante, el desarrollo de la descomposición de la madera en el bosque estudiado con la colonización paulatina de las raicillas, pelos radicales y MEVA, ayudados por las otras poblaciones microbianas sugieren la existencia de un "efecto vial" en los troncos en descomposición similar al propuesto por Menge et al. en 1978, y donde el ciclaje directo se desarrolla probablemente con la participación de una hifosfera micorrízica como ha sido señalado por Herrera et al. en 1985 (e) o al menos una relación muy estrecha entre los hongos VA y otros microorganismos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los investigadores Odalys Mercado y Miguel Vales por su participación muy eficiente en los ensayos microbiológicos e identificación de las muestras de madera. A los investigadores Antonio Rodríguez y Margarita Ruiz por la ayuda brindada en los conteos de las biomásas de micelio y procesamiento de las muestras. Damos las gracias también a la Fundación Internacional para la Ciencia por la valiosa ayuda que nos ha brindado (M.O. y R.H.).

REFERENCIAS

Capote, R.P., García, E.E. y Sánchez, C. (1983): La vegetación de la Estación Ecológica Sierra del Rosario. Revista del Jardín Botánico Nacional, 4:97-143.

Carreras, R. y Vales, M.A. (1985): Atlas de maderas de Cuba. ACC. En prensa.

Crush, J.R. (1975): Occurrence of endomycorrhizas in soils of the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zealand. New Zealand J. Agr. Res., 18:361-364.

Edwards, P.J. y Grubb, P.J. (1982): Studies of mineral cycling in a montane rain forest in New Guinea. IV. Soil characteristics and the division of mineral elements between the vegetation and soil. Journal of Ecology, 70:649-667.

Ferrer, R.L., Ruiz, M., Rodríguez, A. y Herrera, R.A. (1985): Características micorrízicas de dos formaciones vegetales de la Estación Ecológica de Sierra del Rosario. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 del julio de 1985. En prensa.

Golley, F.B. (1983): Nutrient cycling and nutrient conservation. En Tropical Rain Forest Ecosystems. A. Structure and Function (Golley, F.B., ed.), Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, Cap. 9, pp. 137-156.

Hayman, D.S., Barea, J.M. y Azoón, R. (1976): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Southern Spain: its distribution in crops growing in soil of different fertility. Phytopathol. Mediterranea, 15:1-6.

Hepper, C. (1983): The effect of nitrate and phosphate on the vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of lettuce. New Phytol., 92:389-399.

Hernández, G., Herrera, R.A., Lescaille, M., Izquierdo, I., y Hernández, L. (1985): Variaciones físico-químicas del sustrato en relación con la distribución vertical de las raicillas en un bosque siempreverde tropical. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. En Prensa.

Herrera, R., Merida, T., Stark, N., y Jordan, C.F. (1978): Direct phosphorus transfer from leaf litter to roots. Naturwissenschaften, 65:108-109. En Golley, 1983, Capítulo 10.

Herrera, R. y Jordan, C.F. (1981): Nitrogen cycle in a tropical Amazonian rain forest: the coating of low mineral nutrient state. En Rodríguez, 1983.

Herrera, R.A. (1985): Las micorrizas vesículo-arbusculares como ayuda para la repoblación forestal en Cuba. En esta publicación.

Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Orozco, M.O., Hernández, G. y Vanoura, V. (1984): Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. Acta Botánica Cubana No. 20 (Especial), ACC, pp. 111-142.

Herrera, R.A., Orozco, M.O., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrázola, E. (1985 a): Biomasa y producción de micelio extramático VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985, ACC. En prensa.

Herrera, R.A., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrázola, E. (1985b): Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramático VA en un bosque tropical. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985, ACC. En prensa.

Herrera, R.A., Menéndez, L. y Rodríguez, M.E. (1985c): Estudio ecológico del bosque siempreverde submontano de Sierra del Rosario. Proyecto MAB No. 1. 1974-1984. En preparación.

Herrera, R.A., Rodríguez, A. y Furrázola, E. (1985d): Método para determinar la biomasa de micelio extramático vesículo-arbuscular. En esta publicación.

- Herrera, R.A., Rodríguez, M.E., Orozco, M.O., Ferrer, R.L., Ruiz, M. y Furrázola, E. (1985 e): Estrategia nutricional de los bosques tropicales; la estera radical y las micorrizas VA. En esta publicación.
- Kmarik, A.A. (1974): Decomposition of wood. En Biology of plant litter decomposition (C.H. Dickinson, G.J.F. Pugh, eds.), Academic Press, London. pp. 129-174.
- Koske, R.E., Sutton, J.C. y Sheppard, B.R. (1975): Ecology of Endogone in Lake Huron sand dunes. *Can. J. Bot.*, 53:87-93.
- Menge, J.A., Steirle, D., Bagyaraj, D.J., Johnson, E.L.V., y Leonard, R.T. (1978): Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytol.*, 80:575-578.
- Mosse, B. (1959): Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Trans. Br. mycol. Soc.* 42:439-448.
- Mosse, B. (1982): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Res. Bull. No. 194, Hawaii Inst. Trop. Agric. and Human Resources, Univ. Hawaii, Honolulu, Hawaii. 82 p.
- Nicolson, T.H. y Johnston, C. (1979): Mycorrhiza in the Gramineae. III. *Glomus fasciculatus* as the endophyte of pioneer grasses in maritime sand dune. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 72: 261-268.
- Rodríguez, M.E. (1983): Decomposition of organic matter in a tropical submontane evergreen forest at the Ecological Station in Sierra del Rosario, Cuba. Tesis de Candidato a Doctor en Ciencias (Ph.D.), Praga, 250 p.
- Olson, J.S. (1963): Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, 44:322-331.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S. (1970): Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 55:158-161.
- Pochon, J. y Tardieux, P. (1962): Techniques d'Analyse en Microbiologie du Sol. Ed. de la Tourelle Saint-Mande. 102 p.
- Singh, J.S. y Gupta, S.R. (1977): Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. *Bot. Rev.*, 43:449-528.
- Sutton, J.C. (1973): Development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in crop plants. *Can. J. Bot.*, 51:2487-2493.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 a): Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. *Ecology*, 64:957-959.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1985 b): Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity. *Plant and Soil*, 71:487-493.

- Tan, K. H. y Nopamornbodi, V. (1979): Fulvic acid and the growth of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*. *Soil Biol. Biochem.*, 11:651-653.
- Warner, A., y Mosse, B. (1980): Independent spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 74:407-410.
- Went, F.W. y Stark, N.M. (1968): Mycorrhiza. *Bioscience*, 18: 1035-1038. En Golley, 1983.
- NOTA:
- Baylis, G.T.S. (1970): Root hairs and phycocytous mycorrhizas in phosphorus-deficient soil. *Plant and Soil*, 33:713-716.
- Chilvers, M.T. y Daft, M.F.J. (1981): Mycorrhizas of the Liliiflorae. II. Mycorrhiza formation and incidence of root hairs in field grown *Narcissus L.*, *Tulipa L.* and *Crocus L.* cultivars. *New Phytol.*, 89:247-261.
- Fors, A.J. (1975): Maderas cubanas. Editorial Pueblo y Educación, La Habana. 172 p.



Figura 1.- Tronco de *Hibiscus elatus* Sw. aún en pié, en la Fase III, de Humificación. El tronco originalmente 2 metros de altura y se presentó hasta allí completamente colonizado por las raíces. Nótese los restos del tronco caídos al suelo durante la observación en el campo (abajo al frente), y la abundancia de raíces lignificadas (l) y raicillas (r) marcadas con una flecha. La corteza, aún no descompuesta por partes (c) contribuyó al desarrollo de este efecto vial a gran escala.

DEPENDENCIA MICORRIZICA DE *Hibiscus elatus* Sw. Y *Cedrela*

mexicana M.J. Roem CULTIVADAS EN CONDICIONES DE VIVERO

por

R. L. Ferrer, R. A. Herrera, A. Cárdenas* y M. Ruiz
Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Cal-
zada del Cerro No. 1257, Habana 6, Cuba. *Estación Experimen-
tal Forestal Itabo, Ministerio de la Agricultura, Itabo, Ma-
tanzas, Cuba.

RESUMEN

Se analiza la influencia de los hongos VA naturales del suelo, los presentes en una muestra de madera en descomposición, y además de *Glomus caledonium* y *Gigaspora margarita*, sobre el crecimiento de *Hibiscus elatus* Sw. (majagua) y *Cedrela mexicana* M.J. Roem (cedro) en condiciones de vivero. Para ambas especies forestales los hongos naturales del suelo, principalmente *Glomus fasciculatum*, aparentemente con una mayor infectividad, produjeron incrementos del crecimiento notablemente mayores. No obstante, las cepas de *G. caledonium* y *G. margarita* produjeron crecimientos mucho mayores que los controles sin micorrizas. Se demuestra una correlación significativamente negativa entre la dependencia micorrizica y la relación raíz:follaje, lo cual significa que las plantas con más raíces por unidad de follaje dependen menos de las micorrizas VA para su crecimiento.

ABSTRACT

The influence of VA fungi naturally occurring in the soil or a decomposing wood sample, and that coming from *Glomus caledonium* and *Gigaspora margarita* inoculation was examined on the growth of *Hibiscus elatus* Sw. (majagua) and *Cedrela mexicana* M.J. Roem (cedro) at nursery conditions. For both forest species the naturally occurring VA soil fungi, mainly *Glomus fasciculatum*, apparently with a larger infectivity produced growth increments notably larger. However, *G. caledonium* and *G. margarita* inoculated plants grew much better than non mycorrhizal controls. That a significant negative correlation occurs between mycorrhizal dependency and root:shoot values is showed, so that plant species with more roots per shoot unity seems to be less dependent on vesicular-arbuscular mycorrhizae for growing.

INTRODUCCION

Gerdemann (1975) definió teóricamente la dependencia micorrizica como el grado en que una planta depende de la condición simbiótica para producir su máximo crecimiento o rendimiento a un nivel dado de fertilidad del suelo. Menge et al. (1977) señalaron que a menudo ella se expresa como el cociente de los pesos de las plantas micorrizicas entre las de las plantas no micorrizicas y lo llamaron razón de dependencia micorrizica (RDM), enfatizando que una RDM de 1,0 indicaba que la planta no era dependiente de la micorriza para su crecimiento. Poco después, Menge et al. (1978) señalaron que la dependencia micorrizica podía ser definida numéricamente expresando el peso seco de la planta huésped como un porcentaje de la no micorrizica a un nivel dado de fertilidad.

Obviamente, esta variable sólo es utilizable en experimentos desarrollados por los investigadores y no en muestreos de las distintas vegetaciones, dado que se necesitan controles no micorrizicos que no pueden obtenerse de las condiciones naturales. Por otra parte, según se define, la dependencia micorrizica expresa el beneficio obtenido de la simbiosis en las condiciones de ensayo, y muchos factores tales como las especies micorrizogenas (planta y hongo), la temperatura, la humedad del suelo, sus microorganismos y, fundamentalmente, la fertilidad del suelo, que incluye entre otros factores la disponibilidad de fósforo, pueden afectar el grado de dependencia (Menge et al., 1982; Ascón y Ocampo, 1981). El balance de los macroelementos principales (N, P y K) es también un factor a considerar (Herrera et al., 1984 a y b).

A pesar de lo señalado anteriormente, esta variable ofrece una opción suficientemente satisfactoria, entre las pocas existentes hasta el momento, para medir o determinar de alguna forma, los resultados que pueden ser obtenidos si se inocula uno u otro hongo micorrizogeno como vía de aumentar la producción, especialmente en el caso de los cultivos que requieren una fase de vivero o semillero. Sin embargo, no debe olvidarse que ante un cambio de cualesquiera de las condiciones antes mencionadas, la dependencia micorrizica podrá variar, de modo que los resultados no serán del todo verídicos si no se parte de inoculaciones uniformes en cuanto al grado de infectividad se refiere.

Las plantas escogidas para este trabajo, constituyen dos de las principales especies para el plan de reforestación del país, por lo que la determinación de la dependencia micorrizica en las condiciones de desarrollo de los nuevos viveros podría constituir una ayuda económicamente importante para la producción de posturas de estos y otros forestales.

MATERIALES Y METODOS

El experimento descrito en este trabajo se desarrolló en la Estación Experimental Forestal Itabo, perteneciente al Ministerio de la Agricultura y ubicada en la localidad de igual nombre en la provincia de Matanzas, Cuba.

El suelo utilizado, del tipo mocarrero (suelo de sabana) tuvo un pH de 5,2 en agua y 4,8 en KCl, con contenidos muy bajos de fósforo asimilable (trazas), 750 ppm de fósforo total, y 0,11% de nitrógeno total.

Para el experimento fueron utilizadas bolsas de polietileno negro de 850 cc, las que después de llenadas con el suelo, fueron esterilizadas con bromuro de metilo (2% de cloropiorina) en las proporciones usuales, para los tratamientos que lo requirieron. Después de 2 días de exposición al gas, las bolsas fueron destapadas y dejadas aerear durante tres días más antes de proceder a la inoculación y siembra. Los tratamientos establecidos fueron los siguientes:

CE, Control estéril.- Suelo esterilizado, sin inoculación de ningún tipo.

CNE, Control no estéril.- Suelo sin esterilizar, de manera que los hongos micorrizógenos que ejercieron su influencia fueron los nativos de ese suelo.

CAL, inoculado con Glomus caledonicum (Niccol. y Gerd.) Trappe y Gerd. Procedente de un cultivo puro con tomate del Instituto de Microbiología de Praga.

MAR, inoculado con Gigaspora margarita Becker y Hall. Con igual procedencia que el anterior.

SR, inoculado con el serrín procedente de un tronco de cedro en descomposición encontrado en la Estación Ecológica Sierra del Rosario. En este material predominaron una especie de Gigaspora no identificada (53,1% del total de esporas) y Acaulospora laevis Gerd. y Trappe (37,6% del total de esporas). El resto de la población de esporas estuvo compuesto por Glomus fasciculatum (Taxter sensu Gerd.) Gerd. y Trappe y Acaulospora foveata Trappe y Janos (Ferrer et al., 1985).

Todos los inóculos utilizados en los tratamientos tuvieron aparentemente una alta infectividad (esporas, esporocarpos, micelio etc.). Se establecieron 3 réplicas múltiples de aproximadamente 30 plantas cada una por tratamiento. Las réplicas no fueron ubicadas al azar para evitar las contaminaciones observadas en experimentos anteriores, por lo que fueron colocadas en 9 bloques para aprovechar el montaje de una experiencia simultánea con pinos, cuyos tratamientos separaron los muestras (Figura 1a). Las réplicas de iguales tratamientos en cedro y majagua, siempre colindaron. Los tratamientos distintos cuando fue necesario ubicarlos en un mismo bloque, quedaron separados por varias hileras de bolsas vacías o con pinos (Figura 1 d). La inoculación se realizó el 17 de diciembre de 1984, mezclando el inóculo con los 5 centímetros superiores de suelo en cada bolsa. Al día siguiente, todas las bolsas fueron sembradas con varias semillas en cada una, y posteriormente, después de la germinación, fueron raleadas para dejar sólo una planta por bolsa. No se realizó ningún tipo de fertilización.

Al final del experimento fueron cosechadas las 10 plantas mayores de cada réplica para todos los tratamientos, el 30 de abril de 1985, aproximadamente después de 4 meses y medio de crecimiento.

Todas las plantas fueron lavadas cuidadosamente para separarlas del suelo y secadas a 80°C durante 48 horas. Después se separaron las hojas, tallos, raíces gruesas (mayores de 1 mm de grosor), raicillas (menores de 1 mm de grosor) para determinar el peso seco. A partir de estos datos fueron calculadas las siguientes características de crecimiento: peso seco de follaje (PSF), de raíces totales (PSR), de planta total (PSP), relación raíz total/follaje total (R/F) y la dependencia micorrizica, para las dos especies estudiadas.

Las raicillas secas de cada muestra fueron picadas en segmentos menores de 0,5 cms y mezcladas para tomar alrededor de 25 mg en cada caso, que fueron teñidos por la técnica de Phillips y Hayman (1970) para determinar posteriormente los porcentajes de segmentos infectados según la técnica de las intersecciones de Giovannetti y Mosse (1980). La determinación de la infección micorrizica se realizó a 9 plantas de cada tratamiento (tres de cada réplica múltiple), todas las cuales fueron consideradas réplicas en los análisis estadísticos, los que se realizaron por separado para los dos forestales estudiados.

Los resultados fueron procesados por Análisis de Varianza y las medias de los tratamientos fueron comparadas en cada caso por el Test de Rangos Múltiples de Duncan para p menor de 0,05. Las 30 plántulas de majagua o cedro correspondientes a cada tratamiento fueron consideradas como réplicas.

Al ser cosechadas ninguna de las plántulas mostró aparente restricción del crecimiento radical debida al tamaño de las bolsas (ver Pope et al., 1983). Los datos de % de infección VA fueron transformados a

$$\text{sen}^{-1} \sqrt{\frac{\% \text{ de segmentos infectados}}{100}}$$

para ser procesados estadísticamente.

Los hongos endogonóceos presentes en el suelo del experimento fueron colectados mediante la técnica del tamizado del decantado de una mezcla de suelo y agua (Gerdemann y Nicolson, 1963) y posterior centrifugación a 3000 rpm en sacarosa 2M con 2% de Tween 80. La clasificación se hizo de acuerdo con la clave de Trappe (1982) y otros trabajos posteriores.

RESULTADOS

Hibiscus elatus Sw. (majagua)

La Tabla 1 y la Figura 1 muestran los resultados obtenidos para la majagua. En general, el tratamiento CNE (plántulas en suelo no esterilizado y por lo tanto, beneficiadas por los hongos indígenas) resultó significativamente mayor para todas las características de crecimiento evaluadas, mientras que para la infección micorrizica, aunque mayor estadísticamente resultó igual que el tratamiento inoculado CAL. La relación

R/F resultó la menor para este tratamiento CNE, aunque igual estadísticamente que en los tratamientos CAL y MAR.

Entre los tratamientos inoculados (CAL, MAR y SR) no hubo diferencias significativas ni para la altura final ni para la relación R/F en tanto las plántulas de los tratamientos CAL y MAR pesaron más significativamente para CAL que las del tratamiento SR aún cuando la infección en SR (ver datos transformados en Tabla 1) fue estadísticamente comparable a la del tratamiento CAL, aunque con un valor menor.

La majagua dependió 1,6 veces más de los hongos indígenas del suelo (tratamiento CNE) que del inóculo CAL, y 2,7 veces más de aquellos que del otro inóculo compuesto (SR). Como indica la dependencia micorrízica, las plántulas de majagua del tratamiento CNE fueron 20,5 veces más pesadas que las del tratamiento sin micorrizas. La dependencia micorrízica de creció de un tratamiento a otro según el orden CNE, CAL, MAR, SR.

Según nos indica el análisis de las desviaciones estándar, la infección micorrízica del tratamiento CNE, además de resultar la mayor, también fue la más uniforme. Desde este punto de vista, el tratamiento CAL también tuvo una infección micorrízica uniforme.

Cedrela mexicana M.J. Roem (osdro).

Los resultados obtenidos para el osdro se presentan en la Tabla 2. También para este forestal, resultó el tratamiento CNE (Figura 1 b) el de mayores valores para todas las características de crecimiento evaluadas así como para la infección micorrízica. No obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para la infección micorrízica con respecto al tratamiento CAL. La relación R/F, en cambio, fue la menor para el tratamiento CNE, aunque no diferente estadísticamente de CAL y MAR, mientras que los tratamientos SR y CE tuvieron las más altas relaciones R/F, e iguales estadísticamente entre sí. Las plantas controles tuvieron las relaciones R/F mayores (iguales que SR).

De los tratamientos inoculados, también resultó superior el tratamiento CAL, incluso estadísticamente, aunque para la relación R/F no difirió del tratamiento MAR. Los tratamientos SR y MAR (Figura 1 o y d, respectivamente) por su parte, no difirieron significativamente entre sí para ninguna de las características de crecimiento analizadas, excepto para la relación R/F, en que SR resultó mayor.

Las infecciones micorrízicas fueron estadísticamente iguales entre los tratamientos CNE y CAL, a la vez que mayores que las de los tratamientos MAR y SR (también iguales entre sí), pero todas ellas fueron significativamente mayores que en el control CE, donde el 0,6% de los segmentos analizados presentaron infección micorrízica, probablemente en sus comienzos y debida seguramente a alguna contaminación producida al final del experimento.

Tabla 1. Características de crecimiento obtenidas para los distintos tratamientos correspondientes a la majagua.

TRATAM.	ALTURA FI- NAL (cm)*	PSP (g)	% Infección A	% Infección B	Dependencia micorrízica	R/F
CE	6,5(1,2)	0,28(0,19)	0,0(0,0)	0,0(0,0)	100,0%	0,89(0,60)
CNE	22,8(7,2)	5,74(3,78)	94,2(5,4)	78,2(8,2)	2050,0%	0,27(0,10)
CAL	12,6(5,2)	3,51(1,73)	83,6(9,3)	66,8(7,0)	1253,6%	0,40(0,08)
MAR	12,7(5,9)	2,71(1,28)	45,3(38,1)	43,7(27,5)	967,9%	0,42(0,07)
SR	10,4(3,2)	2,16(1,24)	54,6(32,1)	47,9(22,8)	771,4%	0,54(0,22)

*A, datos de infección original; B, datos de infección transformados. Para las abreviaturas ver el texto. * 11 días antes de desenterrar el experimento. Las medias de cada columna con letras distintas son diferentes significativamente para p menor de 0,05.

Tabla 2. Características de crecimiento obtenidas para los distintos tratamientos correspondientes al osdro.

TRATAM.	ALTURA FI- NAL (cm)*	PSP (g)	% Infección A	% Infección B	Dependencia micorrízica	R/F
CE	4,6(1,0)	0,13(0,03)	0,6(1,1)	2,6(4,0)	100,0%	1,27(0,31)
CNE	20,4(7,0)	5,64(4,26)	94,8(2,5)	77,8(5,0)	4338,5%	0,33(0,12)
CAL	10,2(7,2)	2,13(1,67)	74,5(16,8)	60,7(11,1)	1638,5%	0,54(0,16)
MAR	7,3(4,8)	0,78(0,93)	32,3(34,6)	33,7(23,5)	600,0%	0,77(0,30)
SR	6,3(2,2)	0,57(0,31)	36,8(30,1)	35,3(21,4)	438,5%	1,31(1,91)

Ver pie de tabla anterior.

Las plántulas de cedro del tratamiento CNE fueron 43,4 veces más pesadas que las del tratamiento control y dependieron de los hongos indígenas del suelo utilizado 2,6 veces más que de *Glomus caledonium* y 9,9 veces más que de los hongos asociados al inóculo SR. La dependencia micorrízica decreció en el mismo orden de tratamientos que lo hizo en el caso de la majagua, pero el cedro dependió más del doble de la micorriza del tratamiento CNE que la majagua y 1,3 veces más que ésta de *G. caledonium*, mientras que la majagua dependió 1,6 y 1,8 veces más que el cedro de los hongos inoculados en los tratamientos MAR y SR, respectivamente.

El análisis de los tipos de hongos micorrizógenos presentes en el suelo utilizado en el experimento mostró la presencia de *Glomus fasciculatum*, *Acaulospora scrobiculata* y *Gigaspora gilmorei*. Todos ellos debieron estar presentes en el suelo del tratamiento CNE (suelo no esterilizado). Sin embargo, por las características de las micorrizas formadas en las plántulas de este tratamiento, pensamos que *G. fasciculatum* debió ser el hongo que infectó las raíces, pues numerosas vesículas típicas de la especie fueron observadas en todos los segmentos analizados de este tratamiento tanto en las plántulas de majagua como en las de cedro.

Para ambas especies las desviaciones estándar fueron bastante altas lo que quizás se debió a que en los forestales la variabilidad genética es muy grande. Se ha demostrado que, por ejemplo, en la majagua (Antonio López, comunicación personal) incluso granos de polen de una misma flor poseen números cromosómicos muy diferentes que incluyen haploides y poliploides. Por otra parte, y dada la pobreza del suelo empleado, si se hubiera fertilizado en el experimento las desviaciones quizá hubieran sido menores.

DISCUSION

Las plántulas del tratamiento CNE gozaron de la ventaja sobre las de los demás tratamientos de tener los propágulos micorrízicos distribuidos por toda la bolsa, de manera que en cualquier sitio de la bolsa en que creciera una raíz, la posibilidad de formación de la micorriza estaría garantizada. En los otros tratamientos micorrízicos los inóculos que fueron mezclados con el suelo superior de las bolsas no se encontraron a disposición de las raíces que crecieron por debajo de él (Ferguson y Woodhead, 1982).

El tratamiento SR, que consistió en la inoculación de madera en descomposición con gran cantidad de raíces y esporas en su interior, pareció ser el peor de los tratamientos y ello se debió probablemente a la inadaptación de sus hongos micorrizógenos al nuevo ambiente que les fue impuesto pues ellos provenían de una zona montañosa con características incluso climáticas diferentes de las de la región llana donde se efectuó el experimento, así como de un medio rico (madera en descomposición) muy diferente al suelo extremadamente pobre en que fueron inoculados. Lambert et al. (1980) estudiaron este

efecto de adaptación y obtuvieron resultados esencialmente similares a los nuestros.

Mosse (1975) señaló que existe alguna evidencia de que los diferentes endófitos se asocian algunas veces preferentemente con especies de plantas particulares. En otro experimento similar a este realizado por nosotros (Herrera, 1983; Ferrer et al., 1985) en las condiciones de otro vivero ubicado en Topes de Collantes (a aproximadamente 700 msnm) se evidenció cierta especificidad entre las plantas de majagua y el hongo inoculado *G. fasciculatum*. Esta especificidad, entre otros factores, también pudo influir en los resultados superiores del tratamiento CNE del presente experimento que presentó entre sus hongos también a *G. fasciculatum*. En el caso del cedro que en el experimento de referencia mostró una preferencia marcada por *G. mosseae*, y algo menos por *G. fasciculatum*, presente como hongo nativo en el control no esteril, el mayor crecimiento se obtuvo en el actual experimento en el tratamiento CNE (cuyo principal componente debió ser también como se dijo *G. fasciculatum*). De esta manera, el factor que mayormente debió influir en el resultado obtenido ahora, debió ser la inadaptación al medio de los inóculos puros utilizados, aún cuando la región en que se desarrolló este experimento es favorable al crecimiento de esta especie forestal, a diferencia de la región montañosa de Topes de Collantes. Lamentablemente al momento del montaje de este experimento no se dispuso de cantidades de inóculo suficientes del hongo *G. mosseae* que fue el mejor para el cedro en aquellas condiciones.

Es de señalar que *G. margarita*, que fue inoculada en el tratamiento MAR de este experimento y que también lo fue en el experimento a que nos referimos antes, a pesar de haber beneficiado las plantas de cedro en comparación con los controles no micorrízicos (DM, 600%) no parece estar entre los hongos micorrizógenos más estimulantes del crecimiento de este forestal pues ni en las condiciones de este experimento, ni en las del otro a que nos referimos antes, este tratamiento estuvo entre los mejores. Probablemente esto sea extensivo a todo el género *Gigaspora* pues *G. gilmorei*, que se encontraba en el tratamiento CNE no colonizó aparentemente las raíces de las plántulas que estuvieron a ella expuestas, pues no fueron observadas las vesículas del micelio extramítico, típicas del género en las raíces analizadas. Sin embargo, para poder afirmar esto debiera partirse sobre todo de condiciones de micorrización similares y las plantas del tratamiento CNE tuvieron ventajas a este respecto, de acuerdo con los criterios de Ferguson y Woodhead (1982).

Menge et al. (1978) no encontraron correlación entre la dependencia micorrízica de diferentes variedades cultivadas de cítricos y las relaciones R/F de las plantas no micorrízicas, pero esta correlación no se refirió para las relaciones R/F de todos los tratamientos con sus respectivas dependencias micorrízicas. Por su parte, Pope et al. (1983) hicieron lo mismo para cuatro especies de forestales diferentes, y encontraron una correlación positiva entre las dependencias mi-

corrizicas promediadas para todas las especies de hongos inoculadas y la relación R/F de las plantas no micorrizicas. Nosotros no entendemos la utilidad de esta correlación. No obstante, ellos concluyeron que en plantas con desarrollo radical lateral extensivo, es decir, con una alta proporción de peso de raíces laterales sobre el total de raíces, o con una proliferación de raíces finas y por tanto longitudes radicales extensas, los hongos micorrizógenos parecen ser menos importantes para el crecimiento de las plantulas.

En nuestro experimento, hubo una correlación significativamente negativa entre la dependencia micorrizica y la relación R/F, para las dos especies de forestales estudiadas, teniendo en cuenta todos los tratamientos establecidos (Figura 1 e). Esto nos lleva a la conclusión similar a la de estos autores, de que a mayor cantidad de raíces (totales) por planta, menor es la dependencia micorrizica, o lo que es lo mismo, las plantas con más raíces por unidad de follaje producido dependen menos de las micorrizas para su crecimiento. En nuestro caso, los valores de "r" fueron de -0,84 para el cedro y -0,93 para la majagua (esta última, altamente significativa).

Los resultados de este experimento pudieran sugerir que la inoculación de hongos micorrizógenos no es necesaria por cuanto el tratamiento que simuló las condiciones de producción (CNE) resultó el mejor lo cual no habría sucedido si se hubieran utilizado cepas puras más efectivas de alta infectividad. De cualquier manera esta experiencia permitió confirmar la cierta especificidad observada antes, al menos entre la majagua y el hongo *G. fasciculatum*. Si las ventajas económicas que reporta el uso del bromuro de metilo en los viveros se combina con una buena inoculación determinando previamente qué especie de endófito debe ser utilizada para las condiciones de cada vivero, suelo utilizado, etc. es evidente que resultados muy cercanos a éste (plantas 20,5 veces mayores que las no micorrizicas para la majagua, y 43,4 para el cedro) podrían obtenerse en la producción.

Por el momento, y hasta tanto no se implante esta práctica comercialmente, se debe asegurar la presencia de estos hongos que resultaron más productivos y fundamentalmente *G. fasciculatum*, al menos en los suelos que vayan a ser tomados para la implantación de viveros de estos dos forestales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su reconocimiento a todos aquellos que de una forma u otra contribuyeron a la realización de este trabajo, especialmente a los técnicos encargados del cuidado de la experiencia en la Estación Experimental Forestal Itabo. El Grant IFS D-251 que fue concedido al segundo autor de este trabajo, permitió en parte la realización del mismo.

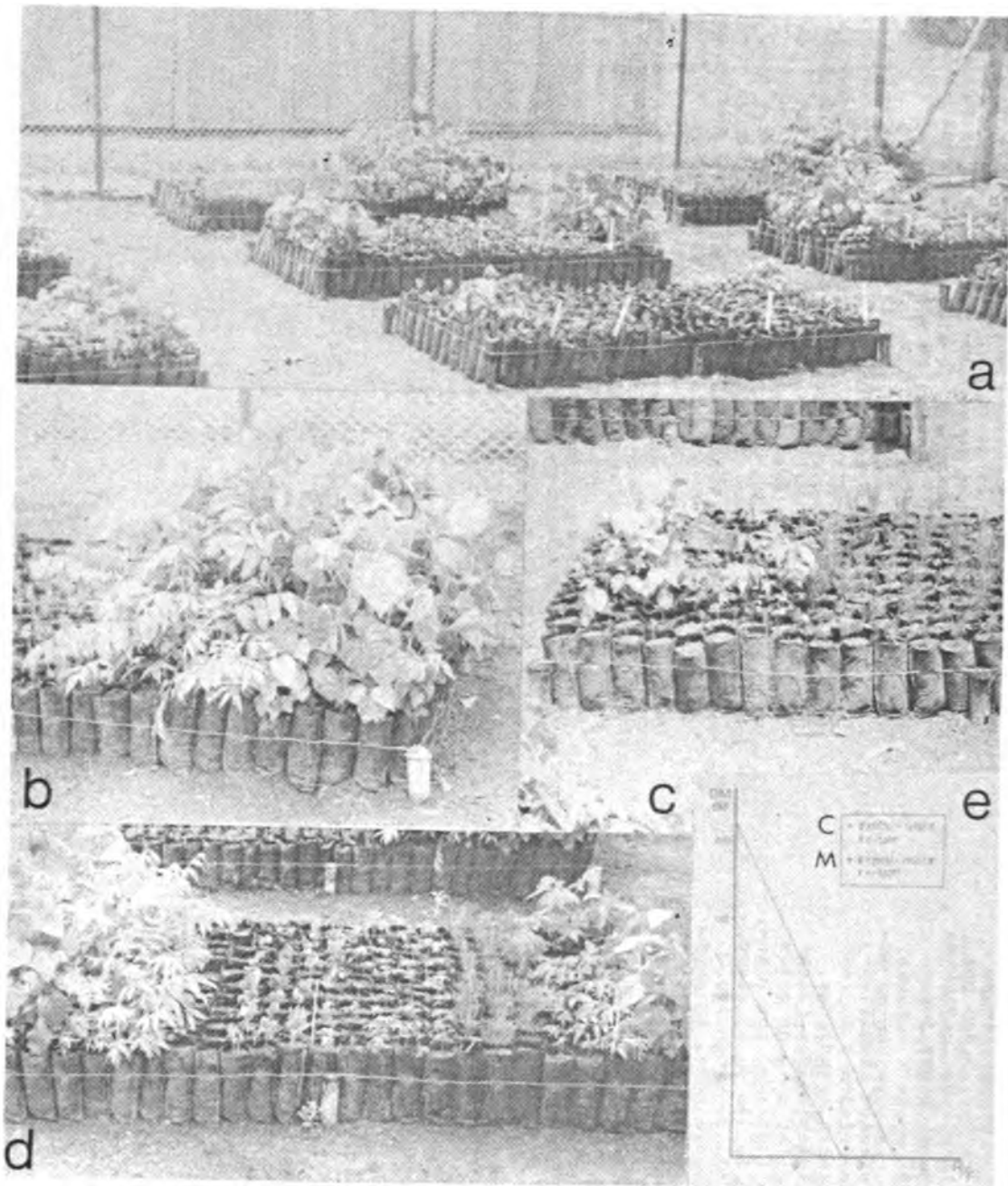


Figura 1.- a) Vista general del experimento en el vivero. b) Control no estéril (CNE) con plantas de cedro (izquierda) y majagua (derecha) colindantes. c) Tratamiento SR. d) Tratamientos inoculados con *G. caledonicum* (CAL, izquierda) y *G. margarita* (MAR, derecha) separados respectivamente del control estéril (CE, centro) por bolsas vacías o bolsas con posturas de pino correspondientes a otro experimento. e) Correlaciones entre las dependencias micorrízicas (DM) y las relaciones raíz total/follaje total (R/F) de las plántulas de cedro (·) y majagua (·).

REFERENCIAS

- Azcón, R. y Ocampo, J.A. (1981): Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. *New Phytol.*, 87:677-685.
- Ferrer, A., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L. (1985): Influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de posturas de Hibiscus elatus Sw. y Cedrela mexicana M.J. Roem en Topes de Collantes. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. En prensa.
- Ferrer, R.L., Ruiz, M., Rodríguez, A. y Herrera, R.A. (1985): Características micotróficas de dos formaciones vegetales de la Estación Ecológica de Sierra del Rosario. Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. En prensa.
- Ferguson, J.J. y Woodhead, S.H. (1982): Production of Endomycorrhizal inoculum. A. Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. En Methods and Principles of Mycorrhizal Research (N.C. Schenck, ed.), The American Phytopathological Society, USA. pp. 47-54.
- Gerdemann, J.W. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En The development and function of roots (Torrey y Clarkson, eds.). Academic Press, London. pp. 575-591.
- Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963): Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 46:235-244.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. (1980): An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytol.*, 84:489-500.
- Herrera, R.A. (1983): Distribution and significance of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Cuba. Tesis de Candidato a Doctor (Ph.D.), Praga, 253 p.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Orozco, M.O., Prikryl, Z., Hernández, G. y Vanoura, V. (1984a): Fertilización y micorrizas VA. I. Efectos del nitrógeno, el fósforo y el potasio sobre el crecimiento y las micorrizas de la majagua (Hibiscus elatus Sw.). *Acta Botánica Cubana* No. 20 (Especial), ACC, pp. 93-110.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Orozco, M.O., Hernández, G. y Vanoura, V. (1984 b): Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. *Acta Botánica Cubana* No. 20 (Especial) ACC, pp. 111-142.
- Lambert, D.H., Cole Jr., H. y Baker, D.E. (1980): Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhiza to edaphic factors. *New Phytol.*, 85:513-520.
- Menge, J.A., Lembricht, H. y Johnson, E.L.V. (1977): Utilization of mycorrhizal fungi in Citrus nurseries. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1:129-132.
- Menge, J.A., Johnson, E.L.V. y Platt, R.G. (1978): Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytol.*, 81:553-559.
- Menge, J.A., Jarrell, W.M., Labanauskas, C.K., Ojala, J.C., Huszar, C., Johnson, E.L.V. y Silbert, D. (1982): Predicting mycorrhizal dependency of troyer citrange on Glomus fasciculatus in California citrus soils and nursery mixes. *Soil Sci. Soc. Am. Jour.*, 46:762-768.
- Mosse, B. (1975): Specificity in VA mycorrhizas. En Endomycorrhizas (F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker, eds.) Academic Press, London. pp. 470-484.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S. (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. mycol. Soc.*, 55:158-161.
- Pope, P.E., Chaney, W.R., Rhodes, J.D. y Woodhead, S.H. (1983): The mycorrhizal dependency of four hardwood tree species. *Can. J. Bot.*, 61:412-417.
- Trappe, J.M. (1982): Synoptic keys to the genus and species of zygomycetous mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, 72:1102-1108.

SITUACION ACTUAL DE LA INVESTIGACION EN MICORRIZA EN
GUATEMALA Y PERSPECTIVAS FUTURAS

POR

Amilcar Gutiérrez Alvarez
Subárea Protección de Plantas, Area Tecnológica
Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de
Guatemala, Zona 12. Apto Postal 1545. Guatemala

RESUMEN

En Guatemala ninguna persona o institución ha investigado o investiga formalmente sobre micorrizas. En la Universidad de San Carlos se han realizado pruebas para su aislamiento de coníferas, existiendo un proyecto pendiente de iniciarse para la evaluación e identificación de ectomicorrizas en *Pinus* sp. Además en el Instituto Nacional Forestal se ha logrado mejor desarrollo y adaptación de campo con plántulas de pino cuyo sustrato en vivero ha sido tratado con mantillo de bosques maduros, pero no existen evidencias experimentales. Aunque la base de la economía guatemalteca son los productos agrícolas, más de la mitad de las tierras son de potencialidad forestal, y mucho de los suelos se encuentran degradados. En ese contexto el uso de micorrizas constituye para el país un interesante aspecto de investigación, pretendiéndose en el futuro reducir el volumen de fertilizantes usados, incrementar la producción en tierras marginales y habilitar áreas degradadas del oriente y altiplano occidental. La investigación en micorrizas se traducirá en producción de alimentos, fibras y otros productos a un costo menor, repercutiendo en un mejor nivel de vida de la población guatemalteca.

SUMMARY

In Guatemala there is no person or institution researching on mycorrhizas. At the Agronomy school at the State University (Universidad de San Carlos) there is an ectomicorrhizal fungi research project to be started. Mycorrhiza isolation from conifers has been tested in that school. Technicians of the Forest National Institute of Guatemala claim that better growth and adaptation of seedlings under field conditions have been obtained when nursery substrate has been treated with humus from mature forests. However, from this information does not exist experimental evidence. The Guatemalan economy is based on agricultural products; but, most of the lands are of

forestral vocation and the soils are being destroyed. The use of micorrhiza is of great value due to its future economic impact in reducing the volume of fertilizers used; increasing crop yields and recovering degraded lands in the eastern and western highlands of Guatemala. Micorrhizal research will favour the production of food, fibres and other products by lowering the costs conferring to Guatemalan population an improvement of their life level.

I. INTRODUCCION

Guatemala es un país no industrializado, productor de materias primas agrícolas que posee una poca significativa e incipiente agroindustria. El 58.5% de su extensión territorial está ocupada por tierras de vocación forestal, siendo el 26.4% suelos con potencialidad agrícola (3). Una buena proporción de los suelos presenta baja fertilidad debido al inadecuado manejo que por años se les ha dado. Debe agregarse que con la crisis económica que se vive en el país se prevee una reducción significativa en el uso de fertilizantes químicos y pesticidas.

Todo esto ha venido incidiendo e incidirá con mayor intensidad en la producción agrícola nacional.

Afortunadamente, los avances científico-tecnológicos de la última década han sido trascendentales y su explicitación en términos de técnicas se incertan inmediatamente en la producción de bienes y servicios (5). Específicamente la microbiología del suelo ha cobrado mas relevancia en los últimos años por las grandes ventajas que varios microorganismos, entre ellos los hongos micorrizicos representan para la producción agrícola y forestal. Entre esas ventajas se puede indicar los incrementos en rendimiento, la adaptación a condiciones de ambiente desfavorables, ningún tipo de contaminación ambiental y el bajo costo comparado con el de los fertilizantes aplicados al suelo (1,7).

Si se toma en cuenta que los recursos económicos de Guatemala han sido limitados y aún más en la época actual, se comprenderá el gran valor que representa para el país la investigación en micorriza.

Existen en el país algunas investigaciones en microbiología de suelos, pero más que todo acerca de *Rhizobium* (2). En micorrizas, a pesar de su demostrado papel en la mayor capacidad de absorción de fósforo y otros elementos, prácticamente no se han efectuado investigaciones. Se conoce mucho de los avances científicos que en este campo se vienen logrando, sin embargo, es necesario generar conocimientos que correspondan y se adapten a las condiciones particulares de cada país, en este caso Guatemala.

II. SITUACION ACTUAL

Para determinar la situación actual de la investigación en micorriza en Guatemala, se procedió a visitar bibliotecas y centros de documentación de Universidades, organismos internacionales e instituciones públicas y privadas en el país que tuvieran relación con aspectos agrícolas, forestales y de alimentación.

El período de recopilación de información fue de 60 días (marzo-abril/85) durante los cuales se revisó retrospectivamente la información que sobre este tópico se hubiera generado en los últimos 12 años en catálogos, bibliografías agrícolas y publicaciones periódicas de autores nacionales o extranjeros en el país.

También se entrevistaron personas que tuvieran relación con el tema.

Se determinó que en la facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, se han realizado pruebas en el aislamiento de micorrizas provenientes de bosques de coníferas de zonas aledañas a la ciudad capital. Contándose también con un anteproyecto de investigación, pendiente de iniciarse, para el aislamiento, evaluación e identificación de hongos ectomicorrizicos de Guatemala en especies coníferas (4).

En el Instituto Nacional Forestal se menciona que han obtenido cierta ventaja en el desarrollo de plántulas de pino en vivero, cuyos sustratos han sido mezclados con mantillo proveniente de bosques maduros de pino en comparación con plántulas cuyo sustrato carece de ese mantillo. El desarrollo posterior de esas plantas en campo definitivo ha sido totalmente exitoso a diferencia de las plántulas no tratadas en donde una buena proporción ha muerto o desarrollado menos vigorosamente. No existen evidencias experimentales.

Concretamente los resultados obtenidos indican que en Guatemala, a pesar de que existe interés en ciertos casos, ninguna persona o institución ha investigado o investiga formalmente sobre micorrizas.

 *Mogollón F. Algunos ensayos de campo con micorrizas. Guatemala Instituto Nacional Forestal 1985. Comunicación personal

III. PERSPECTIVAS FUTURAS

El renglón principal de la economía guatemalteca lo constituyen los productos agrícolas y pecuarios. Mas de la mitad de las tierras son de potencialidad forestal (bosques de coníferas latifoliadas y mixtos), pero una buena proporción de los suelos se encuentran degradados o con escasa fertilidad debido a diferentes causas.

En ese contexto las ventajas que el uso de micorrizas representa en la producción agrícola y forestal constituye un interesante y prometedor aspecto de investigación para Guatemala. No se pretende desde luego, que en el futuro el uso de micorrizas solucione los problemas de fertilidad de suelo, de enfermedades radiculares o de adaptación de las plantas a ambientes adversos; pero sí se esperaría que entre otros beneficios

a) Se reduzca el volumen de fertilizantes químicos empleados actualmante, sin menoscabo en la producción agrícola (Guatemala importa el 100% de los fertilizantes químicos y casi la totalidad de materias primas utilizadas en su elaboración).

b) Incrementar la producción en tierras marginales y habilitar áreas degradadas con potencialidad forestal (amplias regiones en el oriente y altiplano occidental del país).

En estos momentos Guatemala cuenta con capacidad física instalada para desarrollar un programa de investigación en Micorriza, en diferentes entidades gubernamentales y particulares, careciéndose de algún equipo y materiales específicos. Además existe personal técnico especializado en materias afines el que podría perfectamente, previo adiestramiento, apoyar y desarrollar un programa. En un futuro plan de investigación deberán incluirse primordialmente proyectos que consideren desde el aislamiento, cultivo e incremento de inóculo, evaluación de potencial micorrizico e influencias ambientales, entre otros, hasta la aplicación a escala comercial tanto de hongos ectomicorrizicos, endomicorrizicos y ectoendomicorrizicos. Deberá iniciarse con aspectos poco complejos que tengan algún grado de aplicabilidad, por lo que se sugiere que un proyecto inicial importante podría ser la evaluación de cepas nativas de hongos ectomicorrizicos en Pinus spp.

Finalmente, tomando en cuenta la presente crisis económica que afecta profundamente el desarrollo de países como Guatemala y considerando los índices de vida tan deteriorados de la población guatemalteca (6) el empleo adecuado de los resultados de la investigación en micorrizas significará producción de alimentos, fibras y otros productos (7) a un costo menor, repercutiendo en un mejor nivel de vida de la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AZCON G., DE AGUILAR, C. y BAREA, J. M. Micorrizas. Investigación y ciencia No. 47: 8-16. 1980.
2. BIBLIOGRAFIA AGRICOLA DE GUATEMALA. Guatemala, Universidad de San Carlos. Facultad de Agronomía, 1980. 145 p.
3. FIGUEROA, C., GONZALEZ, J. y ZANOTTI, J. Situación actual de los recursos naturales renovables de Guatemala y expectativas de conservación para el año 2000. In: Congreso Nacional de Ingenieros Agrónomos 4o. (Antigua Guatemala, 3-8 Dic. 1984. Guatemala, Colegio de Ingenieros Agrónomos, 1985. pp. 231-264.
4. GUTIERREZ ALVAREZ, A. Proyecto para el aislamiento, evaluación e identificación de hongos ectomicorrizicos de coníferas en Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos Facultad de Agronomía, 1983. 10 p.
5. OKAMOTO, H. El cambio tecnológico y el orden social; repercusiones sociales de la revolución científico-tecnológica. Paris, UNESCO, 1982. s.p.
6. SANDOVAL SAGSTUME, A. A. et al. Estrategias generales para el desarrollo de la agricultura hacia el año 2000 en base a un análisis actual. In: Congreso Nacional de Ingenieros Agrónomos. 4o. Antigua Guatemala, 3-8 Dic. 1984. Guatemala, Colegio de Ingenieros Agrónomos, 1985. s.p.
7. SCHENCK, H. C. Methods and principles of mycorrhizal research, Estados Unidos, American phytopathological society, 1982. 244 p.

LAS MICORRIZAS VA DEL CAFÉTO (Coffea arabica) Y SU PAPEL EN EL CICLO DE NUTRIENTES EN UN CULTIVO DE CAFÉ BAJO SOMBRA.

por

GISELA CUENCA Y RAFAEL HERREMA

Centro de Ecología y Ciencias Ambientales, IVIC, Apartado postal 1827, Caracas, 1010-A, Venezuela.

RESUMEN

En un cultivo de café bajo sombra situado en Venezuela, se estudiaron algunos aspectos de las micorrizas VA del caféto. Se observaron numerosas hifas en la superficie de la raíz, aunque no se determinaron los puntos de entrada. Después de atravesar la epidermis, las hifas penetran hacia la corteza a través de células especializadas de la exodermis. Se observaron arbuscúlos y vesículas tal como es característico de este tipo de micorrizas. Las raíces finas del caféto son superficiales y se adhieren firmemente a la hojarasca en descomposición. El estudio microscópico de esta unión mostró que en ella no intervienen las micorrizas VA sino más bien los pelos radicales. Esto corrobora resultados anteriores que señalan que las micorrizas VA mismas no juegan un papel en la descomposición de la hojarasca. Se encontraron rizomorfo capaces de concentrar N, P y K en comparación con las hojas del cultivo y se discute su posible participación en el ciclo de nutrientes de este agroecosistema.

ABSTRACT

Some aspects of VA mycorrhiza were studied in a coffee plantation under shade trees in Venezuela. Numerous hyphae were found growing on the epidermis. When they penetrate towards the cortex, they cross through specialized cells of the exodermis. Typical arbuscules and vesicles were also observed. The fine and superficial roots of coffee grow attached to decomposing leaf litter. The microscopic study of this union showed that the root hairs grow preferentially towards the decomposing litter forming the juncture, while no mycorrhizal hyphae were observed. Previous results had shown that the presence of VA-mycorrhizal coffee roots had no effect on litter decomposition. Abundant rhizomorphs were observed in the litter. These Basidiomycetes structures were found to concentrate N, P and K in comparison with the crop's leaves. Their possible role in nutrient cycling in the agroecosystem is discussed.

INTRODUCCION.-Existe un creciente interés en tratar de establecer el papel de las micorrizas en el ciclo de nutrientes de los distintos ecosistemas (Fogel 1980, Bowen 1980). Se ha sugerido para áreas tropicales que las micorrizas mismas serían capaces de descomponer la hojarasca (Went y Stark 1968). Evidencias experimentales que apoyarían esta sugestión fueron señaladas por Herrera et al (1978) y Linkins y Antibus (1979).

En el caso de un cultivo de café bajo sombra, se trata de un sistema artificial que sin embargo, tiene cierta semejanza con un bosque natural ya que posee por lo menos dos estratos de árboles y su ciclo de nutrientes es muy dependiente del aporte de hojarasca por los árboles de sombra (Aranguren 1980, Aranguren et al. 1982).

En un trabajo anterior Cuenca et al (1983) estudiaron las raíces superficiales del caféto que poseen micorrizas VA, y encontraron que su presencia no acelera la descomposición de la hojarasca. En el presente trabajo se reseñan algunos aspectos de las micorrizas VA del caféto y su relación con la hojarasca, con el fin de aclarar su posible papel en el ciclo de nutrientes de este agroecosistema.

MATERIALES Y METODOS.-

Area Experimental: El área de estudio está situada a 1400 msnm en el Edo. Miranda, Venezuela. La precipitación anual es de 1000 mm con un período seco en Febrero-Marzo y la temperatura media anual de 18 C con pequeñas variaciones estacionales. Los suelos son ácidos y pobres en sales cambiables.

El cultivo de Coffea arabica var Mundo Nuevo sembrado hace 25 años, se ha mantenido desde entonces sin fertilización y con muy poco manejo. Los árboles de sombra forman un estrato superior de aproximadamente 20 m de altura cuyas especies principales son Erythrina sp. e Inga sp. y formando un segundo estrato (15 m) Heliconia americana, Clethra lanata y Persea caerulea. En los bordes de la parcela se encuentran numerosas plantas de bananos.

Estudio Anatómico: Raíces de caféto aisladas y raíces adheridas a la hojarasca, fueron fijadas en FAA (formol, etanol 50%, ácido acético), se las deshidrató a través de una serie etanol-butílico terciario (Johansen 1940) y finalmente se incluyeron en parafina. Se hicieron cortes de 12 µm y se los coloreó con safranina-fastgreen o safranina-azul de anilina. Los preparados se fotografiaron con un dispositivo microfotográfico.

tográfico mf. matic VEB Carl Zeiss Jena. DDR.

Rizomorfos: Durante las visitas a la plantación se observaron en la hojarasca numerosos rizomorfos, los cuales son haces de hifas de Basidiomicetos de 1-3 mm de diámetro. Algunos ejemplares fueron fijados en FAA para estudiarlos morfológicamente y anatómicamente y otros fueron digeridos con una mezcla de ácidos según Gales y Booth (1974), para analizar su contenido de nutrientes. Se analizaron N y P colorimétricamente siguiendo el método del Autotechnicon II y el K, Ca y Mg con un espectrofotómetro de absorción atómica. Se usó lantano para evitar interferencias.

RESULTADOS.-

Micorrizas VA: La plantación estudiada posee una intensa infección de micorrizas VA tanto en individuos juveniles como adultos, coincidiendo con las observaciones de autores anteriores (Janse 1897, Cardoso 1978).

Parece ser general, y en el café es evidente, que la infección nunca ocurre en las zonas meristemáticas de la raíz y está restringida a raíces funcionalmente activas.

Se observaron numerosas hifas en la superficie de la raíz, aunque no se estudiaron los puntos de entrada. Una vez que atraviesan la epidermis, las hifas penetran hacia la corteza a través de células especializadas de la exodermis. Dichas células se encuentran distribuidas regularmente, con la pared tangencial externa sumamente engrosada, que se tinte con safranina (Fig-1). Esta especialización en los sitios de entrada ha sido reportada en las orquídeas (Withner 1974) y en plantas del Amazonas (Víctor García, com. pers.).

Una vez dentro de la exodermis, las hifas se enrollan en espiral (Fig 2). Como resultado de la invasión del hongo, las células corticales presentan núcleos hipertrofiados, posiblemente poliploides. También se observan vesículas y arésculos, estos últimos difíciles de observar en condiciones naturales (Bonfante-Fasolo 1984).

Interfase hojarasca-micorriza: Las muestras de raíces adheridas a la hojarasca no se separaron durante el proceso de fijación, deshidratación y corte. Esto indica la firmeza de la adhesión entre ambas estructuras. La Fig-3 muestra un corte de la unión entre la raíz y la hojarasca en descomposición y se observa que la misma se realiza básicamente gracias a los pelos radicales. Estos se presentan únicamente en la parte de la raíz que está en contacto con la hoja y crecen orientados hacia ella. Ninguna de las dos estructuras muestra señales de desintegración en la zona de contacto.

En la Fig-4 puede verse además, que las micorrizas VA no intervienen en la unión de la hojarasca y la raíz, pues no se ven hifas provenientes de las micorrizas penetrando en la hoja. El hecho de que los pelos radicales se encuentren sólo en el lado que está en contacto con la hojarasca, puede atribuirse a la existencia en ese lugar de un microambiente hídrico más favorable para el crecimiento de los pelos radicales en comparación con el lado opuesto, que seguramente está más expuesto a la deshidratación.

Rizomorfos: Tal como se señaló anteriormente, se encontraron numerosos rizomorfos en la hojarasca, que eran rígidos y de color negro brillante. Dichos ejemplares no fueron identificados taxonómicamente.

Aunque usualmente se los asocia con los cuerpos fructíferos de los Basidiomicetos, Went (1973) ha señalado que en muchos ambientes ellos pueden crecer independientemente de los cuerpos fructíferos y más bien se encuentran asociados con las micorrizas. En efecto, se ha demostrado el paso de nutrientes y de agua a través de rizomorfos asociados con ectomicorrizas (Bowen 1973).

Por su parte Stark (1973) encontró que los rizomorfos tanto de zonas templadas como tropicales, presentan altas concentraciones de nutrientes comparadas con las hojas de la vegetación dominante del lugar. Además señala que los rizomorfos son capaces de retener nutrientes con un alto grado de eficiencia contra las pérdidas por lixiviación (99.9 % de retención en el tejido vivo y 99.3 % en el tejido muerto).

En la Tabla I aparecen los resultados del análisis de nutrientes de algunos de los rizomorfos colectados en este trabajo. En este caso los rizomorfos muestran una gran acumulación de nutrientes, especialmente N, P y K. A diferencia de los rizomorfos analizados por Stark, ni el Ca ni el Mg se acumulan, en comparación con las hojas del cultivo. Los datos son muy variables y ello puede deberse a diferencias en el sustrato y a la época del año en que fueron colectados. Resulta muy interesante el hecho de que los elementos acumulados en los rizomorfos sean justamente los más escasos en los suelos de la parcela experimental (Cuenca 1982).

CONCLUSIONES.- Los resultados obtenidos corroboran las investigaciones anteriores respecto a que las micorrizas VA no están descomponiendo la hojarasca activamente (Cuenca et al. 1983). Si bien la unión entre las raíces y la hojarasca es muy fuerte, ella depende más de los pelos

raicales que de las micorrizas.

En la hojarasca se encontraron numerosos rizomorfos que acumulan una gran proporción de nutrientes, especialmente aquellos que son más escasos en el suelo del cultivo. Aunque no se determinó la biomasa de estos hongos, si esta tuviera un valor elevado, los rizomorfos podrían desempeñar un papel en el ciclo de nutrientes ya que actuarían como sumideros de N, P y K, reteniendo en la hojarasca estos elementos que de otra manera, serían lavados del sistema.

AGRADECIMIENTOS.- Los autores desean agradecer muy especialmente la colaboración y sugerencias del Dr. Víctor García en la realización de la parte anatómica de este trabajo. Además agradecen a Saúl Flores la ayuda en el trabajo de campo.

Tabla I. Concentración de nutrientes en los rizomorfos colectados en la hojarasca de la parcela experimental.

	P (mg/g)	N (mg/g)	K (mg/g)	Mg (mg/g)	Ca (mg/g)
Rizomorfos(+)	3.7	60.0	7.7	1.5	4.4
	3.6	51.8	15.0	3.1	2.5
	6.0	123.0	76.2		14.2
					2.2
Promedio =	4.4	78.3	55.7	2.3	6.0
Hojas adultas del cafeto	1.4	21.8	15.9	2.5	14.7
Rizomorfos/ Hojas del cafeto	315 %	359 %	351 %	93 %	41 %

(+) Los valores reportados para los cinco elementos no necesariamente corresponden a una misma muestra.

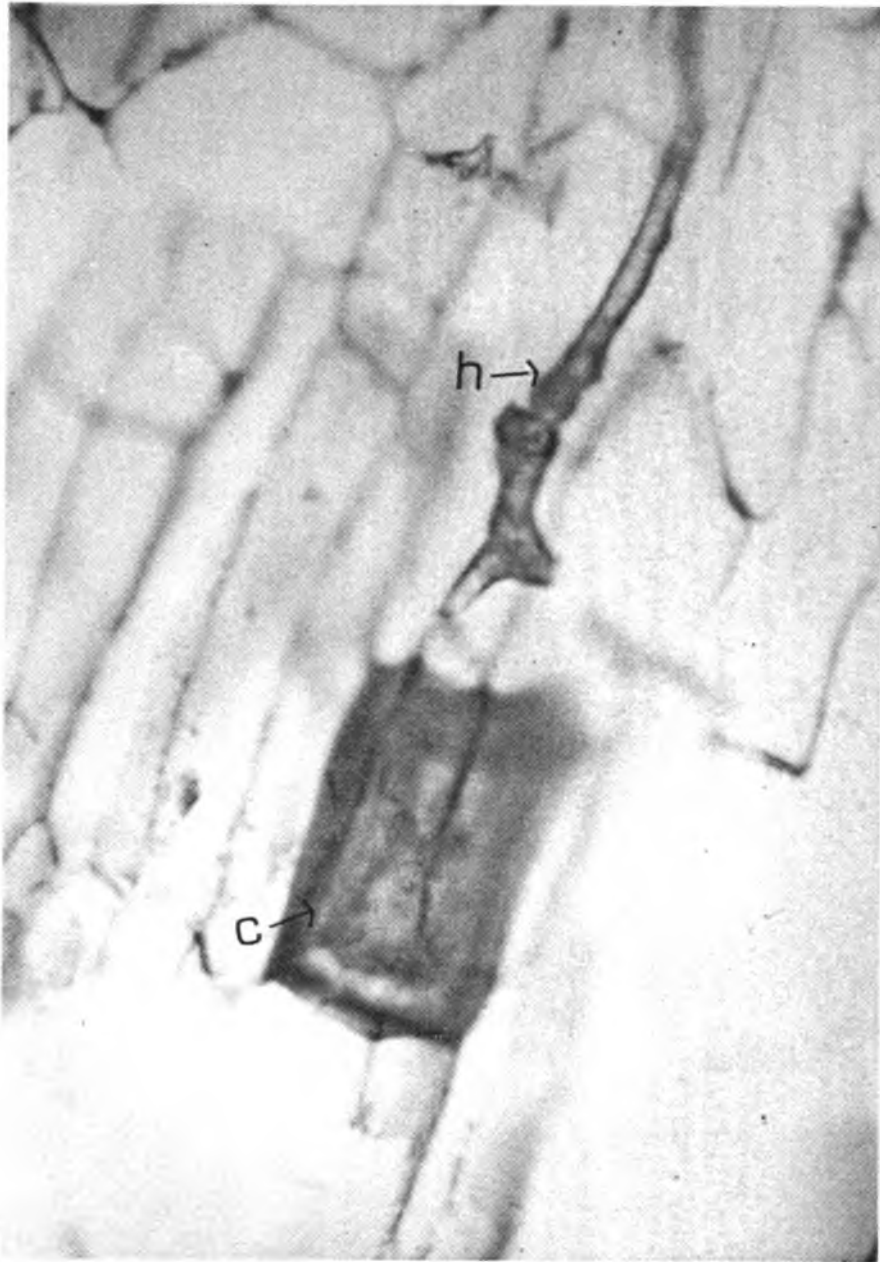


Figura-1. Vista superficial de la raíz de Coffea arabica mostrando las células especializadas de la exodermis. h= hifa, c= cara tangencial externa de una célula de la exodermis.

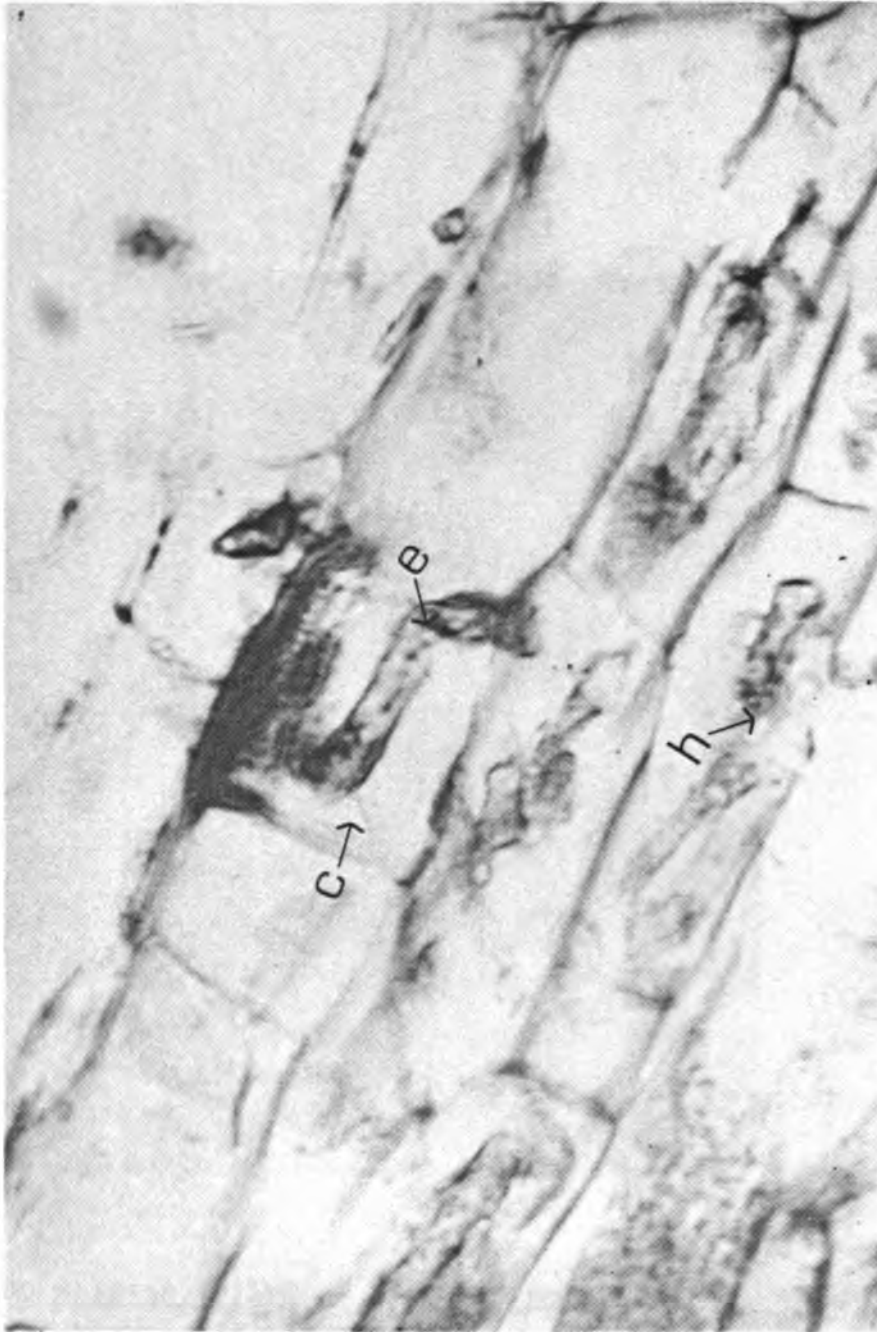


Figura-2. Corte longitudinal de la raíz de Coffea arabica mostrando las células de la exodermis que se colorean con safranina y las hifas formando una espiral. c= célula especializada de la exodermis, e= espiral, h= hifas.

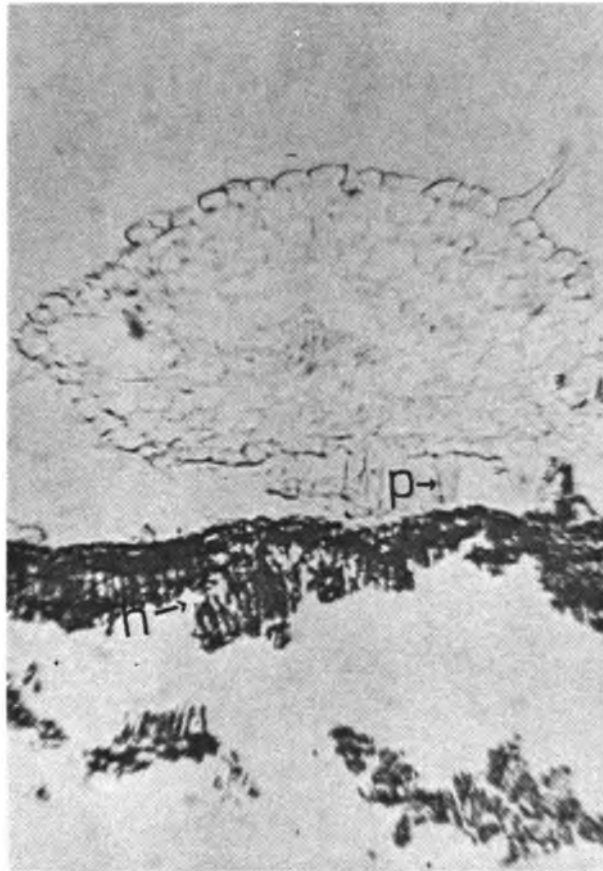


Figura-3. Corte transversal de la raíz de Coffea arabica unida a la hojarasca en descomposición. p= pelos radicales, h= hojarasca.

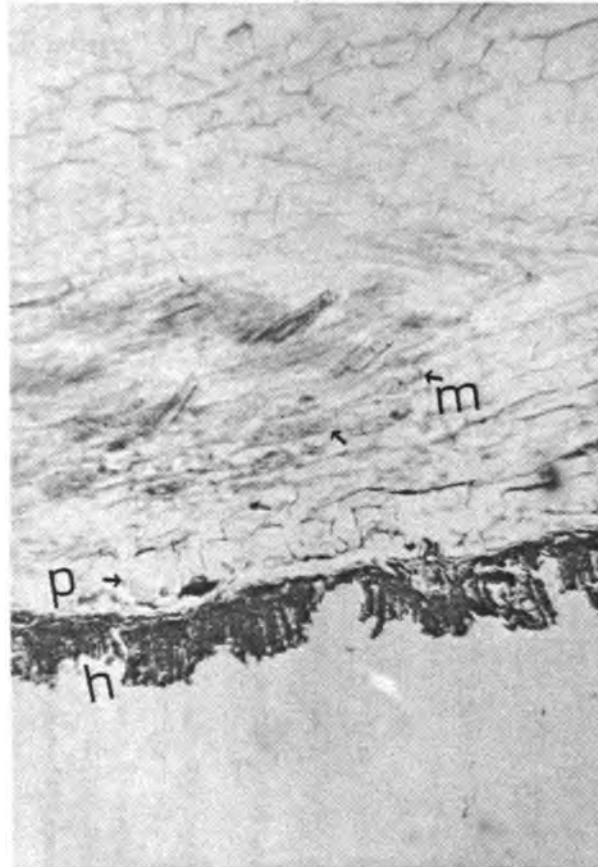


Figura-4. Corte longitudinal de la raíz de Coffea arabica adherida a la hojarasca. m= micorrizas, p= pelos radicales, h= hojarasca.

BIBLIOGRAFIA.-

- ARANGUMEN J. (1960) Contribución de la caída de hojarasca al ciclo de nutrientes en cultivos bajo árboles de sombra (Café y Cacao). Trabajo de Grado M Sc. en Biología, IVIC, 282 pp.
- ARANGUMEN J, G ESCALANTE y R HERRERA (1982) Nitrogen cycle of tropical perennial crops under shade trees. I. Coffee. *Pl. & Soil* 67: 247 - 258.
- BONFANTE-FASOLO F. (1984) Anatomy and morphology of VA mycorrhizae en VA Mycorrhiza. Ed. C H Powell y D J Bagyaraj, CRC Press.
- BOWEN G. D. (1973) Mineral nutrition of ectomycorrhizae en Ectomycorrhizae. Ed. G C Marks y T T Kozlowski. pg 151-197. Ac. Press. New York.
- BOWEN G.D. (1980) Mycorrhizal roles in tropical plants and ecosystems en Tropical Mycorrhiza Research. Ed. P Mikola pg 165-190. Clarendon Press, Oxford.
- CARDOSO E.J. (1978) Ocorrencia de micorriza en café. *Summa Phyt.* 4(2/3/4):136-137.
- CUENCA G. (1982) Papel de las raíces micorrízicas del café (*Coffea arabica*) en la descomposición de la hojarasca. Trabajo de Grado M Sc. en Biología, IVIC, 157 pp.
- CUENCA G., J. ARANGUMEN y R HERRERA (1983) Root growth and litter decomposition in a coffee plantation under shade trees. *Pl. & Soil* 71: 477-486.
- FOGEL M. (1980) Mycorrhiza and nutrient cycling in natural forest ecosystems. *New Phytol.* 86: 199-212.
- GALES M.E. y H. BOOTH (1974) Simultaneous and automated determination of phosphorous and total Kjeldahl nitrogen. EPA-6701 4-74-002.
- HERRERA R., MERIDA T., STARK M. y JORDAN C.F. (1978) Direct phosphorous transfer from leaf litter to roots. *Naturwissenschaften* 65, S. 208.
- JANSE J.M. (1897) Les endophytes radicaux de quelques plantes Javanaises. *Ann.Jard.Botan.Suitenz* 14, 53-212.
- JOHANSEN D.A. (1940) Plant Microtechnique 1^{ed}. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. p 130. New York & London.
- LINKINS A.E. y M.K. ANTIBUS (1979) Growth on and metabolism of cellulose and crude oil by selected mycorrhizal fungi which have extracellular cellulase and aryl hidrocarbon indroxyase. Fourth North American Conference on Mycorrhizae. Colorado State University, Fort Collins.
- STARK M. (1973) Nutrient cycling in a Jeffrey Pine ecosystem. *Montana Forest and Conservation Experiment Station*, 386 pp.
- WENT F.W. y STARK M. (1968) The biological and mechanical role of soil fungi. *Proc. N. A. S.* 60: 497-504.

- WENT F. W. (1973) Rhizomorphs in soil not connected with fungal fruiting bodies. *Amer. J. Bot.* 60(2): 103-110.
- WITHNER C.L. (1974) Development in orchid physiology en *The orchids: Scientific Studies*. Ed. C Withner. John Willey & Sons. New York, 604 pp.

INSECTOS PARASITOS DE HONGOS
MICORRICICOS

POR
Rita María Alfaro R.
Fundación de Parques Nacionales
Programa de Patrimonio Natural
Apde. 103-1000 San José
Costa Rica

RESUMEN

La micofagia es una forma de alimentación común en varios grupos de insectos. Varias familias de dípteros poseen larvas que se alimentan parcial o totalmente de hongos. En muchos casos esta relación es específica.

Varios géneros de hongos de la familia Boletaceae, micorrizica con robles (*Quercus* spp.) se encuentran generalmente parasitados por gran cantidad de larva de dípteros.

Obviamente, existe una relación entre la distribución geográfica del hongo micorrizico (Familia Boletaceae: varios géneros) y el árbol hospedero (*Quercus* spp.).

En el presente trabajo se están cultivando de dípteros parásitos de boletáceas ectomicorrizica con robles para determinar si existe una correlación entre la distribución geográfica de éstos y la del hongo-hospedero.

ABSTRACT

Mycophagy is common among some insect groups. Some families of diptera have larvae that feed wholly or in part on fungi. In many cases this relation is specific.

Some fungi genera of the Boletaceae Family, that are mycorrhizal with oaks (*Quercus* spp.) are commonly found with big amount of flies parasites larvae.

Obviously exists a relation between the geographic distribution of the mycorrhizal fungus (Boletaceae Family: some genera) and that of the host tree (*Quercus* spp.).

The cultivation of the ectomycorrhizal Boletaceae parasitic flies is done, to determinate if a correlation between the geographic distribution of the parasite and the fungus-host exists.

* Experimento en marcha.

INTRODUCCION

Varias especies de hongos forman parte importante de la dieta de muchos invertebrados y vertebrados (5). En el caso específico de insectos micófagos. Fogel (4) menciona de 284 artículos al respecto.

Debido a que el parasitismo generalmente demanda un alto grado de especialización, el ámbito de hospederos es muy limitado. En muchos grupos es evidente la tendencia evolucionaria hacia un hospedero específico, siendo la mayoría de los insectos parásitos monófagos (1).

Algunas familias de insectos del Orden Díptera: Mycetophilidae, Sciaridae, Phoridae y otras en menos escala, se alimentan parcialmente o totalmente de hongos en alguna etapa de su ciclo de vida, principalmente en la etapa larval (2,3,6,7,8,10). La hembra deposita los huevos en el hongo y las larvas se desarrollan alimentándose como parásitos del hongo.

Los hongos de la familia Boletaceae, poseen en su mayoría carpóforos muy carnosos, y son comunmente encontrados parasitados por lavas de dípteros, aún cuando los carpóforos están muy jóvenes.

Varios géneros de Boletáceas forman ectomicorrizas con robles (*Quercus* spp.) (9, 11). Se conoce que existe una relación entre la distribución geográfica de ambos componentes del bosque ectotrófico (12).

También se han encontrado dípteros parásitos específicos de una especie de hongo, y cuyas distribuciones geográficas coinciden (7).

En el presente trabajo se pretende averiguar si existe una correlación entre la distribución de cinco géneros de hongos de la familia Boletaceae que forman ectomicorrizas con robles y las moscas que los parasitan.

METODOLOGIA

Se están colectando hongos de la familia Boletaceae de los géneros *Boletus*, *Leccinum*, *Pulveroboletus*, *Tylopilus* y *Xerocomus* micorrizicos con robles (*Quercus* spp.), en robledales de la Cordillera de Talamanca, en las Provincias de San José y Cartago, Costa Rica.

El área, está entre los 1,800-2,400 m.s.n.m. en la zona de vida: bosque pluvial Montano, bosque pluvial Montano Bajo y Bosque muy húmedo Montano Bajo, con una temperatura promedio anual entre los 15 y 12.5 °C y una precipitación promedio anual entre los 2,000 y 3,500 mm.

De cada especie se colecta material en buen estado para su identificación, así como muestras que están evidentemente parasitadas por lavas.

Se toman trozos de hongo con un peso promedio de 5 gramos, contenido larvas y se colocan en frascos de vidrio

transparente cubiertos con tela de gaza muy fina, de modo que permita el paso del aire, pero no así de otros insectos.

Estos se colocan durante el experimento en un lugar que mantiene condiciones de temperatura, luz y humedad lo más similares posibles al ambiente natural en que se colectaron.

La muestra se coloca sobre un papel absorbente que cubre una capa de 2 cm. de arena de río esterilizada y húmeda.

Cada frasco se numera y se lleva un control con las fechas de colecta aparición de las pupas y de los adultos.

Para cada muestra se preservan en ciales con alcohol (70%) las larvas, pupas y adultos, con el número respectivo.

Actualmente las moscas se encuentran en Estados Unidos en un proceso de identificación, debido a que en Costa Rica esto resultó imposible.

RESULTADOS PRELIMINARES

Se anotan algunos datos que se han obtenido hasta el momento.

Se ha hecho cultivos de larvas encontradas en 7 especies de Boletáceas:

- 1.- Boletus frostii floridanus
- 2.- Leccinum aurantiacum
- 3.- Leccinum "exalbelum"
- 4.- Pulveroboletus sp.
- 5.- Tylopilus chromapes
- 6.- Tylopilus lividobrunneus
- 7.- Xerocomus sp.

Como se observa en el Cuadro 1, en 5 de las especies se han obtenido pupas y adultos, en una de las especies se obtuvieron pupas, las cuales nunca originaron adultos y en dos especies las larvas siempre murieron y no se obtuvo ningún resultado.

Cuadro 1. Aparición de pupas y adultos de dípteros en los cultivos de hongos de familia Boletaceae. San José. 1985.

ESPECIE	PUPAS	ADULTOS
<u>Boletus frostii floridanus</u>	-	-
<u>Leccinum aurantiacum</u>	+	+
<u>Leccinum "exalbelum"</u>	+	+
<u>Pulveroboletus sp.</u>	-	-
<u>Tylopilus Chromapes</u>	+	+
<u>Tylopilus lividobrunneus</u>	+	-
<u>Xerocomus sp.</u>	+	+

(-) No se presentó esta etapa del ciclo de vida.

(+) Si se presentó esta etapa del ciclo de vida.

En el Cuadro 2 se observan el número de días promedio que han tardado en aparecer las pupas desde el momento de la colecta del material y el número de días promedio que dura la etapa de pupa. Es interesante el hecho de que el promedio del número de días que dura la etapa de pupas es bastante similar en todos los casos.

Cuadro 2. Promedio de duración (días) de los de las fases del ciclo de vida del díptero cultivado en hongos de la familia Boletaceae. San José. 1985.

HOSPEDERO	APARICION DE PUPAS (1) X DIAS	APARICION DE ADULTOS X DIAS
<u>Leccinum aurantiacum</u>	10	17
<u>Leccinum "exalbelum"</u>	7	17
<u>Tylopilus chromapes</u>	10	20
<u>Tylopilus lividobrunneus</u>	12	-
<u>Xerocomus sp.</u>	7	16

(1) Promedio de días a partir de la fecha de colecta. No se ha medido hasta el momento el número de días que dura exactamente la fase de huevo y larva.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Askev, R. R. 1973. Parasitic insects. Amer. Elsevier Publishing Co., Inc. New York. 3216 p.
- 2 Collart, A. 1950. Notules diptérologiques II. Bulletin Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique. 26(46):1-8.
- 3 Eberhard, W. G. 1970. The natural history of the fungus gnats *Leptomorphus bifasciatus* (Say) and *L. subcaeruleus* (Coquillet) (Diptera: Mycetophilidae). Psyche, Camb. 77(3):361-383.
- 4 Fogel, R. 1975. Insect mycophagy: A preliminary bibliography. Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station. U. S. Department of Agriculture. Forest Service. Portland, Oregon, 21 p.
- 5 Fogel, R, y J. M. Trappe. 1978. Fungus consumption (mycophagy) by small animals. Northwest Science. 52 (1):1-31.
- 6 Foote, R. H. y C. A. Thomas. 1959. *Mycophila fungicola* Felt.: A description and review of its biology (Diptera, Itonididae). Entomol. Soc. Am. Ann. 25:331-334.
- 7 Kohlmeier, J. y E. Kollmeier. 1974. Distribution of *Epichloa typhina* (Ascomycetes) and its parasitic fly. Mycol. 66:77-86.
- 8 Madriz, M. G. A. 1981. Consideraciones agrícolas y médicas sobre el Orden Diptera. Universidad de Costa Rica. Facultad de Agronomía. Escuela de Fitotecnia. Oficina de Publicaciones. Universidad de Costa Rica. San Pedro. 28 p.
- 9 Marks, G. C. y T. T. Koz Lowski (eds.) 1973. Ectomycorrhizal. Their Ecology and Physiology. Academic Press. 444 p.
- 10 Ostroverknova, G. P. 1970. New data on siberian fungus gnats (Diptera, Mycetophilidae) Entomol. Review. 49(2): 271-274.
- 11 Singer, R. 1975. The Agaricales in Modern taxonomy. Third Ed. Gramer Verlag. 912 p.
- 12 Singer, R. y J. H. Morello. 1960. Ectotrophic forest tree mycorrhizae and forest communities. Ecol. 41:549-551.

transparente cubiertos con tela de gaza muy fina, de modo que permita el paso del aire, pero no así de otros insectos.

Estos se colocan durante el experimento en un lugar que mantiene condiciones de temperatura, luz y humedad lo más similares posibles al ambiente natural en que se colectaron.

La muestra se coloca sobre un papel absorbente que cubre una capa de 2 cm. de arena de río esterilizada y húmeda.

Cada frasco se numera y se lleva un control con las fechas de colecta aparición de las pupas y de los adultos.

Para cada muestra se preservan en ciales con alcohol (70%) las larvas, pupas y adultos, con el número respectivo.

Actualmente las moscas se encuentran en Estados Unidos en un proceso de identificación, debido a que en Costa Rica esto resultó imposible.

RESULTADOS PRELIMINARES

Se anotan algunos datos que se han obtenido hasta el momento.

Se ha hecho cultivos de larvas encontradas en 7 especies de Boletáceas:

- 1.- Boletus frostii floridanus
- 2.- Leccinum aurantiacum
- 3.- Leccinum "exalbelum"
- 4.- Pulveroboletus sp.
- 5.- Tylopilus chromapes
- 6.- Tylopilus lividobrunneus
- 7.- Xerocomus sp.

Como se observa en el Cuadro 1, en 5 de las especies se han obtenido pupas y adultos, en una de las especies se obtuvieron pupas, las cuales nunca originaron adultos y en dos especies las larvas siempre murieron y no se obtuvo ningún resultado.

Cuadro 1. Aparición de pupas y adultos de dípteros en los cultivos de hongos de familia Boletaceae. San José. 1985.

ESPECIE	PUPAS	ADULTOS
<u>Boletus frostii floridanus</u>	-	-
<u>Leccinum aurantiacum</u>	+	+
<u>Leccinum "exalbelum"</u>	+	+
<u>Pulveroboletus sp.</u>	-	-
<u>Tylopilus Chromapes</u>	+	+
<u>Tylopilus lividobrunneus</u>	+	-
<u>Xerocomus sp.</u>	+	+

(-) No se presentó esta etapa del ciclo de vida.

(+) Si se presentó esta etapa del ciclo de vida.

En el Cuadro 2 se observan el número de días promedio que han tardado en aparecer las pupas desde el momento de la colecta del material y el número de días promedio que dura la etapa de pupa.

Es interesante el hecho de que el promedio del número de días que dura la etapa de pupas es bastante similar en todos los casos.

Cuadro 2. Promedio de duración (días) de los de las fases del ciclo de vida del díptero cultivado en hongos de la familia Boletaceae. San José. 1985.

HOSPEDERO	APARICION DE PUPAS (1) X DIAS	APARICION DE ADULTOS X DIAS
<u>Leccinum aurantiacum</u>	10	17
<u>Leccinum "exalbelum"</u>	7	17
<u>Tylopilus chromapes</u>	10	20
<u>Tylopilus lividobrunneus</u>	12	-
<u>Xerocomus sp.</u>	7	16

(1) Promedio de días a partir de la fecha de colecta. No se ha medido hasta el momento el número de días que dura exactamente la fase de huevo y larva.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Askev, R. R. 1973. Parasitic insects. Amer. Elsevier Publishing Co., Inc. New York. 3216 p.
- 2 Collart, A. 1950. Notules diptérologiques II. Bulletin Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique. 26(46):1-8.
- 3 Eberhard, W. G. 1970. The natural history of the fungus gnats Leptomorphus bifasciatus (Say) and L. subcaeruleus (Coquillet) (Diptera: Mycetophilidae). Psyche, Camb. 77(3):361-383.
- 4 Fogel, R. 1975. Insect mycophagy: A preliminary bibliography. Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station. U. S. Department of Agriculture. Forest Service. Portland, Oregon, 21 p.
- 5 Fogel, R, y J. M. Trappe. 1978. Fungus consumption (mycophagy) by small animals. Northwest Science. 52 (1):1-31.
- 6 Foote, R. H. y C. A. Thomas. 1959. Mycophila fungicola Felt.: A description and review of its biology (Diptera, Itonididae). Entomol. Soc. Am. Ann. 25:331-334.
- 7 Kohlmeier, J. y E. Kollmeier. 1974. Distribution of Epichloa typhina (Ascomycetes) and its parasitic fly. Mycol. 66:77-86.
- 8 Madriz, M. G. A. 1981. Consideraciones agrícolas y médicas sobre el Orden Diptera. Universidad de Costa Rica. Facultad de Agronomía. Escuela de Fitotecnia. Oficina de Publicaciones. Universidad de Costa Rica. San Pedro. 28 p.
- 9 Marks, G. C. y T. T. Koz Lowski (eds.) 1973. Ectomycorrhizal. Their Ecology and Physiology. Academic Press. 444 p.
- 10 Ostroverknova, G. P. 1970. New data on siberian fungus gnats (Diptera, Mycetophilidae) Entomol. Review. 49(2): 271-274.
- 11 Singer, R. 1975. The Agaricales in Modern taxonomy. Third Ed. Gramer Verlag. 912 p.
- 12 Singer, R. y J. H. Morello. 1960. Ectotrophic forest tree mycorrhizae and forest communities. Ecol. 41:549-551.

VARIACION TEMPORAL DE BIOMASA DE CARPOFOROS EN
UN ROBLEDAL DE MONTAÑA EN COSTA RICA
(DATOS PRELIMINARES)

Por

MARIA ISABEL ROJAS RODRIGUEZ
Escuela de Ciencias Ambientales
Universidad Nacional
3000 Heredia, Costa Rica

RESUMEN

De los carpóforos colectados en un robledal (Quercus spp.) ubicado en la Cordillera de Talamanca, Costa Rica se identificaron 24 géneros.

Los cuerpos fructíferos solo aparecieron durante la época lluviosa excepto en mayo, la cual se extiende de mayo a diciembre en la zona de estudio.

La biomasa total (kg/ha) fue mayor en los meses de junio, julio y agosto y las especies que mayor biomasa presentaron fueron Lactarius volemus, Lactarius spp., Pulveroboletus auribornas y Hebeloma sp. con 26.21, 15.15, 10.33 y 9.01 kg/ha respectivamente.

ABSTRACT

24 genera of carpophores were collected and identified in a stand of oak trees (Quercus spp.) located in the Cordillera de Talamanca, Costa Rica.

The fruiting bodies only appeared during the rainy season (with the exception of the month of May), which extends from May to December in the area under study.

The total biomass (in kg/ha) was greatest in the months of June, July and August, and the species with greatest biomass were Lactarius volemus, Lactarius spp., Pulveroboletus auribornas and Hebeloma sp., with values of 26.21, 15.15, 10.33 and 9.01 kg/ha, respectively.

INTRODUCCION

Las masas boscosas en Costa Rica donde predominan los robles o encinos, se localizan principalmente en la Cordillera de Talamanca en altitudes superiores a los 2400 m. En San Gerardo de Dota, sitio de estudio, se encuentran cuatro especies de robles (Quercus, Fagaceae) de las doce identificadas en Costa Rica (Burger, 1977).

Mikola (s.n.t.), Janos (1983) y Trappe (1962), mencionan que la familia Fagaceae es una de las más conocidas como ectótrofa en los bosques templados y además es probable que todas sus especies tienen ectomicorrizas.

En agosto de 1984 dio inicio la investigación sobre "Estudio de las ectomicorrizas asociadas a los robles (Quercus spp.) en San Gerardo de Dota, Costa Rica", la cual está financiada parcialmente por la Fundación Internacional para la Ciencia (FIC). A fin de complementar la información que generara dicha investigación, se realizó un trabajo adicional con el objeto de conocer parcialmente la flora fúngica del área por medio de carpóforos y además, observar y cuantificar la incidencia de los diferentes cuerpos fructíferos a través del año.

Es muy poco lo que se sabe acerca de los hongos micorrizantes de las especies del género Quercus en Costa Rica.

La presencia de carpóforos en un sitio dado, se podría traducir, según Boullard (1975), en la presencia, también, de la micorriza. No obstante, esto no se cumple en todos los casos y no es verdadera prueba de la presencia de esta relación simbiótica. Janos (1983) menciona que muchos autores han elaborado listas de plantas ectomicorríticas, asumiendo que la proximidad del cuerpo fructífero del hongo a una especie vegetal hace a aquel obligadamente micorrítico.

Para identificar una asociación ectotrófica, se debe efectuar aislamiento y cultivos de hongos. Estos se hacen normalmente por medio de raíces con ectomicorriza, esporocarpos y otras estructuras del hongo. Posteriormente se debe inocular a las especies vegetales que se desea y observar los resultados,

tanto en condiciones de laboratorio como en el campo. Hay casos como el Genococcum que se puede identificar fácilmente por la morfología de la micorriza que forma mediante exámenes microscópicos (Trappe 1962). Boullard (1978) plantea que hay casos como los níscales cuyos cuerpos de fructificación tienen un látex que los distingue y que a la vez lo posee el micelio, lo cual puede considerarse como una prueba preliminar en el campo de la infección de ciertas plantas por este hongo micorrízico.

La utilización de hongos ectomicorrízicos ha sido un éxito en el establecimiento de plantaciones de especies exóticas (Holina, y Trappe 1982, Daniel et al 1982, Levisohn 1958). Se han utilizado, también, en escombros de minas, donde las superficies del suelo se encuentran desprovistas de humus y de sistemas biológicos, y apenas contienen una pequeña cantidad de los elementos esenciales para el crecimiento normal de las plantas y la invasión de especies vegetales naturalmente sería muy difícil y tardaría mucho tiempo. Por lo que se ha visto con la utilización de plantas ectomicorrízicas es posible poblar estos suelos. Schramm, citado por Janos (1983) efectivamente, demostró que los sitios donde se practicaban estas actividades mineras necesitaba la incorporación de hongos micorrízicos para reforestar con éxito plantas de Betula, Pinus, Populus y Quercus. En este tipo de sitios Marx (1975) encontró que inoculando con Pisolithus hubo un aumento en la tasa de supervivencia del Pinus virginiana de 1.5 a 45.5%, estimulando el crecimiento en altura en 30%.

METODOLOGIA

Descripción del área:

El área de estudio se ubica en un bosque de Quercus spp. (robleal), dentro de la zona de vida de bosque pluvial montano (Tosi 1969). Se localiza a unos 5 kilómetros al sur de la carretera Interamericana Sur (a la altura del kilómetro 80), en el caserío de San Gerardo de Dota. La figura 1 señala su ubicación aproximada.

El sitio de estudio se encuentra a una altura de 2450 m. La precipitación media anual registrada en la estación meteorológica Tres de Junio (2660 m. de altitud) es de 2667 mm. Durante el año hay dos épocas bien marcadas: la lluviosa que va de mayo a diciembre y la seca de enero hasta abril (ver fig. 2).

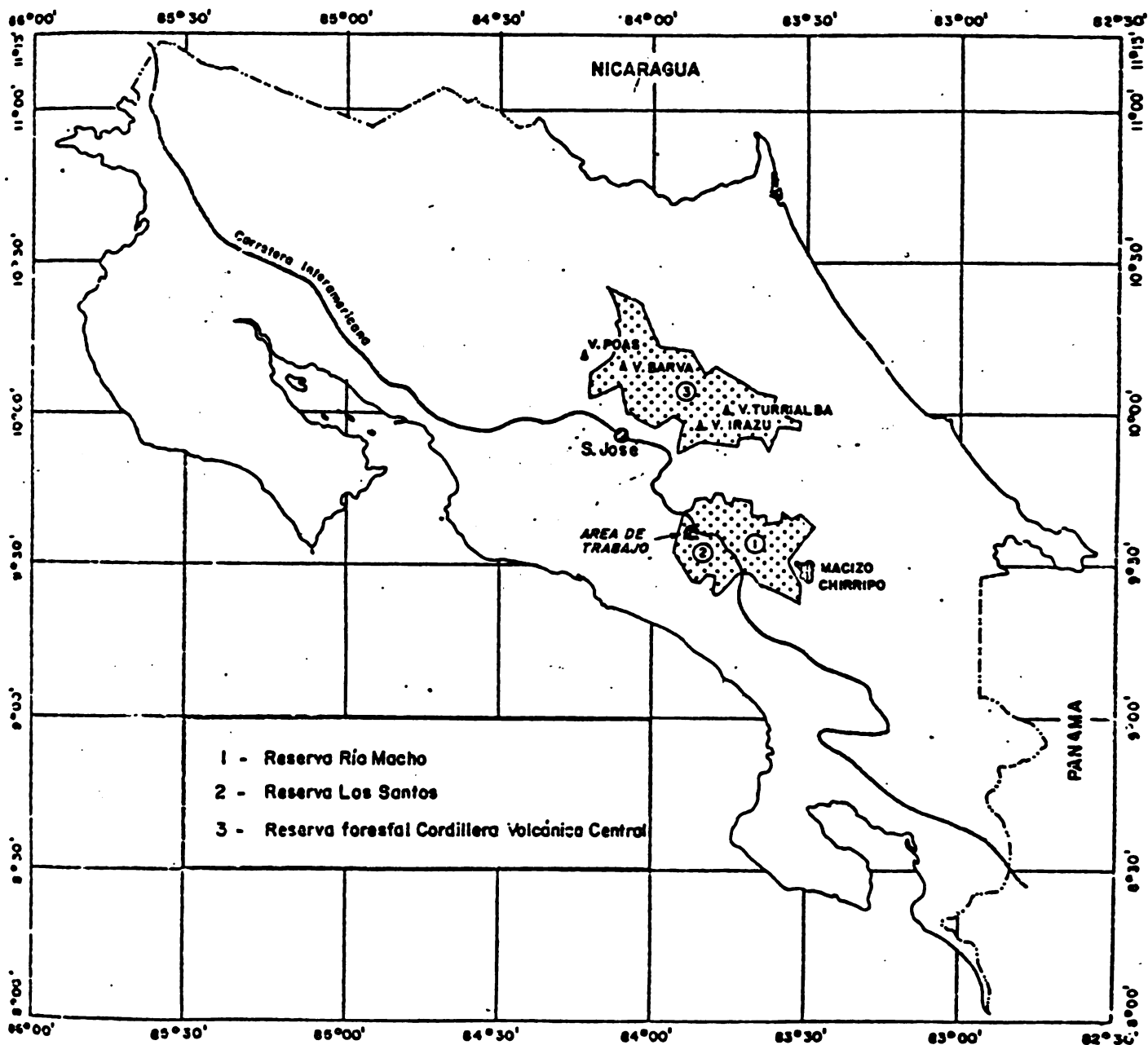
Los suelos del área se caracterizan por pH ácidos que oscilan entre 3.8 y 4.7 con contenidos de aluminio de hasta 15.2 mg/100 ml. Estos suelos presentan valores entre 5 y 7 ug/ml de fósforo, los cuales se consideran bajos. Igualmente los contenidos de K son bajos, los cuales oscilan entre 0.09 y 0.24 meq/100 ml. El porcentaje de materia orgánica es elevada entre 5.2 - 34.8%. En general tienen bajos contenidos de bases cambiables.

En el sitio de estudio predominan cuatro especies de robles: Quercus copeyensis, Q. costaricensis, Q. seemanii y Q. guillemii-trelease.

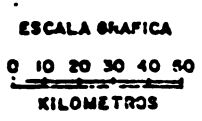
Dentro de las parcelas se encontró regeneración de las especies dominantes, además de especies arbustivas y herbáceas como: Xanthoxylum chiriquinum, Vocodium conenquinum, Styrax argenteus, Satiria warszewitzii, Senecio multivenius, Oreorhax capitum, Weinmannia sp., Rhynchospora sp., Commelina sp., Persea sp., Piper sp., Anthurium sp., Chusquea sp., Ardisia sp. entre otros.

FIGURA No. 1

ZONA DE INVESTIGACION



- 1 - Reserva Río Macho
- 2 - Reserva Los Santos
- 3 - Reserva forestal Cordillera Volcánica Central

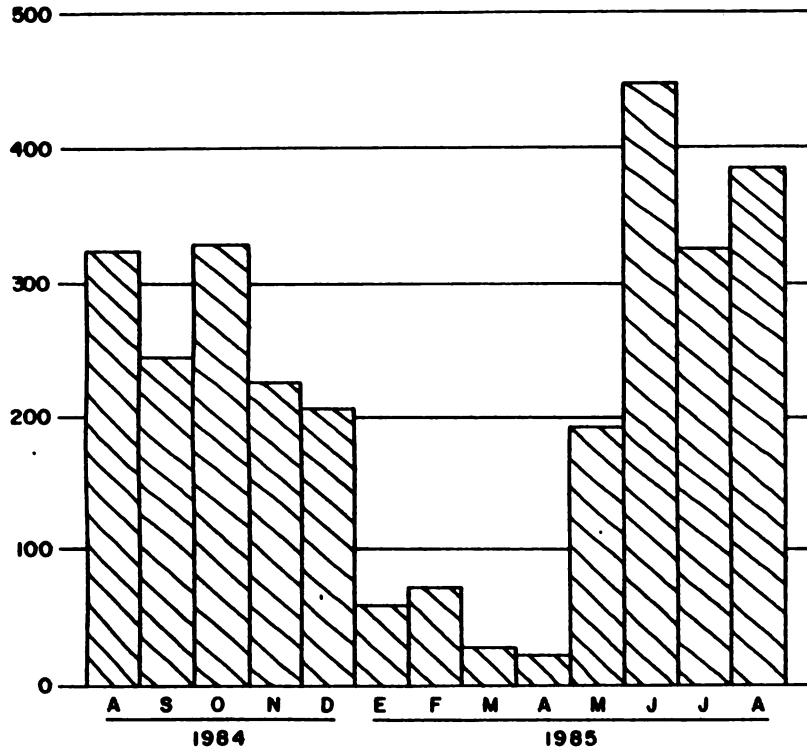


Tomado de Jiménez y Chaverri
1983

Figura N° 2

DISTRIBUCION DE LA PRECIPITACION (mm) DURANTE LOS MESES DE ESTUDIO

ESTACION TRES DE JUNIO
ELEVACION 2660 m.
LATITUD: 9° 40' N LONGITUD: 83° 51' W



Procedimiento:

Dentro del bosque se establecieron, en forma aleatoria, cinco parcelas de 10 m² (2.5 x 4 m) cada una. Con intervalos de 15 días se colectaron los cuerpos fructíferos que se encontraban en el suelo, dentro de las parcelas; no se colectaron aquellos cuerpos que se encontraban sobre madera. Se escogió el material cuidadosamente, se colocó en sobres de papel encerado y se etiquetó debidamente anotando el número de parcela, la fecha de recolección y los caracteres organolépticos. Adicionalmente, se colectaron los cuerpos fructíferos hallados en las áreas cercanas a las parcelas; estos fueron identificados y se les incorporó a la lista de hongos hallados en el área.

Una vez en el laboratorio, los cuerpos fructíferos fueron pesados (peso fresco) obteniéndose información con aproximación al miligramo. Dicho material fue identificado por Luis Diego Gómez y por la autora. Posteriormente, se colocaron en una estufa a 40-45°C y se obtuvo el peso seco en gramos.

Cabe agregar que para algunas determinaciones de carpóforos fue difícil la identificación a nivel de especie y se trabajó solo con los géneros. Sin embargo, se ha conservado parte del material colectado para su posterior identificación. El trabajo de campo se llevó a cabo en agosto de 1984 hasta agosto de 1985.

Cada dos meses se tomaron muestras de suelo en las cinco parcelas siguiendo la metodología expuesta por Ramírez (1980). El análisis de dichas muestras se realizó en el Laboratorio de Suelos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) donde se determinaron los siguientes elementos: aluminio, calcio, magnesio, potasio, fósforo, zinc, manganeso y cobre; además, se determinó el pH y el contenido de materia orgánica. La metodología que se utilizó para estos análisis está incluida en el trabajo de Chaverri y Rojas, en este mismo volumen.

La información sobre los suelos será analizada posteriormente. Además, se describió la vegetación encontrada en cada una de las parcelas.

RESULTADOS

Gran parte de los carpóforos colectados en el sitio de estudio pertenecen al grupo de los Basidiomycetes y pocos a los Ascomycetes. Se identificaron 32 especies en 24 géneros colectados. Esta información aparece en el cuadro 1. Algunos cuerpos fructíferos colectados eran tan pequeños o estaban tan dañados que fue imposible identificarlos.

La aparición de los carpóforos coincide con el período lluvioso de la zona en estudio, excento en mayo. No obstante, no todos los géneros aparecen en cada uno de los meses que cubre este período. Se observa que Oudemansiella spp. aparece durante todos los meses del período lluvioso. Hygrocybe spp. e Inocybe sp., en siete de los ocho meses registrados del período lluvioso. Por otro lado, Cortinarius spp., Hygrophorus sp., Laccaria spp. y Marasmius sp. aparecen en 5 a 6 meses y el resto de los géneros aparecen en 1 o 4 meses únicamente.

El cuadro presenta también la biomasa (kg/ha) mensual de cada uno de los géneros colectados. Aparece además la biomasa total (kg/ha) por mes y por especie.

En algunos géneros no se encuentran diferencias marcadas en cuanto a la biomasa durante cada uno de los meses en los cuales están presentes en las parcelas. Tal es el caso de Marasmius sp., Inocybe sp., Hycena sp. y Collybia butyracea. Caso contrario con Cortinarius spp., Lactarius volemus, Oudemansiella spp., Russula spp. e Hygrocybe spp. las cuales presentan diferencias muy marcadas en biomasa durante los meses en que aparecen. Este mismo comportamiento lo muestran Collybia sp., Cantharellus cibarius, Armlariella sp., Hebeloma sp. y otras cuya aparición se limitó a dos meses durante el período de observación.

Otro dato interesante es la biomasa total obtenida de cada género a través del año. Se observa que a pesar de que Lactarius volemus, Lactarius spp., Pulverobolus purinorus y Hebeloma sp. no aparecieron a lo largo de todo el período lluvioso, estos obtuvieron los mayores valores de biomasa con 26.21, 15.15, 10.33 y 9.01 kg/ha respectivamente. Otros géneros como Cantharellus

cibarius, Collybia sp., Russula austrodolica, Amanita sp. y A. vaginata aparecen en uno o dos meses y tienen altos valores de biomasa. Mientras que otros como Oudemansiella spp., Cortinarius spp., Laccaria sp. y Russula spp. aparecen en un mayor número de meses que los géneros anteriores y poseen valores muy similares. Este mismo comportamiento se observa con Hydnum repandum y con Hygrocybe spp. Para los otros géneros se obtuvo valores más bajos y aparecieron en pocos meses. El menor valor registrado en biomasa fue Cortinarius alboviolaceus con 0.02 kg/ha.

Se da también la biomasa total mensual, observando que los meses con elevados valores fueron junio, julio y agosto. Este último se observó para los dos años (1984 y 1985) y fue donde se obtuvo mayor biomasa. De setiembre a diciembre se observan valores similares, sin embargo, en noviembre se obtuvo un aumento con respecto a los otros tres. El valor más bajo obtenido en biomasa de los 12 meses donde se encontraron carpóforos fue octubre con 1.44 kg/ha. En los meses de enero a mayo no se registran datos de biomasa, a pesar de que en mayo se inician las lluvias, las fructificaciones de hongos espieran su aparición en junio.

Fuera de las parcelas se encontraron otros carpóforos diferentes a los colectados dentro de ellas. Algunos de éstos son: Hygrophorus nigrescens, Laccaria arethystina, Leccinum aurantiacum, Russula cyanoxantha, Hebeloma sinapisans, Cordyceps cavitus y algunos representantes de la familia Clavariaceae y Xylariaceae.

GRABO N° 1: Bionom de carpóforos colectados en 5 parcelas en un robleal (*Quercus* spp.), San Gerardo de Dota, Costa Rica. Agosto 1984 - agosto 1985.

ESPECIES	MESES DEL AÑO	1984					1985					Biomasa Total (Kg/ha)			
		A	S	O	N	D	E	F	M	A	M		J	J	A
1. <i>Amanita</i> sp.					0.18									2.60	2.78
2. <i>A. varicata</i> (Bull. ex Fr.) Vitt.													2.23		2.23
3. <i>Agaricella</i> sp.					0.05										0.05
4. <i>Boletus</i> sp.												0.30		0.09	0.39
5. <i>Cantharellus cibarius</i> Fr.		0.04	0.06												1.00
6. <i>Collybia</i> sp.				0.12								1.05			1.17
7. <i>Collybia butyracea</i> (Bull. ex Fr.) Quéf.		0.08	0.03									0.07			0.18
8. <i>Cortinarius</i> spp.		1.11	0.19	0.10	0.23								0.27	2.32	4.42
9. <i>C. alboviolaceus</i> (Pers. ex Fr.) Fr.					0.02										0.02
10. <i>Habeloma</i> sp.		0.34			0.03								8.64		9.01
11. <i>Helvella</i> sp.		0.91													0.91
12. <i>Hydnum repandum</i>		0.13											0.12	0.58	0.83
13. <i>Hygrocybe</i> spp.			0.02	0.12	0.16	0.16						0.01	0.01	0.37	0.85
14. <i>Hygrochorus</i> sp.		0.24		0.01	0.35	0.04								0.07	0.71
15. <i>H. leptus</i> Sing.		0.16													0.16
16. <i>Inocybe</i> sp.		0.03	0.00	0.11	0.03	0.13							0.02	0.07	0.39
17. <i>Laccaria</i> sp.		0.38		0.11		0.31						0.31	0.24	0.91	3.26
18. <i>Lactarius</i> spp.		12.98	1.17	0.12	0.05	0.07								0.76	15.15
19. <i>L. volemus</i> (Fr.) Fr.		10.09	0.22											15.09	26.21
20. <i>Marasmius</i> sp.			0.03	0.23	0.13	0.17						0.19			0.77
21. <i>Mycena</i> sp.		0.09			0.08								0.03		0.20
22. <i>Naematoloma</i> sp.				0.12											0.12
23. <i>Oudemansiella</i> sp.		0.34	0.54	0.04	0.01	0.03						0.53	0.01	0.15	1.65
24. <i>Pholiota lubrica</i> Pers. ex Fr.				0.05											0.05
25. <i>Pluteus</i> sp.						0.14									0.14
26. <i>Psathyrella</i> sp.		0.09			0.00										0.09
27. <i>Pulverobolus aurinarius</i> (Peck) Sing.												10.33			10.33
28. <i>Russula</i> spp.		1.50			0.32								0.04	1.78	3.73
29. <i>R. austrodolica</i> Marr.		3.05													3.05
30. <i>R. mexicana</i> Burl.		0.21													0.21
31. <i>R. murarii</i> (Sacc.) Sing.						0.14									0.14
32. <i>Tricholoma</i> sp.		0.13													0.13
33. Otros carpóforos no identificados*		0.30	0.12	0.31	1.05	1.06						3.11		3.11	10.46
Biomasa total (Kg/ha)		34.50	2.38	1.44	3.61	2.25						15.00	11.68	29.84	101.60

* Material muy pequeño o muy dañado.

DISCUSION

En el estudio de algunos hongos macromicetos de la zona de San Gerardo de Dota, se encontró que casi todos pertenecen a los Basidiomycetes y pocos a los Ascomycetes. Chio y Guzmán (1982) en la Península de Yucatán, México, encontraron que de 73 especies de macromicetos solo 6 de ellos eran Ascomycetes. Janos (1983) menciona que en las zonas bajas de los trópicos se han reportado hongos formando micorrizas ectótrofa, predominando el grupo de los Basidiomycetes; se encuentran también Ascomycetes pero en menor proporción. Posiblemente lo anterior se debe a que la producción de esporas en los Basidiomycetes es más numerosa, lo que hace más fácil y amplia su distribución (Alexopoulos, 1962).

En general, es sabido que los hongos fructifican mejor en la época lluviosa (Boekhout, s.f., Cifuentes y Guzmán, 1981). No obstante, Singer (1963) encontró algunos géneros como Russula, Lactarius, Amanita, Inocybe, Cortinarius y Craterellus en fructificación durante la época seca en bosques de robles en Colombia.

En el sitio de estudio no se encontraron cuerpos fructíferos durante la época seca (enero-abril) ni durante el mes de mayo donde se inicia el período lluvioso. Se encontró, también, que no todas las especies permanecen en fructificación a lo largo de la época de lluvias, ejemplo de esto son Amanita vaginata, Amolariella sp., Cortinarius alboviolaceus, Helvella sp., Hygrophorus lactus, Mesmatoloma sp., Pholiota lubrica, Pluteus sp. y Russula puigarii que aparecieron solamente durante uno de los trece meses de observaciones.

Debido al corto tiempo del estudio, no es posible señalar con exactitud la fenología de las especies encontradas. Lo anterior depende de una serie de factores que condicionan la fructificación fúngica en un área dada, tales como temperatura, precipitación, humedad relativa, vientos, luminosidad, factores edáficos y vegetación entre otros (Boekhout s.f., Cifuentes y Guzmán, 1981 y Fogel y Trappe, 1978).

Al respecto Trappe (1977) anota que cada región climática tiene sus características propias de fructificación. En la mayoría de las especies la biomasa obtenida mensualmente fue muy variable; solamente cuatro especies mostraron una producción más o menos constante en los meses reportados.

De la misma forma que es necesario considerar diversos factores para explicar la aparición de cuerpos fructíferos en un área determinada a través del año, se deben analizar estos para explicar la variación en la producción mensual de las especies. Además, de los factores climáticos y edáficos que se mencionaron anteriormente, se debe considerar el papel que juega la micofagia en el ecosistema, pues se podría pensar que variaciones mensuales en biomasa se relacionan con el consumo que hacen algunos mamíferos de estos hongos. Fogel y Trappe (1978) anotan que algunas especies de hongos son muy importantes en la dieta de muchos mamíferos y, en algunos casos, constituye el mayor recurso alimenticio. Estos mismos autores citados por Polaco, et al (1982) encontraron que en algunos animales como Eutamias townsendii la dieta anual alcanza valores de hasta 75% del total del contenido estomacal; sin embargo, en otros mamíferos como Apudomys flavicollis solamente es del 1%.

Polaco, et al (1982) reporta que se encontraron varios géneros de hongos en los nidos de la rata montera en la Reserva de la Biosfera La Michilía, México, identificando 18 géneros de los cuales uno pertenecía a los Ascomycetes y el resto a los Basidiomycetes. Dentro de este último grupo se encuentran la mayor parte de los carpóforos colectados en nuestro estudio. Inclusive algunas especies como Cantharellus cibarius, Cortinarius sp., Amanita sp., Hygrocybe sp., Lactarius sp. e Inocybe sp. han sido reportadas como parte de la dieta de algunos mamíferos, destacándose las ardillas y algunos roedores (Polaco, et al 1982). Estas especies han mostrado oscilaciones mensuales de producción considerables durante los 13 meses de observaciones y una explicación probable podría atribuirse a los micofagistas.

El papel de estas especies faunísticas dentro del ecosistema no es solamente el de ingerir los cuerpos fructíferos sino que tienen importancia en la diseminación de las esporas de los hongos y, por tanto, en la distribución de estos. Polaco, et al (1982) menciona que varios trabajos han demostrado la presencia de esporas en el contenido estomacal de animales, comprobando su viabilidad al hacer que germinaran en condiciones de laboratorio.

Con respecto a la biomasa total por especie, los mayores valores los presentaron cuatro especies que se caracterizan por tener cuernos fructíferos grandes y carnosos. La distribución de la biomasa de cada una de ellas no fue constante durante el período de aparición de las mismas, sino más bien presentaron una concentración en la producción durante uno de los meses; es el caso de Hebeloma sp. la cual presentó el 95.0% de su producción durante el mes de julio, Lactarius sp. que en agosto presentó un 85.7% de su biomasa total, ocurriendo un fenómeno similar con las otras dos especies. Este comportamiento se podría atribuir a características fenológicas de la especie, y a algunos aspectos de su ciclo de vida. Lo anterior incide directamente en los resultados obtenidos para los totales mensuales los cuales muestran sus mayores valores en los meses de junio, julio y agosto.

A fin de poder comparar los resultados obtenidos en cuanto a biomasa total por especie y biomasa total mensual con otros estudios realizados, se requeriría que además de haber utilizado una metodología similar, el sitio donde se realizaron tuviera condiciones ambientales similares.

Se cuenta con información al respecto pero para bosques de las zonas templadas, es el caso de los bosques de Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco en Oregon que presentó 65 kg/ha de esporocarpos durante 13 meses de observaciones (Foral y Hunt, 1979). No obstante, el no contar con información de otros robledales hace difícil tener una idea de si el valor total de biomasa obtenido de 101.69 kg/ha es elevado, medio o bajo para la zona de estudio.

Es importante mencionar que Frutis y Gurrán (1983) reportan como especies micorrízicas de importancia aquellos pertenecientes a los géneros Russula, Lactarius, Amnita y los de la familia Boletaceae. Por su parte Boekhout (s.f.) encontró que Cortinarius sp y Russula sp formaban asociación micorrízica en bosques de roble donde predominaba el Quercus humboldtii. Trappe (1962) menciona además de las anteriores a Amnita vaginata, Cortinarius alboviolaceus y Laccinum aurantiacum en asociación ectotrófica con los robles de los bosques templados. Algunas de estas especies fueron halladas en el bosque de robles de San Gerardo de Dota.

CONCLUSIONES

1. Del estudio de algunos hongos macromicetos de la zona de San Gerardo de Dota se encontró un mayor número de Basidiomycetes que de Ascomycetes.
2. Durante los meses de enero hasta mayo no se encontraron carpóforos en el área de estudio.
3. La biomasa total que se obtuvo por género durante el año fue muy variable. Los mayores valores lo presentaron Lactarius volemus, Lactarius spp., Pulveroboletus auriporus y Hebeloma sp. y los menores Cortinarius alboriolacens, Amplariela sp., Pholiota lubrica y Psathyrella sp.
4. En cuanto a la biomasa total mensual, junio, julio y agosto fueron los meses que mostraron valores más altos y este último presentó mayor biomasa durante 1984 y 1985.
5. La biomasa total de carpóforos fue de 101.69 kg/ha durante los 13 meses de observaciones.
6. De las especies identificadas en el presente trabajo, algunas de ellas se han reportado como ectomicorrízicas con los robles en bosques templados. Se podría tomar en consideración esta información para efectuar pruebas de aislamiento y cultivos de estos hongos para determinar si son ectótrofos con las especies de Quercus en Costa Rica.

AGRADECIMIENTO

A Adelaida Chaverri quien en calidad de coordinadora del Proyecto "Ecología y manejo de la vegetación en montañas altas en Costa Rica" me apoyó en todo momento e hizo posible la ejecución y desarrollo del presente estudio. A Luis Diego Gómez por la identificación de los hongos colectados y las sugerencias en aspectos metodológicos. A Lorena Orozco, Gabriela Soto y Wilberth Jiménez, por su apoyo en trabajo de campo. A M^{ra} de los Angeles Alfaro por su colaboración tanto en el trabajo de campo como en la revisión del documento. Por su trabajo mecanográfico al Sr. Carlos Perlaza.

A la Fundación Internacional para la Ciencia (FIC), por medio de su donación D/788-1 al Proyecto de Investigación de la Universidad Nacional N^o 782090 que hizo posible dicho estudio. A los participantes del taller sobre "Técnicas de investigación en micorrizas", organizado por la FIC en Turrialba, Costa Rica, por sus atinadas sugerencias.

BIBLIOGRAFIA

ALEXOPOULOS, C.J. Introducción a la micología. 2^{da} edición. Editorial Universitaria de Buenos Aires, Argentina. 1962. p. 615.

BOEKHOUT, T. Distribución y ecología de hongos macroscópicos (Datos iniciales) In: studies on Andian ecosystems I. ed. U.d. Mammew, Pinto & Pérez (Cramer, Vaduz). pp. 210-215. s.f.

BOULLIARD, B. Un problema de ecología forestal: las micorrizas. En: Pesson, P. Ecología forestal, el bosque: clima, suelo, árboles, fauna. Ediciones Mundi-Premsa, Madrid. 1978. pp. 189-205.

BURGER, W. Flora costaricensis. Fields Museum of Natural History. Volumen 40. Botanical Series, Chicago. 1977. p. 291

CIFUENTES, J. y Guzmán, G. Descripción y distribución de hongos tropicales (Agaricales) no conocidos previamente en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 16:35-60. 1981

CHIO, R.E. y Guzmán, G. Los hongos de la Península de Yucatán. I. Las especies de macromicetos conocidas. Biotica 7 (3): 385-400. 1982.

DANIEL, T.W. et al. Principios de silvicultura. 2^{da} edición, México. 1982. p. 491

FOGEL, R. and Hunt, G. Fungal and arboreal biomass in Western Oregon Douglas-fir ecosystem: distribution patterns and turnover. Canadian Journal of forest research 9 (2): 245-256. 1979.

FOGEL, R. and Trappe, J.M. Fungus consumption (Mycophagy) by small animals. Northwest Science, 52 (1): 1-31. 1978.

FRUTIS, I. y Guzmán, G. Contribución al conocimiento de los hongos del Estado de Hidalgo. Bol. Soc. Mex. Mic. 18: 219-265. 1983.

JANOS, D.P. Tropical mycorrhizas, nutriente cycles and plant growth. In: S.L. Sutton, T.C. Whitmore and A.C. Chadwick. Editors Tropical Rain Forest: Ecology and Management. Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K. 1983. pp. 327-345.

JIMENEZ, W. y Chaverri, A. Algunas consideraciones taxonómicas, ecológicas y silviculturales de los robles (*Quercus* sp.) con énfasis en Costa Rica. Serie Ecología y manejo de vegetación de altura N^o 1. Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Nacional, Heredia. 1985. p. 29 (mimeo.).

- LEVISOHN, I. Mycorrhizal infection in Eucalyptus. *Empire Forestry Review* 37 (2): 237-241. 1958.
- MAX, D.H. Mycorrhizae and establishment of trees on stripmined land. *Ohio J. Science*, 75 (6): 288-297. 1975.
- MIKOLA, P. Forestación de zonas rasas, importancia y técnica de la inoculación micorrizica, s.n.t.
- MOLINA, R. and Trappe, J.H. Applied aspects of ectomycorrhizae. In: *Advances in agricultural microbiology*. Edited by N.S. Subba Rao. Oxford & IBH publishing Co. 1982.
- POLACO, O.J. et al. Micofagia en la rata montana *Haptomys mexicanus* (Murina rodentia). *Bol. Soc. Mex. Mic.* 17: 114-119. 1982.
- RAMIREZ, G.F. Toma de muestras de suelo. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigaciones Agrícolas. Boletín divulgativo N° 74. 1980. p. 4.
- SINGER, R. Oak mycorrhiza fungi in Colombia. s.n.t. 1978.
- TOSI, J.A. Jr. Mapa ecológico. República de Costa Rica. Centro Científico Tropical, San José, Escala 1:75000. 1969.
- TRAPPE, J.H. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 28: 528-606. 1962.
- TRAPPE, J.H. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Ann. Rev. Phytopathol.* 15: 203-222. 1977.

EFFECTO DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULAR EN LA COMPETENCIA DE MAIZ Y MALEZA EN PANAMA

POR

Cecilio Puga R.

Smithsonian Tropical Research Institute
Apartado Postal 2072, Balboa, Panamá

ABSTRACTO

Investigué los efectos de micorrizas vesiculo-arbuscular (VA) y fertilización con fósforo en la producción de biomasa de tallo en cultivos mixtos de dos especies (*Zea mays* L. var T-7428 con *Cyperus rotundus* L., y *Zea mays* L. var. T-7428 con *Solanum ochraceo* Dun) y sus respectivos monocultivos.

El maíz y la especie de maleza *S. ochraceo* formaron micorrizas pero *C. rotundus* no. La fertilización con fósforo llevó a un máximo el porcentaje de infección micorrizica de las primeras especies en los niveles intermedios de disponibilidad de fósforo. El cultivo mixto de maíz y *S. ochraceo* aumentó grandemente la infección micorrizica de sus raíces entremezcladas con relación a la de sus respectivos monocultivos.

Las micorrizas VA incrementaron la producción de biomasa de tallo en los monocultivos y cultivo mixto de maíz y *S. ochraceo*. La fertilización con fósforo tendió a incrementar la producción de biomasa de todas las especies crecidas individualmente o juntas con la excepción de *S. ochraceo* crecido en cultivo mixto con maíz. El cultivo mixto de maíz con *C. rotundus* disminuyó el crecimiento de ambas especies con respecto al de sus respectivos monocultivos; el cultivo mixto de maíz con *S. ochraceo* disminuyó la producción de biomasa de *S. ochraceo*, pero realizó grandemente la producción del maíz en la presencia de micorrizas. En la ausencia de micorrizas el cultivo mixto con *S. ochraceo* disminuyó la producción de biomasa de tallo del maíz en el nivel de fertilidad ambiental.

ABSTRACT

I investigated the effects of Vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizas and phosphorus fertilization on shoot biomass yield of two-species mixtures (*Zea mays* L. var. T-7428 with *Solanum ochraceo* Dun and *Zea mays* L var. T-7428 with *Cyperus rotundus* L.) and their respective monocultures. Corn and the weed species *S. ochraceo* formed mycorrhizas, but *C. rotundus*

did not. Phosphorus fertilization maximized percent mycorrhizal infection of the former species at intermediate levels of phosphorus availability. Mixture of corn and *S. ochraceo* greatly enhanced mycorrhizal infection of their intermingled roots in comparison with that of the respective monocultures.

VA mycorrhizas increased the shoot biomass yield of corn and *S. ochraceo* in monoculture and mixture. Phosphorus fertilization tended to increase the yield of all species grown alone or together except for *S. ochraceo* mixed with corn. Mixture of corn with *C. rotundus* diminished the yields of both species relative to their respective monocultures; mixture of corn with *S. ochraceo* diminished *S. ochraceo* yield, but greatly enhanced corn yield in the presence of mycorrhizas. At ambient fertility in the absence of mycorrhizas, mixture with *S. ochraceo* reduced corn shoot biomass yield.

INTRODUCCION

Este artículo está dedicado a los problemas prácticos de infertilidad del suelo y de competencia de maleza con las cosechas en los campos de los agricultores de rotación. Atañe a el efecto potencial de hongos habitables de las raíces en la disminución de la deficiencia mineral de las cosechas y de la competencia entre cosechas y malezas.

Agricultura de Rotación

La agricultura de rotación es un sistema agrícola originario de trópicos húmedos en Africa, Asia y América Latina.

En Panamá la mayoría de la población rural práctica la agricultura de rotación cultivando pequeñas áreas de tierra despejadas de vegetación primaria o secundaria mediante el desmonte y la quema. Las semillas de las cosechas son plantadas con un mínimo de preparación del suelo. Después de alrededor de dos años, las parcelas son abandonadas a cambio de nuevos desmontes. Cualquiera de estos tres factores pueden forzar éste cambio: disminución de la fertilidad del suelo, desarrollo de malezas, o brotes de peste.

En Panamá, los factores principales causantes del cambio a nuevos desmontes pueden ser la disminución en la fertilidad del suelo y el desarrollo de malezas. La conversión del bosque para la agricultura resulta en disminución progresiva de la materia orgánica del suelo, nitrógeno, calcio, magnesio y Ph, y en aumento del aluminio (Krebs, 1975). El fósforo es después del nitrógeno, el elemento más amenudo limitante en los suelos. En los trópicos, la deficiencia en fósforo es agravada por la alta

capacidad de fijación de los suelos ácidos atribuible mayormente a los óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio los cuales se combinan con los iones de fosfato y forman compuestos insolubles (Sánchez, 1976). Los suelos panameños son muy bajos en fósforo y otros nutrientes vegetales esenciales (vea Tabla 1). Aunque la quema durante el desmonte libera un flujo de nutrientes, los minerales que no son absorbidos por las cosechas o las malezas se pierden por filtración (Greenland, 1975; Longman & Jenik, 1981). Consecuentemente, la producción de las cosechas disminuye con el tiempo.

Las malezas son otro problema. Están bien adaptadas para la colonización de manchas de terrenos transitorios o disturbados (Hill, 1977) como aquellos asociados con la agricultura de rotación. A medida que aumenta el tamaño del campo y la duración de su uso, aumentan las poblaciones y el fondo colectivo de maleza en los campos (Hill, 1977). Las malezas pueden afectar las cosechas de varias formas: pueden servir de huéspedes para enfermedades y plagas, sus características físicas pueden dificultar la siega, y pueden afectar el rendimiento de las cosechas al competir con éstas por los recursos limitantes (Hill, 1977; y para una revisión ver Kasasian, 1971).

En Panamá, Espinosa (1970) ha reportado reducciones de 22% y 79% en el rendimiento del maíz debido a la competencia por maleza por periodos de tres y seis semanas respectivamente.

TABLA 1. Características seleccionadas de Suelos en Panamá

PARAMETRO	PANAMA	SUELO
	EN GENERAL ¹	EXPERIMENTAL ²
pH	Acido	5.1
P (ppm)*	0-18	Trasas
K (ppm)*	50-150	No anal
Al (Meq/100 mg)*	0-1	7.9%
Materia Orgánica	2-5%	1.7%
Textura	Variable	A.-L.-Arc.%
		46 20 34

* Valores disponibles expresados en base a peso seco.

1. J. M. Lay, Agrónomo de la Universidad de Panamá, comunicación personal, 1980.
2. El suelo usado para los experimentos en éste estudio. El análisis fue conducido por el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, 1983.

La Competencia entre Plantas

La competencia entre plantas (sensu Clemente 1950) ocurre generalmente por minerales, agua y luz. Es el mecanismo mejor conocido que puede causar que la biomasa de una especie en monocultivo difiera de su biomasa en cultivo mixto (Donald, 1963). Generalmente, las diferencias morfológicas y fisiológicas entre las especies componentes de un cultivo mixto causan que las especies adquieran los recursos diferentemente. De Wit (1960) ha propuesto un modelo de competencia interespecifica basado en el postulado de que la producción de biomasa por los componentes de un cultivo mixto, es directamente proporcional a la porción de recursos que puedan adquirir. En éste modelo cuando los componentes de un cultivo mixto 1:1 compiten por el mismo recurso, el incremento proporcional de un componente tenderá a igualar el decremento proporcional del otro. El modelo predice que la producción del cultivo mixto yacerá entre los valores de producción de los monocultivos de las especies componentes crecidas a la misma densidad total.

Trenbath (1974) concluyó que aunque los rendimientos de la mayoría de los cultivos mixtos usualmente yacen entre los rendimientos de los monocultivos de las especies componentes una minoría de cultivos mixtos sobreproduce transgresivamente. Esto quiere decir que algunos cultivos mixtos rinden más que la especie componente más productiva en monocultivo. Los cultivos mixtos que comúnmente sobreproducen son aquellos que envuelven una bacteria nitrofixadora. Se piensa que el mecanismo de sobreproducción envuelve la reducción en la competencia interespecifica por nitrógeno, e incremento en la disponibilidad de nitrógeno a los componentes no-leguminosos del cultivo mixto (Haynes, 1980). Los cultivos mixtos legumbres/no-legumbres exemplifican otra faceta de las interacciones entre plantas-facilitación de una especie por otra, através de las actividades de microorganismos asociados.

La sobreproducción en cultivos mixtos que no envuelven legumbres puede ser explicada por mecanismos que reduzcan a un mínimo las interacciones competitivas tales como: diferentes ritmos de crecimiento, diferentes profundidades de enraizamiento, complementación nutricional, incremento en la eficiencia del uso de luz y agua, y alelopatía (Trenbath, 1974).

El Papel de las Micorrizas

Poca atención ha sido prestada a la posible importancia de la simbiosis micorrizica en la disminución del grado de competencia entre plantas. Las micorrizas vesículo-arbuscular (VA) son asociaciones mutualísticas hongos-raíces formadas entre hongos zigomicetos y plantas vasculares. Las

EFFECTO DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULAR EN LA COMPETENCIA DE MAIZ Y MALEZA EN PANAMA

POR

Cecilio Puga R.

Smithsonian Tropical Research Institute
Apartado Postal 2072, Balboa, Panamá

ABSTRACTO

Investigué los efectos de micorrizas vesiculo-arbuscular (VA) y fertilización con fósforo en la producción de biomasa de tallo en cultivos mixtos de dos especies (*Zea mays* L. var T-7428 con *Cyperus rotundus* L., y *Zea mays* L. var. T-7428 con *Solanum ochraceo* Dun) y sus respectivos monocultivos.

El maíz y la especie de maleza *S. ochraceo* formaron micorrizas pero *C. rotundus* no. La fertilización con fósforo llevó a un máximo el porcentaje de infección micorrizica de las primeras especies en los niveles intermedios de disponibilidad de fósforo. El cultivo mixto de maíz y *S. ochraceo* aumentó grandemente la infección micorrizica de sus raíces entremescladas con relación a la de sus respectivos monocultivos.

Las micorrizas VA incrementaron la producción de biomasa de tallo en los monocultivos y cultivo mixto de maíz y *S. ochraceo*. La fertilización con fósforo tendió a incrementar la producción de biomasa de todas las especies crecidas individualmente o juntas con la excepción de *S. ochraceo* crecido en cultivo mixto con maíz. El cultivo mixto de maíz con *C. rotundus* disminuyó el crecimiento de ambas especies con respecto al de sus respectivos monocultivos; el cultivo mixto de maíz con *S. ochraceo* disminuyó la producción de biomasa de *S. ochraceo*, pero realzó grandemente la producción del maíz en la presencia de micorrizas. En la ausencia de micorrizas el cultivo mixto con *S. ochraceo* disminuyó la producción de biomasa de tallo del maíz en el nivel de fertilidad ambiental.

ABSTRACT

I investigated the effects of Vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizas and phosphorus fertilization on shoot biomass yield of two-species mixtures (*Zea mays* L. var. T-7428 with *Solanum ochraceo* Dun and *Zea mays* L var. T-7428 with *Cyperus rotundus* L.) and their respective monocultures. Corn and the weed species *S. ochraceo* formed mycorrhizas, but *C. rotundus*

did not. Phosphorus fertilization maximized percent mycorrhizal infection of the former species at intermediate levels of phosphorus availability. Mixture of corn and *S. ochraceo* greatly enhanced mycorrhizal infection of their intermingled roots in comparison with that of the respective monocultures.

VA mycorrhizas increased the shoot biomass yield of corn and *S. ochraceo* in monoculture and mixture. Phosphorus fertilization tended to increase the yield of all species grown alone or together except for *S. ochraceo* mixed with corn. Mixture of corn with *C. rotundus* diminished the yields of both species relative to their respective monocultures; mixture of corn with *S. ochraceo* diminished *S. ochraceo* yield, but greatly enhanced corn yield in the presence of mycorrhizas. At ambient fertility in the absence of mycorrhizas, mixture with *S. ochraceo* reduced corn shoot biomass yield.

INTRODUCCION

Este artículo está dedicado a los problemas prácticos de infertilidad del suelo y de competencia de maleza con las cosechas en los campos de los agricultores de rotación. Atañe a el efecto potencial de hongos habitables de las raíces en la disminución de la deficiencia mineral de las cosechas y de la compatencia entre cosechas y malezas.

Agricultura de Rotación

La agricultura de rotación es un sistema agrícola originario de trópicos húmedos en Africa, Asia y América Latina.

En Panamá la mayoría de la población rural practica la agricultura de rotación cultivando pequeñas áreas de tierra despejadas de vegetación primaria o secundaria mediante el desmonte y la quema. Las semillas de las cosechas son plantadas con un mínimo de preparación del suelo. Después de alrededor de dos años, las parcelas son abandonadas a cambio de nuevos desmontes. Cualquiera de estos tres factores pueden forzar éste cambio: disminución de la fertilidad del suelo, desarrollo de malezas, o brotes de peste.

En Panamá, los factores principales causantes del cambio a nuevos desmontes pueden ser la disminución en la fertilidad del suelo y el desarrollo de malezas. La conversión del bosque para la agricultura resulta en disminución progresiva de la materia orgánica del suelo, nitrógeno, calcio, magnesio y Ph, y en aumento del aluminio (Krebs, 1975). El fósforo es después del nitrógeno, el elemento más amenudo limitante en los suelos. En los trópicos, la deficiencia en fósforo es agravada por la alta

capacidad de fijación de los suelos ácidos atribuible mayormente a los óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio los cuales se combinan con los iones de fosfato y forman compuestos insolubles (Sánchez, 1976). Los suelos panameños son muy bajos en fósforo y otros nutrientes vegetales esenciales (vea Tabla 1). Aunque la quema durante el desmonte libera un flujo de nutrientes, los minerales que no son absorbidos por las cosechas o las malezas se pierden por filtración (Greenland, 1975; Longman & Jenik, 1981). Consecuentemente, la producción de las cosechas disminuye con el tiempo.

Las malezas son otro problema. Están bien adaptadas para la colonización de manchas de terrenos transitorios o disturbados (Hill, 1977) como aquellos asociados con la agricultura de rotación. A medida que aumenta el tamaño del campo y la duración de su uso, aumentan las poblaciones y el fondo colectivo de maleza en los campos (Hill, 1977). Las malezas pueden afectar las cosechas de varias formas: pueden servir de huéspedes para enfermedades y plagas, sus características físicas pueden dificultar la siega, y pueden afectar el rendimiento de las cosechas al competir con éstas por los recursos limitantes (Hill, 1977; y para una revisión ver Kasasian, 1971).

En Panamá, Espinoza (1970) ha reportado reducciones de 22% y 79% en el rendimiento del maíz debido a la competencia por maleza por períodos de tres y seis semanas respectivamente.

TABLA 1. Características seleccionadas de Suelos en Panamá

PARAMETRO	PANAMA EN GENERAL ¹	SUELO EXPERIMENTAL ²
pH	Acido	5.1
P (ppm)*	0-18	Trazas
K (ppm)*	50-150	No anal
Al (Meq/100 mg)*	0-1	7.9%
Materia Orgánica	2-5%	1.7%
Textura	Variable	A.-L.-Arc.‡
		46 20 34

* Valores disponibles expresados en base a peso seco.

¹ J. M. Lay, Agrónomo de la Universidad de Panamá, comunicación personal, 1980.

² El suelo usado para los experimentos en éste estudio. El análisis fue conducido por el Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, 1983.

La Competencia entre Plantas

La competencia entre plantas (sensu Clements 1950) ocurre generalmente por minerales, agua y luz. Es el mecanismo mejor conocido que puede causar que la biomasa de una especie en monocultivo difiera de su biomasa en cultivo mixto (Donald, 1963). Generalmente, las diferencias morfológicas y fisiológicas entre las especies componentes de un cultivo mixto causan que las especies adquieran los recursos diferentemente. De Wit (1960) ha propuesto un modelo de competencia interespecifica basado en el postulado de que la producción de biomasa por los componentes de un cultivo mixto, es directamente proporcional a la porción de recursos que puedan adquirir. En éste modelo cuando los componentes de un cultivo mixto 1:1 compiten por el mismo recurso, el incremento proporcional de un componente tenderá a igualar el decremento proporcional del otro. El modelo predice que la producción del cultivo mixto yacerá entre los valores de producción de los monocultivos de las especies componentes crecidas a la misma densidad total.

Trenbath (1974) concluyó que aunque los rendimientos de la mayoría de los cultivos mixtos usualmente yacen entre los rendimientos de los monocultivos de las especies componentes una minoría de cultivos mixtos sobreproduce transgresivamente. Esto quiere decir que algunos cultivos mixtos rinden más que la especie componente más productiva en monocultivo. Los cultivos mixtos que comúnmente sobreproducen son aquellos que envuelven una bacteria nitrofixadora. Se piensa que el mecanismo de sobreproducción envuelve la reducción en la competencia interespecifica por nitrógeno, e incremento en la disponibilidad de nitrógeno a los componentes no-leguminosos del cultivo mixto (Haynes, 1980). Los cultivos mixtos legumbres/no-legumbres exemplifican otra faceta de las interacciones entre plantas-facilitación de una especie por otra, através de las actividades de microorganismos asociados.

La sobreproducción en cultivos mixtos que no envuelven legumbres puede ser explicada por mecanismos que reduzcan a un mínimo las interacciones competitivas tales como: diferentes ritmos de crecimiento, diferentes profundidades de enraizamiento, complementación nutricional, incremento en la eficiencia del uso de luz y agua, y alelopatía (Trenbath, 1974).

El Papel de las Micorrizas

Poca atención ha sido prestada a la posible importancia de la simbiosis micorrizica en la disminución del grado de competencia entre plantas. Las micorrizas vesículo-arbuscular (VA) son asociaciones mutualísticas hongos-raíces formadas entre hongos zigomicetos y plantas vasculares. Las

micorrizas VA son bien conocidas por incrementar la absorción mineral, especialmente de fósforo, y en consecuencia estimular el crecimiento de muchas plantas incluyendo importantes cosechas (Yost & Fox, 1979; Black, 1980; Mosse & Hayman, 1980). Las micorrizas VA tienden a ocurrir más abundantemente en suelo de moderada a baja fertilidad (Mosse, 1973).

Las micorrizas VA pueden establecer conexiones interplantas que pueden influir en la economía de nutrientes de las plantas. Las investigaciones de Heap y Newman (1980 a) y Chiariello et al. (1982) sugirieron que las hifas micorrícicas podían conectar las raíces de plantas de diferentes especies. Tales interconexiones de hifas pueden proveer una ruta para el transporte interplanta de carbón (Hirrel & Gerdeman, 1979. Francis & Read, 1984) y de fósforo (Heap & Newman, 1980a; Heap & Newman, 1980b; Whittingham & Read, 1982). Sin embargo, las plantas difieren en su grado de dependencia en las micorrizas.

Baylis (1975) y Janos (1980) han propuesto las siguientes categorías para definir el rango completo de la dependencia micorrícica de la plantas. Especies no-micotróficas: son aquellas cuyo crecimiento no es estimulado por las micorrizas, no forman asociaciones micorrícicas en ningún nivel de fósforo. Especies micotróficas: son aquellas cuyo crecimiento es estimulado por las micorrizas, son facultativa u obligadamente dependientes en las micorrizas para la absorción mineral y el crecimiento. Las especies facultativamente micotróficas se benefician de la infección micorrícica mediante el incremento en su crecimiento a niveles bajos de fósforo; sin embargo, rechazan la infección micorrícica cuando el fósforo está fácilmente disponible. Los micótrofos obligados no pueden crecer sin micorrizas en el nivel más alto de fósforo encontrado en sus hábitáculos naturales.

Debido a que las plantas de diferentes especies tienen diferentes susceptibilidades a la formación de micorrizas, la combinación de especies diferentes puede influir en la biomasa total de las micorrizas y consecuentemente en la absorción total de nutrientes por un cultivo mixto. La posibilidad de que un cultivo mixto sostenga mayor biomasa de hongos micorrícicos que sus componentes crecidos separadamente a igual densidad total no ha sido investigada. Si un cultivo mixto acelera el desarrollo extensivo de las micorrizas la sobreproducción por cultivos mixtos puede resultar del incremento en la absorción de fósforo.

En este artículo reporto los resultados parciales de experimentos de competencia entre el maíz y dos especies de malezas. Las malezas difieren en susceptibilidad micorrícica y fueron crecidas bajo condiciones de disponibilidad de fósforo capaz de afectar la formación de las micorrizas. También reportaré los resultados de un experimento a pequeña escala diseñado a probar la respuesta de las especies a micorrizas. Los fines específicos de los experimentos fueron responder los siguientes interrogantes: 1) Como responden

las especies a micorrizas? 2) Cuál es el efecto del crecimiento en cultivo mixto de dos especies en la infección micorrícica total? 3) Cuál es el efecto de diferentes niveles de disponibilidad de fósforo en la infección micorrícica de monocultivos y cultivos mixtos? 4) Como afecta el crecimiento en cultivo mixto de dos especies las producciones de biomasa?

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación fue conducida en el Centro de Estudios e Investigaciones Agropecuarias de Tocumen, Panamá, de Enero a Julio de 1984.

Mi diseño experimental está presentado en la tabla 2. Las plantas fueron crecidas en monocultivo y cultivo mixto con micorrizas añadidas a cuatro niveles diferentes de fósforo.

Cada especie fue crecida en monocultivo a densidad de un individuo por pote. Los potes usados para los monocultivos fueron del mismo tamaño (8" dia. x 7" hondura) que los usados para los cultivos mixtos. Los monocultivos fueron usados como controles para determinar cambios en la producción de biomasa e infección micorrícica de las plantas que resultasen del crecimiento en cultivo mixto. Realizé los experimentos de competencia mediante el uso de mezclas 1:1 de individuos de cada una de las especies indicadas en la tabla 2. También realizé un experimento a pequeña escala en el cual planté maíz y *Solanum ochraceo* Dun. en monocultivo y cultivo mixto con y sin micorrizas en el nivel de fertilidad ambiental del suelo.

TABLA 2. Plan experimental y número de individuos de cada especie por tratamiento.

Monocultivos:	Nivel de fósforo			
	Ambiental	2 ppm	8 ppm	16 ppm
<i>Zea mays</i>	12*	18	20	20
<i>Solanum ochraceo</i>	10	20	19	20
<i>Cyperus rotundus</i>	19	19	20	19
Mixturas:				
<i>Z. mays</i> + <i>Z. mays</i>	15	20	20	20
<i>Z. mays</i> + <i>S. ochraceo</i>	10	19	20	19
<i>Z. mays</i> + <i>C. rotundus</i>	19	20	20	19

* Todos los tratamientos en este plan fueron suplidos con inóculo micorrícico.

Este tipo y cantidad de inóculo produce pronta infección en las raíces del maíz (Puga & Rodríguez, 1980).

Suelo y Niveles de Fósforo

El suelo utilizado en este estudio fue un pardo rojizo de textura franco arcilloso-arenoso procedente de un campo de maíz abandonado en Lagarteritas, Chorrera, Panamá. La tabla 1 muestra algunas de sus propiedades químicas. Es un típico suelo tropical; es ácido, bajo en fósforo y alto en Aluminio. Antes de su fumigación, el suelo fue finalmente pulverizado colándolo a través de una malla metálica después de lo cual fue totalmente mezclado. Fumigué alrededor de 2,000 kg de suelo con 12 latas (681 g c/u) de bromuro de metilo y cloropicrina ("Dowfume") por tres días en una bolsa de polietileno. Los diferentes niveles de disponibilidad de fósforo fueron producidos mediante la adición de solución de susperfosfato al suelo cada tres semanas. La concentración y volumen de la solución fueron calculados por ensayos después de que varias muestras de suelo fueran analizadas.

La fertilización inicial fue realizada mezclando totalmente el suelo con la solución de fósforo en bolsas plásticas antes de distribuirlo a los potes. Las fertilizaciones posteriores fueron realizadas vertiendo la solución sobre la superficie del suelo en las bases de las plantas.

Colección y Análisis de Datos

Al cierre del experimento, II semanas después de la transplantación a los poste, colecté y sequé al horno (60 C.) a peso constante las raíces y tallos de todas las plantas y anoté sus pesos. Examiné al microscopio una muestra aleatoria de 2 g. de raíz por cada planta, tomada antes del secado, después de teñirla con fuscina ácida según el método de Kormanik et al. (1980). Los porcentajes de infección micorrízica fueron estimados por el método de Giovanetti & Mosse (1980). No fue posible separar los sistemas radicales de las especies en cultivo mixto porque con la excepción de la mezcla de maíz con C. rotundus, los sistemas radicales eran morfológicamente indistinguibles. Por lo que estimé porcentajes de infección combinados para las mezclas maíz-S. ochraceo y maíz-maíz.

Analiqué los datos mediante ANOVA de dos vías (Sokal & Rohlf, 1981) para probar la hipótesis general de que la fertilización con fósforo y el crecimiento en cultivo mixto influyen en el porcentaje de infección micorrízica y la producción de biomasa. Cuando detecté diferencias significativas (P < 0.05), apliqué la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Koske, 1983) para distinguir las diferencias.

Especies de Plantas

Escogí las tres especies teniendo en cuenta la importancia económica (maíz), abundancia de malezas en los campos de maíz, y posibles diferencias en la dependencia micorrízica.

Maíz MAYA L. (Poaceae) es un cultivo anual de gran importancia para la subsistencia humana. Es la cosecha más importante para la gente de las áreas rurales en Panamá. El maíz es muy sensitivo a la competencia por maleza cuando se encuentra bajo limitaciones de humedad o nutrientes, especialmente durante el primer mes después de su siembra (Espinoza, 1970; Kasasian, 1971). El maíz forma micorrizas (Daft & Nicolson, 1960; Khan, 1972). La variedad de maíz (T-7428) usada en este experimento responde a micorrizas mediante incrementos en su crecimiento (Puga & Rodríguez, 1980).

Cyperus rotundus L. (Cyperaceae) es una de las malezas más agresivas del trópico. Puede producir poblaciones extremadamente densas, y es sumamente competitiva para el maíz (Kasasian, 1971). Algunos de los compuestos contenidos por los bulbos de esta especie (por ej. polifenoles, alcaloides, glucósidos, etc.) son alelopáticos (Rice, 1979). C. rotundus es una especie no-micorrízica (este estudio) al igual que otros juncos (Powell, 1974).

Solanum ochraceo Dun. (Solanaceae) es un arbusto de 1 metro de altura de amplia distribución en Panamá (Seixas, 1977). Forma micorrizas VA (este estudio).

Cultivé todas las plántulas experimentales en copas con mezcla 1:1 arena:suelo fumigada; el maíz y S. ochraceo fueron surgidos de semillas, C. rotundus de bulbos. S. ochraceo y C. rotundus fueron crecidos en un horario que les hizo igualar la altura de plántulas de maíz de 5 días de crecimiento.

Transplanté las plantas de todas las especies a potes plásticos que contenían suelo fumigado que había sido sometido a un tratamiento de fósforo e inoculado con hongos micorrízicos inmediatamente antes del transplante. Los potes de todos los tratamientos fueron espaciados al azar 20 cms sobre mesas colocadas en un área uniformemente iluminada. Las plantas fueron regadas por la lluvia y a mano cuando fue necesario. Manualmente removí todo insecto que encontré comiéndose las plantas

Inoculación Micorrízica

Inoculé las plantas con hongos micorrízicos VA mediante la adición de 5 g de raíces frescas y finalmente cortadas, de Oenocarpus panamanus Bailey (colectadas en la Isla de Barro Colorado), a unos 3 cms bajo la superficie del suelo.

RESULTADOS

Producción de Biomasa Seca de Tallos

La tabla 3 ilustra los efectos de cultivo mixto en la biomasa. La competencia intraespecífica aproximadamente dividió en dos la biomasa de dos plantas de maíz crecidas en mixtura en comparación con la biomasa de una planta de maíz. La biomasa promedio total de dos plantas de maíz crecidas en mixtura excedió la de una planta de maíz en el nivel 8 ppm de fósforo pero fue inferior a ésta en el nivel ambiental de fósforo. No hubo tendencias definidas de diferencias entre éstos dos tratamientos. La biomasa del maíz fue reducida significativamente más abajo que la biomasa de una planta de maíz individual cuando creció en mixtura con C. rotundus en 8 y 16 ppm de fósforo; en los niveles inferiores no se observó este efecto.

La producción de biomasa por el maíz en mixtura con S. ochraceo fue significativamente superior que aquellas de ambas densidades del maíz en monocultivo en todos los niveles de fósforo. La tabla 4 muestra esto en el contexto de la teoría del policultivo. La producción total del cultivo mixto de maíz y C. rotundus nunca excedió la de su monocultivo más productivo crecido a la misma densidad total de planta (maíz a dos plantas por pote), solamente iguala su producción en los niveles más bajos de fósforo. La producción total del cultivo mixto maíz y S. ochraceo excedió la del monocultivo de maíz, "sobreprodujo transgresivamente" (Trenbath, 1974), en todos los niveles de fósforo.

La fertilización con fósforo mejoró significativamente la producción de biomasa en el maíz en monocultivo y cultivo mixto. (Tabla 3), aunque algunos incrementos en la disponibilidad de fósforo no tuvieron efectos significativos en las diferentes combinaciones de especies. La adición de fósforo tuvo el mínimo efecto en la biomasa del maíz en cultivo mixto con C. rotundus, a niveles de fósforo superiores a los 2 ppm no hubo cambio significativo en la biomasa.

Infección Micorrícica

La competencia intraespecífica redujo significativamente el porcentaje de infección micorrícica del maíz en todos los niveles de fósforo (tabla 5). En ambas densidades de plantación del maíz la infección micorrícica fue llevada a un máximo en los niveles internos de fósforo. Aunque este patrón fue repetido cuando el maíz creció en mixtura con la especie no-micorrícica C. rotundus, esta mixtura redujo significativamente la infección máxima obtenida a 2 y 8 ppm de fósforo en comparación al maíz de una planta por pote. El cultivo mixto con C. rotundus aumentó significativamente la

infección del maíz en los niveles ambiental y 16 ppm de fósforo en comparación con el maíz de plantas por pote. De igual manera, la infección micorrícica de S. ochraceo fue llevada a un máximo en los niveles intermedios de disponibilidad de fósforo (Tabla 6).

Debido a que las raíces del maíz y S. ochraceo no se pudieron separar, sus porcentajes de infección combinada son presentados en la Tabla 6. La infección combinada mostró el acostumbrado patrón de infección máxima en los niveles intermedios de fósforo, y excedió significativamente los porcentajes de infección de los monocultivos de maíz y S. ochraceo en todos los niveles de fósforo.

Efecto de la Infección Micorrícica en la Biomasa Seca de Tallos.

La infección micorrícica aumentó significativamente la masa seca del maíz y S. ochraceo en monocultivo y cultivo mixto en el nivel ambiental (Tr) de fósforo (Tablas 7 y 8). El crecimiento en cultivo mixto deprimió la producción del S. ochraceo a pesar de su estado micorrícico sin embargo solo redujo la producción del maíz no infectado. La masa seca de tallos de maíz fue incrementada notablemente por el crecimiento en mixtura cuando se formaron micorrizas.

Tabla 3. Biomasa seca de tallos de maíz (media y una desviación standard mostrada en parentesis) de cuatro tratamientos a cuatro niveles de fósforo. Los tratamientos son: maíz en monocultivo (1 planta/pote), maíz en monocultivo (2 plantas/pote), maíz en mixtura con Solanum ochraceo Dun. (1 planta por especie/pote), maíz en mixtura con Cyperus rotundus L. (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba de Rango Múltiple de Duncan). Los tamaños de las muestras están indicados en la tabla 2.

Masa Seca de Tallos de Maiz (g)

P Nivel	Maiz (1 p./pote)	Maiz (2 p./pote)	Maiz con S. ochraceo	Maiz con C. rotundus
Trazas	11.24 d,B (1.69)	6.98 c,C (0.98)	25.44 c,A (2.68)	4.51 c,C (2.36)
2 ppm	16.77 c,B (2.61)	15.99 b,B (3.86)	23.96 c,A (4.21)	13.94 b,B (2.71)
8ppm	23.64 b,C (3.17)	27.73 a,B (3.27)	30.14 b,A (3.80)	16.26 b,D (4.00)
16ppm	29.28 a,B (4.04)	29.20 a,B (2.84)	40.05 a,A (3.93)	15.20 b,C (2.66)

DISCUSION

La competencia ha sido invocada a menudo para explicar diferencias entre los rendimientos de plantas en monocultivo y cultivo mixto (Harper, 1977). Bajo el postulado de competencia por el mismo recurso, De Wit (1960) predijo que el rendimiento de un cultivo mixto yacerá entre los rendimientos de sus componentes crecidos a la misma densidad total. Este es el resultado de muchos experimentos (Donald, 1963). Sin embargo, unos pocos cultivos binarios han sobreproducido transgresivamente.

Tabla 4. Rendimientos totales de biomasa seca de tallos (media, y una desviación standard mostrada en paréntesis) de mixturas comparados al rendimiento de la especie más productiva en monocultivo a cuatro niveles de fósforo. Los tratamientos son: mixtura de maiz y *Cyperus rotundus* L. (1 planta por especie/pote), mixtura de maiz y *Solanum ochraceo* Dun. (1 planta por especie/pote), monocultivo de maiz (2 plantas/pote). Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas de la misma letra mayúscula no difieren entre si a P < 0.01 (ANOVA 2-Factores, Prueba de Rango Múltiple de Duncan). Los tamaños de las muestras están indicados en la Tabla 2.

Biomasa Seca Total de Tallos (g)

P Nivel	Maiz con C. rotundus	Maiz (2 plantas/pote)	Maiz con S. ochraceo
Trazas	4.66 c,B (1.19)	6.98 c,B (0.98)	26.79 c,A (2.69)
2 ppm	14.06 b,B (2.67)	15.99 b,B (3.86)	26.80 c,A (3.73)
8 ppm	16.53 b,C (3.94)	27.73 a,B (3.27)	31.48 b,A (3.57)
16 ppm	15.33 b,C (2.57)	29.20 a,B (2.84)	41.47 a,A (3.80)

Tabla 5. Porcentaje de infección micorrizica de maiz (media, y 95% de límites de confianza entre paréntesis) a cuatro niveles de fósforo en monocultivos a dos densidades, y en mixtura con *C. rotundus*. Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre si a P < 0.05 (ANOVA 2-Factores y Prueba del Rango Múltiple de Duncan aplicada a la transformación angular del porcentaje de infección). Los tamaños de las muestras están indicadas en la Tabla 2.

Porcentaje de infección Micorrizica del Maiz

P Nivel	Monocultivo	Mixtura con S. ochraceo	
	1 planta/pote	2 plantas/pote	
Trazas	17 b,B (16 a 18)	12b,c (11 a 13)	20 b,A (19 a 21)
2 ppm	38 a,A (37 a 38)	27 a,B (26 a 28)	28 a,B (27 a 29)
8 ppm	39 a, A (38 a 40)	27 a,C (26 a 28)	29a,B (29 a 30)
16 ppm	19 b, A (18 a 20)	13 b,B (12 a 14)	19 b, A (18 a 21)

Tabla 6. Porcentaje de infección micorrizica del maíz y de *Solanum ochraceo* Dun. en monocultivos (1 planta/pote), y de sus raíces combinadas en mixtura (1 planta por especie/pote) a cuatro niveles de fósforo (media, y 95% de límites de confianza en paréntesis). Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre si a $P < 0.05$ (ANOVA 2-Factores y Prueba del Rango Múltiple de Duncan aplicada a la transformación angular del porcentaje de infección). Los tamaños de las muestras están indicados en la tabla 2.

Porcentaje de Infección Micorrizica

P nivel	<i>S. ochraceo</i> I planta/pote	Maíz I planta/pote	Maíz con <i>C. rotundus</i>
Trazas	9 b,C (7 a 10)	17 b,B (16 a 18)	41 b,A (38 a 44)
2 ppm	20 a,C (19 a 21)	38 a,B (37 a 38)	48 a,A (47 a 54)
8 ppm	19 a,C (17 a 20)	39 a,B (38 a 40)	49 a,A (45 a 52)
16 ppm	14 c,C (13 a 15)	19 b,B (18 a 20)	38 c,A (36 a 39)

Tabla 7. Biomasa seca de tallos de maíz (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con *Solanum ochraceo* Dun. (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre si a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan.).

Masa Seca de Tallos de Maíz

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con <i>S. ochraceo</i>
Infestado	11.73A (1.52) n=12	25.40B (2.61) n=10
No infestado	8.65C (0.91) n=8	4.84D (1.26) n=10

Tabla 8. Biomasa seca de tallos de *Solanum ochraceo* Dun. (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con maíz (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre si a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan).

Masa Seca de Tallos de *Solanum ochraceo* (g)

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con Maíz
Infestado	6.38A (0.70) n=10	2.65B (0.84) n=10
No infestado	3.93C (0.32) n=6	1.35D (0.34) n=10

Trenbath (1974) ha sugerido ciertos mecanismos que reducen a un mínimo la competencia para explicar éstas excepciones al modelo de competencia. En éste artículo he documentado un caso de sobreproducción que es atribuible a la presencia de las micorrizas VA.

Los datos de la Tabla 4 demuestran que el rendimiento total de biomasa de la mixtura de maíz y *S. ochraceo* excedió la del monocultivo de maíz (2 plantas/pote). Ambas especies formaron micorrizas y en conjunto sustentaron más infección micorrizica que la que se podría esperar de cualquier contribución proporcional de sus raíces con respecto a la

infección observada en los monocultivos respectivos (Tabla 5 y 6). El realce de el crecimiento causado por las micorrizas VA puede estar positivamente correlacionado con la infección y extensión del micelio externo (Sanders et al., 1977). En consecuencia, un aumento de infección micorrizica puede resultar en un aumento en la absorción de fósforo y en un aumento en la producción de biomasa por las plantas. Si las micorrizas VA causan sobreproducción, entonces en su ausencia no debería ocurrir sobreproducción alguna. Este es el caso para el maíz crecido a fertilidad ambiental (Tabla 7). Sin micorrizas las biomasa del maíz es casi dividida en dos por la competencia, pero en la presencia de hongos micorrizicos VA el cultivo mixto con *G. ochraceo* más que dobla el rendimiento del maíz. La sobreproducción del cultivo mixto fue causada exclusivamente por el incremento de la biomasa del maíz (Tabla 3). No hubieron controles no infectados para los otros niveles de fósforo y en consecuencia no hay evidencia directa de que las micorrizas produjeron la sobreproducción a niveles de fósforo superiores que el nivel ambiental. Los resultados de el nivel ambiental de fósforo en conjunto con el aumento de la infección micorrizica del cultivo mixto de maíz y *G. ochraceo* en todos los niveles de fósforo, sugieren fuertemente que las micorrizas también causaron la sobreproducción en los demás niveles de fósforo.

Fitter (1977) demostró que el crecimiento en cultivo mixto por dos especies de hierba aumentó la infección micorrizica en una de las especies que normalmente formaba pocas micorrizas; tal aumento de infección, sin embargo, fue deletéreo para esa especie. En mi experimento la infección micorrizica debió haber aumentado por lo menos en una de las dos especies.

Debido a que la sobreproducción por el cultivo mixto es ocasionado exclusivamente por el aumento de la biomasa del maíz se puede inferir que la infección del maíz aumentó. Sin embargo, cualquier aumento en la infección dependió de la presencia de *G. ochraceo* porque el aumento de la densidad del maíz en monocultivo redujo el porcentaje de infección (Tabla 5). Se desconocen los factores que podrían explicar el aumento de infección micorrizica en cultivos mixtos. SE ha considerado que los exudados de raíces de plantas no-micorrizicas inhiben la infección micorrizica en plantas hospederas (Hayman et al., 1975) o causan infecciones micorrizicas anormales (Morley & Mosse, 1976). Los resultados de este experimento sugieren que especies hospederas diferentes podrían nutrir completamente a los hongos lo cual resultaría en su mejor desarrollo.

La producción de biomasa por el maíz crecido en cultivo mixto con *C. rotundus* no fue mejorada a niveles de fósforo superiores que 2 ppm (Tabla 3.). La competencia a solas no parece explicar este resultado. El crecimiento con *C. rotundus* redujo el porcentaje de infección del maíz con respecto a su monocultivo de 1 planta por pote (Tabla 5) en los niveles intermedios de fósforo. A 16 ppm de fósforo, el maíz tenía

más infección en cultivo mixto con *C. rotundus* que en el monocultivo de dos plantas por pote, aunque el rendimiento del maíz no fue superior que el rendimiento promedio de su monocultivo de una planta por pote y en consecuencia no refleja respuesta al incremento de la infección. Algunos de los compuestos alelopáticos exudados por los bulbos de *C. rotundus* pueden haber suprimido la respuesta a la infección micorrizica.

La fertilización de fósforo influyó en la infección micorrizica de monocultivos y mixturas. La reducción del porcentaje de infección micorrizica asociada a los niveles altos de fósforo concuerda con lo reportado en experimentos de pote y campo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Khan, 1975). Este efecto inhibitorio puede estar mediado por la nutrición de fósforo del huésped (Sanders, 1975). El rechazo de la infección micorrizica en los niveles altos de fósforo es un comportamiento típico de los micótrofos facultativos (Janos, 1980). El maíz es un micótrofo facultativo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Puga & Rodríguez, 1980) y probablemente *G. ochraceo* también lo es.

Los bajos porcentajes de infección registrados en el nivel ambiental para el maíz y *G. ochraceo* (Tablas 5 y 6) pueden ser atribuidos a una reducción en el suministro de productos fotosintéticos del endófito. Debido a que el desarrollo de biomasa fúngica depende del suministro de carbohidratos de las raíces (Harley & Smith, 1983) es probable que la baja producción de biomasa en el nivel ambiental de fósforo (Tablas 3 y 4) restringió la disponibilidad de productos fotosintéticos a raíces y hongos.

En resumen, los resultados de mi investigación ilustran la importancia de micorrizas VA en la competencia de plantas. La simbiosis micorrizica VA debe ser tomada en consideración en la interpretación de experimentos de competencia. La mayoría de las plantas en la naturaleza forman micorrizas VA y las interacciones de plantas pueden afectar grandemente la formación de micorrizas y de éste modo los beneficios obtenibles de ellas.

Mi investigación demostró claramente que el cultivo mixto de maíz y *G. ochraceo* realizó la infección micorrizica, y que el aumento de infección resultó en sobreproducción transgresiva por el cultivo mixto en el nivel ambiental de fósforo.

Debido a que conduje ésta investigación en potes, los resultados pueden no ser aplicables a las condiciones de campo. No obstante, el diseño experimental fue apropiado para investigar relaciones de interés agronómico entre plantas y hongos micorrizicos. Tales relaciones son más fáciles de estudiar en experimentos controlados que en medio de la complejidad de un sistema agrícola. Investigué la interacción de variables consideradas de gran importancia para el agricultor de rotación; mis datos justifican una extensión de ésta investigación a las condiciones de campo en Panamá. Especulo que la selección de genotipos de cosecha

Tabla 6. Porcentaje de infección micorrizica del maíz y de *Solanum ochraceo* Dun. en monocultivos (1 planta/pote), y de sus raíces combinadas en mixtura (1 planta por especie/pote) a cuatro niveles de fósforo (media, y 95% de límites de confianza en paréntesis). Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.05$ (ANOVA 2-Factores y Prueba del Rango Múltiple de Duncan aplicada a la transformación angular del porcentaje de infección). Los tamaños de las muestras están indicados en la tabla 2.

Porcentaje de Infección Micorrizica

P nivel	<i>S. ochraceo</i> I planta/pote	Maíz I planta/pote	Maíz con <i>C. rotundus</i>
Trazas	9 b,C (7 a 10)	17 b,B (16 a 18)	41 b,A (38 a 44)
2 ppm	20 a,C (19 a 21)	38 a,B (37 a 38)	48 a,A (47 a 54)
8 ppm	19 a,C (17 a 20)	39 a,B (38 a 40)	49 a,A (45 a 52)
16 ppm	14 c,C (13 a 15)	19 b,B (18 a 20)	38 c,A (36 a 39)

Tabla 7. Biomasa seca de tallos de maíz (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con *Solanum ochraceo* Dun. (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan.).

Masa Seca de Tallos de Maíz

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con <i>S. ochraceo</i>
Infestado	11.73A (1.52) n=12	25.40B (2.61) n=10
No infestado	8.65C (0.91) n=8	4.84D (1.26) n=10

Tabla 8. Biomasa seca de tallos de *Solanum ochraceo* Dun. (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con maíz (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan).

Masa Seca de Tallos de *Solanum ochraceo* (g)

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con Maíz
Infestado	6.38A (0.70) n=10	2.65B (0.84) n=10
No infestado	3.93C (0.32) n=6	1.35D (0.34) n=10

Trenbath (1974) ha sugerido ciertos mecanismos que reducen a un mínimo la competencia para explicar éstas excepciones al modelo de competencia. En éste artículo he documentado un caso de sobreproducción que es atribuible a la presencia de las micorrizas VA.

Los datos de la Tabla 4 demuestran que el rendimiento total de biomasa de la mixtura de maíz y *S. ochraceo* excedió la del monocultivo de maíz (2 plantas/pote). Ambas especies formaron micorrizas y en conjunto sustentaron más infección micorrizica que la que se podría esperar de cualquier contribución proporcional de sus raíces con respecto a la

infección observada en los monocultivos respectivos (Tabla 5 y 6). El realce de el crecimiento causado por las micorrizas VA puede estar positivamente correlacionado con la infección y extensión del micelio externo (Sanders et al., 1977). En consecuencia, un aumento de infección micorrizica puede resultar en un aumento en la absorción de fósforo y en un aumento en la producción de biomasa por las plantas. Si las micorrizas VA causan sobreproducción, entonces en su ausencia no debería ocurrir sobreproducción alguna. Este es el caso para el maíz crecido a fertilidad ambiental (Tabla 7). Sin micorrizas la biomasa del maíz es casi dividida en dos por la competencia, pero en la presencia de hongos micorrizicos VA el cultivo mixto con G. ochraceo más que dobla el rendimiento del maíz. La sobreproducción del cultivo mixto fue causada exclusivamente por el incremento de la biomasa del maíz (Tabla 3). No hubieron controles no infectados para los otros niveles de fósforo y en consecuencia no hay evidencia directa de que las micorrizas produjeron la sobreproducción a niveles de fósforo superiores que el nivel ambiental. Los resultados de el nivel ambiental de fósforo en conjunto con el aumento de la infección micorrizica del cultivo mixto de maíz y G. ochraceo en todos los niveles de fósforo, sugieren fuertemente que las micorrizas también causaron la sobreproducción en los demás niveles de fósforo.

Fitter (1977) demostró que el crecimiento en cultivo mixto por dos especies de hierba aumentó la infección micorrizica en una de las especies que normalmente formaba pocas micorrizas; tal aumento de infección, sin embargo, fue deletéreo para esa especie. En mi experimento la infección micorrizica debió haber aumentado por lo menos en una de las dos especies.

Debido a que la sobreproducción por el cultivo mixto es ocasionado exclusivamente por el aumento de la biomasa del maíz se puede inferir que la infección del maíz aumentó. Sin embargo, cualquier aumento en la infección dependió de la presencia de G. ochraceo porque el aumento de la densidad del maíz en monocultivo redujo el porcentaje de infección (Tabla 5). Se desconocen los factores que podrían explicar el aumento de infección micorrizica en cultivos mixtos. SE ha considerado que los exudados de raíces de plantas no-micorrizicas inhiben la infección micorrizica en plantas hospederas (Hayman et al., 1975) o causan infecciones micorrizicas anormales (Morley & Mosse, 1976). Los resultados de este experimento sugieren que especies hospederas diferentes podrían nutrir completamente a los hongos lo cual resultaría en su mejor desarrollo.

La producción de biomasa por el maíz crecido en cultivo mixto con C. rotundus no fue mejorada a niveles de fósforo superiores que 2 ppm (Tabla 3.). La competencia a solas no parece explicar este resultado. El crecimiento con C. rotundus redujo el porcentaje de infección del maíz con respecto a su monocultivo de 1 planta por pote (Tabla 5) en los niveles intermedios de fósforo. A 16 ppm de fósforo, el maíz tenía

más infección en cultivo mixto con C. rotundus que en el monocultivo de dos plantas por pote, aunque el rendimiento del maíz no fue superior que el rendimiento promedio de su monocultivo de una planta por pote y en consecuencia no refleja respuesta al incremento de la infección. Algunos de los compuestos alelopáticos exudados por los bulbos de C. rotundus pueden haber suprimido la respuesta a la infección micorrizica.

La fertilización de fósforo influyó en la infección micorrizica de monocultivos y mixturas. La reducción del porcentaje de infección micorrizica asociada a los niveles altos de fósforo concuerda con lo reportado en experimentos de pote y campo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Khan, 1975). Este efecto inhibitorio puede estar mediado por la nutrición de fósforo del huésped (Sanders, 1975). El rechazo de la infección micorrizica en los niveles altos de fósforo es un comportamiento típico de los micótrofos facultativos (Janos, 1980). El maíz es un micótrofo facultativo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Puga & Rodríguez, 1980) y probablemente G. ochraceo también lo es.

Los bajos porcentajes de infección registrados en el nivel ambiental para el maíz y G. ochraceo (Tablas 5 y 6) pueden ser atribuidos a una reducción en el suministro de productos fotosintéticos del endófito. Debido a que el desarrollo de biomasa fúngica depende del suministro de carbohidratos de las raíces (Harley & Smith, 1983) es probable que la baja producción de biomasa en el nivel ambiental de fósforo (Tablas 3 y 4) restringió la disponibilidad de productos fotosintéticos a raíces y hongos.

En resumen, los resultados de mi investigación ilustran la importancia de micorrizas VA en la competencia de plantas. La simbiosis micorrizica VA debe ser tomada en consideración en la interpretación de experimentos de competencia. La mayoría de las plantas en la naturaleza forman micorrizas VA y las interacciones de plantas pueden afectar grandemente la formación de micorrizas y de éste modo los beneficios obtenibles de ellas.

Mi investigación demostró claramente que el cultivo mixto de maíz y G. ochraceo realizó la infección micorrizica, y que el aumento de infección resultó en sobreproducción transgresiva por el cultivo mixto en el nivel ambiental de fósforo.

Debido a que conduje ésta investigación en potes, los resultados pueden no ser aplicables a las condiciones de campo. No obstante, el diseño experimental fue apropiado para investigar relaciones de interés agronómico entre plantas y hongos micorrizicos. Tales relaciones son más fáciles de estudiar en experimentos controlados que en medio de la complejidad de un sistema agrícola. Investigué la interacción de variables consideradas de gran importancia para el agricultor de rotación; mis datos justifican una extensión de ésta investigación a las condiciones de campo en Panamá. Especulo que la selección de genotipos de cosecha

Tabla 6. Porcentaje de infección micorrizica del maíz y de *Solanum ochraceo* Dun. en monocultivos (1 planta/pote), y de sus raíces combinadas en mixtura (1 planta por especie/pote) a cuatro niveles de fósforo (media, y 95% de límites de confianza en paréntesis). Las medias en columnas seguidas por la misma letra minúscula y las medias en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.05$ (ANOVA 2-Factores y Prueba del Rango Múltiple de Duncan aplicada a la transformación angular del porcentaje de infección). Los tamaños de las muestras están indicados en la tabla 2.

Porcentaje de Infección Micorrizica

P nivel	<i>S. ochraceo</i> I planta/pote	Maíz I planta/pote	Maíz con <i>G. rotundus</i>
Trazas	9 b,C (7 a 10)	17 b,B (16 a 18)	41 b,A (38 a 44)
2 ppm	20 a,C (19 a 21)	38 a,B (37 a 38)	48 a,A (47 a 54)
8 ppm	19 a,C (17 a 20)	39 a,B (38 a 40)	49 a,A (45 a 52)
16 ppm	14 c,C (13 a 15)	19 b,B (18 a 20)	38 c,A (36 a 39)

Tabla 7. Biomasa seca de tallos de maíz (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con *Solanum ochraceo* Dun. (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan.).

Masa Seca de Tallos de Maíz

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con <i>S. ochraceo</i>
Infectado	11.73A (1.52) n=12	25.40B (2.61) n=10
No infectado	8.65C (0.91) n=8	4.84D (1.26) n=10

Tabla 8. Biomasa seca de tallos de *Solanum ochraceo* Dun. (media, y una desviación standard en paréntesis) con y sin micorrizas VA al nivel ambiental (Trazas) de fósforo, en monocultivo (1 planta/pote) y en mixtura con maíz (1 planta por especie/pote). Las medias en columnas o en filas seguidas por la misma letra mayúscula no difieren entre sí a $P < 0.01$ (ANOVA 2-Factores, Prueba del Rango Múltiple de Duncan.).

Masa Seca de Tallos de *Solanum ochraceo* (g)

Estado Micorrizico	Monocultivo	Mixtura con Maíz
Infectado	6.38A (0.70) n=10	2.65B (0.84) n=10
No infectado	3.93C (0.32) n=6	1.35D (0.34) n=10

Trenbath (1974) ha sugerido ciertos mecanismos que reducen a un mínimo la competencia para explicar éstas excepciones al modelo de competencia. En éste artículo he documentado un caso de sobreproducción que es atribuible a la presencia de las micorrizas VA.

Los datos de la Tabla 4 demuestran que el rendimiento total de biomasa de la mixtura de maíz y *S. ochraceo* excedió la del monocultivo de maíz (2 plantas/pote). Ambas especies formaron micorrizas y en conjunto sustentaron más infección micorrizica que la que se podría esperar de cualquier contribución proporcional de sus raíces con respecto a la

infección observada en los monocultivos respectivos (Tabla 5 y 6). El realce de el crecimiento causado por las micorrizas VA puede estar positivamente correlacionado con la infección y extensión del micelio externo (Sanders et al., 1977). En consecuencia, un aumento de infección micorrizica puede resultar en un aumento en la absorción de fósforo y en un aumento en la producción de biomasa por las plantas. Si las micorrizas VA causan sobreproducción, entonces en su ausencia no debería ocurrir sobreproducción alguna. Este es el caso para el maíz crecido a fertilidad ambiental (Tabla 7). Sin micorrizas las biomasa del maíz es casi dividida en dos por la competencia, pero en la presencia de hongos micorrizicos VA el cultivo mixto con *G. ochraceo* más que dobla el rendimiento del maíz. La sobreproducción del cultivo mixto fue causada exclusivamente por el incremento de la biomasa del maíz (Tabla 3). No hubieron controles no infectados para los otros niveles de fósforo y en consecuencia no hay evidencia directa de que las micorrizas produjeron la sobreproducción a niveles de fósforo superiores que el nivel ambiental. Los resultados de el nivel ambiental de fósforo en conjunto con el aumento de la infección micorrizica del cultivo mixto de maíz y *G. ochraceo* en todos los niveles de fósforo, sugieren fuertemente que las micorrizas también causaron la sobreproducción en los demás niveles de fósforo.

Fitter (1977) demostró que el crecimiento en cultivo mixto por dos especies de hierba aumentó la infección micorrizica en una de las especies que normalmente formaba pocas micorrizas; tal aumento de infección, sin embargo, fue deletéreo para esa especie. En mi experimento la infección micorrizica debió haber aumentado por lo menos en una de las dos especies.

Debido a que la sobreproducción por el cultivo mixto es ocasionado exclusivamente por el aumento de la biomasa del maíz se puede inferir que la infección del maíz aumentó. Sin embargo, cualquier aumento en la infección dependió de la presencia de *G. ochraceo* porque el aumento de la densidad del maíz en monocultivo redujo el porcentaje de infección (Tabla 5). Se desconocen los factores que podrían explicar el aumento de infección micorrizica en cultivos mixtos. SE ha considerado que los exudados de raíces de plantas no-micorrizicas inhiben la infección micorrizica en plantas hospederas (Hayman et al., 1975) o causan infecciones micorrizicas anormales (Morley & Mosse, 1976). Los resultados de este experimento sugieren que especies hospederas diferentes podrían nutrir completamente a los hongos lo cual resultaría en su mejor desarrollo.

La producción de biomasa por el maíz crecido en cultivo mixto con *G. rotundus* no fue mejorada a niveles de fósforo superiores que 2 ppm (Tabla 3.). La competencia a solas no parece explicar este resultado. El crecimiento con *G. rotundus* redujo el porcentaje de infección del maíz con respecto a su monocultivo de 1 planta por pote (Tabla 5) en los niveles intermedios de fósforo. A 16 ppm de fósforo, el maíz tenía

más infección en cultivo mixto con *G. rotundus* que en el monocultivo de dos plantas por pote, aunque el rendimiento del maíz no fue superior que el rendimiento promedio de su monocultivo de una planta por pote y en consecuencia no refleja respuesta al incremento de la infección. Algunos de los compuestos alelopáticos exudados por los bulbos de *G. rotundus* pueden haber suprimido la respuesta a la infección micorrizica.

La fertilización de fósforo influyó en la infección micorrizica de monocultivos y mixturas. La reducción del porcentaje de infección micorrizica asociada a los niveles altos de fósforo concuerda con lo reportado en experimentos de pote y campo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Khan, 1975). Este efecto inhibitorio puede estar mediado por la nutrición de fósforo del huésped (Sanders, 1975). El rechazo de la infección micorrizica en los niveles altos de fósforo es un comportamiento típico de los micótrofos facultativos (Janos, 1980). El maíz es un micótrofo facultativo (Daft & Nicolson, 1969; Khan, 1972; Puga & Rodríguez, 1980) y probablemente *G. ochraceo* también lo es.

Los bajos porcentajes de infección registrados en el nivel ambiental para el maíz y *G. ochraceo* (Tablas 5 y 6) pueden ser atribuidos a una reducción en el suministro de productos fotosintéticos del endófito. Debido a que el desarrollo de biomasa fúngica depende del suministro de carbohidratos de las raíces (Harley & Smith, 1983) es probable que la baja producción de biomasa en el nivel ambiental de fósforo (Tablas 3 y 4) restringió la disponibilidad de productos fotosintéticos a raíces y hongos.

En resumen, los resultados de mi investigación ilustran la importancia de micorrizas VA en la competencia de plantas. La simbiosis micorrizica VA debe ser tomada en consideración en la interpretación de experimentos de competencia. La mayoría de las plantas en la naturaleza forman micorrizas VA y las interacciones de plantas pueden afectar grandemente la formación de micorrizas y de éste modo los beneficios obtenibles de ellas.

Mi investigación demostró claramente que el cultivo mixto de maíz y *G. ochraceo* realizó la infección micorrizica, y que el aumento de infección resultó en sobreproducción transgresiva por el cultivo mixto en el nivel ambiental de fósforo.

Debido a que conduje ésta investigación en potes, los resultados pueden no ser aplicables a las condiciones de campo. No obstante, el diseño experimental fue apropiado para investigar relaciones de interés agronómico entre plantas y hongos micorrizicos. Tales relaciones son más fáciles de estudiar en experimentos controlados que en medio de la complejidad de un sistema agrícola. Investigué la interacción de variables consideradas de gran importancia para el agricultor de rotación; mis datos justifican una extensión de ésta investigación a las condiciones de campo en Panamá. Especulo que la selección de genotipos de cosecha

que se aprovechen totalmente de la simbiosis micorrícica y que conduzcan a ventajas en cultivos mixtos, no obtenibles de los monocultivos, pueden conducir al desarrollo de un sistema de policultivo agrícola sostenido lo cuál es una alternativa ecológicamente sana para el cultivo de rotación.

CONCLUSIONES

- 1) Micorrizas VA aumentó la biomasa del maíz (*Zea mays* L. variedad T-7428) y de *Solanum ochraceo* Dum.; *Cyperus rotundus* L. no desarrolló infección micorrícica.
- 2) El crecimiento del maíz y *S. ochraceo* en cultivo mixto aumentó su infección micorrícica total.
- 3) La fertilización con fósforo tendió a incrementar consistentemente la producción de biomasa de tallos en todas las especies en monocultivos, aunque no en cultivos mixto; la fertilización con fósforo llevó a un máximo la infección micorrícica en los niveles intermedios de fósforo.
- 4) El aumento de la infección micorrícica VA causó la sobreproducción transgresiva de biomasa por un cultivo mixto de maíz y *S. ochraceo*.

RECONOCIMIENTOS

Esta investigación fue posible gracias a la ayuda financiera provista por el Smithsonian Tropical Research Institute, y por las facilidades de investigación provistas por la Escuela de Agronomía de la Universidad Nacional de Panamá, Recursos Naturales Renovables y el Smithsonian Tropical Research Institute. Le agradezco al Dr. Gilberto Ocaña, Dr. Allan P. Smith, y al Dr. David P. Janos por su valiosa supervisión y guía en éste trabajo.

LITERATURA CITADA

BAYLIS, G. T. S. 1975 The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In, F. E. Sanders, B. Mosse, and P. B. Tinker (Eds.). Endomycorrhizas. Pp. 373-389.

BALCK, R. 1980. The role of mycorrhizal symbiosis in the nutrition of tropical plants. In, P. Mikola (Ed). Tropical Mycorrhiza Research. P. 191-202. Clarendon Press, Oxford.

CHIARIELLO, N., HICKMAN, J. C., & MOONEY, H. A. 1982. Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. Science 217:914-943.

CLEMENTS, F. E. 1905. Research Methods in Ecology. Arno Press, New York. 334 pp.

DAFT, M. J. & NICOLSON, T. H. 1969. Effects of endogone mycorrhiza on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. New Phytol. 68:945-952.

DONALD, C. M. 1963. Competition among crop and pasture plants. Adv. Agron. 15:1-188.

ESPINOZA, E. 1970. Ensayos de competencia de malezas y selectividad de herbicidas en maíz. Proyecto M - 304-70. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Panamá.

FITTER, A. H. 1977. Influence of mycorrhizal infection on competition for phosphate and potassium by two grasses. New Phytol. 79:199-225.

FRANCIS, R. & READ, D. J. 1984. Direct transfer of carbon between plants connected by vesicular-arbuscular mycorrhizal mycelium. Nature 307:53-56.

GIOVANETTI, D. & MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infections in roots. New Phytol. 84:489-500.

GREENLAND, D. J. 1975. Bringing the green revolution to the shifting cultivator. Science 190:841-844.

HARLEY, J. L. & SMITH, S. E. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London. 483 pp.

HARPER, J. L. 1977. Population Biology of Plant. Academic Press, London. 567 pp.

HAYMAN, D. S., JOHNSON, A. M. & RUDDLESDIN, I. 1975. The influence of phosphate and crop species on Endogone spores and VA mycorrhiza under field conditions. PLANT & SOIL 43: 489-495.

HAYNES, R. J. 1980. Competitive aspects of the grass-legume association. Adv. Agron. 33:227-261.

- HEAP, A. J. & NEWMAN, E. I. 1980a. Links between roots by hyphae of VA mycorrhizas. *New Phytol.* 85:169-171.
- HEAP, A. J. & NEWMAN, E. I. 1980a. The influence of VA mycorrhizas on phosphorus transfer between plants. *New Phytol.* 85:173-179.
- HILL, A. T. 1977. *The Biology of Weeds.* the Camelot Press, London. 64 pp.
- HIRREL, M. C. & GERDEMANN, J. W. 1979. Enhanced carbon transfer between onions infected with a VA mycorrhizal fungus. *New Phytol.* 83:731-738.
- JANOS, D. P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12(Supplement):56-64
- KASASIAN, L. 1971. *Weed control in the tropics.* Leonard Hill Books, London. 197 pp.
- KHAN, A.G. 1972. The effects of VA mycorrhizal associations on growth of cereals. I. Effects on maize growth. *New Phytol.* 71:613-618.
- KHAN, A. G. 1975. Effects of VA mycorrhiza on field crops. In, F.E. Sanders, B. Mosse, & P.B. Tinker (Eds.). *Endomycorrhizas.* pp. 419-435. Academic Press, London.
- KORMANIK, P.P., BRYAN, W. C. & SCHULTZ, R. C. 1980. Procedures and equipment for staining large numbers of plant roots for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol.* 26:536-538.
- KOSKE, R. E. 1983. *Cookbook Statistics for plant Pathology and Mycology.* Published by R. E. Koske, University of Rhode Island. 75 pp.
- KREBS, J. E. 1975. A comparison of soils under agriculture and forest in San Carlos, Costa Rica. In, F.B. Colley & E. Medina (Eds.). *Ecological Studies XI: Tropical ecological systems.* pp. 381-391. Springer Verlag, New York.
- LONGMAN, K.A. & JENIK, J. 1981. *Tropical Forest and Its Environment.* Longman Press, London. 196 pp.
- MORLEY, C. D. & MOSSE, B. 1976. Abnormal VA mycorrhizal infections in white clover induced by lupin. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 67:510-514.
- MOSSE, B. 1973. Advances in the study of VA mycorrhizas. *Ann. Rev. Phytopath.* 11:171-196.

- MOSSE, B & HAYMAN, D. S. 1980. Mycorrhiza in agricultural plants. In, P. Mikola (Ed.). *Tropical Mycorrhizal Research.* pp. 213-230. Clarendon Press, Oxford.
- POWELL, C. LL. 1975. Rushes and sedges are non-mycotrophic. *Plant & Soil* 42:481-484.
- PUGA, C. & RODRIGUEZ, O. 1980. Efecto de Mycorrizas en el crecimiento de Maiz. B. S. thesis, The University of Panamá.
- RICE, L. E. 1979. Allelopathy-- an update. *The Botanical Review* 45:15-109.
- SANCHEZ, P. A. 1976. *Properties of Management of Soils in the Tropics.* Wiley, New York, 259 pp.
- SANDERS, F. E. 1975. The effect of foliar-applied phosphate on the mycorrhizal infections of onion roots. In, F. E. Sanders, b. Mosse, & P. B. Tinker (Eds.). *Endomycorrhizas.* pp. 261-276. Academic Press, London.
- SANDERS, F. E. TINKER, P. B. BLACK, R. L. B., & PARMERLEY, S.M. 1977. The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of VA mycorrhizal endophyte. *New Phytol.* 78:553-559.
- SEIXAS, E. G. 1977. *Hacia un compendio sobre Malezas en los Cultivos de Panamá (Parte I).* B. S. thesis, The University of Panamá. 154 pp.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F. J. 1981. *Biometry.* W.H. Freeman and Company, New York. 219 pp.
- TRENBATH, B.R. 1974. Biomass productivity of mixtures. *Adv. Agron.* 26:177-210.
- WIT, C. T. de. 1960. On competition. *Versl. Landbouwk. Onderz.* 66:1-82.
- WHITTINGHAM, J. & READ, D.J. 1982. VA mycorrhizal in natural vegetation systems. III. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. *New Phytol.* 90:277-284.
- YOST, R. S. & FOX, R. L. 1979. Contribution of mycorrhizas to P nutrition of crops growing on an oxisol. *Agron. J.* 71:903-908.

INFLUENCIA DE LA MICORRIZACION VESICULO-ARBUSCULAR
Y DE *Rhizobium* SOBRE *Cajanus cajan* (L.) Millsp
(FRIJOL GANDUL)

POR
Flory Ruth Pereira Pérez
Escuela de Biología
Universidad de Costa Rica
San José

RESUMEN

Plantas no fertilizadas de *Cajanus cajan*, con asociaciones simbióticas formadas por bacterias fijadoras de nitrógeno y, hongos formadores de micorriza vesículo-arbuscular, se compararon con plantas de la misma especie, abonadas químicamente.

Después de doce semanas, las plantas fertilizadas habían alcanzado más del doble de tamaño. En las plantas no fertilizadas, debido a los bajos niveles de fósforo y nitrógeno en el suelo, el establecimiento de *Rhizobium* y de hongo micorrizante, fue muy deficiente y consecuentemente la fijación de nitrógeno y la absorción de otros nutrientes, fue también muy reducida.

ABSTRACT

Unfertilized *Cajanus cajan* plants with symbiotic associations of nitrogen-fixing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi were compared with chemically fertilized plants of the same species.

After twelve weeks the fertilized plants were over twice as high.

In the unfertilized plants, due to the very low levels of phosphorus and nitrogen in the soil, the establishment of *Rhizobium* and mycorrhizal fungi was very poor and consequently nitrogen fixation and absorption of other nutrients were very greatly reduced.

INTRODUCCION

El frijol gandul, *Cajanus cajan* es una leguminosa que puede utilizarse como una rica fuente de proteínas y de vitaminas del complejo B, (4,13).

Es bien conocida la propiedad de las leguminosas alimenticias, de asociarse con bacterias *Rhizobium* fijadores de nitrógeno atmosférico, las cuales forman nódulos característicos en las raíces (8).

Es sabido que muchas leguminosas además, se asocian con hongos que forman micorrizas vesículo arbusculares (V.A.) (1). Las observaciones más frecuentes reportadas indican que este tipo de asociación mejora el crecimiento de las plantas, debido a un aumento en la absorción de nutrientes inorgánicos del suelo (7). Se ha notado que el fósforo es el nutriente más estrechamente asociado con la respuesta en crecimiento de plantas micorrizadas, en comparación con plantas no micorrizadas (6,10,15).

Este trabajo se efectuó con el propósito de producir en el invernadero, las asociaciones simbióticas con bacterias *Rhizobium* y hongos micorrizantes, en plantas en *Cajanus cajan* (gandul) y, comparar la respuesta de esas plantas con la de plantas abonadas químicamente.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en un invernadero de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica. Como sustrato se utilizó un suelo franco-arcilloso colectada en un potrero, en San Antonio de Belén; ésta se esterilizó en autoclave a 125 C por una hora y posteriormente con bromuro de metilo; luego se colocó en bolsas plásticas negras 20x38cm, agregándose aproximadamente 3150 gramos por bolsa.

Se utilizaron semillas de *Cajanus cajan* var. 67-2B; éstas se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 1% por 3 minutos; se dejaron en imbibición por 24 horas y se pusieron a pregerminar en un medio agar-agua al 1%. El día 26 de marzo de 1984 se prepararon los siguientes tratamientos:

- GSE: plantas de gandul en suelo sin esterilizar, sin inocular.
- G : plantas de gandul en suelo estéril sin inocular (testigo).
- GA : plantas de gandul en suelo estéril, abonadas químicamente.
- GR: plantas de gandul en suelo estéril, inoculadas con *Rhizobium*.
- GM: plantas de gandul en suelo estéril, inoculadas con hongo micorrizante.
- GRM: plantas de gandul en suelo estéril, inoculadas con *Rhizobium* y un hongo micorrizante.

Como inóculo de micorriza se utilizó un gramo de raicillas micorrizadas de *Emilia fosbergii*, planta que por estudios previos, se determinó que presentaba suficiente micorrización. Estas raicillas se esterilizaron con peróxido

de hidrógeno al 0.5% por 3 minutos. Se utilizaron también esporas extraídas del suelo circundante a raicillas de la misma planta, esterilizadas con hipoclorito de sodio al 0,1% por 3 minutos.

Como inóculo de bacteria se utilizó *Rhizobium phaseoli* var. *Mexico* proporcionada por el Centro de Investigaciones Agronómicas. Al momento de la siembra se aplicó a cada semilla, 1 cc de solución salina al 0.85%, en la cual se encontraba la bacteria en suspensión.

Como abono químico, una semana después de la siembra se aplicó a cada planta, 0.125 g de sulfato de potasio (K_2SO_4) y 0.3566 g de fosfato ácido de amonio ($(NH_4)_2HPO_4$), en solución.

El trabajo experimental duró doce semanas, evaluándose semanalmente, la altura de las plantas. Finalmente se colectaron ocho plantas de cada tratamiento y se evaluaron los siguientes parámetros:

- presencia o ausencia de micorrización
- altura de las plantas (cm)
- área foliar (cm²)
- peso seco de la parte aérea (g)
- peso seco del sistema radical (g)
- número de nódulos
- peso seco de los nódulos (mg)
- nitrógeno y fósforo total (mg/planta)

Para determinar la presencia o ausencia de micorrización en las raicillas se clarificaron en KOH al 10% y luego se tificaron con triplano azul, según el método descrito por Phillips y Hayman (1970).

Para evaluar el peso seco, se colocaron las muestras en una estufa a 65C, hasta obtener peso constante.

Para el análisis de nitrógeno se utilizó el método de Kjeldhal y, para el fósforo el método colorimétrico, ambos descritos por Briceño, *et al.*, (1984).

Las pruebas estadísticas usadas fueron, el Análisis de Variancia y la prueba de Duncan.

RESULTADOS

Es importante destacar que el suelo utilizado se estima bajo en nitrógeno por proceder de un potrero donde la cantidad de materia orgánica es muy poca. Por otra parte, el análisis químico reveló que es un suelo muy pobre en fósforo (2ug/ml de suelo), con un pH de 5.5.

Al evaluarse la presencia o ausencia de micorrización se encontró, en las raicillas de las plantas que crecieron en suelo sin esterilizar(GSE), varios segmentos de micelio con vesículas y arbusculas. En las plantas inoculadas con micorriza (GM), algunos fragmentos de raicillas tenían micelio con pocas vesículas y arbusculas. En las plantas

inoculadas con *Rhizobium* y hongo micorrizante (GRM), se encontró poca cantidad de micelio con vesículas.

En cuanto a la apariencia de las plantas, se observó que a las nueve semanas, las plantas de los tratamientos no abonados, empezaron a perder hojas trifoliadas y, presentaban cierto grado de clorosis. A las doce semanas era muy evidente la diferencia en coloración del follaje, especialmente entre las plantas abonadas, que presentaban grandes hojas verde oscuro, en comparación con las de los restantes tratamientos en los cuales se presentaba bastante clorosis. De estas, las plantas que crecieron en suelo sin esterilizar, presentaron menos defoliación y clorosis por el contrario, las plantas que crecieron en suelo estéril, sin inóculo, fueron las más afectadas.

En el cuadro 1, se presentan los valores promedio para cada una de las demás variables evaluadas.

Con respecto al desarrollo de las plantas, en la fig:1, se puede observar que después de la cuarta semana se empezó a hacer evidente la diferencia en tamaño de las plantas abonadas, el cual al final fué mucho mayor (p= 0.01) al alcanzado en los demás tratamientos. De los tratamientos no abonados, las plantas que crecieron en suelo sin esterilizar alcanzaron valores más altos (p=0.05) que en los tratamientos GR, GM y G especialmente al alcanzado en el tratamiento GRM (p=0.01), en el cual las plantas crecieron más lentamente.

CUADRO 1: Valores promedio de las variables evaluadas

Variable	TRATAMIENTOS					
	GSE	G	GA	GR	GM	GRM
Altura (cm)	28.0	23.85	69.55	24.3	24.66	22.2
Área foliar (cm ²)	3.24	2.73	12.53	3.19	2.95	3.875
Peso seco foliar (g)	0.48	0.286	3.866	0.335	0.335	0.32
Peso seco radical (g)	0.225	0.15	1.18	0.22	0.22	0.196
Nº de nódulos	39	12	47	31	10	23
Peso seco de nódulos (mg)	22.6	2.4	24.25	10.4	3.3	8.6
Nitrógeno mg/planta	8.3	9.76	103.4	11.43	10.86	10.91
Fósforo mg/planta	0.29	0.157	2.79	0.179	0.292	0.2

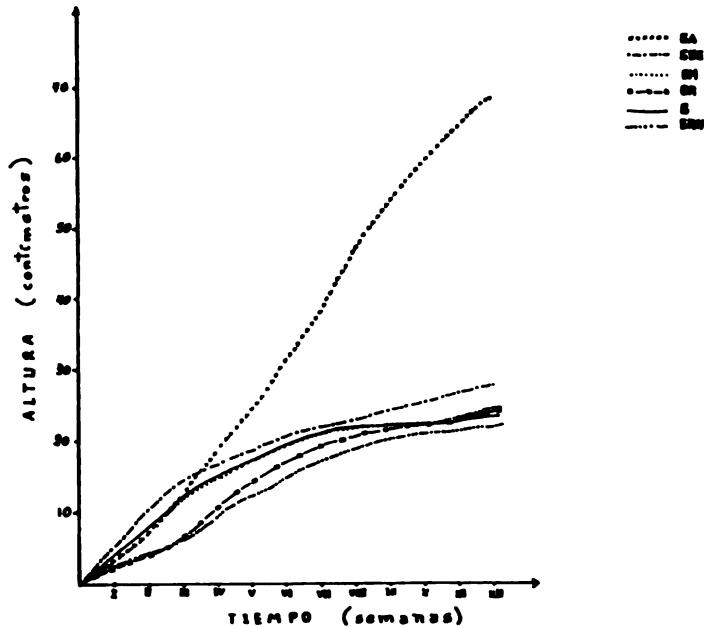


Fig 1: Altura promedio evaluada semanalmente.

Con respecto al área foliar, las plantas abonadas obtuvieron los valores más altos ($p=0.01$). De los restantes tratamientos las plantas de GRM presentaron valores mayores ($p=0.05$) que los de GSE y GR; especialmente diferentes ($p=0.01$) a los obtenidos en GM y G que fueron los que mostraron los valores más bajos en esta variable.

En cuanto al peso seco foliar, los valores más altos ($p=0.01$) se presentaron en las plantas abonadas. De las plantas que se encontraban en tratamientos no abonados, las que crecieron en el suelo no estéril, obtuvieron valores más altos ($p=0.01$) que los encontrados en GM, GR, GRM y G.

Las plantas abonadas también alcanzaron el mayor valor ($p=0.01$) en cuanto a peso del sistema radical. De los restantes tratamientos, las plantas testigo (G) obtuvieron valores más bajos ($p=0.05$) que en GRM y, especialmente diferente ($p=0.01$) a los encontrados en GSE, GR y GM.

Al evaluar la formación de nódulos por *Rhizobium*, hay que destacar el hecho de que, inicialmente se había montado este

experimento en suelo esterilizado solo con bromuro de metilo y, aparecieron nódulos bacterianos en tratamientos como GA, GM, y G, en los cuales no se esperaban, lo que nos indica que pudo haber existido contaminación, o que el proceso de esterilización no fue eficiente para eliminar la bacteria. Por tal motivo, se trajo nuevo sustrato, se esterilizó en autoclave y con bromuro de metilo, pero volvieron a aparecer nódulos en GA, GM, y G, por lo cual, esta variable se evaluó en todos los tratamientos. Se observó que los tratamientos en los que aparecieron más nódulos fueron GA y GSE. En las plantas abonadas los nódulos eran relativamente grandes, corrugados y de color rosado oscuro en su interior, lo que nos indica la presencia de leghemoglobina, la cual tiene función importante en la fijación de nitrógeno. Los nódulos de las plantas en suelo sin esterilizar, eran en su mayoría medianos y grisáceos en su interior.

En las plantas de los tratamientos GR y GRM se formaron nódulos medianos, algunos rosados en su interior. En los tratamientos GM y G, se formaron muy pocos nódulos, muy pequeños y grises en su interior. En cuanto al peso de esos nódulos, los tratamientos GA y GSE alcanzaron los valores más altos ($p=0.01$). El tratamiento GR presentó diferencia ($p=0.05$) con GM y ($p=0.01$) con G. Los nódulos del tratamiento GRM tuvieron un peso seco diferentes ($p=0.05$) a los de G, que junto con GM presentaron los menores valores en esta variable.

Los datos obtenidos para nitrógeno total muestran que el valor más alto ($p=0.01$) para esta variable se encontró en las plantas abonadas. De los tratamientos no abonados, se observa en el cuadro 1, que GSE obtuvo el mayor valor de nitrógeno total, diferente ($p=0.01$) al alcanzado en GR y al encontrado en GRM y GM ($p=0.05$).

En cuanto a fósforo total, las plantas abonadas alcanzaron los valores más altos ($p=0.01$). De los no abonados, las plantas que crecieron en suelo sin esterilizar (GSE) y las inoculadas con micorriza (GM) obtuvieron valores más altos ($p=0.05$) que los encontrados en GR y G.

DISCUSION

Los resultados obtenidos al evaluar la presencia o ausencia de micorrización, muestran que, si bien la asociación se estableció tanto en las plantas inoculadas como en las que se encontraban en suelo sin esterilizar, hasta ese momento no se había presentado un adecuado grado de micorrización y, las plantas no mostraban respuestas satisfactoria en cuanto a desarrollo. El establecimiento de esta asociación simbiótica puede haberse visto disminuida por extrema deficiencia del suelo en elementos esenciales como el fósforo y el nitrógeno. También puede haber influido en parte, la carencia en el sustrato, de microorganismos; ya que, como menciona Meistrick (1965), algunos microorganismos

del suelo estimulan la germinación de los hongos micorrizantes.

En cuanto a las demás variables, se encontró que las plantas que habían sido abonadas, se desarrollaron muy bien y alcanzaron los valores más altos en todas las variables evaluadas. Esto se debe a que estas plantas tenían en el abono, una fuente adicional de elementos importantes como fósforo y nitrógeno que eran extremadamente deficientes en el suelo utilizado. Esta deficiencia del suelo explica también el escaso desarrollo de las plantas que no fueron abonadas, las cuales crecieron debilmente y presentaron defoliación y clorosis, especialmente las plantas testigo que no contaban con las asociaciones simbióticas. De las plantas no abonadas se encontró que las que crecieron en suelo sin esterilizar se vieron un poco menos afectadas por la defoliación y la clorosis, además alcanzaron valores un poco mayores en cuanto a altura, peso seco foliar y radical, y fósforo total. Esto se puede deber a que como se mencionó anteriormente, estas fueron las plantas que presentaron un poco más de micorrización lo que nos podría indicar que estaban empezando a responder positivamente a esta asociación con el micobionte nativo. Ya que, como mencionan Rhodes y Gerdemann (1980), las plantas micorrizadas tienen acceso a un volumen mayor de suelo del cual pueden obtener fósforo. Como se pudo observar, las plantas de este tratamiento (GSE), tenían un alto número de nódulos, sin embargo obtuvieron el valor más bajo en cuanto a nitrógeno total. Esto coincide con lo mencionado por Weaver y Frederick (1974), Stowers y Elkan (1980) y Brockwell (1981), en el sentido de que las especies nativas de Rhizobium generalmente tienen una alta capacidad competitiva, pero son poco eficientes en la fijación de nitrógeno. Las plantas inoculadas con la cepa de Rhizobium no mostraron respuesta positiva en cuanto a fijación, pues este proceso tiene un alto requerimiento en elementos como el fósforo (5), el cual era muy escaso en el suelo utilizado.

Las plantas que crecieron en suelo estéril y sin inóculo, fueron las que resultaron más afectadas por la deficiencia del suelo, lo que podría indicarnos, que la presencia de los simbioses, tanto nativo como inoculados, beneficiaron en cierto grado al hospedero.

CONCLUSIONES

Tomando en cuenta las condiciones bajo las cuales se realizó esta investigación y los resultados en ella obtenidos, se puede concluir:

- La actividad de los endófitos micorrizicos y Rhizobium se vio muy afectada por la extrema deficiencia del suelo en elemento como nitrógeno y fósforo, por lo que la respuesta de las plantas no fue satisfactoria.

- En suelos tropicales, deficientes en fósforo, la utilización de las micorrizas, puede servir como un medio para disminuir la cantidad de abono necesario, pero no para evitar totalmente el uso de ellos.

RECOMENDACIONES

- Es recomendable realizar diversos ensayos, para determinar, en suelos deficientes en fósforo y otros elementos, la cantidad necesaria de ellos en el abono, que no inhiban, sino que favorezcan la asociación simbiótica.

- Se sugiere la necesidad de realizar un estudio sistemático en Costa Rica, para determinar las diferentes especies de hongos micorrizantes V.A. que existen, y que pueden ser utilizados como elementos de investigación.

- Es importante realizar estudios para determinar la acción más benéfica de parte de diferentes especies de hongos micorrizantes V.A., en diferentes hospederos, especialmente de valor económico.

LITERATURA CITADA

1. Asimi, S., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. 1980. Influence of increasing soil phosphorus levels on interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizae and Rhizobium in soybeans. Can. J. Bot. 56:2200-2205.
2. Briceño, J.A., Pacheco, R., González, M.A., y López, C. 1984. Métodos analíticos para el estudio de suelos y plantas. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. 137 p.
3. Brockwell, J.A. 1981. A strategy for legume nodulation research in developing regions of the old world. Plant and Soil. 58:367-382.

4. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1973. El potencial del frijol y de otras leguminosas de grano comestible en América Central. Colombia. 270 p.
5. Fassbender, H.W. 1975. Química de suelos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. Turrialba, Costa Rica. 389 p.
6. Gardemann, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. pp.575-591. In: Torrey, J. G. y Clarkson, D.T. (eds). The Development and function of Roots. Academic Press, New York.
7. Harley, J.L. 1971. Fungi in ecosystems. J.Appl.Ecol. 8:627-642.
8. Kucey, R.M.N. y Paul, E.A. 1982. Carbon flow, photosynthesis and N^2 fixation in mycorrhizal and nodulated faba beans (*Vicia faba* L.) Soil Biol. Biochem. 14:407-412.
9. Mejstrik, J. 1965. Study of the development of endotrophic mycorrhiza in the associations of *Cladientun marisci*, pp:283-290. In: Macura, J., y Vancura, V. (eds). Plant microbe relationship Czech. Acad. Sci., Prague.
10. Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11:171-196.
11. Phillips, J.M. y Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55:158-161.
12. Rhodes, L. H. y Gardemann, J.W. 1980. Nutrient translocation in Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In: Cook, C.I.B., Pappas, P.W., y Rudolph, E.D. (eds). Cellular Interactions in Symbiosis and Parasitism. The Ohio State University Press, Columbus, Ohio. 305 p.
13. Sinka, S.K. 1978. Las leguminosas alimenticias; su distribución, su capacidad de adaptación y biología de los rendimientos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
14. Stowers, K.L. y Elkan, G.H. 1980. Criteria for selecting ineffective and effective strains of *Rhizobium* for use in the tropical agriculture, North Carolina, Agricultural Research Service. Technical Dulletin N. 264. 73 p.

15. Tinker, P. B. 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. Symp. Soc. Ecpt. Biol. 29:325-349.
16. Weaver, R.W. y Frederick, L.R. 1974. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max*.L. Merrill. II. Field studies. Agronomy Journal. 66:232-236.

EFFECTO DE LA ADICION DE FOSFATO SOBRE EL
CRECIMIENTO Y NUTRICION DE *Solanum* sp Y
EL ESTABLECIMIENTO DE LA MICORRIZA VA

Analís Morón Miranda
La Apacheta 284 Lima 32
PERU

INTRODUCCION

La mayoría de las plantas superiores son capaces de formar micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) (Gerdeman, 1968; Mosse, 1973). A este tipo de simbiosis mutualista, ampliamente estudiada, se le reconoce un papel trascendental en ecología, evolución, crecimiento y nutrición vegetal.

La red de hifas (más de 1m. de hifas/cm. de raíz micorrizada) que emergen de las raíces micorrizadas poseen una elevada eficacia en la búsqueda, captación y traslocación del fósforo asimilable del suelo a dichas plantas (Mosse, 1973, 1978; Tinker, 1975; Sanders y Hayman, 1977) repercutiendo en el incremento del crecimiento de las plantas micorrizadas. Este hecho es de gran importancia, sobre todo en plantas con sistemas radiculares cortos, como es la papa.

Esta acción es significativa dado que la mayor parte del fósforo del suelo se encuentra en forma insoluble o fuertemente absorbido a partículas del suelo (Mosse, 1973); además el fosfato en un ión de muy lenta difusión hacia la superficie de la raíz (Beileski, 1973; Cooper y Tinker, 1978).

A través de numerosas investigaciones se ha establecido la existencia de micorrizas VA en papa (Hayman y Johnson, 1975; Black y Tinker, 1977; Schenck y Smith, 1981).

En algunos estudios efectuados se determinó la influencia de plantas micorrizadas con *Glomus fasciculatum* en el incremento del número de tubérculos en papa, lográndose aumentar el peso de la parte aérea y radical de la planta; sin embargo, no se apreció igual resultado en plantas inoculadas con *Glomus mosseae* (Graham y Green, 1976). Los ensayos hechos en laboratorio, invernadero y campo demuestran incrementos en el rendimiento y contenido de nutrientes en las plantas micorrizadas. Montiero y Susana (1983) demostraron experimentalmente la diferente sensibilidad de cultivarse a la infección MVA en condiciones naturales, y que la asociación MVA no ocurre rápidamente en papa; sino que ocurre tardíamente en la estación de crecimiento.

Los estudios efectuados por Swaminathan (1976) determinaron que las plantas de papa inoculadas con *Glomus macrocarpum* ayudaba a la capacitación y asimilación de

fósforo del suelo y por lo tanto produciría mayor cantidad de materia seca.

Se ha observado que cuando se adiciona dosis crecientes de fertilizantes fosforados, a determinar niveles, según el tipo de suelo y de planta, inhiben tanto el desarrollo de la infección VA (Black y Tinker, 1977) como el crecimiento del vegetal (Mosse, 1973).

La planta de papa tiene un gran requerimiento de fósforo (Burton, 1968) y su sistema radicular poco profundo dificulta la eficiencia captación del fósforo del suelo, (Swaminathan, 1977).

Dado que existe un nivel de fosfato adecuado que permite la optimización de los beneficios que puede obtener la planta de esta simbiosis; es importante conocer las curvas de respuesta al fósforo de la planta de papa y determinar cómo la micorrización afecta y es afectada por la dosis crecimiento de fosfato.

OBJETIVO

a) Estudiar el efecto de la aplicación de distintas dosis de fosfato soluble sobre el crecimiento de las plantas micorrizadas.

b) Determinar el momento y la cantidad "óptima" de fosfato para que se produzca la infección.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo experimental se efectuará en arena (500g/maceta), utilizándose esquejas enraizadas de papa de la variedad de Yungay. Se le aplicarán cinco (5) dosis de fosfato soluble en la forma de PO_4H_2K (0,0.5, 1,1.5,2 ppm). Se le adicionará semanalmente solución nutritiva Hoagland, carente de P.

Los esquejes serán inoculados con *Glomus fasciculatum* (50 g/maceta) contenido micelios, esporas y fragmentos de raíces infectadas. El inóculo proveniente de una multiplicación con plántulas de papa en sub-suelo ácido de la zona Chicana (pH 5.2.) y 1 ppm de fósforo disponible.

Se evaluará semanalmente la presencia de la infección por el método de Phillips y Hayman, 1970; determinándose el grado de infección. Se determinará el peso seco de la parte aérea, la altura, el número de hojas; así como el contenido N, P, K en las hojas.

En trabajo experimental se hará también en suelo, previamente seleccionado, al que se adicionará 5 diferentes dosis de fosfato (0,75,125,250,375 mg PO_4H_2 , K/Kg suelo y se inoculará con *Glomus fasciculatum*. Se evaluarán los resultados teniendo en cuenta los parámetros anteriores.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Black y Tinker (1977). Interaction Between effect of vesicular-arbuscular micorrhiza and fertiliser phosphorus on yields of potatoes in the field. Nature Vol. 267.
- 2 Beileski (1943). Phosphata pools, phosphate transport and phosphate availability. A. Rev. Pl. Physiology 24:255-252.
- 3 Cooper y Tinker (1978) Translocation and transfer of nutrients of vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytologist 81:43-52.
- 4 Gerdeman (1968). Vesicular-arbuscular and plant growth. Ann. Rev. Phytopathol. 6:397-418.
- 5 Grahan y Colab. (1976). The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and tuberization of potatoes Mycologia 68:925-926.
- 6 Hayman y Johnson (1975). Plant Soil 43:489-495.
- 7 Montiero y Susana (1983) Response of a diverse group of thirty-five cultivars to an isothermic environment of the Philippines. CIP-Region VII, Working paper N^o83-11.
- 8 Mosse, (1973) Advances in the study of vesicular mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11:171-196.
- 9 Sanders y hayman (1977). The Agriculture Importance of vesicular-arbuscular mycorrhiza 139 Ann. meeting Br. Asso. Asso. Adv. Sci. Univ. Aston.
- 10 Schemck y Smith (1981). Distribution and occurrence of vesicular-arbuscular. Mycorrhizal Fungi in Florida Agricultural.
- 11 Swaminathan y Verma (1977). Symbiotic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the phosphate nutrition of potatoes. Proc. Indian. Acad. Sci. Vol. 85B, N^o5 977, 310-318.
- 12 Tinker (1975). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. Symp. Soc. exp. Biol. 29:325-350.

Efecto de la inoculación de micorrizas de tipo vesículo-arbuscular en el crecimiento y nutrición de papa (*Solanum sp*)

POR

Patricia Moreno Díaz
Departamento de Biología
Universidad Nacional Agraria
Apartado 456, Lima, Perú

RESUMEN

Se realizó un experimento conducido en condiciones de campo usando almácigos con suelo estéril en donde se trasplantaron esquejes enraizados y plántulas de semilla botánica de papa inoculadas con *Glomus fasciculatum* (Thaxt. sensu Gerd.) Gerd. & Trappe "E₃". Las variedades de papa utilizadas fueron Mariva, Tomasa Condemayta y el clon DTO-33. Diferentes evaluaciones durante la estación de crecimiento mostraron una respuesta positiva a la inoculación de micorrizas. El efecto de la inoculación medido en ganancia de peso seco total y rendimiento de tubérculos fue mayor en Tomasa Condemayta. Esta respuesta estuvo asociada con los niveles de infección obtenidos en raíces los cuales alcanzaron un máximo de 67% para Tomasa Condemayta respecto a un 47% hallado en Mariva. El porcentaje más bajo de infección (29%) se obtuvo en DTO-33, sin embargo la producción de biomasa y el rendimiento de tubérculos fueron significativamente mayores en las plantas inoculadas que en los controles. La cantidad de nutrientes absorbidos fue mayor en las plantas micorrícicas para todas las variedades estudiadas obteniéndose los valores más altos para Tomasa Condemayta.

ABSTRACT

An experiment was under field conditions using seed beds with sterile soil. Rooted cuttings of the following potato varieties: Mariva and Tomasa Condemayta, and seedlings of DTO-33 were inoculated with *Glomus fasciculatum* Thaxt. sensu Gerd.) & Trappe "E₃", and transplanted to the beds. Evaluations during the growing period showed a positive response to vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM). The effect of mycorrhizal inoculation as measured by both total

dry weight and tuber yield was greater in Tomasa Condemayta. This response was associated with the greater amount of infection recorder in roots, i.e., 67% in Tomasa Condemayta and 47% in Mariva. The lowest percentage of VAM infection (29%) was found in DTO-33; however, biomass production and tuber yield were significantly higher in inoculated than control plants.

Total nutrient content was greater in mycorrhizal plants for all the potato varieties that were studied. The highest values was recorded in Tomasa Condemayta.

INTRODUCCION

La ocurrencia de micorrizas de tipo vesicular-arbuscular (VA) otorga, por lo general, beneficios bien conocidos a los cultivos en cuanto a crecimiento y nutrición. El desarrollo externo de las hifas del hongo amplía notoriamente la superficie del sistema radicular capacitando a la planta a explorar un volumen mayor de suelo y absorber nutrientes de poca difusibilidad, tales como P y Zn (Hayman, 1981). Así también la presencia de micorrizas promueve la mejor absorción de otros nutrientes, tales como S, K, Fe y un mayor equilibrio en las relaciones de agua en la planta (Safir y Nelsen, 1981).

Desde inicios del presente siglo, se ha relacionado el cultivo de papa a los hongos micorrícicos a través de algunas teorías (Bernard, 1911; Magrou, 1921 y Young, 1958; citadas por Gerdemann en 1968). Una de ellas, relativa a la tuberización inducida por la infección de micorrizas, fue descartada en estudios posteriores. En la actualidad, se han realizado varios estudios que confirman el establecimiento de la simbiosis entre este cultivo y algunas especies de hongos formadores de micorriza vesículo-arbuscular (Gerdemann, 1968; Hayman, 1975; Schenck y Smith, 1981).

Trabajos realizados por Graham y colaboradores (1976) usando brotes enraizados demostraron que durante un período de tres años, el número de tubérculos de papa en plantas inoculadas con *Glomus fasciculatus* fue aproximadamente dos veces mayor que el de las plantas no inoculadas. Ellos también encontraron diferencias altamente significativas en favor de las plantas inoculadas, en el peso seco de la parte aérea, de la raíz y el peso seco total.

Se han obtenido respuestas positivas del cultivo de papa a la inoculación de micorrizas vesículo-arbuscular a través de incrementos significativos en el rendimiento de las plantas inoculadas (Black y Tinker, 1977; Swaminathan y Verne, 1977). Así mismo, se ha observado que los niveles altos de fertilización fosfatada inhiben el desarrollo de la infección en raíces (Black y Tinker, 1977).

Trabajos más recientes en papa demuestran diferente susceptibilidad de varios cultivares a la infección de micorrizas, indicando que, por lo general, ésta ocurre tarde

durante la estación de crecimiento y los niveles de infección alcanzados son bajos (Montierro y Susana, 1983). Por otro lado, Montierro y Vander Zaag en 1983 usando el cultivar DTO-2, obtuvieron incrementos significativos del rendimiento en el campo y un alto porcentaje de infección en raíces con dos niveles intermedios de fertilización fosfatada.

Se sabe que la papa tiene un alto requerimiento de fósforo en el suelo en comparación con otros cultivos. Esto principalmente debido al hecho de que posee un sistema radicular poco denso, no muy profundo, un periodo vegetativo corto (90 a 120 días), y una limitada asociación con micorrizas de tipo vesículo-arbuscular (Swaminathan y Verma, 1977; Montierro y Vander Zaag, 1983).

Dada la importancia del fósforo para el crecimiento y desarrollo de la papa, se plantea el presente estudio para conocer las características de la simbiosis con micorrizas, en la posibilidad de mejorar el vigor en el transplante al campo de plántulas provenientes de semilla botánica o de esquejes de tallo enraizados. Estas formas de multiplicación del cultivo de papa desarrolladas sobre suelo estéril demandan niveles muy elevados de fósforo en el suelo durante la primera etapa del crecimiento en comparación con las plantas que emergen de semilla-tubérculo. El establecimiento de micorrizas junto a la flora benéfica acompañante en suelo estéril podría reducir estos requerimientos y mejorar el equilibrio hídrico y hormonal de las plántulas llevadas al campo, asimismo, la respuesta a la inoculación de micorrizas sería mayor por la ausencia de organismos de competencia menos eficientes o patógenos para la papa.

OBJETIVO

Determinar la respuesta de tres variedades de papa a la inoculación de micorrizas vesículo-arbusculares.

MATERIALES Y MEDODOS

El experimento fue conducido en la estación experimental del Centro Internacional de la Papa, La Molina. El suelo utilizado fue de textura media y pH alcalino conteniendo 15 ppm de fósforo disponible (Cuadro 1). Se esterilizó en vapor húmedo a 75°C por 24 horas y fue colocado en camas de almácigo de 25 cm de profundidad. La fertilización base en N-P-K se hizo a razón de 50 ppm por cada elemento. Posteriormente, fue adicionado un filtrado de suelo, en el cual se descartó la presencia de hongos de micorrizas con

la finalidad de restituir al flora microbiana normal del suelo eliminada durante la esterilización.

Se utilizaron esquejes enraizados de las variedades Mariva y Tomasa Condemayta así como del clon DTO-33. Los esquejes fueron previamente inoculados con 150 g de suelo conteniendo raíces infectadas, esporas y micelio de *Glomus fasciculatum* (Thaxt. sensu Gerd.) Ger. & Trappe "E₃", se mantuvieron en el inóculo durante 15 días y luego fueron transplantados al almácigo con un distanciamiento de 15 x 15 cm aproximadamente. Los esquejes del clon DTO-33 no sobrevivieron y fueron reemplazados con un transplante de plántulas provenientes de semilla botánica de polinización libre.

Cuatro evaluaciones del experimento se realizaron a partir de los 30 días posteriores al transplante. Las plantas fueron cosechadas y evaluadas a través de un análisis completo de crecimiento y la raíces fueron colectadas, clarificadas y teñidas para la observación de la infección de acuerdo al método de Phillips y Hayman (1970). Se determinó el porcentaje de infección en raíces de acuerdo a una modificación del método de Giovannetti y Mosse (1980). Finalmente, se tomaron muestras de cada planta para la determinación del contenido de nutrientes en hojas, tallos y tubérculos.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 2 se observa que las plantas no inoculadas presentaron tuberización temprana, lo cual indica cierto estado de stress al transplante que fue superado por las plantas inoculadas. A los 68 días después del transplante se encontraron diferencias altamente significativas en el rendimiento de tubérculos y peso seco total de las plantas inoculadas respecto a las no inoculadas (Cuadro 2 y 3).

Las variedades Mariva y Tomasa Condemayta respondieron en forma diferente a la inoculación de micorrizas (Cuadro 2 y 3). Mariva mostró ganancia en peso seco total e incrementos en el rendimiento hasta los 91 días después del transplante luego de los cuales perdió peso respecto a las plantas no inoculadas. Este efecto indicaría que la infección del hongo de micorrizas pudo acortar el período vegetativo de la variedad alcanzando la madurez tempranamente respecto a los controles. Tomasa Condemayta respondió más favorablemente a la inoculación de micorrizas, en los parámetros de crecimiento medidos.

* Cepa originaria de la colección de la Estación Experimental de Rothamsted, Inglaterra.

En las plantas de DTO-33 provenientes de semilla botánica, se observó una respuesta altamente significativa a la inoculación en la mayor parte de las mediciones realizadas (Cuadro 4). Las plantas no inoculadas se presentaron débiles desde el inicio de la estación de crecimiento y no pudieron sobrevivir para la segunda evaluación a los 76 días después del trasplante.

En el Cuadro 5 se pueden observar diferentes susceptibilidades de las variedades estudiadas a la infección por micorrizas. Los valores altos en infección en la primera fecha de evaluación se obtuvieron considerando un número menor de repeticiones, lo cual pudo llevar a sobreestimar los resultados. En las siguientes evaluaciones, la mayor infección ocurrió en Tomasa Condemayta alcanzando un máximo de 67% a los 91 días posteriores al trasplante. Mariva se infectó en un 47% no habiendo incrementado grandemente este valor a través de las evaluaciones. Las plántulas de semilla botánica (DTO-33) se infectaron a los 45 días después del trasplante en un 29% permaneciendo con este valor aproximado hasta el término del crecimiento.

En cuanto a la cantidad total de nutrientes absorbidos se encontró que las plantas micorrícicas para las tres variedades estudiadas (Cuadro 6). Tomasa Condemayta mostró el contenido más alto de nutrientes expresados en gramos por planta, lo cual correspondió con el mejor crecimiento y el más alto porcentaje de infección en raíces obtenido para esta variedad.

Se debe considerar que los resultados obtenidos en el presente experimento pudieron ser más acentuados trabajando con un suelo inicial realmente pobre en P, y de pH cercano a la neutralidad. En la última etapa del crecimiento, las plantas no inoculadas llegaron casi a igualarse con las inoculadas no existiendo diferencias significativas entre ellas, esto debido probablemente al crecimiento de las raíces que alcanzaron a captar el P necesario para el desarrollo de la planta. Si bien se obtuvo respuesta favorable a la inoculación de micorrizas, es necesario realizar mayor investigación del comportamiento de esta simbiosis en papa para obtener conclusiones específicas.

AGRADECIMIENTO

Agradesco al Dr. David J. Midmore, fisiólogo del Centro Internacional de la Papa por su valiosa ayuda en la interpretación de los resultados de éste trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Black, R. L. y Tinker, P. B. (1977) Interaction between effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza and fertilizer phosphorus on yields of potatoes in the field. *Nature*, Vol 267:510-511.
- 2 Gerdemann, J. W. (1968) Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopathol.* 6:397-418.
- 3 Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* Vol. 84(3):489-500.
- 4 Graham, S. O.; Green, N. E. and Hendrix, J. W. (1976) The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and tuberization of potatoes. *Mycologia* 68:925-929.
- 5 Hayman, D. S.; Johnson, A. M. and Ruddleedin, I. (1975) The influence of phosphate end crop species on Endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. *Plant and Soil* 43:489-495.
- 6 Hayman, D. S. (1981) Mycorrhiza and its significance in Horticulture. *The Plantsman* Vol.2 part 4:214-224.
- 7 Montierro, C. G. y Susana, B. (1983) Response of a diverse group of thirty-five cultivars to an isothermic environment of the Philippines. CIP-Region VII, Working Paper N°83-11.
- 8 Montierro, C. G. y Vander Zaag, P. (1983) Preliminary results on the status of mycorrhizae in phosphorus nutrition of potatoes *Solanum*. CIP-Region VII, Internal Paper N°83-5.
- 9 Phillips, J. M. y Hayman, D. S. (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.

- 10 Safir, G. R. y Nelsen, Ch. E. (1981) Water and nutrient uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. En Mycorrhizal Associations and crop Production Rhizosphere Research Group. Report N° RO44-001-81:25-31 New Jersey.
- 11 Schenck, N. C. y Smith G. S. (1981) Distributions and occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on Florida Agricultural Crops. Proc. Soil and Crop Scien. Soc. Vol. 40:171-175.
- 12 Swaminathan, K. y Verma, B. C. (1977) Symbiotic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the phosphate nutrition of potatoes. Proc. Indian Acad. Sci. Vol. 85B, N°. 5:310-318.

Cuadro 1. Análisis de caracterización del suelo utilizado

	Arena	Limo	Arcilla	Textura	pH
mm/100/cm	%	%	%		
1.4	52	30	18	franco	7.8
CO ₂ Ca	M.O.	N	P	K	
%	%	%	ppm	ppm	
1.9	1.5	0.110	15.2	496	
Cambiables					
CIC	Ca++	Mg++	K+	Na+	
	meq/100 gr				
14.6	12.2	1.47	0.56	0.35	

Cuadro 3. Peso seco total promedio (g/planta) de las variedades Mariva (M) y Tomasa Condamayra (TC) en cuatro fechas de evaluación

	30 d		68 d		91 d		122 d	
	M	TC	M	TC	M	TC	M	TC
Inoculadas	6.2	2.9	22.2	46.7	41.3	63.3	36.2	64.0
No inoculadas	3.3	0.9	15.1	13.8	32.2	34.9	44.8	-
Significación estadística de la interacción	n.s	n.s	**	**	n.s	n.s	n.s	n.s

d = días después del trasplante.

-370-

Cuadro 2. Rendimiento promedio de tubérculos (g/planta) de las variedades Mariva (M) y Tomasa Condamayra (TC) en cuatro fechas de evaluación.

	30 d		68 d		91 d		122 d	
	M	TC	M	TC	M	TC	M	TC
Inoculadas	0.3	0.1	77.2	119.6	181.6	250.2	156.6	284.7
No inoculadas	1.5	2.3	40.1	32.7	128.5	126.4	187.0	-
Significación estadística de la interacción	n.s	n.s	**	**	n.s	n.s	n.s	n.s

d = días después del trasplante.

-369-

Cuadro 5. Porcentaje de infección alcanzado en plantas de papa inoculadas con Glomus fasciculatum "B3", en diferentes fechas de evaluación.

	30 d (n=3)	58 d (n=6)	91 d (n=6)	122 d
Martín	48.1	41.8	42.1	46.9 ¹
Tomasa Condemayta	74.0	58.2	67.8	65.5 ²
	45 d	76 d		
	(n = 4)	(n = 3)		
DTO-33	29.1	25.8		

d = días después del transplante

1 = (n = 8)

2 = (n = 10)

Cuadro 4. Respuesta en el crecimiento de plántulas de papa (DTO-33) inoculadas con Glomus fasciculatum "B3" en dos fechas de evaluación.

	Altura (cm)	Internudos (N°)	Hojas (N°)	Superficie de hojas (cm ²)	Total peso seco (g)	Rendimiento (g/planta)
<u>45 d (n = 4)</u>						
Inoculadas	29.2	17	28	613	7.1	28.0
No inoculadas	9.2	8	7	67	1.6	8.1
DLS 0.05	10.0	3.6	14.9	412.3	3.9	13.0
<u>76 d (n = 3)</u>						
Inoculadas	31.7	23	35	234	7.34	35.1

d = días después del transplante.

Cuadro 6. Total de nutrientes absorbidos (g/planta) en plantas de papa inoculadas con *Glomus fasciculatum* "E₃"

	N	P	K
	g/planta		
Mariva ¹ Inoculado	3.04 a	0.37 a	4.07 a
No Inoculado	0.97 b	0.10 b	1.14 b
T. Condemayta ¹ Inoculado	4.10 a	0.56 a	7.00 a
No Inoculado	2.14 a	0.19 b	2.26 b
DTO-33 ² Inoculado	0.51 a	0.04 a	0.99 a
No Inoculado	0.10 b	0.01 b	0.19 b

1 91 días después del trasplante

2 45 días después del trasplante

Las medias del contenido de cada elemento por variedad con la misma letra no difieren significativamente a P = 0.05

Cuadro 5. Porcentaje de infección alcanzado en plantas de papa inoculadas con Gliomus fasciculatum "G3", en diferentes fechas de evaluación.

	30 d (n=3)	68 d (n=6)	91 d (n=6)	122 d
Mariva	48.1	41.8	42.1	46.9 ¹
Tomasa Condemeyta	74.0	58.2	67.8	65.5 ²
	45 d	76 d		
	(n = 4)	(n = 3)		
DTO-33	29.1	25.8		

d = días después del transplante

1 = (n = 8)

2 = (n = 10)

Cuadro 4. Respuesta en el crecimiento de plántulas de papa (DTO-33) inoculadas con Gliomus fasciculatum "G3" en dos fechas de evaluación.

	Altura (cm)	Internódios (N°)	Hojas (N°)	Superficie de hojas (cm ²)	Total peso seco (g)	Rendimiento (g/planta)
<u>45 d (n = 4)</u>						
Inoculadas	29.2	17	28	613	7.1	28.0
No inoculadas	9.2	8	7	67	1.6	8.1
DLS 0.05	10.0	3.6	14.9	412.3	3.9	13.0
<u>76 d (n = 3)</u>						
Inoculadas	31.7	23	35	234	7.34	35.1

d = días después del transplante.

Cuadro 6. Total de nutrientes absorbidos (g/planta) en plantas de papa inoculadas con *Glomus fasciculatum* "E₃"

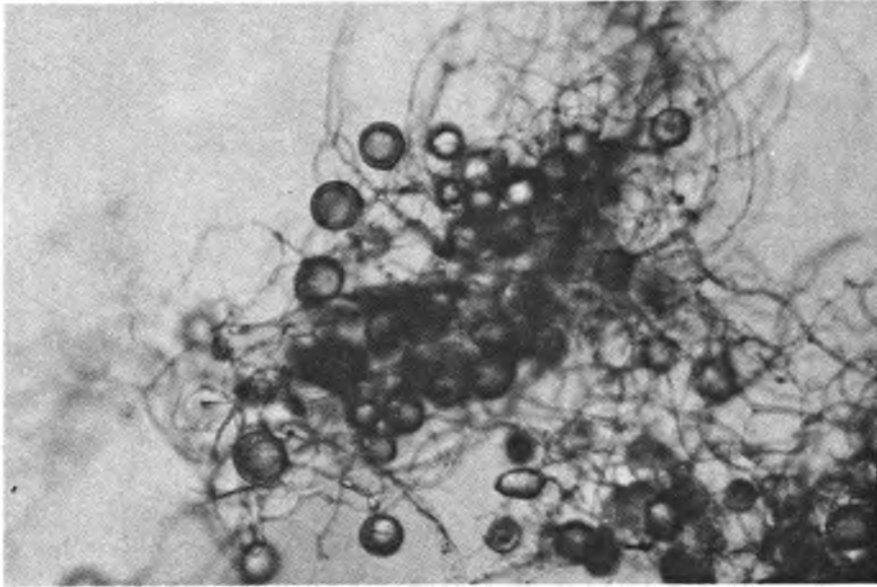
	N	P	K
	g/planta		
Mariva ¹ Inoculado	3.04 a	0.37 a	4.07 a
No Inoculado	0.97 b	0.10 b	1.14 b
T. Condemayta ¹ Inoculado	4.10 a	0.56 a	7.00 a
No Inoculado	2.14 a	0.19 b	2.26 b
DTO-33 ² Inoculado	0.51 a	0.04 a	0.99 a
No Inoculado	0.10 b	0.01 b	0.19 b

1 91 días después del transplante

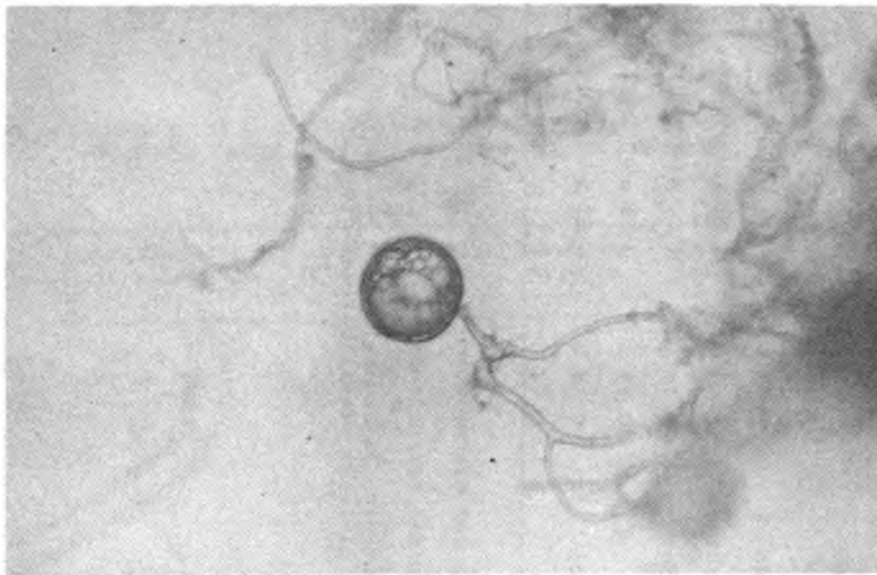
2 45 días después del transplante

Las medias del contenido de cada elemento por variedad con la misma letra no difieren significativamente a P = 0.05

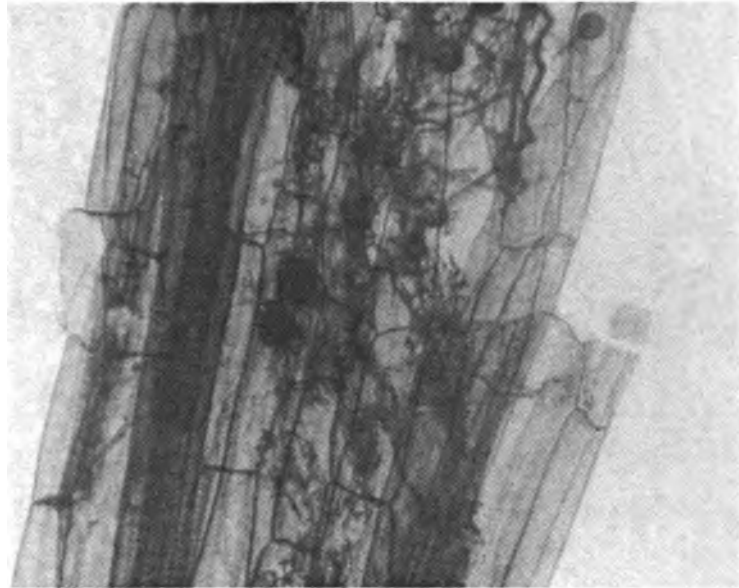
Micelio y esporas de Glomus fasciculatum "E₃"



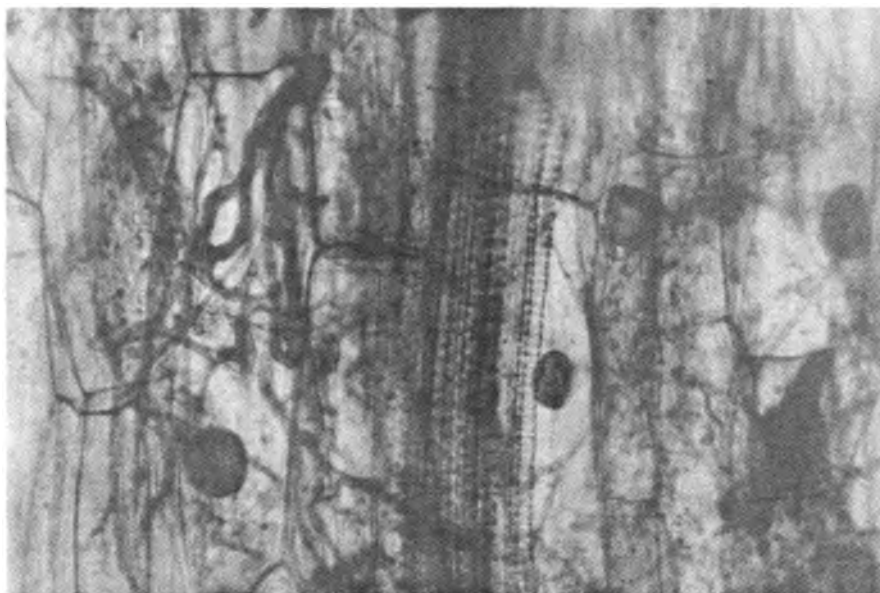
150X



300X



Segmento de raíz con infección interna 300X



Hifas y vesículas en el tejido cortical de la raíz 600X

LA REPOBLACION FORESTAL EN CUBA

por

RICARDO A. HERRERA

Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba, Departamento de Ecofisiología Vegetal, Calzada del Cerro 1257 Habana 6, Cuba

RESUMEN

Se presenta el Informe Final del Proyecto IFS D-251. El informe resume los resultados obtenidos de 1978 a 1985 en cuanto a: a) métodos utilizados en el estudio de las micorrizas VA; b) taxonomía y distribución de los hongos endogonáceos en Cuba; c) micotrofia de algunas plantas cubanas; d) fertilización y micorrizas VA; e) influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de dos especies forestales y otras plantas cubanas; f) génesis y significación ecológica de las esteras radicales; g) biomasa de raíces y raicillas en varios ecosistemas; h) descomposición de las raicillas en distintos ecosistemas; i) características de los sistemas radicales en los bosques, pastizales y sabanas tropicales; j) patrones de funcionamiento en bosques tropicales; k) influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramático VA; l) distribución de frecuencias de las biomasa de micelio extramático VA; m) biomasa y producción de micelio extramático VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo; y n) estrategia nutricional de los bosques tropicales. Se discuten además las perspectivas para el estudio de las micorrizas VA y su utilización en los planes de repoblación forestal en Cuba.

ABSTRACT

The Final Report of the IFS Project D-251 is presented. The report summarizes the obtained results from 1978 to 1985 about: a) used methods in studying VA mycorrhizae; b) taxonomy and distribution of endogonaceous fungi in Cuba; c) mycotrophy of several Cuban plants; d) fertilization and VA mycorrhizae; e) influence of VA mycorrhizae on the forest and other Cuban species plant growth; f) genesis and ecological significance of root mats; g) root and rootlet biomasses at various ecosystems; h) rootlet decomposition at different ecosystems; i) root systems characteristics in tropical forests, grasslands and savannah; j) functional patterns of tropical forests; k) influence of organic matter on the VA extramatrical mycelium production; l) VA extramatrical mycelium frequencies distribution; m) VA extramatrical mycelium biomasses and production at two forests and one humid grassland; and n) nutritional strategies of tropical forests. Besides, the perspectives for studying VA mycorrhizae and their use in Cuban afforestation plans are discussed.

INTRODUCCION

Actualmente ya no existen dudas acerca de que las micorrizas son los biofertilizantes por excelencia a ser explotados masivamente en el futuro cuando la humanidad logre desarrollar una agricultura basada sobre un conocimiento profundo de la ecología del paisaje.

Numerosos trabajos han demostrado que los hongos micorrizógenos y en especial los del tipo vesículo-arbuscular (VA) están muy bien distribuidos en todo el planeta. Exceptuando sólo algunas familias vegetales como las crucíferas, o aquellas de hábitats acuáticos permanentes, y otras, la simbiosis ha sido observada en cientos de especies pertenecientes a las más diversas familias (Gerdemann, 1975) y no son pocos los autores que están de acuerdo con el criterio de que más del 90% de las especies de la Flora Mundial son micorrizógenas (Meyer, 1973).

Mientras que varios cientos de hongos pertenecientes a diversas familias son capaces de formar ectomicorrizas, principalmente en coníferas y otros forestales, hasta el momento aquellos pertenecientes sólo a la familia Endogonaceae pueden formar las endomicorrizas VA, contrariamente, al parecer, en miles de especies vegetales de todo tipo (Gerdemann, 1975; Harley y Smith, 1983).

Plenchette (1982) clasificó los seis tipos de micorrizas existentes en la naturaleza, sin embargo, de acuerdo con la opinión del autor, generalizada a todos los investigadores en este campo, sólo las ecto- y endomicorrizas VA han merecido un estudio más profundo debido a su distribución y posibilidades para su explotación en la agricultura. Aunque ambos tipos de micorriza son similares en lo que se refiere a la finalidad de la simbiosis, nos referiremos sólo a las vesículo-arbusculares pues a su estudio nos hemos dedicado durante los últimos años.

La mayoría de las investigaciones en el campo de las micorrizas VA se ha dedicado a su papel como biofertilizantes y a la realización de experimentos de inoculación con vistas a mejorar el crecimiento de numerosas especies de hortalizas, frutales, forestales, etc. (Mosse, 1982; Harley y Smith, 1983). Quizás en segundo lugar se encuentran aquellos estudios encaminados a conocer taxonómicamente a los hongos VA, y en este sentido se han logrado algunos avances durante los últimos años (Gerdemann y Trappe, 1974; Hall y Fish, 1979; Trappe, 1982). Un tercer grupo estaría constituido por aquellos trabajos que analizan la fisiología de la simbiosis VA (Carling y Brown, 1982; Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983; Sanders y Sheikh, 1983), su ultraestructura (Cox y Sanders, 1974; Dexheimer et al., 1979; Gianinazzi et al., 1983), distintos métodos para su estudio (Sohenok, 1982), reportes de especies vegetales micorrizógenas (Khan, 1974; Mosse, 1982), métodos de producción

de inóculos (Schenck, 1982; Mosse y Thompson, 1984), etc.

Lamentablemente en cuanto a la Ecología de la simbiosis VA se ha avanzado poco. La mayor parte de los reportes en este sentido o han sido aislados o han surgido como resultados colaterales dentro de una investigación, y en general han sido sabiamente inoñuidos en algunas revisiones (Mosse, *et al.*, 1981; Ocampo, 1980; Gianinazzi-Pearson y Diem, 1982).

Entre las funciones atribuidas a las micorrizas VA actualmente se reconocen las siguientes:

a) Mejoran la disponibilidad de elementos nutritivos poco móviles (poco solubles), como fósforo, zinc, cobre, azufre, estroncio, calcio, bromo, cloro, y también nitrógeno y potasio, que aunque no son poco solubles son absorbidos también por las hifas VA (Plenchette, 1982; Mosse, 1982; Harley y Smith, 1983).

b) Aumentan la resistencia al ataque de patógenos (hongos y nemátodos) de las raíces (Schenck, 1981).

c) Mejoran la absorción de agua y aumentan la resistencia del huésped a la sequía (Nelsen y Safir, 1981; Allen y Boosalis, 1983).

d) Aumentan la resistencia a altas concentraciones de sales en el sustrato (Hirrel y Gerdemann, 1980; Pond *et al.*, 1984; Allen y Cunningham, 1983).

e) Mejoran la estructura del suelo y contribuyen a disminuir los efectos dañinos de la erosión al agregar con la fina red de hifas del micelio extramático numerosas partículas del sustrato (Koske, *et al.*, 1975; Sutton y Sheppard, 1976; Graham *et al.*, 1982).

f) Encauzan o contribuyen a aprovechar la actividad de otros microorganismos biofertilizadores como las especies de *Mycobium*, las bacterias libres fijadoras de nitrógeno atmosférico y los microorganismos solubilizadores de fósforo (Azcón G. de Aguilar y Barea, 1978; Gianinazzi-Pearson y Diem, 1982).

g) Su existencia representa uno de los mecanismos de conservación de nutrientes más importantes en los ecosistemas vegetales naturales (Herrera *et al.*, 1978 a y b) y agroecosistemas.

h) Influyen sobre la sucesión tropical (Janos, 1980).

Como se señaló antes, existen numerosas evidencias para pensar que las micorrizas juegan un papel esencial en los ecosistemas vegetales, sin embargo, son pocos los trabajos referidos a este nivel de organización biológica. El trabajo

de David Janos (1980) acerca de la participación de las micorrizas VA en la sucesión tropical, constituye, aunque teórico, un avance notable en el sentido ecológico.

Otra hipótesis que ha revolucionado las mentes de los ecólogos de bosques tropicales fue la del ciclo directo de los nutrientes desde la hojarasca en descomposición hasta las raicillas a través de puentes hifales VA (Went y Stark, 1968). Esta hipótesis atribuye a los hongos VA la capacidad de actuar en los bosques como organismos celulolíticos y parte del criterio de que existen micorrizas dependientes de la descomposición de la hojarasca (Stark, 1970).

Por otra parte, los estudios realizados sobre la dinámica anual de los niveles de infección VA y su distribución vertical (Levy *et al.*, 1983; Jakobsen y Nielsen, 1983; Dickman *et al.*, 1984), el efecto que sobre los niveles de infección tienen algunos factores abióticos como la iluminación (Hayman, 1974; Diederichs, 1982; Bethlenfalvay y Pacovsky, 1983), la temperatura (Moawad, 1979; Saif, 1982), el pH del suelo (Skipper y Smith, 1979; Graw, 1979; Yawney *et al.*, 1982), etc., así como la dinámica de las poblaciones de esporas (Hayman, 1970) y el micelio extramático VA (Nicolson y Johnston, 1979), y los niveles de micotrafismo de cada ecosistema partiendo de la hipótesis de Baylis acerca de la afinidad existente entre la simbiosis VA y las plantas con pocos pelos radicales o ninguno (Baylis, 1975; Janos, 1980), además de los otros trabajos sobre la fisiología y distribución geográfica de la simbiosis VA, han contribuido directamente a conocer o al menos iniciar los conocimientos acerca de la ecología de este tipo de micorrizas.

Los últimos trabajos realizados en los bosques tropicales han tratado de demostrar por una parte la existencia real del ciclo directo (Herrera *et al.*, 1978 b) y la influencia de la materia orgánica sobre la producción de órganos activos en la absorción de nutrientes (raicillas y micelio extramático VA) (St. John *et al.*, 1983 a y b).

Indiscutiblemente que todos los trabajos realizados acerca de las micorrizas VA clasificados en los párrafos anteriores pueden servir de una u otra forma para conocer su ecología, pues esta ciencia, muy general, necesita abarcar el análisis de tantos conocimientos como sea posible, y sólo sobre esta base es que podrían realizarse planes económicos para lograr una agricultura basada en la explotación ecológica del paisaje.

Una advertencia necesaria que nos fue hecha en 1978 por parte de los consejeros científicos de la Fundación Internacional para la Ciencia (IFS) es que para desarrollar este tema de investigación con vistas a mejorar los bosques cubanos, se debe tener muy en cuenta que las micorrizas VA son sólo una parte, aunque importante, de todo el complejo sistema que

LA REPOBLACION FORESTAL EN CUBA

por

RICARDO A. HERRERA

Instituto de Botánica de la Academia de Ciencias de Cuba. Departamento de Ecofisiología Vegetal. Calzada del Cerro 1257 Habana 6, Cuba

RESUMEN

Se presenta el Informe Final del Proyecto IFS D-251. El informe resume los resultados obtenidos de 1978 a 1985 en cuanto a: a) métodos utilizados en el estudio de las micorrizas VA; b) taxonomía y distribución de los hongos endogonáceos en Cuba; c) micotrofia de algunas plantas cubanas; d) fertilización y micorrizas VA; e) influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de dos especies forestales y otras plantas cubanas; f) génesis y significación ecológica de las esteras radicales; g) biomasa de raíces y raicillas en varios ecosistemas; h) descomposición de las raicillas en distintos ecosistemas; i) características de los sistemas radicales en los bosques, pastizales y sabanas tropicales; j) patrones de funcionamiento en bosques tropicales; k) influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramatricio VA; l) distribución de frecuencias de las biomásas de micelio extramatricio VA; m) biomasa y producción de micelio extramatricio VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo; y n) estrategia nutricional de los bosques tropicales. Se discuten además las perspectivas para el estudio de las micorrizas VA y su utilización en los planes de repoblación forestal en Cuba.

ABSTRACT

The Final Report of the IFS Project D-251 is presented. The report summarizes the obtained results from 1978 to 1985 about: a) used methods in studying VA mycorrhizae; b) taxonomy and distribution of endogonaceous fungi in Cuba; c) mycotrophy of several Cuban plants; d) fertilization and VA mycorrhizae; e) influence of VA mycorrhizae on the forest and other Cuban species plant growth; f) genesis and ecological significance of root mats; g) root and rootlet biomasses at various ecosystems; h) rootlet decomposition at different ecosystems; i) root systems characteristics in tropical forests, grasslands and savannah; j) functional patterns of tropical forests; k) influence of organic matter on the VA extramatricial mycelium production; l) VA extramatricial mycelium frequencies distribution; m) VA extramatricial mycelium biomasses and production at two forests and one humid grassland; and n) nutritional strategies of tropical forests. Besides, the perspectives for studying VA mycorrhizae and their use in Cuban afforestation plans are discussed.

INTRODUCCION

Actualmente ya no existen dudas acerca de que las micorrizas son los biofertilizantes por excelencia a ser explotados masivamente en el futuro cuando la humanidad logre desarrollar una agricultura basada sobre un conocimiento profundo de la ecología del paisaje.

Numerosos trabajos han demostrado que los hongos micorrizógenos y en especial los del tipo vesículo-arbuscular (VA) están muy bien distribuidos en todo el planeta. Exceptuando sólo algunas familias vegetales como las crucíferas, o aquellas de hábitats acuáticos permanentes, y otras, la simbiosis ha sido observada en cientos de especies pertenecientes a las más diversas familias (Gerdemann, 1975) y no son pocos los autores que están de acuerdo con el criterio de que más del 90% de las especies de la Flora Mundial son micorrizógenas (Meyer, 1973).

Mientras que varios cientos de hongos pertenecientes a diversas familias son capaces de formar ectomicorrizas, principalmente en coníferas y otros forestales, hasta el momento aquellos pertenecientes sólo a la familia Endogonaceae pueden formar las endomicorrizas VA, contradictoriamente, al parecer, en miles de especies vegetales de todo tipo (Gerdemann, 1975; Harley y Smith, 1983).

Plenchette (1982) clasificó los seis tipos de micorrizas existentes en la naturaleza, sin embargo, de acuerdo con la opinión del autor, generalizada a todos los investigadores en este campo, sólo las ecto- y endomicorrizas VA han merecido un estudio más profundo debido a su distribución y posibilidades para su explotación en la agricultura. Aunque ambos tipos de micorriza son similares en lo que se refiere a la finalidad de la simbiosis, nos referiremos sólo a las vesículo-arbusculares pues a su estudio nos hemos dedicado durante los últimos años.

La mayoría de las investigaciones en el campo de las micorrizas VA se ha dedicado a su papel como biofertilizantes y a la realización de experimentos de inoculación con vistas a mejorar el crecimiento de numerosas especies de hortalizas, frutales, forestales, etc. (Mosse, 1982; Harley y Smith, 1983). Quizás en segundo lugar se encuentran aquellos estudios encaminados a conocer taxonómicamente a los hongos VA, y en este sentido se han logrado algunos avances durante los últimos años (Gerdemann y Trappe, 1974; Hall y Fish, 1979; Trappe, 1982). Un tercer grupo estaría constituido por aquellos trabajos que analizan la fisiología de la simbiosis VA (Carling y Brown, 1982; Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983; Sanders y Sheikh, 1983), su ultraestructura (Cox y Sanders, 1974; Daxheimer et al., 1979; Gianinazzi et al., 1983), distintos métodos para su estudio (Schenok, 1982), reportes de especies vegetales micorrizógenas (Khan, 1974; Mosse, 1982), métodos de producción

de inóculos (Schenck, 1982; Mosse y Thompson, 1984), etc.

Lamentablemente en cuanto a la Ecología de la simbiosis VA se ha avanzado poco. La mayor parte de los reportes en este sentido o han sido aislados o han surgido como resultados colaterales dentro de una investigación, y en general han sido sabiamente incluidos en algunas revisiones (Mosse, *et al.*, 1981; Ocampo, 1980; Gianinazzi-Pearson y Diem, 1982).

Entre las funciones atribuidas a las micorrizas VA actualmente se reconocen las siguientes:

a) Mejoran la disponibilidad de elementos nutritivos poco móviles (poco solubles), como fósforo, zinc, cobre, azufre, estroncio, calcio, bromo, cloro, y también nitrógeno y potasio, que aunque no son poco solubles son absorbidos también por las hifas VA (Plenchette, 1982; Mosse, 1982; Harley y Smith, 1983).

b) Aumentan la resistencia al ataque de patógenos (hongos y nemátodos) de las raíces (Schenck, 1981).

c) Mejoran la absorción de agua y aumentan la resistencia del huésped a la sequía (Nelsen y Safir, 1981; Allen y Boscalis, 1983).

d) Aumentan la resistencia a altas concentraciones de sales en el sustrato (Mirrel y Gerdemann, 1980; Pond *et al.*, 1984; Allen y Cunningham, 1983).

e) Mejoran la estructura del suelo y contribuyen a disminuir los efectos dañinos de la erosión al agregar con la fina red de hifas del micelio extramático numerosas partículas del sustrato (Koske, *et al.*, 1975; Sutton y Sheppard, 1976; Graham *et al.*, 1982).

f) Encausan o contribuyen a aprovechar la actividad de otros microorganismos biofertilizadores como las especies de *Rhizobium*, las bacterias libres fijadoras de nitrógeno atmosférico y los microorganismos solubilizadores de fósforo (Azcón G. de Aguilar y Barea, 1978; Gianinazzi-Pearson y Diem, 1982).

g) Su existencia representa uno de los mecanismos de conservación de nutrientes más importantes en los ecosistemas vegetales naturales (Herrera *et al.*, 1978 a y b) y agroecosistemas.

h) Influyen sobre la sucesión tropical (Janos, 1980).

Como se señaló antes, existen numerosas evidencias para pensar que las micorrizas juegan un papel esencial en los ecosistemas vegetales, sin embargo, son pocos los trabajos referidos a este nivel de organización biológica. El trabajo

de David Janos (1980) acerca de la participación de las micorrizas VA en la sucesión tropical, constituye, aunque teórico, un avance notable en el sentido ecológico.

Otra hipótesis que ha revolucionado las mentes de los ecólogos de bosques tropicales fue la del ciclo directo de los nutrientes desde la hojarasca en descomposición hasta las raicillas a través de puentes hifales VA (Vent y Stark, 1968). Esta hipótesis atribuye a los hongos VA la capacidad de actuar en los bosques como organismos celulolíticos y parte del criterio de que existen micorrizas dependientes de la descomposición de la hojarasca (Stark, 1970).

Por otra parte, los estudios realizados sobre la dinámica anual de los niveles de infección VA y su distribución vertical (Levy *et al.*, 1983; Jakobsen y Nielsen, 1983; Dickman *et al.*, 1984), el efecto que sobre los niveles de infección tienen algunos factores abióticos como la iluminación (Hayman, 1974; Diederichs, 1982; Bethlenfalvay y Pacovsky, 1983), la temperatura (Moawad, 1979; Saif, 1982), el pH del suelo (Skipper y Smith, 1979; Graw, 1979; Yawney *et al.*, 1982), etc., así como la dinámica de las poblaciones de esporas (Hayman, 1970) y el micelio extramático VA (Nicolson y Johnston, 1979), y los niveles de micotrofismo de cada ecosistema partiendo de la hipótesis de Baylis acerca de la afinidad existente entre la simbiosis VA y las plantas con pocos pelos radicales o ninguno (Baylis, 1975; Janos, 1980), además de los otros trabajos sobre la fisiología y distribución geográfica de la simbiosis VA, han contribuido directamente a conocer o al menos iniciar los conocimientos acerca de la ecología de este tipo de micorrizas.

Los últimos trabajos realizados en los bosques tropicales han tratado de demostrar por una parte la existencia real del ciclo directo (Herrera *et al.*, 1978 b) y la influencia de la materia orgánica sobre la producción de órganos activos en la absorción de nutrientes (raicillas y micelio extramático VA) (St. John *et al.*, 1983 a y b).

Indiscutiblemente que todos los trabajos realizados acerca de las micorrizas VA clasificados en los párrafos anteriores pueden servir de una u otra forma para conocer su ecología, pues esta ciencia, muy general, necesita abarcar el análisis de tantos conocimientos como sea posible, y sólo sobre esta base es que podrían realizarse planes económicos para lograr una agricultura basada en la explotación ecológica del paisaje.

Una advertencia necesaria que nos fue hecha en 1978 por parte de los consejeros científicos de la Fundación Internacional para la Ciencia (IFS) es que para desarrollar este tema de investigación con vistas a mejorar los bosques cubanos, se debe tener muy en cuenta que las micorrizas VA son sólo una parte, aunque importante, de todo el complejo sistema que

integra a estas formaciones. Al mismo tiempo, su estudio y explotación, no constituyen la única vía para mejorar los bosques de un país. Se trata en realidad de una tarea gigante que la IFS con mucho ha contribuido a unificar a nivel mundial con el presupuesto facilitado a numerosas investigaciones.

Durante los años en que recibimos la ayuda de la IFS (1978-1985) fueron realizados algunos experimentos para conocer la influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de algunas especies maderables en Cuba. El desconocimiento de ciertos aspectos básicos para llevar a vías de éxito en nuestro país la ayuda que puedan brindar los hongos micorrizógenos, hicieron necesaria la consecución de algunos objetivos primordiales con vistas a desarrollar el proyecto. Así, fue necesario emprender el estudio de la distribución y taxonomía de los hongos endogonáceos cubanos y el micotrofiaje de las plantas en áreas deforestadas, sabanas y pastizales que pueden ser potencialmente o están siendo repobladas, y en bosques originales; introducir o adaptar las técnicas existentes para cuantificar las poblaciones de esporas, inocular plantas, reproducir y mantener los hongos micorrizógenos, etc., y producir métodos nuevos para cuantificar los niveles de infección, las biomásas de micelio extramático, etc.; conocer la influencia de los fertilizantes y las combinaciones de los macroelementos principales sobre el crecimiento del huésped y sus niveles de infección; conocer la distribución vertical de las raicillas en ecosistemas boscosos y herbáceos (pastizales y sabanas); conocer la influencia de las micorrizas sobre el crecimiento de algunas plantas; y por último, iniciar el estudio ecológico de las micorrizas VA en bosques, sabanas y pastizales tropicales.

En Cuba, los trabajos acerca de las micorrizas VA se iniciaron en 1973 como iniciativa de la dirección del Instituto de Botánica. El apoyo financiero y moral de la Academia de Ciencias de Cuba y el no menos importante de la IFS, han contribuido enormemente a la obtención de nuestros resultados. En nuestro país, las investigaciones se desarrollaron como parte del Problema 305 "Estudio de algunos ecosistemas terrestres" cuya dirección radica en nuestro instituto. En el marco de la IFS, el proyecto D-251 ha sido registrado como "Vascular-arbuscular mycorrhizae as an aid to afforestation of treeless areas in Cuba". Gracias a la valiosa ayuda de ambas organizaciones hemos podido recibir la sabia asesoría de numerosos expertos del mundo que han propiciado en gran medida la obtención de los resultados que presentamos a continuación.

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION CIENTIFICA

Métodos utilizados en el estudio de las micorrizas VA.

Separación y clasificación de las esporas de hongos endogoná-

9999. En este caso, las esporas fueron separadas del suelo utilizando la técnica del tamizado del decantado de una muestra del suelo colectado y agua (Wet sieving and decanting, Gerde-mann y Nicolson, 1963). Adicionalmente fue empleado el método de centrifugación del tamizado obtenido con sacarosa 2M en solución de Tween 80 al 2% (Schenck, 1982). Por esta vía las esporas casi siempre se obtienen limpias y listas para clasificar. Para este tipo de trabajo queda por ensayar la utilización de algún agente dispersador como el agua oxigenada, el pirofosfato de sodio u otro que contribuya a desagregar los gránulos de suelo, lo cual podría influir sobre los porcentajes de esporas recuperados del suelo en trabajos de dinámica.

Medición de los niveles de infección VA en raicillas micorrizicas. Fue desarrollado un nuevo método para determinar la densidad de infección sobre la base del azul de tripán unido al componente fúngico de las micorrizas. El método consiste en, una vez teñidas las muestras de acuerdo con Phillips y Hayman (1970), eluir el colorante con una solución de lactofenol y HCl 2N, 1:1, V/V, colocando las muestras en un baño de María a 70°C con agitación. Adicionalmente, los resultados pueden ser convertidos a valores de ocupación fúngica real teniendo en cuenta que 1 mg de micelio extramático VA adsorbe 0,040 mg del colorante.

Los trabajos publicados sobre el método (Herrera *et al.*, 1984 a y b) analizan las preables fuentes de error que éste lleva implícitas entre las cuales, el exceso de colorante proveniente de los componentes no fúngicos de la micorriza, es el más importante. Se comprobó que el método no es útil para todas las especies vegetales, pero puede constituir una vía bastante exacta para cuantificar la biomasa del endófito VA cuando se trate de experimentos controlados con especies que almacenen poco exceso, o cuando se trabaje con ecosistemas donde predominan plantas con iguales características. El trabajo comprueba que, como era de esperar, el método de las intersecciones de Giovannetti y Mosse (1980) sobrevalora los niveles de infección en un 52,4%. Una posibilidad colateral cuando se utiliza el método de las intersecciones (Grid line intersect method) es computar las intersecciones asignando valores de densidad visual para cada una, lo que se ha denominado como "método de densidad visual" (Herrera *et al.*, 1984 b).

A pesar de los resultados sobrevalorados que se obtienen con su utilización, y de que los datos que entrega se refieren a proporciones y no densidades de infección, el método de las intersecciones de Giovannetti y Mosse (1980) representa una vía muy exacta para cuantificar la infección en cualquier muestra cuyas micorrizas puedan observarse en un estereomicroscopio, obteniéndose coeficientes de variabilidad muy bajos que no han podido obtenerse con otros métodos que cuantifiquen realmente las biomásas de micelio, ya que éstas se distribuyen en las raicillas en patrones de infección altamente variables (Herrera *et al.*, 1984 b).

Medición de las biommas de micelio extramático VA (MEVA).
 Para la determinación de estas biommas fue adaptado el método de las intersecciones de Marsh (1971), Anteriormente St. John et al. (1983 a y b) u otros autores habían utilizado esta versión del método de Marsh, pero en ningún caso se había explicado el procedimiento.

Nuestra adaptación ha consistido en tamizar con agua a presión fuerte una muestra de suelo colocada sobre un tamiz de malla de 0,250 mm y éste, a su vez, dentro de un embudo grande bajo cuyo vástago se coloca otro tamiz de malla 0,040 mm. Este procedimiento desprende la mayor parte del micelio de las raicillas o los agregados de suelo. Posteriormente el tamizado entre 0,040 y 0,250 mm es pasado a un papel de filtro grueso y con la ayuda de una bomba de vacío puede drenarse tanta agua como sea posible. A continuación el tamizado es secado al aire y posteriormente una parte puede secarse en estufa a 80°C para ser utilizada en el conteo del micelio; y otra puede ser guardada a 5°C si se quieren contar además las esporas.

Para cuantificar el micelio, el tamizado se homogeniza tanto como sea posible y a continuación se posan 2 o 3 alícuotas de cada muestra. Las alícuotas (de 10 a 30 mg en dependencia del contenido de material orgánico) son entonces dispersadas con glicerina en un portaobjetos y tapadas con un cubreobjetos de 22 x 22 mm. En un microscopio compuesto, utilizando aumentos de 160 a 320 x, se cuentan las intersecciones de las hifas VA correspondientes a 4 líneas, dos verticales y dos horizontales a ambos lados del centro, cada una de 22 mm de largo. Los conteos se realizan con la ayuda de cualquier guía fijada al ocular. Se sabe, por los ensayos efectuados (Herrera et al., 1985 a), que 1 mg de micelio equivale a una longitud de 42 146,26 mm, luego entonces, multiplicando el número de intersecciones promedio para una línea de 22 mm por el factor 0,000745, puede conocerse directamente el peso del micelio en la alícuota (Herrera et al., 1985 a). Extrapolando el peso de micelio promedio para las dos o tres alícuotas al peso total de toda la muestra, puede conocerse la biomasa total de MEVA en ella. Debido a esto último, para utilizar el método debe partirse de una colecta con volumen y superficie conocidos con vista a expresar los resultados en biommas de micelio en mg.dm³ o g.m⁻².

Otros métodos utilizados. Fueron utilizados también otros métodos generales para cuantificar biommas de raíces (mayores de 1 mm de grosor), raicillas (menores de 1 mm de grosor), biommas aéreas, y otros comúnmente empleados en Fisiología Vegetal o Ecología. Para conocer las biommas de raíces a nivel de ecosistema fueron utilizados los métodos clásicos ecológicos colectando monolitos cúbicos de 10 x 10 cm a distintas profundidades o cilíndricos con una barrena de 5 cm de diámetro interior. Los mismos métodos utilizados para coleccionar raíces fueron empleados para coleccionar el micelio extramático VA en distintos sitios. Otras formas de muestreo, por ejemplo, para

conocer las especies de hongos endogonáceos no requirieron de volúmenes exactos de suelo a menos que se tratara de medir sus poblaciones.

Los contenidos nutrimentales de cada suelo fueron analizados por los métodos tradicionales. Materia orgánica, por digestión con bicromato de potasio en solución ácida, o por ignición a 525°C; nitrógeno total, por destilación después de la digestión; fósforo total, por digestión con ácido perclórico; pH, por el método potenciométrico con agua o KCl 1N; fósforo asimilable, por extracción con fluoruro de amonio y formación del complejo melibdo-fosfórico; calcio, magnesio, potasio y sodio, por lixiviación con acetato de amonio por el método de Schachatschabel y posterior titulación para los dos primeros o determinación en fotómetro de llama en los dos últimos.

Fue propuesto además un glosario de términos relativos al estudio de las micorrizas VA y adecuados al idioma español además de actualizado, incluyendo aquellos de uso general que han sido utilizados de diversa manera, y otros particulares de este campo (Herrera y Ferrer, 1984).

Cualquier otro método no referido en el presente trabajo aparece en la publicación correspondiente a cada caso.

Taxonomía y distribución de los hongos endogonáceos en Cuba.

Aunque la taxonomía de la familia Endogonaceae y la clasificación de los hongos VA está condicionada aún a la imposibilidad de poderlos cultivar axénicamente para ser caracterizados correctamente, ha sido posible la realización de numerosos reportes referidos a especies (Gerdemann y Trappe, 1974; Hall y Fish, 1979; Trappe, 1982).

En general, se trata en lo posible de no publicar nuevas especies antes de comprobar la existencia real de las nuevas características y sus hábitos micorrizicos. No obstante esto, existen numerosos reportes que se refieren a la presencia de especies de hongos VA determinadas que han obviado por una u otra causa estos criterios debido probablemente a las necesidades de avanzar en la experimentación en perjuicio de la clasificación exacta de los hongos.

Por otra parte, las características taxonómicas son en ocasiones tan sobresalientes que no hay lugar a dudas en la clasificación, como por ejemplo en Acaulospora elegans (Gerdemann y Trappe, 1974), Gigaspora minuta (Ferrer y Herrera, 1980), y otras, o cuando la referencia se hace genéricamente (Acaulospora spp., Gigaspora spp., Glomus spp., y Sclerocystis spp.).

En Cuba hasta el momento hemos comprobado la existencia de 37 especies de hongos micorrizógenos (endogonáceos) clasificados en su mayoría por la clave de Trappe (1982). Cuatro

de ellas fueron reportadas como nuevas especies (Ferrer y Herrera, 1980) aunque de ellas aun no poseemos cultivos en maceta, el resto fue clasificado a partir de las características de las esporas colectadas, y algunas de ellas son casi seguramente nuevas especies (Tipos C-) que no pensamos publicar hasta contar con sus cultivos en maceta para la clasificación.

La Tabla 1 refiere las características generales de las áreas donde los hongos endogonáceos fueron colectados. En total fueron visitadas 20 áreas, de las cuales 7 pertenecieron a pastizales de regiones originalmente boscosas, 4 a sabanas originales, 4 a bosques originales siempreverdes o semidecíduos, 1 a una sabana reforestada, 2 a cultivos, y 2 a sitios muy antropogénicos. Los sitios aparecen en la tabla enumerados de acuerdo con un orden creciente de valores de pH en sus suelos.

La Tabla 2 muestra la distribución de los hongos endogonáceos en las distintas áreas estudiadas. Como se observa, la especie más distribuida fue *Glomus fasciculatum* que ha sido reportada como cosmopolita y presente en numerosos suelos en el mundo (Mosse, 1982), esta especie se presentó en casi todas las áreas al parecer independientemente de los valores de pH existentes a pesar de que para ella se ha reportado una afinidad a valores de pH cercanos a 6,0 (Mosse y Thompson, 1984) tal vez en las cepas europeas. La especie más distribuida después de *G. fasciculatum* fue *G. sporocarpium* que en cuanto al pH se comportó en forma similar. Otras especies tuvieron un comportamiento intermedio en cuanto al pH, y *G. mossoni* apareció en aquellos substratos con pH cercano al neutro hasta alcalino.

Las especies pertenecientes a *Acaulospora* parecieron preferir los suelos ácidos de acuerdo con una ligera tendencia que se observa en su distribución en la Tabla 2. No obstante, *A. elegans* y *A. scrobiculata*, la más distribuida de ellas, parecieron resistir valores de pH bastante altos.

En cuanto a las especies de *Gigaspora* la tendencia a preferir suelos ácidos fue mayor con excepción de *G. calospora* y *G. gilmorei* que se presentaron en suelos de hasta 7,4 de pH y *G. alborosa* que hasta el momento ha sido colectada en suelos con pH alcalino.

Las especies colectadas de *Sclerocystis* al parecer, de acuerdo con su distribución no son tan dependientes del pH al igual que en general para el género *Glomus*. Sólo han sido colectadas dos probables especies de *Endogonus* pero no hemos contado con argumentos suficientes para su clasificación.

El total de especies o tipos por muestra de suelo varió desde 1 hasta 13. Las áreas más ricas en especies fueron un pastizal con *Paspalum notatum* (3) y el bosque de la Ecología Ecológica Sierra del Rosario (7) que presentaron respectivamente 13 y 11 especies o tipos. Estos números, bastante más

Tabla 1. Características generales de las áreas estudiadas.

No.	Localidad	Suelo	Vegetación	pH
1	Macurijes A, PR	Arenas blancas cuaríticas	Cultivo de tabaco	4,8
2	Siguanea, IJ	Arenas blancas cuaríticas	Coetara con Buoida buoceras	5,0
3	Macurijes B, PR	Loam arenoso pagdo amarillento	Pastizal con <i>Paspalum notatum</i>	5,2
4	El Establo, H	Loam arenoso pagdo amarillento	Pastizal húmedo con <i>Axonopus compressus</i>	5,5
5	El Colony, IJ	Mocarrero	Sabana seca	5,6
6	Cascajal, M	Mocarrero	Sabana húmeda	5,6
7	Sierra del Rosario A, PR	Arcilla loamosa parda	Bosque siempreverde mesófilo (Vallecito)	5,7
8	Placetas, VC	Suelo de serpentininas	Arca de repoblación forestal	6,0
9	Manzanaras, VC	Pardo arcilloso	Pastizal con <i>Dichanthium</i> spp.	6,1
10	Managua, H	Rojo arcilloso	Pastizal con <i>Paspalum notatum</i>	6,5
11	Barrancones, PR	Pardo arcilloso	Pastizal con <i>Paspalum notatum</i>	6,5
12	Yaguaramas, C	Mocarrero	Sabana seca	6,5
13	Sierra del Rosario B, PR	Arcilla loamosa parda	Bosque siempreverde mesófilo (Majagual)	6,7
14	Cárdenas, M	Rojo arcilloso	Pastizal con <i>Dichanthium</i> spp.	6,8
15	Estación de Pastos Niña Bonita, H	Rojo arcilloso	Pastizal con <i>Panicum maximum</i>	7,0
16	Itabo, IJ	Arenas blancas cuaríticas	Sabana con vegetación rala	7,4
17	Cabo Corriente, PR	Arenas blancas calcareas	Bosque semidecíduo bajo	7,9
18	Los Arabos, M	Rojo arcilloso	Cultivo de caña de azúcar	7,9
19	Instituto de Botánica, CH	Pardo arcilloso	Césped con <i>Paspalum notatum</i> y <i>Dichanthium</i> spp.	8,0
20	Vivero Forestal S. Bolívar, CH	Rojo arcilloso	Lugar con malas hierbas	8,0

IJ, Isla de la Juventud; PR, Pinar del Río; H, La Habana; CH, Ciudad de la Habana; M, Matanzas; VC, Villaclara; C, Cienfuegos.

Tabla 2. Continuación.

Área No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Total 1
Especie o Tipo																					
<i>Sclerotyphis clavispora</i>	-	-	-	-	-	X	X	X	-	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	X	-
<i>S. coremioides</i>	X	-	-	-	-	-	X	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-
<i>S. rubiformis</i>	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. almosa</i>	X	4	X	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	X	-	-	-	-	X	-
Tipo C-22	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tipo C-23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
Endogone spp.																					
Tipo C-13	-	-	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tipo C-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total 2	5	3	13	8	4	4	11	7	1	5	5	5	5	9	3	4	6	2	1	7	4

La presencia de una especie en cada muestra aparece marcada con una X. Total 1, número de áreas muestreadas donde las especies fueron colectadas; Total 2, hongos endogonáceos en cada área muestreada.

Tabla 2. Distribución de los hongos endogonáceos en suelos cubanos

Área No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Total 1
Especie o Tipo																					
<i>Glomus fasciculatum</i>	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	18
<i>G. geosporum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>G. macrocarpum</i>	-	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	10
<i>G. magdaleae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>G. microcarpum</i>	-	-	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	5
<i>G. monosporum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>G. mossese</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	3
Tipo C-6	-	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
Tipo C-7	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Tipo C-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	1
Tipo C-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Tipo C-27	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Acaulospora elegans</i>	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>A. laevis</i>	-	-	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>A. foveata</i>	-	-	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>A. scrobiculata</i>	-	-	-	X	-	-	X	-	-	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	3
<i>A. splinesa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Tipo C-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Tipo C-21	-	-	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Gigaspora alborosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>G. calispora</i>	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>G. filiformis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>G. heterogama</i>	-	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>G. margaritae</i>	X	-	X	X	X	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>G. minuta</i>	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>G. savanulicola</i>	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>G. tricalypis</i>	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Tipo C-25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

continúa...

altos que los reportados anteriormente por Nosse y Bowen (1968) y otros autores se debieron probablemente a que en tales lugares las colectas fueron hechas en más de una ocasión o incluyeron el estudio de las especies a distintas profundidades, lo cual evidencia que los cambios estacionales o de otro tipo podrían influir sobre las colectas reportadas para un lugar.

La dependencia del pH por parte de las especies de hongos endogonáceos se demuestra en la Tabla 3. En troncos en descomposición colectados en el área 7, con valores de pH diferentes debidos probablemente a la calidad de la madera y a la actividad microbiana de cada uno (Orozco et al., 1985), las poblaciones de esporas fueron más numerosas cuando los pH fueron menores de 6,9, y no fueron encontradas para valores de pH de 7,8 y 8,4. El área donde fueron colectados los troncos posee un pH de 5,7 aunque en la estera radical del piso del bosque puede ser mayor de 6,0. Por lo tanto, el hecho de que las especies de hongos VA están adaptadas a estos valores, quizás determinaron su presencia y abundancia en los troncos de pH similares.

Tabla 3. Especies de hongos endogonáceos y valores de pH en la madera en descomposición perteneciente a distintos árboles. Los números representan cantidades de esporas por gramo de material.

ESPECIE DE ARBOL.	OF	CM	HE	PS	AL.	MA
ESPECIE DE HONGO						
Glomus fasciculatum	11	7	36	--	--	--
Glomus sp. (Tipo C-28)	--	--	--	10	--	--
Acaulospora laevis	22	80	12	--	--	--
Acaulospora foveata	--	13	468	--	--	--
Sclerocystis rubiformis	--	--	12*	--	--	--
Gigaspora sp. (Tipo C-26)	--	113	--	--	--	--
pH de la madera muerta	5,8	5,9	6,6	6,9	7,8	8,4
Total de esporas	33	213	528	10	0	0

OF, Ocotea floribunda; CM, Cedrella mexicana; HE, Hibiscus elatus; PS, Pseudomedea spuria; AL, Alchornea latifolia; MA, Matayba apetala. *, esporocarpos.

Parte de estos resultados fueron publicados por Ferrer y Herrera (1980), Herrera (1983), o se preparan para publicar (Herrera y Ferrer, 1985).

Micotrofia de algunas plantas cubanas.

Fueron colectadas las raíces de 75 especies pertenecientes a 37 familias en distintos ecosistemas y un vivero forestal.

Del total de especies, una perteneciente a la familia Polygonaceae no presentó la simbiosis VA, 26 presentaron un nivel de infección bajo, 25 un nivel de infección medio y 23 se presentaron altamente infectadas. Un total de 98,7% de las plantas presentaron la simbiosis, lo cual concuerda con los criterios de Meyer (1973). Las especies con micorrizas VA pertenecieron incluso a la familia Cyperaceae y las posturas de Eucalyptus spp. colectadas presentaron vesículas bien desarrolladas de Glomus spp. en sus raicillas (Herrera, 1983; Ferrer y Herrera, 1985).

Ferrer et al. (1985 a) estudiaron además la micotrofia del bosque siempreverde estacional submontano tropical de la Sierra del Rosario. Fueron colectadas plántulas pertenecientes a 27 especies arbóreas, 12 arbustivas, 5 lianas e individuos adultos de 9 gramíneas y otras herbáceas y 7 helechos. Los niveles de infección fueron determinados por la técnica de Giovannetti y Mosse (1980) y además fueron observados y medidos los pelos radicales para clasificarlos como numerosos y uniformemente distribuidos, numerosos y distribuidos por zonas, poco numerosos y distribuidos uniformemente, poco numerosos y distribuidos por zonas, o ausentes, considerando además su longitud.

De las 27 especies arbóreas 26 presentaron micorriza VA y una ectomicorriza (Juglans insularis). Dos especies de Urticaceae no presentaron micorriza, al igual que Peperomia alata, una Piperaceae, Prescottia stachyodes, una Orchidaceae, presentó el tipo de micorriza típico de esta familia. De los 7 helechos 5 resultaron no micorrizicos.

En total, el 86,7% de las especies presentaron micorriza. Si se tiene en cuenta que el trabajo incluyó especies que constituyen biomasa muy pequeñas, como los helechos y otras herbáceas en este bosque climax, se comprueba la exactitud de la hipótesis de Janos (1980) acerca de la influencia de la simbiosis sobre la sucesión tropical.

Las plántulas colectadas de las especies dominantes en el ecosistema como árboles, presentaron en general raicillas del tipo intermedio y no magnolioides sobre la base de sus grosos y pelos radicales, y los niveles de infección fueron relativamente bajos. En el ecosistema, sin embargo, sólo el 1,5% de las raicillas pertenecientes a individuos adultos llegaron a presentar durante un año de trabajo pelos radicales, lo que demuestra que el micotrofismo del ecosistema es alto y que para la recuperación de los nutrientes parece depender más del micelio extramatricial VA que de los pelos radicales.

Los resultados obtenidos pueden ser consultados en el trabajo de Ferrer et al. (1985 a).

Fertilización y micorrizas VA.

Fue examinada la influencia de 5 niveles de nitrógeno, 3 de

fósforo, 2 de potasio y sus combinaciones (30 en total), sobre el crecimiento y la infección micorrízica de Hibiscus elatus Sw., usando un diseño factorial. Fueron estudiados los efectos de las combinaciones NPK sobre las alturas de las posturas, los pesos secos del follaje, los pesos de raíz total, y raicillas, las relaciones follaje:raíz, y las densidades de infección micorrízica e infecciones totales. Todas las características de crecimiento y micorrízicas fueron afectadas por las combinaciones de los tres macroelementos principales (N, P, y K). Se demostró que el estado de la micorriza depende no sólo del nivel de P, como se había demostrado previamente por otros autores, sino también de los niveles de N y K. Además, se demuestra el papel relevante que desempeña el balance nutricional NPK para las micorrizas. Los resultados pueden consultarse en Herrera et al. (1984 c).

Adicionalmente fue realizada una revisión acerca de la influencia real del fósforo y otros nutrientes del suelo sobre el crecimiento vegetal en relación con la simbiosis micorrízica VA. La revisión fue llevada a cabo teniendo en cuenta el análisis del balance nutricional completo cuando fue posible para cada publicación, considerando las relaciones N/P, K/P y N/K.

La no obtención de un nivel razonable de infección VA cuando los contenidos de fósforo o nitrógeno en las raíces fueron altos, coincidieron, en general, con condiciones nutricionales desbalanceadas, que no habían sido consideradas previamente por numerosos autores. El papel real del fósforo, el nitrógeno, el potasio, y las combinaciones de nutrientes, en todos los casos desbalanceados, se consideraron en nuestro trabajo (Herrera et al., 1984 d) por separado de acuerdo con los distintos experimentos agrupados por objetivos similares. La utilización de condiciones nutricionales balanceadas fue demostrada para experimentos donde fueron obtenidos niveles de infección VA razonables a altos, con altas concentraciones de fósforo en el sustrato, que habían determinado contenidos altos del elemento en la planta. Por último, fue demostrado que cualquiera de los macroelementos principales (N, P o K) podrían responder por los niveles de infección micorrízica bajos o inefectivos, o por su condición parasítica, cuando no sean balanceados.

En la práctica, también ha sido comprobado que los niveles desbalanceados de los macroelementos principales pueden disminuir los niveles de infección VA y esto, unido a la utilización de técnicas de fumigación del suelo con bromuro de mofite puede llegar a eliminarlas totalmente. El primer caso, es decir, niveles de infección bajos, entre 6 y 45% (promedio 26%) fue detectado en muestras de raicillas colectadas en cafetales adultos en Topes de Collantes (Furrazola et al., resultados no publicados), lo cual evidencia que a pesar de su alta micotrofia, y los pocos pelos radicales presentes en sus raicillas, que debieron permitir infecciones mucho más altas no pudieron contrarrestar los niveles de nutrientes totalmen-

te desbalanceados en esos suelos. El segundo caso, es decir, la utilización de la fumigación en los centeros y posterior aplicación de dosis excesivamente altas de fertilizantes con grandes contenidos de fósforo asimilable, fue observado en un semillero de tabaco y campos cultivados con esta planta en La Habana. Los suelos estudiados contenían entre 100 y 800 ppm de fósforo asimilable. Las micorrizas en los casos examinados estuvieron ausentes (Herrera et al., 1985 b).

Influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de dos especies forestales (Hibiscus elatus Sw. y Cedrella mexicana J.M. Roem) y otras plantas cubanas.

La Tabla 4 resume los resultados acerca de la influencia de las micorrizas VA sobre el crecimiento de la gramínea Paspalum notatum Flügge (hierba Bahía); las leguminosas Vigna luteola (Jacq.) Benth., Cassia diphylla L., y Glycine max L. (soya); el patrón nacional de cítricos, Citrus aurantium L. (Rutaceae); el tabaco, Nicotiana tabacum L. CV Corojo (Solanaceae); y las especies forestales H. elatus (majagua) y C. mexicana (cedro), respectivamente pertenecientes a Malvaceae y Meliaceae.

Pudo comprobarse que en todas las especies estudiadas, excepto en V. luteola, cuyos controles se infectaron fuertemente con hongos VA, la infección micorrízica estimuló notablemente el crecimiento vegetal y se evidenciaron altas dependencias micorrízicas en todos los casos. En los ensayos de P. notatum, V. luteola y C. diphylla, las plantas micorrízicas fueron respectivamente hasta 13,0, 1,1, y 8,7 veces mayores que los controles. Las posturas de C. aurantium fueron hasta 5,8 veces mayores con micorrizas, y en este experimento los inóculos de hongos VA afines a suelos ácidos no produjeron infección, probablemente debido a que el pH del suelo utilizado fue alcalino. Las plantas de soya inoculadas con hongos VA produjeron hasta 4,3 veces más follaje, 3,4 veces más vainas y 36 veces más nódulos que las no micorrízicas. Todos los resultados implícitos en este párrafo pueden ser consultados en otro trabajo (Herrera, 1983).

Herrera et al. (1985b) demostraron además que las posturas de tabaco pueden aumentar notablemente su crecimiento cuando son inoculadas con hongos VA. Las posturas micorrízicas en este experimento fueron 2,6 veces mayores al ser inoculadas con G. mossense. La inoculación con Gigaspora margarita que parece tener cierta especificidad con el tabaco quizás hubiera dado mayores rendimientos (Herrera et al., 1985 b).

En cuanto al efecto de las micorrizas sobre el crecimiento de especies forestales se comprobó que las posturas de majagua y cedro pueden ser respectivamente hasta 19,9 y 6,0 veces mayores al ser inoculadas, de acuerdo con los resultados de un experimento que se llevó a cabo en Topes de Collantes (montañas del Escambray, Cienfuegos), donde el subsuelo utilizado tuvo un pH muy ácido y las condiciones climáticas no fueron ideales para el crecimiento de ambas especies. Se demostró

Tabla 4. Influencia de las micorrizas sobre el crecimiento de algunas plantas en Cuba. Los números representan pesos en gramo del follaje u otros indicadores.

EXPERIMENTO	C	CNE	MOS	FAS	CAL	MAC	MAR
P. notatum (11 semanas)							
- Suelo rojo arcilloso	0,4	1,6	3,8	3,2	1,5	---	---
- Suelo amarillo loam arenoso	0,6	0,9	---	1,8	2,4	---	---
- Suelo mocarrero	0,02	---	0,26	0,15	0,13	---	---
V. luteola (11 semanas)							
- Suelo rojo arcilloso	4,6	---	4,9	---	---	---	---
C. diphylla (11 semanas)							
- Suelo amarillo loam arenoso	0,03	---	---	0,26	---	---	---
C. aurantium (5 meses)							
- Suelo rojo arcilloso	0,4	1,9	2,3	0,3*	0,3*	0,3*	---
G. max (2 meses) Suelo amarillo loam arenoso encalado							
- Follaje	2,3	3,2	6,4	7,3	---	9,8	1,4
- Vainas (g)	1,4	1,4	3,0	3,2	---	4,8	0,7
- Total nodulos (g)	0,01	0,11	0,18	0,36	---	0,32	0,01
N. tabacum (54 días)							
- Suelo rojo arcilloso	2,07	---	5,28	---	---	---	---
H. elatus							
- Subsuelo amarillo arcilloso (5 meses)	0,08	0,41	0,26	1,59	---	0,25	0,54
- Suelo mocarrero (4 meses y medio)	0,28	5,74	---	---	3,51	---	2,71
C. mexicana							
- Subsuelo amarillo arcilloso (5 meses)	0,07	0,26	0,42	0,17	---	0,13	0,06
- Suelo mocarrero (4 meses y medio)	0,13	5,64	---	---	2,13	---	0,78

C, control estéril; CNE, control no estéril; MOS, inoculado con *G. mosseae*; FAS, inoculado con *G. fasciculatum*; CAL, inoculado con *G. caledonium*; MAC, inoculado con *G. macrocarpum*; MAR, inoculado con *Gigaspora margarita*. Los guiliones significan que no se utilizó el inóculo. *, las plantas inoculadas con copas afines a suelos ácidos no presentaron micorriza.

que en el caso de la majagua, el hongo *G. fasciculatum* pudo contrarrestar los efectos nocivos de la baja acidez del suelo y en el caso del cedro, a pesar de que tanto esta especie como el

inóculo utilizado (*G. mosseae*) prefieren suelos con pH más altos, pareció presentarse cierta especificidad entre los dos componentes de la simbiosis (Herrera, 1983; Ferrer A. et al., 1985).

En otro experimento similar realizado en otro vivero (Itabo, Matanzas) con mejores condiciones climáticas para ambas especies y en suelo más equilibrado aunque también pobre en nutrientes, las posturas de majagua y cedro fueron respectivamente hasta 20,5 y 43,4 veces mayores, considerando para ambas la infección procedente de los controles no esterilizados, es decir, producida por los hongos VA propios del suelo (Ferrer, R.L. et al., 1985). En este caso probablemente debido a la mayor infectividad de sus propágulos, la inoculación con otras cepas produjo menores crecimientos aunque las posturas fueron también mayores que los controles. Las posturas de majagua y cedro inoculadas con *G. caledonium* fueron respectivamente 12,5 y 16,4 veces mayores que los controles.

Los resultados, por lo demás, demuestran que de la inoculación micorrízica en el caso de muchos cultivos, y en especial de las especies forestales, pueden esperarse resultados muy prometedores que contribuirán notablemente al éxito de la repoblación forestal.

Las esteras radicales y las micorrizas vesículo-arbusculares.

Se ha demostrado que las esteras radicales y las micorrizas VA constituyen dos de los principales mecanismos de conservación de nutrientes en los bosques tropicales (Herrera et al., 1978 a y b), debido a lo cual puede considerarse que los estudios relacionados con estos dos componentes del ecosistema tienen que ver directamente con el éxito de la repoblación forestal en cualquier región geográfica. Partimos por tanto de la hipótesis de que es necesario conocer cómo se origina la estera radical y en qué forma se asocian y participan las raicillas y hongos VA para contribuir a la conservación de los nutrientes, causa esencial del sostenimiento de los bosques tropicales oligotróficos. Por otra parte, se hace necesario conocer también en la forma más profunda posible cómo se comportan estos mecanismos en los bosques más ricos en nutrientes y en los ecosistemas herbáceos donde las esteras radicales no se presentan. A continuación referimos algunos de los resultados obtenidos en este sentido dentro del marco del proyecto D-251.

Génesis y significación ecológica de las esteras radicales. La formación de la estera radical en los bosques tropicales parece estar condicionada por el grado de esclerofilia de las hojas, en nuestro caso determinado a partir de la relación peso seco : peso fresco (PS:PF). La formación de la estera se correlacionó significativamente tanto con un alto grado de esclerofilia en el bosque como con la mayor relación PS:PF de las raicillas, que además, son más resistentes a la desecación en tales formaciones. El grado de esclerofilia mayor, hace que las hojas se descompongan más lentamente y esto ayuda a la pre-

sencia durante todo el año de una cubierta protectora de hojarasca en el piso del bosque, la cual, unida a la mayor resistencia a la desecación y dureza de las raicillas determina la formación de la estera radical.

En otros casos donde los árboles presentes producen hojas con un grado de esclerofilia menor, también más ricas en contenidos nutrimentales, la descomposición es más rápida y la materia orgánica se incorpora rápidamente al suelo de modo que se origina una capa de suelo orgánico en los primeros centímetros del suelo. Estas características, que eliminan la posibilidad de una cubierta de hojarasca presente durante todo el año, unidas a que en tales bosques las raicillas se desecan con mayor facilidad y son más carnosas, impiden la formación de la estera radical.

Los resultados originales pueden consultarse en el trabajo de Herrera et al., (1985 c).

Biomasa de raíces y raicillas en varios ecosistemas. Fue estudiada la distribución vertical de los sistemas radicales en distintos ecosistemas haciendo énfasis en la distribución de las raicillas. Se demostró que en los bosques con esteras radicales, las biomasa de raicillas son significativamente mayores en los primeros 5 cm del suelo (estera radical), mientras que en los bosques con un grado de esclerofilia menor, éstas se distribuyen más uniformemente sin una concentración superficial significativa. Tal comportamiento está relacionado probablemente en los bosques más ricos con la mayor lixiviación de nutrientes que estimula la producción de raicillas en forma mejor distribuida (Herrera et al., 1985 d).

En cuanto a las biomasa totales de los sistemas radicales parecen ser bastante mayores en los bosques con esteras y menores en los de menor grado de esclerofilia, lo cual está relacionado al parecer con producciones probablemente mayores (considerando la relación raíces producidas : raíces totales dentro del ecosistema) en el segundo caso, debidas a una descomposición también mayor de raicillas.

Descomposición de las raicillas en distintos ecosistemas. R.A. Herrera et al. (1985 d) demostraron además que las tasas de renovación (turnover) de las raíces en un bosque con estera radical (Vallecito) y otro sin tal estructura (Majagual), fueron respectivamente 0,453 y 0,800 lo cual evidencia una renovación mayor de las raíces en el segundo caso.

Un experimento realizado para conocer las velocidades de descomposición de las raicillas en estos dos ecosistemas además de un pastizal húmedo, reveló que efectivamente en el pastizal y el Majagual, durante 150 días, se descompuso respectivamente el 79,2 y 33,6% del material original mientras que en Vallecito este valor (26,8%) fue menor que en Majagual.

Los promedios de las velocidades de descomposición para Vallecito, Majagual y Pastizal durante el mismo período fueron respectivamente 2,08, 2,92, y 5,10 mg.g⁻¹.día⁻¹ (Rodríguez et al., 1985).

Características de los sistemas radicales en los bosques, pastizales y sabanas tropicales. Fueron clasificados, adaptando la terminología existente al idioma español, los sistemas radicales de distintos ecosistemas sobre la base del trabajo de Jenik (1978). La clasificación comprendió a 30 especies arbóreas de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario y otros ecosistemas. Uno de los resultados más interesantes lo constituye el porcentaje de raicillas en las distintas formaciones vegetales. Mientras que en los pastizales y sabanas las raicillas representan aproximadamente el 80% de la biomasa total de raíces, en los bosques se ha estimado que estos valores se reducen aproximadamente a menos del 5% lo cual evidencia que en tales ecosistemas se acentúa extraordinariamente la ayuda y la eficacia que pueda esperarse de la participación de los hongos micorrizógenos. El glosario de términos relativos a los sistemas radicales y otros resultados pueden consultarse en el trabajo de Herrera (1985 a).

Patrones de funcionamiento en bosques tropicales. Se demostró por tanto, que en los dos bosques estudiados existen dos patrones bien definidos de comportamiento. En Vallecito, con un grado de esclerofilia relativamente alto (el más alto ha sido encontrado en los bosques semidecíduos, también con estera radical pero mejor desarrollada, en Fase V, Herrera et al., 1985 c) la descomposición de las hojas es más lenta, y las raicillas se distribuyen más hacia la superficie en la estera radical además de ser más duras y resistentes a la desecación y descomposición; y las biomasa producidas mensualmente, así como las tasas de renovación son menores. Este parece ser el patrón de los bosques oligotróficos que probablemente es bastante más definido en los bosques semidecíduos de Cuba y tal vez en los bosques lluviosos de América Tropical donde las esteras radicales se presentan con un mayor desarrollo. La cubierta protectora permanente de hojarasca parece servir tanto para los bosques con esteras que sufren períodos de sequía o semisequía como para aquellos existentes en regiones con abundantes lluvias, como un medio para evitar, entre otras funciones y ayudada por otros mecanismos, la lixiviación de los nutrientes.

El segundo patrón parece corresponder al de los bosques más ricos en nutrientes en los que el grado de esclerofilia menor posibilita velocidades de descomposición menores para las hojas y las raicillas, las producciones de estas últimas son probablemente mayores dentro del ecosistema y por tanto también lo son las tasas de renovación. Estos bosques, sin embargo, parecieron alcanzar, al menos en los casos de la Sierra del Rosario mayores alturas y biomasa aéreas.

En cuanto al Pastizal, las mayores velocidades de descomposición implican probablemente mayores tasas de renovación. En este tipo de ecosistema el ciclado de nutrientes ocurre quizás a una velocidad mucho mayor que en los bosques causando que los contenidos de materia orgánica y de nutrientes sean en todo momento notablemente menores. De tal funcionamiento debe esperarse también una intervención importante de las micorrizas VA, de lo contrario los nutrientes serían lixiviados y la vegetación a largo plazo desaparecería.

Los porcentajes de raicillas vivas medidas en igual fecha fueron en Vallecito, Majagual y el Pastizal respectivamente 30,0, 56,0 y 74,1% lo cual confirma los resultados obtenidos (Fiala y Herrera, resultados no publicados).

Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramatricial VA (MEVA). En el bosque tropical de la Sierra del Rosario (Vallecito), las biomásas de raicillas presentes en varias muestras de troncos en descomposición o las producidas al añadir distintas dosis de material orgánico fueron hasta 2,8 veces mayores que en la estera radical o el control sin material orgánico añadido, respectivamente. En iguales condiciones de crecimiento las biomásas de micelio VA o el micelio producido fueron respectivamente (como promedio) 28 y 256 veces mayores. Se demuestra que ambos órganos de absorción de nutrientes (raicillas y micelio VA) funcionan a escalas espaciales no comparables y las raicillas, en los sitios ricos nutrimentalmente, responden más con un aumento en la producción de pelos radicales que con un aumento notable de su propia biomasa. De acuerdo con los resultados obtenidos, que pueden ser consultados en los trabajos de Herrera *et al.*, (1985 e) y Orzoco *et al.* (1985) se demuestra que un gramo de micelio extramatricial VA puede agregar de 21 a 133 g de material orgánico en la forma de partículas menores de 0,5 mm, o probablemente su equivalente en arena silíceas de 248 a 1569 g. Se discute la utilización del concepto de "micrositio rico en nutrientes" de acuerdo a como es utilizado por St. John *et al.* (1983 a y b) al estudiar ambos órganos de absorción.

Distribución de frecuencias de las biomásas de MEVA. Fueron analizados 54 datos correspondientes a las biomásas o producciones de MEVA ($\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$) para estudiar la distribución de sus frecuencias al ser organizados a intervalos de $2 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Se demostró la veracidad de la hipótesis propuesta por St. John *et al.* (1983 b) acerca de que las biomásas de MEVA en la naturaleza se presentan de acuerdo con una distribución binomial negativa, en la cual la mayoría de los datos aparecen a la izquierda de la media en el gráfico de frecuencias. Se comprueba que al transformar los datos originales (x) a $x' = \log(x + 1)$ ocurre una normalización de los resultados. Al aplicar el Test de Bartlett a los datos x o x' se comprobó que sólo los segundos poseen varianzas homogéneas. Esto, unido a la normalización de los datos originales posibilita la aplicación del análisis

de Varianza y posterior Test de Rangos Múltiples de Duncan para conocer las diferencias significativas entre las medias.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en Cuba, entre los cuales la mayor biomasa se encontró en los troncos en descomposición, y ascendió hasta $1,6 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, consideramos que un máximo posible a encontrar en la naturaleza en condiciones ideales podría llegar a $2,0 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ y por lo tanto, los máximos valores reportados por Nicolson y Johnston (1979) ascendentes a $4,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ en una duna arenosa parecen haber sido altamente sobrevalorados. Este valor demostraría, de ser real, la existencia de casi tanto micelio extramatricial VA como las mayores biomásas de raicillas que han sido colectadas en un pastizal húmedo ($4,7 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) y bastante más que las de los dos bosques tropicales estudiados, Vallecito ($2,1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$) y Majagual ($1,3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$). Los resultados referidos en este epígrafe pueden ser consultados en el trabajo de Herrera (1985 b).

Biomasa y producción de MEVA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. Fueron colectadas las capas correspondientes a la estera radical o el suelo rico en material orgánico en Vallecito y Majagual respectivamente (0-3 cm), los dos primeros cm de suelo mineral (3-5 cm) y las capas subyacentes (5-10 y 10-15 cm). En el Pastizal las capas correspondientes de 0-15cm a intervalos de 5 cm fueron colectadas. Las biomásas de MEVA presentes en las distintas capas del suelo de los tres ecosistemas demostró que al igual que las raicillas, en Vallecito el MEVA tendió a acumularse significativamente en la estera radical, mientras que en el Pastizal la distribución pareció ser más uniforme, tal vez debido a la mayor lixiviación de los nutrientes por la velocidad más rápida de descomposición. Aunque en Majagual las raicillas tuvieron una distribución bastante uniforme, el micelio se acumuló también significativamente en la superficie (0-3 cm).

Aunque sólo se presentaron diferencias entre el Majagual y el Pastizal, las cantidades de MEVA por raicilla ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) parecen variar de acuerdo con el ecosistema y tal vez más probablemente con las especies dominantes en cada caso. Se comprobó una tendencia de los valores de micelio:raicilla a aumentar hacia las capas más profundas del suelo. Esta tendencia fue ligera en Vallecito y Majagual y altamente significativa en el Pastizal. La relación entre el micelio producido durante un mes y la biomasa total varío para los tres ecosistemas. Estos valores fueron para Vallecito, Majagual y Pastizal, respectivamente 0,542, 0,555 y 0,756, lo cual estuvo quizás relacionado con una tasa de renovación más alta del MEVA en el Pastizal, y por tanto una mayor descomposición, al menos durante los meses de menor pluviosidad en que se realizó el experimento (Herrera *et al.*, 1985 f).

Estrategia nutricional de los bosques tropicales. Entre las investigaciones realizadas se incluyó el análisis nutrimental

y el estudio de las características físicas de los suelos de Vallecito, Majagual y Pastizal. Este trabajo (Hernández *et al.*, 1985) incluyó la comparación de los niveles nutrimentales y su distribución vertical con las biomásas de raicillas totales, vivas y muertas, así como sus densidades por unidad de volumen. Entre otros resultados, se comprobó que el Pastizal presentó concentraciones de nutrientes y de materia orgánica mucho menores que en los bosques, lo cual evidenció la existencia de otras causas para explicar las mayores biomásas de MEVA en este ecosistema.

Colateralmente fueron también estudiadas las capacidades reguladoras del pH en las distintas capas del suelo de Vallecito y Majagual. Al comparar ambos bosques se evidenció una capacidad buffer mayor en el suelo de Vallecito para contrarrestar más los pH altos, mientras que en Majagual la capacidad buffer demostró contrarrestar más los pH bajos (ácidos). Los resultados fueron explicados entre otros factores sobre la base de los mayores contenidos de Ca y Mg en las hojas de *H. elatus* presentes en el Majagual (Ruiz y Herrera, 1985).

Finalmente, se realizó una investigación para conocer la influencia de las características estructurales y texturales de dos suelos sobre las biomásas de MEVA. Ambos suelos, homogeneizados por separado con turba de musgo y arena silíceas dieron mezclas con contenidos similares y abundantes de material orgánico listo para descomponer. Las mezclas permanecieron durante 7 meses en Vallecito, Majagual y Pastizal. Fue examinada la influencia de ambas mezclas sobre las biomásas de raicillas, MEVA, relaciones micelio:raicilla y cantidades de material orgánico descompuesto durante el período experimental. Ambas mezclas tuvieron efectos distintos sobre los indicadores medidos en los tres ecosistemas. La discusión de los resultados obtenidos incluye la comparación con las distribuciones verticales de las raicillas y nutrientes en las tres áreas. Se hace énfasis en el papel de la ostra radical o la capa rica en materia orgánica presentes en los bosques estudiados. Se concluye que no sólo la materia orgánica, sino también las cantidades de raicillas presentes en el ecosistema, los factores climáticos, edáficos, así como otros factores pueden influir directa o indirectamente sobre las biomásas de MEVA. Se proponen algunas hipótesis acerca de las tasas de renovación características para el MEVA en cada formación vegetal. Los resultados pueden consultarse en Herrera *et al.* (1985g).

Perspectivas para el estudio de las micorrizas VA y su utilización en los planes de repoblación forestal en Cuba.

Los resultados obtenidos han hecho evidente que la selección de cepas de hongos VA eficientes y su producción masiva a escala industrial pueden constituir un gran beneficio para el éxito de la repoblación forestal en Cuba. Se ha demostrado, que al igual que en otros países la simbiosis VA constituye una valiosísima ayuda para mejorar tanto el crecimiento de

las posturas de distintos forestales como el balance ecológico de un ecosistema. Entre las ventajas adicionales de la simbiosis podrían explotarse en el futuro las que se refieren a contrarrestar los efectos dañinos de la erosión, principal impacto del hombre en nuestro país conformado por un archipiélago de numerosas islas y cayos. También debe tenerse en cuenta para el futuro la selección de cepas de hongos VA resistentes a los niveles altos de salinidad.

Por el momento se dan los primeros pasos a nivel nacional para modificar aquellas normas técnicas de la agricultura cubana que puedan potencialmente dañar la existencia de la simbiosis en distintos cultivos. Este trabajo será realizado bajo la dirección de la Academia de Ciencias de Cuba en colaboración con las distintas instituciones y empresas agropecuarias del Ministerio de la Agricultura en nuestro país.

Se realizan simultáneamente los primeros ensayos para producir masivamente los hongos VA utilizando un sistema modificado químico y estructuralmente a partir del propuesto por Mosse y Thompson (1984). Del sistema en ensayo esperamos obtener grandes cantidades de inóculo ligero que permitirán pensar en la extensión del uso de las micorrizas a otros cultivos que no dependen de una fase de vivero o semillero.

Mientras no se compruebe totalmente la técnica anterior, las micorrizas podrán ser extendidas, a partir del año próximo a aquellos viveros de forestales, cítricos o tabaco, donde ya se conocen los efectos de especies VA determinadas. La utilización de estos resultados podrá extenderse de acuerdo con las técnicas de producción de inóculo pesado (con plantas y suelo).

Los estudios ecológicos de la simbiosis VA en varios ecosistemas contribuirán seguramente a conocer más profundamente su funcionamiento de modo que se cuente con un banco de datos suficientemente grande como para realizar trabajos de monitoreo. Es necesario contar con un conocimiento amplio de estos aspectos con vistas a lograr reproducir artificialmente tantas características como se pueda del funcionamiento del bosque original. Para ello, el grupo de Ecología del Instituto de Botánica, que ha realizado y ampliará el estudio ecológico integral del bosque siempreverde de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario, garantizará la consecución de los objetivos propuestos. En este sentido podrá obtenerse la información necesaria próximamente (Herrera *et al.*, 1985 h).

Otros estudios estarán encaminados al aprovechamiento de otros microorganismos biofertilizadores en conjunción con las micorrizas VA. En cuanto a esto, M.O. Orozco, beneficiario también de la IFS está realizando algunos experimentos con vistas a lograr una base sólida para la futura introducción en la práctica de los resultados.

El crecimiento del grupo cubano para el estudio de las

En cuanto al Pastizal, las mayores velocidades de descomposición implican probablemente mayores tasas de renovación. En este tipo de ecosistema el ciclo de nutrientes ocurre quizás a una velocidad mucho mayor que en los bosques causando que los contenidos de materia orgánica y de nutrientes sean en todo momento notablemente menores. De tal funcionamiento debe esperarse también una intervención importante de las micorrizas VA, de lo contrario los nutrientes serían lixiviados y la vegetación a largo plazo desaparecería.

Los porcentajes de raicillas vivas medidas en igual fecha fueron en Vallecito, Majagual y el Pastizal respectivamente 30,0, 56,0 y 74,1% lo cual confirma los resultados obtenidos (Fiala y Herrera, resultados no publicados).

Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramatricio VA (MEVA). En el bosque tropical de la Sierra del Rosario (Vallecito), las biomasa de raicillas presentes en varias muestras de troncos en descomposición o las producidas al añadir distintas dosis de material orgánico fueron hasta 2,8 veces mayores que en la estera radical o el control sin material orgánico añadido, respectivamente. En iguales condiciones de crecimiento las biomasa de micelio VA o el micelio producido fueron respectivamente (como promedio) 28 y 256 veces mayores. Se demuestra que ambos órganos de absorción de nutrientes (raicillas y micelio VA) funcionan a escalas espaciales no comparables y las raicillas, en los sitios ricos nutricionalmente, responden más con un aumento en la producción de pelos radicales que con un aumento notable de su propia biomasa. De acuerdo con los resultados obtenidos, que pueden ser consultados en los trabajos de Herrera *et al.* (1985 e) y Orzoco *et al.* (1985) se demuestra que un gramo de micelio extramatricio VA puede agregar de 21 a 133 g de material orgánico en la forma de partículas menores de 0,5 mm, o probablemente su equivalente en arena silicea de 248 a 1569 g. Se discute la utilización del concepto de "micrositio rico en nutrientes" de acuerdo a como es utilizado por St. John *et al.* (1983 a y b) al estudiar ambos órganos de absorción.

Distribución de frecuencias de las biomasa de MEVA. Fueron analizados 54 datos correspondientes a las biomasa o producciones de MEVA ($mg \cdot dm^{-3}$) para estudiar la distribución de sus frecuencias al ser organizados a intervalos de $2 \cdot mg \cdot dm^{-3}$. Se demostró la veracidad de la hipótesis propuesta por St. John *et al.* (1983 b) acerca de que las biomasa de MEVA en la naturaleza se presentan de acuerdo con una distribución binomial negativa, en la cual la mayoría de los datos aparecen a la izquierda de la media en el gráfico de frecuencias. Se comprueba que al transformar los datos originales (x) a $x' = \log(x + 1)$ ocurre una normalización de los resultados. Al aplicar el Test de Bartlett a los datos x o x' se comprobó que sólo los segundos poseen varianzas homogéneas. Esto, unido a la normalización de los datos originales posibilita la aplicación del análisis

de Varianza y posterior Test de Rangos Múltiples de Duncan para conocer las diferencias significativas entre las medias.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en Cuba, entre los cuales la mayor biomasa se encontró en los troncos en descomposición, y ascendió hasta $1,6 \cdot g \cdot dm^{-3}$, consideramos que un máximo posible a encontrar en la naturaleza en condiciones ideales podría llegar a $2,0 \cdot g \cdot dm^{-3}$ y por lo tanto, los máximos valores reportados por Nickson y Johnston (1979) ascendentes a $4,5 \cdot g \cdot dm^{-3}$ en una duna arenosa parecen haber sido altamente sobrevalorados. Este valor demostraría, de ser real, la existencia de casi tanto micelio extramatricio VA como las mayores biomasa de raicillas que han sido colectadas en un pastizal húmedo ($4,7 \cdot g \cdot dm^{-3}$) y bastante más que las de los dos bosques tropicales estudiados, Vallecito ($2,1 \cdot g \cdot dm^{-3}$) y Majagual ($1,3 \cdot g \cdot dm^{-3}$). Los resultados referidos en este epígrafe pueden ser consultados en el trabajo de Herrera (1985 b).

Biomasa y producción de MEVA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. Fueron colectadas las capas correspondientes a la estera radical o el suelo rico en material orgánico en Vallecito y Majagual respectivamente (0-3 cm), los dos primeros cm de suelo mineral (3-5 cm) y las capas subyacentes (5-10 y 10-15 cm). En el Pastizal las capas correspondientes de 0-15cm a intervalos de 5 cm fueron colectadas. Las biomasa de MEVA presentes en las distintas capas del suelo de los tres ecosistemas demostró que al igual que las raicillas, en Vallecito el MEVA tendió a acumularse significativamente en la estera radical, mientras que en el Pastizal la distribución pareció ser más uniforme, tal vez debido a la mayor lixiviación de los nutrientes por la velocidad más rápida de descomposición. Aunque en Majagual las raicillas tuvieron una distribución bastante uniforme, el micelio se acumuló también significativamente en la superficie (0-3 cm).

Aunque sólo se presentaron diferencias entre el Majagual y el Pastizal, las cantidades de MEVA por raicilla ($\mu g \cdot mg^{-1}$) parecen variar de acuerdo con el ecosistema y tal vez más probablemente con las especies dominantes en cada caso. Se comprobó una tendencia de los valores de micelio:raicilla a aumentar hacia las capas más profundas del suelo. Esta tendencia fue ligera en Vallecito y Majagual y altamente significativa en el Pastizal. La relación entre el micelio producido durante un mes y la biomasa total varío para los tres ecosistemas. Estos valores fueron para Vallecito, Majagual y Pastizal, respectivamente 0,542, 0,555 y 0,756, lo cual estuvo quizás relacionado con una tasa de renovación más alta del MEVA en el Pastizal, y por tanto una mayor descomposición, al menos durante los meses de menor pluviosidad en que se realizó el experimento (Herrera *et al.*, 1985 f).

Estrategia nutricional de los bosques tropicales. Entre las investigaciones realizadas se incluyó el análisis nutricional

y el estudio de las características físicas de los suelos de Vallecito, Majagual y Pastizal. Este trabajo (Hernández *et al.*, 1985) incluyó la comparación de los niveles nutrimentales y su distribución vertical con las biomásas de raicillas totales, vivas y muertas, así como sus densidades por unidad de volumen. Entre otros resultados, se comprobó que el Pastizal presentó concentraciones de nutrientes y de materia orgánica mucho menores que en los bosques, lo cual evidenció la existencia de otras causas para explicar las mayores biomásas de MEVA en este ecosistema.

Colateralmente fueron también estudiadas las capacidades reguladoras del pH en las distintas capas del suelo de Vallecito y Majagual. Al comparar ambos bosques se evidenció una capacidad buffer mayor en el suelo de Vallecito para contrarrestar más los pH altos, mientras que en Majagual la capacidad buffer demostró contrarrestar más los pH bajos (ácidos). Los resultados fueron explicados entre otros factores sobre la base de los mayores contenidos de Ca y Mg en las hojas de *H. elatus* presentes en el Majagual (Ruiz y Herrera, 1985).

Finalmente, se realizó una investigación para conocer la influencia de las características estructurales y texturales de dos suelos sobre las biomásas de MEVA. Ambos suelos, homogeneizados por separado con turba de musgo y arena silíceas dieron mezclas con contenidos similares y abundantes de material orgánico listo para descomponer. Las mezclas permanecieron durante 7 meses en Vallecito, Majagual y Pastizal. Fue examinada la influencia de ambas mezclas sobre las biomásas de raicillas, MEVA, relaciones micelio:raicilla y cantidades de material orgánico descompuesto durante el período experimental. Ambas mezclas tuvieron efectos distintos sobre los indicadores medidos en los tres ecosistemas. La discusión de los resultados obtenidos incluye la comparación con las distribuciones verticales de las raicillas y nutrientes en las tres áreas. Se hace énfasis en el papel de la esfera radical o la capa rica en materia orgánica presentes en los bosques estudiados. Se concluye que no sólo la materia orgánica, sino también las cantidades de raicillas presentes en el ecosistema, los factores climáticos, edáficos, así como otros factores pueden influir directa o indirectamente sobre las biomásas de MEVA. Se proponen algunas hipótesis acerca de las tasas de renovación características para el MEVA en cada formación vegetal. Los resultados pueden consultarse en Herrera *et al.* (1985g).

Perspectivas para el estudio de las micorrizas VA y su utilización en los planes de repoblación forestal en Cuba.

Los resultados obtenidos han hecho evidente que la selección de cepas de hongos VA eficientes y su producción masiva a escala industrial pueden constituir un gran beneficio para el éxito de la repoblación forestal en Cuba. Se ha demostrado, que al igual que en otros países la simbiosis VA constituye una valiosísima ayuda para mejorar tanto el crecimiento de

las posturas de distintos forrestales como el balance ecológico de un ecosistema. Entre las ventajas adicionales de la simbiosis podrían explotarse en el futuro las que se refieren a contrarrestar los efectos dañinos de la erosión, principal impacto del hombre en nuestro país conformado por un archipiélago de numerosas islas y cayos. También debe tenerse en cuenta para el futuro la selección de cepas de hongos VA resistentes a los niveles altos de salinidad.

Por el momento se dan los primeros pasos a nivel nacional para modificar aquellas normas técnicas de la agricultura cubana que puedan potencialmente dañar la existencia de la simbiosis en distintos cultivos. Este trabajo será realizado bajo la dirección de la Academia de Ciencias de Cuba en colaboración con las distintas instituciones y empresas agropecuarias del Ministerio de la Agricultura en nuestro país.

Se realizan simultáneamente los primeros ensayos para producir masivamente los hongos VA utilizando un sistema modificado química y estructuralmente a partir del propuesto por Mosse y Thompson (1984). Del sistema en ensayo esperamos obtener grandes cantidades de inóculo ligero que permitirán pensar en la extensión del uso de las micorrizas a otros cultivos que no dependen de una fase de vivero o semillero.

Mientras no se compruebe totalmente la técnica anterior, las micorrizas podrán ser extendidas, a partir del año próximo a aquellos viveros de forestales, cítricos o tabaco, donde ya se conocen los efectos de especies VA determinadas. La utilización de estos resultados podrá extenderse de acuerdo con las técnicas de producción de inóculo pesado (con plantas y suelo).

Los estudios ecológicos de la simbiosis VA en varios ecosistemas contribuirán seguramente a conocer más profundamente su funcionamiento de modo que se cuente con un banco de datos suficientemente grande como para realizar trabajos de monitoreo. Es necesario contar con un conocimiento amplio de estos aspectos con vistas a lograr reproducir artificialmente tantas características como se pueda del funcionamiento del bosque original. Para ello, el grupo de Ecología del Instituto de Botánica, que ha realizado y ampliará el estudio ecológico integral del bosque siempreverde de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario, garantizará la consecución de los objetivos propuestos. En este sentido podrá obtenerse la información necesaria próximamente (Herrera *et al.*, 1985 h).

Otros estudios estarán encaminados al aprovechamiento de otros microorganismos biofertilizadores en conjunción con las micorrizas VA. En cuanto a esto, M.O. Orozco, beneficiaria también de la IPS está realizando algunos experimentos con vistas a lograr una base sólida para la futura introducción en la práctica de los resultados.

El crecimiento del grupo cubano para el estudio de las

micorrizas hará posible la obtención de los objetivos propuestos. En este sentido la Fundación Internacional para la Ciencia ha prestado y prestará una valiosísima contribución de la que los cubanos quedaremos siempre profundamente agradecidos.

Tabla 5. Relación de los investigadores que actualmente colaboran con el estudio de las micorrizas en Cuba

NOMBRE	ESPECIALIDAD	TEMA DE TRABAJO
Teresa Cabrera (A)	Agronomía(EM)	Producción de inóculo y utilización en pino
Aguedo Cárdenas (B)	Agronomía(EM/VA)	Utilización en forestales
Nilades Bouza (A)	Botánica (VA)	Utilización en cítricos
Lourdes Díaz (B)	Agronomía (VA)	Utilización en tabaco (somilleros y campo)
Anayrad Ferrer (A)	Botánica (EM/VA)	Utilización en forestales
Roberto L. Ferrer (A)	Botánica (VA)	Producción y utilización inóculos
Eduardo Furrázola (A)	Botánica (VA)	Taxonomía y relaciones MVA-salinidad
Julio C. García (B)	Bioquímica(EM/VA)	Bioquímica del crecimiento hongos EM y VA
Guillermina Hernández (B)	Química (VA)	Nutrientes y micorrizas VA
María E. Hernández(B)	Microbiología(VA)	Relaciones MVA-patógenos
Ricardo A. Herrera(A)	Botánica (VA/EM)	Ecología micorrizas y repoblación forestal
Sara Herrera (B)	Botánica (EM)	Taxonomía y producción hongos ectomicorrizógenos
Grisek Herrero (B)	Química (EM)	Nutrición y micorrizas
María O. Orozco (A)	Microbiología(VA)	Relaciones MVA-otros biofertilizantes
Caridad Páez (A)	Agronomía (VA)	Micorrizas en tabaco (somilleros y campo)
María F. Rodríguez(B)	Microbiología(VA)	Descomposición materia orgánica y MVA
Margarita Ruiz (A)	Botánica (EM/VA)	Bioquímica y producción hongos EM y VA

A, principal área de trabajo científico; B, área secundaria de trabajo científico; EM, ectomicorrizas; VA, endomicorrizas VA.

REFERENCIAS

Allen, M.F. y Doosalis, M.G.(1983): Effects of two species of

VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. *New Phytol.*, 93:67-76.

Allen, E.B. y Cunningham, G.I.(1983): Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Distichlis spicata* under three salinity levels. *New Phytol.*, 93:227-236.

Azcón-G. de Aguilar, C. y Barea, J.M. (1978): Effects of interactions between different culture fractions of "phosphobacteria" and *Rhizobium* on mycorrhizal infection, growth, and nodulation of *Medicago sativa*. *Can. J. Microbiol.*, 24:520-524.

Baylis, G.T.S. (1975): The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. En *Endomycorrhizas*(F.E. Sanders, B. Mosse, y P.B. Tinker, eds.), Academic Press, London, pp. 373-389.

Dethlenfalvay, G.J. y Pacovsky, R.S. (1983): Light effect in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiol.*, 73:969-972.

Carling, D.F. y Brown, M.F. (1982): Anatomy and physiology of vesicular-arbuscular and nonmycorrhizal roots. *Phytopathology*, 72:1108-1114.

Cox, G. y Sanders, F.E. (1974): Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.*, 73:901-912.

Dexheimer, J., Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. (1979): Ultrastructural cytochemistry of the host-fungus interfaces in the endomycorrhizal association *Glomus mosseae/Allium cepa*. *Z. Pflanzenphysiol.*, 92:191-206.

Dickson, L.A., Liberta, A.E. y Anderson, R.C. (1984): Ecological interactions of little bluestem and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.*, 62:2272-2277.

Diederichs, C. (1982): Influence of light on the efficacy of vesicular-arbuscular mycorrhiza in tropical and subtropical plants. I. Effect of light intensity under greenhouse conditions. *Angew. Botanik*, 96:325-333.

Ferrer, R.L. y Herrera, R.A.(1980): El género *Gigaspora* Gerd. et Trappe (Endogonaceae) en Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 1:43-66.

Ferrer, R.L. y Herrera, R.A.(1985): Especies micorrízicas cubanas. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, Vol. 6(en prensa).

Ferrer, R.L., Ruiz, M., Rodríguez, A. y Herrera, R.A. (1985 a): Características micotróficas de dos formaciones vegetales de la Estación Ecológica de Sierra del Rosario. *Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica*, 2-5 de julio de 1985, ACC, en prensa.

Ferrer, R.L., Herrera, R.A., Cárdenas, A. y Ruiz, M. (1985): Dependencia micorrízica de *Hibiscus elatus* Sw. y *Cedrela mexicana* M.J. Roem cultivadas en condiciones de vivero (en esta publicación).

Ferrer, A., Ferrer, R.L. y Herrera, R.A. (1985): Influencia

- de las micorrizas VA sobre el crecimiento de pasturas de Hibiscus elatus Sw. (majagua) y Cedrella mexicana M.J. Roem (cedro) en Topes de Collantes. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. En prensa.
- Furrazola, E., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L. (1985): Caracterización de las micorrizas vesículo-arbusculares en tres cafetales de Topes de Collantes. Preparado para publicar.
- Gerdemann, J.W. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhiza. En The development and function of roots (J.G. Torrey y D.T. Clarkson, eds.), Academic Press, London, pp. 575-591.
- Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963): Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. mycol. Soc., 46:235-244.
- Gerdemann, J.W. y Trappe, J.M. (1974): The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir No. 5. 75 p.
- Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. (1983): The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. Plant and Soil 71:197-209.
- Gianinazzi-Pearson, V. y Diem, H.G. (1982): Endomycorrhizae in the tropics. En Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity (Y.R. Dommergues y H.G. Diem, eds.) Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publ., The Hague, pp. 209-251.
- Gianinazzi, S., Doxheimer, J., Gianinazzi-Pearson, V. y Marx, C. (1983): Role of the host-arbuscule interface in the VA mycorrhizal symbiosis: ultracytological studies of processes involved in phosphate and carbohydrate exchange. Plant and Soil, 71:211-215.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. (1980): An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. New Phytol., 84:489-500.
- Graham, J.H., Lindermann, R.G. y Mengo, J.A. (1982): Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal Glomus spp. in relation to root colonization and growth of troyer citrange. New Phytol., 91:183-189.
- Graw, D. (1979): The influence of soil pH on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol., 82:687-695.
- Hall, I.R. y Fish, B.J. (1979): A key to the Endogonaceae. Trans. Br. mycol. Soc., 73:261-270.
- Harley, J.J. y Smith, S.E. (1983): Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London. 483 p.
- Hernández, G., Herrera, R.A., M. Lescaille, Izquierdo, T., y Hernández, L. (1985): Variaciones físico-químicas del sustrato en relación con la distribución vertical de las raicillas en un bosque siemprevivo tropical. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. ACC, En prensa.
- Hayman, D.S. (1970): Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Trans. Br. mycol. Soc., 54:53-63.

- Hayman, D.S. (1974): Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. New Phytol., 73:71-80.
- Herrera, R., Jordan, C.F., Klinge, H. y Medina, E. (1978a): Amazon ecosystems. Their structure and functioning with particular emphasis on nutrients. Interciencia, 3:223-232.
- Herrera, R., Merida, T., Stark, N. y Jordan, C.F. (1978b): Direct phosphorus transfer from leaf litter to roots. Naturwissenschaften, 65:108-109.
- Herrera, R.A. (1983): Distribution and significance of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Cuba. Tesis de Candidato a Doctor en Ciencias (Ph.D.), Praga, 253 p.
- Herrera, R.A. (1985 a): Características de los sistemas radicales de algunas especies arbóreas y ecosistemas en Cuba. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de julio de 1985. En prensa.
- Herrera, R.A. (1985 b): Distribución de frecuencias de las biomasa de micelio extramatricial vesículo-arbuscular. Preparado para publicar.
- Herrera, R.A. y Ferrer, R.L. (1984): Glosario de términos en español relativos al estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares. Acta Botánica Cubana, No. 20 (Especial), pp. 176 - 180.
- Herrera, R.A. y Ferrer, R.L. (1985): Riqueza florística de la familia Endogonaceae en Cuba. Preparado para publicar.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L. y Prikryl, Z. (1984 a): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripán. I. Descripción del método. Acta Botánica Cubana, No. 20 (Especial), pp. 143-158.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L. y Prikryl, Z. (1984 b): Determinación colorimétrica de la densidad de infección en micorrizas VA por extracción del azul de tripán. II. Comparación con otros métodos. Acta Botánica Cubana No.20(Especial)pp.159-175.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Orozco, M.O., Prikryl, Z., Hernández, G. y Vancura, V. (1984 c): Fertilización y micorrizas VA. I. Efectos del nitrógeno, el fósforo, y el potasio, sobre el crecimiento y las micorrizas de la majagua (Hibiscus elatus Sw.). Acta Botánica Cubana No. 20 (Especial). pp. 93-110.
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Orozco, M.O., Hernández, G. y Vancura, V. (1984 d): Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macroelementos en varios experimentos. Acta Botánica Cubana No. 20 (Especial), pp. 111-142.
- Herrera, R.A., Rodríguez, A. y Furrazola, E. (1985 a): Método para determinar la biomasa de micelio extramatricial vesículo-arbuscular, (en esta publicación).
- Herrera, R.A., Ferrer, R.L., Díaz, L., Torres, B. y Hernández, M.E. (1985 b): Utilización de las micorrizas vesículo-arbusculares en el cultivo del tabaco. Proceedings del Primer Simposio de Botánica, 2-5 de julio de 1985. (En prensa).

- Herrera, R.A., Furrázola, E., García, E.E., Capote, R.P. y Ruiz, M. (1985 c): Génesis y significación ecológica de las esteras radicales en bosques tropicales. Proceedings del Primer Simposio de Botánica, 2-5 de Julio de 1985 (En prensa).
- Herrera, R.A., Ruiz, M., Rodríguez, M., Carrillo, M., Rodríguez, A. y Furrázola, E. (1985 d): Biomasa de raíces en varios ecosistemas boscosos de Cuba. Proceedings del Primer Simposio de Botánica, 2-5 de Julio de 1985 (En prensa).
- Herrera, R.A., Rodríguez, A., Ruiz, M., y Furrázola, E. (1985 e): Influencia de la materia orgánica sobre la producción de micelio extramático VA en un bosque tropical. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de Julio de 1985 (En prensa).
- Herrera, R.A., Orozco, M.O., Rodríguez, A., Ruiz, M. y Furrázola, E. (1985 f): Biomasa y producción de micelio extramático VA en dos formaciones boscosas y un pastizal húmedo. Proceedings del Primer Simposio Cubano de Botánica, 2-5 de Julio de 1985 (En prensa).
- Herrera, R.A., Rodríguez, M.E., Orozco, M.O., Ferrer, R.L., Ruiz, M., y Furrázola, E. (1985 g): Estrategia nutricional de los bosques tropicales: la estera radical y las micorrizas VA, (en esta publicación).
- Herrera, R.A., Monóndez, L. y Rodríguez, M.E. (eds.) (1985 h): Estudio ecológico del bosque siempreverde submontano de Sierra del Rosario. Proyecto MAR No. 1, 1974-1984. Preparado para publicar.
- Hirrel, M.C. y Gerdemann, J.W. (1980): Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soc. Am. J., 44:654-655.
- Jakobsen, I. y Nielson, N.F. (1983): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field-grown crops. I. Mycorrhizal infection in cereals and peas at various times and soil depths. New Phytologist, 93:401-413.
- Janos, D.P. (1980): Mycorrhizae influence tropical succession. Tropical Succession, 56-64, 83-95.
- Jenik, J. (1978): Roots and root systems in tropical trees: morphologic and ecologic aspects. En Tropical trees as living systems (P.N. Tomlinson y M.H. Zimmerman, eds.). Cambridge University Press. pp. 323-349.
- Khan, A.H. (1974): The occurrence of mycorrhizas in halophytes and xerophytes and of Endogone spores in adjacent soils. J. Gen. Microbiol., 81:7-14.
- Koske, R.E., Sutton, J.C. y Sheppard, R.R. (1975): Ecology of Endogone in Lake Huron sand dunes. Can. J. Bot., 53:87-93.
- Lovy, Y., Dodd, J. y Krikun, J. (1983): Effect of irrigation, water salinity and rootstock on the vertical distribution of vesicular-arbuscular mycorrhiza in citrus roots. New Phytol., 95:397-403.
- Marsh, B. a'B. (1971): Measurement of length in random arrangements of lines. J. appl. Ecol., 8:265-267.

- Monge, J.A. y Johnson, E.L.V. (1978): Commercial production of mycorrhizal inoculum may benefit citrus growers. Citrograph, abril, 1987, pp. 139-143.
- Moyer, F.H. (1973): Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. En Ectomycorrhizae (G.C. Marks y T.T. Koslowski eds.) Academic Press, London, pp. 79-106. En Mosse, 1982.
- Moavad, M. (1979): Ecophysiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza in the tropics. En The soil-root interface (J.L. Harley y R.S. Russell eds.) Academic Press, London, pp.197-209.
- Mosse, B. (1982): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical agriculture. Research Bulletin 194, Hawaii Institute of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii. 82 p.
- Mosse, B., Stribley, D.P. y Le Tacon, F. (1981): Ecology of Mycorrhizae and Mycorrhizal fungi. Advances in Microbial Ecology (M. Alexander, ed.) Plenum Press, pp. 137-209
- Mosse, B. y Thompson, J.P. (1984): Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production. I. Exploratory experiments with beans (*Phaseolus vulgaris*) in nutrient flow culture. Can. J. Bot., 62:1523-1530.
- Nelson, C.E. y Safir, G.R. (1981): Increased drought resistance in onion plants by mycorrhizal infection. Planta, manuscrito.
- Nicolson, T.H. y Johnston, C. (1979): Mycorrhiza in the Gramineae. III. Gleocium fasciculatus as the endophyte of pioneer grasses in a maritime sand dune. Trans. Br. mycol. Soc., 72: 261-268.
- Ocampo, J.A. (1980): Micorrizas VA. III. Ecología. Anales de Edafología y Agrobiología, 39:1071-1088.
- Orozco, M.O., Fernández, C., Prikryl, Z., Vancura, V. y Herrera, R.A. (1984): Observaciones del micelio extramático de las micorrizas vesículo-arbusculares al microscopio electrónico de barrido. Acta Botánica Cubana, No. 20 (Especial), pp. 88-92.
- Orozco, M.O., Rodríguez, M.E., Herrera, R.A. y Ferrer, R.L. (1985): Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. En esta publicación.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S. (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. mycol. Soc., 55:158-161.
- Plenchette, C. (1982): Les endomycorrhizes à vésicules et arbuscules (VA): un potentiel à exploiter en agriculture. Phytoprotection, 63:86-108.
- Pond, E.C., Menge, J.A. y Jarrell, W.M. (1984): Improved growth of tomato in salinized soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi collected from saline soils. Mycologia, 76:74-84.

- Rodríguez, M.F., Martínez, M.A., Herrera, R.A. y Carrillo, M. (1985): Descomposición de las raicillas y mesofauna asociada en tres ecosistemas de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. Proceedings del Primer Simposio de Botánica, 2-5 de julio de 1985, ACC (En prensa).
- Ruiz, M. y Herrera, R.A. (1985): Influencia de la materia orgánica sobre la capacidad reguladora del pH de las capas superficiales de los suelos de bosque tropical. Proceedings del Primer Simposio de Botánica, 2-5 de julio de 1985, ACC (En prensa).
- Saif, S.R. (1983): Soil temperature, soil oxygen and growth of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of Eupatorium odoratum L. and development of Glomus macrocarpum. Angew. Botanik 57:143-155.
- Sanders, F.E. y Sheikh, N.A. (1983): The development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems. Plant and Soil, 71:223-246.
- Schenck, N.C. (1981): Can mycorrhizae control root disease? Plant Disease, 65:230-234.
- Schenck, N.C. (ed.) (1982): Methods and principles of mycorrhizal research. The American Phytopathological Society, USA, 244 p.
- Skipper, H.D. y Smith, G.W. (1979): Influence of soil pH on the soybean-endomycorrhiza symbiosis. Plant and Soil, 53:559-563.
- Stark, N. (1970): The nutrient content of plants and soils from Brazil and Surinam. Biotropica, 2:51-60.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 a): Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. Ecology, 64:957-959.
- St. John, T.V., Coleman, D.C. y Reid, C.P.P. (1983 b): Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity. Plant and Soil, 71: 487-493.
- Sutton, J.C. y Sheppard, B.R. (1976): Aggregation of sand-dune soil by endomycorrhizal fungi. Can. J. Bot., 54:326-333.
- Went, F.W. y Stark, N. (1968): Mycorrhiza. BioScience, 18:1035-1039. En Stark, 1970.
- Yawney, W.J., Schultz, R.C. y Kormanik, P.P. (1982): Soil phosphorus and pH influence the growth of mycorrhizal sweetgum. Soil Sci. Soc. Am. J., 46:1315-1320.

SOBREVIVENCIA Y CRECIMIENTO DE PINOS CON ECTOMICORRIZA ESPECIFICA DESPUES DE TRES AÑOS EN UN SITIO ALTAMENTE EROSIONADO

POR

María Valdés
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
Instituto Politécnico Nacional
Apdo. 63-246. 02800 México, D. F.

RESUMEN

Plántulas de pino provenientes de vivero donde fueron inoculadas con micelio vegetativo de Pisolithus tinctorius, Laccaria laccata y P. tinctorius más el saprofítico Lepiota lutea, fueron transplantadas en el sitio severamente erosionado del Valle de México.

Después de tres años, la plántulas micorrizadas inicialmente por P. tinctorius mas L. lutea mostraron la mejor sobrevivencia. Las plántulas micorrizadas con este mismo simbionte con o sin L. lutea también presentaron mayor altura, mayor diámetro del tallo y mayor volumen que las plántulas micorrizadas con L. laccata o micorrizadas espontáneamente (Testigos).

El volumen promedio de las plántulas con P. tinctorius solo con L. lutea fué 538% y 423% respectivamente mayor que las plántulas testigo. Se discute el potencial de la utilización de P. tinctorius en beneficio de los programas de reforestación de México.

ABSTRACT

Container-growth pine seedlings inoculated with vegetative mycelium of Pisolithus tinctorius, laccaria or P. tinctorius plus the saprophytic Lepiota lutea were outplanted on a highly eroded reforestation site in Mexico.

After three years, seedlings initially colonized by P. tinctorius plus L. lutea had the best survival. Seedlings with P. tinctorius mycorrhizae (either alone or with L. lutea) had greater height, stem diameter and seedling volume than seedlings with L. laccata or control seedlings.

The average volume of seedlings with P. tinctorius or with P. tinctorius plus L. lutea were greater 538% and 423% respectively that noninoculated seedlings having only naturally occurring ectomycorrhizae. The potential benefit of utilizing P. tinctorius inoculation in reforestation programs in Mexico is discussed.

* Trabajo ya enviado para posible publicación en el Can. J. Bot.

INTRODUCCION

El desarrollo ectomicorrícico es esencialmente para el establecimiento exitoso de especies de pino en áreas desforestadas (Vozzo y HacsKaylo, 1971; Mikola, 1973).

La ectomicorriza incrementa el área superficial de las raíces mejorando la absorción y acumulación especialmente de los iones menos móviles como el PO₄, y da protección contra enfermedades (Marx y Krupa, 1978).

El sualo donde crecen árboles con ectomicorriza es usado como inóculo en muchos países para asegurar el desarrollo de la ectomicorriza en plántulas de pino creciendo en vivero (Mikola, 1973). En México esta práctica se lleva a cabo con éxito.

El uso de hongos ectomicorrícicos específicos ha mejorado el rendimiento de plántulas de pino en vivero y campo en varias partes del mundo (Mosser, 1958; Takacs, 1967; Donald, 1975; Marx y Bryan, 1975). Por ejemplo, en Estados Unidos la ectomicorriza formada por Pisolithus tinctorius (Pers.) Cocker and Couch ha mejorado el rendimiento en campo de pinos en sitios de reforestación (Marx et al. 1977) y en sitios erosionados (marx y Artman, 1979). Este hongo es recomendable dada su amplia gama de hospederos (Marx, 1977) y su capacidad para crecer bajo diversas condiciones edáficas (Marx, 1980).

En México, las áreas que requieren reforestación están severamente erosionadas y el subsuelo expuesto está generalmente compacto, seco, rocoso y de baja fertilidad. Por otro lado, las prácticas de vivero de uso común en México favorecen el desarrollo de hongos ectomicorrícicos que son capaces de crecer en suelo de alta humedad y fertilidad. Muchos fracasos en el transplante a campo podrían ser provocados por la incapacidad de los hongos del vivero de sobrevivir y crecer en lo sitios de reforestación severamente perturbados.

El propósito de este experimento fué estudiar los efectos de dos hongos ectomicorrícicos y un hongo saprófito, sobre el crecimiento y desarrollo micorrícico de plántulas de pino en vivero y sobre el rendimiento en campo de plántulas sembradas en un sitio desforestado fuertemente erosionado. Este sitio está incluido en el programa de reforestación del Valle de México de la Subsecretaría Forestal Mexicana.

MATERIALES Y METODOS

Los hongos fueron donados por D. H. Marx, del Servicio Forestal en Athens, Georgia, Estados Unidos.

Los hongos fueron preparados en una mezcla esterilizada en autoclave de perlita; turba; solución nutritiva (840:60:6000 ml) a 28°C por tres meses. El método de

propagación es el de Marx y Bryan (1975) excepto que la vermiculita fue sustituida por perlita.

El inóculo fue lavado con agua corriente para eliminar los nutrientes no asimilables (Marx y Bryan, 1975) y almacenado a 5°C en bolsas de plástico dos semanas antes de usarse.

Psilolithus tinctorius fue probado dados sus éxitos en sitios pobres y su presencia en México (Guzmán, 1974). Laccaria laccata (scop. ex Pr.) Berk, and Br. es también común en México y fue escogida por su capacidad de formar ectomicorriza con pino (Bryan y Zak, 1961; Zak y Bryan, 1962). El hongo saprofitico Lepiota lutea (Bolt.) Quel. fue usado porque en experimentos preliminares estimuló el crecimiento de plántulas de pino (Valdés, 1974) y podría ser efectivo estimulando la ectomicorriza en campo.

Dos importantes especies de pino mexicanos, Pinus michoacana Martínez y P. pseudostrobus Lindl. fueron seleccionados para el ensayo. Se ha comprobado que ambos son hospederos para P. tinctorius (Marx, 1975), y además muestran buena respuesta de crecimiento bajo condiciones adversa (Valdés et al., 1983).

Fase de vivero

El experimento fue realizado en el vivero Leyes de Reforma, 30 Km al este de la Cd. de México, utilizandose el siguiente procedimiento: un suelo limoso de bosques de pino fue mezclado con arena en una proporción 2:1 y fumigado con bromuro de metilo (Dow Chemicalco.) cubriéndolo con plástico transparente por tres días y dejandolo aerear otros tres días antes de su uso. Los lotes de prueba fueron colocados en almácigos, cada lote fue de 1,25 m de largo por 1.50 m de ancho. El diseño experimental fue de bloques al azar. Los tratamientos fueron los siguientes:

- | | |
|-------------------------------------------|-------------------------------|
| <u>P. pseudostrobus</u> | <u>P. michoacana</u> |
| 1. <u>P. tinctorius</u> (Pt) | 5. <u>P. tinctorius</u> (P.t) |
| 2. <u>L. laccata</u> (Lla) | 6. Testigo |
| 3. <u>L. lutea</u> + <u>P. tinctorius</u> | |
| 4. Testigo. | |

La mezcla de suelo de los lotes del almácigo fue inoculado con herramientas manuales incorporando dos litros de inóculo sobre los 5 cm superficiales del suelo. Los lotes control recibieron la misma cantidad de la mezcla perlita-turba-solución nutritiva, sin hongo.

La superficie entera de cada almácigo fue sembrada con semillas tratadas con Captan de P. michoacana o P.

pseudostrobus, Cuarenta días después de sembradas se incorporaron 15 kg/ha de Captan. El suelo se regó tres veces por semana o cuando fuera necesario.

Después de 53 días todas las plántulas fueron removidas a mano del almácigo y transplantadas en contenedores de polietileno (bolsas negras) de 15 cm de largo y 7 cm de diámetro. Antes del trasplante los contenedores se llenaron con suelo forestal fumigado (bromuro de metilo). Las plántulas transplantadas fueron reinoculadas con los hongos apropiados durante el trasplante colocando aproximadamente 12 ml de inóculo en cada zona radicular. Los tratamientos fueron los mismos que en el almácigo.

Aproximadamente se establecieron 1000 plántulas de P. pseudostrobus y 3000 de P. michoacana por tratamiento.

Las plántulas de cada tratamiento se dividieron por igual en 4 bloques en el vivero y se regaron tres veces por semana. No se adicionó ningún fertilizante o pesticida.

Justo antes del trasplante a campo, a los 18 meses, de 40 a 100 plántulas por tratamiento fueron removidas manualmente de los contenedores y se les midió altura, diámetro del tallo y peso seco de la parte aérea (secado a 80°C por 48 hrs). El desarrollo ectomicorrizico se midió contando los pelos radiculares infectados e identificando el hongo específico de acuerdo al color desarrollado por la micorriza.

Fase de Campo

El sitio de trasplante está localizado cerca de Tepetlaotoc, Estado de México, 60 Km al este de la Ciudad de México. Este sitio fue originalmente un bosque de pino y fue desforestado al comenzar el siglo XVI. El estrato expuesto es un limo arenoso con un contenido muy bajo de materia orgánica (0.67%) y un pH de 7.5. El grado de las pendientes es de 30% en algunas áreas y de 40% en otras por lo que hubo que hacer terrazas para el trasplante.

Las plántulas fueron transplantadas manualmente en el área superficial en Julio de 1979 durante la estación lluviosa en tres bloques. Alrededor de 1000 plántulas de P. pseudostrobus y 3000 de P. michoacana por tratamiento fueron plantadas en bloques separados 2 m uno del otro; la distancia entre hileras fue de 2m.

Las mediciones de sobrevivencia y crecimiento se hicieron después de una y tres estaciones lluviosas. A mediados de la primera estación seca, las plántulas fueron regadas una vez al mes. Esta es una práctica rutinaria en esta área.

En la tercera estación los datos de crecimiento fueron integrados como volumen de las plántulas usando la fórmula: altura x (diámetro del tallo)² (Marx et al., 1977).

Se hicieron análisis de varianza con estos datos y las diferencias entre los tratamientos se evaluaron con la prueba de intervalos múltiples de Duncan. El análisis estadístico después de tres años del trasplante fue hecho usando el sistema de análisis estadístico (Helwing and Council, 1979) en la Universidad de Texas A y M.

RESULTADOS

Fase de vivero

La respuesta positiva a la inoculación en el vivero fue evidente en el crecimiento de la plántulas, todas las plántulas inoculadas examinadas formaron ectomicorriza con los hongos introducidos; también formaron ectomicorriza con hongos nativos.

Plántulas de P pseudostrobus

Treinta y cinco por ciento de las plántulas inoculadas con Pt. tuvieron además de micorriza formada por Pt, ectomicorriza nativa de diferentes colores y morfología. Las plántulas inoculadas con Llu y Pt solo tuvieron el de ectomicorriza formada por hongos no inoculados (Tabla 1). Setenta y dos por ciento de las plántulas inoculadas con Llu también tuvieron desarrollo micorrizico espontáneo.

Todas las plántulas testigo desarrollaron ectomicorriza pero en más bajo porcentaje que las plántulas inoculadas (Tabla 1). Todas las plántulas inoculadas fueron significativamente más altas y con más peso que los testigos (Tabla 1).

Plántulas de P. michoacana.

Ochenta por ciento de las plántulas testigo desarrollaron ectomicorriza espontáneamente pero solo se encontraron en un 15 por ciento de las raíz (Tabla 2). Cincuenta y dos por ciento de las plántulas inoculadas con Pt también presentaron ectomicorriza nativa. Aunque Pt colonizó solo el 22% del total de pelos radiculares, la inoculación con Pt incrementó significativamente altura, la longitud de la raíz y el peso seco sobre los testigos

Fase de campo.

La estación de sequía en el Valle de México es de Octubre a Mayo durante esos meses el único componente verde en los sitios se estudio fueron las plántulas de pinos por lo que los rebños de chivos causaron una mortalidad considerable en las plántulas, especialmente en P michoacana, por lo que fué imposible obtener datos de sobrevivencia y medidas de crecimiento en esta especie. Así que nuestros datos de campo están limitados a P. pseudostrobus.

La respuesta de crecimiento a la inoculación apareció después de la primera época de lluvia (6 meses) principalmente en las plántulas con un alto porcentaje de micorriza formada por los hongos tratamientos Pt y Llu + Pt.

El porcentaje de plántulas verde obscuro fué 7.2 para los testigos, 9.2 para Pt solo y 35.5 para Llu + Pt.

Otro dato tomado fué la sobrevivencia de las plántulas encontrándose en plántulas con micorrización nativa y Llu + Pt un porcentaje de 86 y 84% respectivamente y las que solo fueron inoculadas con Llu y con Pt presentaron ambos 74% de sobrevivencia.

Después de 3 años, los tratamientos que contenían Pt mejoraron significativamente la sobrevivencia y crecimiento de las plántulas sobre los tratamientos Llu y testigo (Tabla 3).

Las plántulas inoculadas con Llu también fueron significativamente más altas que las plántulas testigo. Las plántulas con micorriza Pt (solo o con Llu) fueron más altas, con un mayor diámetro de tallo y con volumen foliar significativamente más grandes que las plántulas con ectomicorriza nativa o con Llu.

El promedio del volumen de plántulas inoculadas con Pt y con Llu + Pt fueron en un 53% y 42% respectivamente más grandes que las plantas testigo que únicamente presentaron ectomicorrización nativa. Las plántulas inoculadas con Llu + Pt mostraron la mayor sobrevivencia y la plántulas testigo mostraron la menor (tabla 3).

DISCUSION

De acuerdo a otros trabajos con cultivos puros de hongos ectomicorrizicos (theodoreu y Bowen, 1970, Vozzo y HacsKaylo, 1971; Marx and Bryan, 1975) se esperaba un incremento en el crecimiento de las plántulas de pino en el vivero. Las plántulas de P pseudostrobus y P. michoacana inoculadas con Pisolithus tinctorius crecieron más rápido que las plántulas con Laccaria laccata o las colonizadas con hongos micorrizicos nativos, después de la inoculación con cultivos puros fué bajo en el vivero. El incremento en el desarrollo de radículas micorrizadas en el vivero incrementaría la oportunidad para la sobrevivencia y crecimiento de las plántulas cuando se transplantaron al campo.

En la fase de vivero la ectomicorriza P tinctorius muestra un marcado incremento sobre las plántulas de P pseudostrobus; no obstante las plántulas con este simbionte más el saprófito L. lutea presentan un crecimiento mayor. Este hecho podría ser explicado si consideramos que muchos microorganismos rizosféricos producen sustancias promotoras del crecimiento y este podría ser el caso de L. lutea. Además, las plántulas inoculadas con las dos especies de hongos mostraron mayor desarrollo ectomicorrizico (47%) que las inoculadas solo con Pt (33%). Estas observaciones sugieren que la presencia de otros microorganismos en la

rizosfera podrían jugar un papel importante en el desarrollo y función de la ectomicorriza.

El mayor porcentaje de desarrollo ectomicorrícico en *P. michoacana* en el campo para hacer mediciones, el hecho de que estas plántulas hayan sido inoculadas con *P. tinctorius* les dió un incremento en 222% sobre las plántulas testigo (en base al peso seco del follaje) en la fase de vivero, indicando esto la importancia de la ectomicorriza sobre el desarrollo de esta especie.

La estimulación de crecimiento producido en el vivero al inocular con *L. laccata* fué más bajo después del transplante. Aunque este hongo contribuyó significativamente al crecimiento de las plántulas en comparación a las plantas testigo después de la primera estación de lluvias, estas plántulas tuvieron una sobrevivencia baja estadísticamente tan baja como las plántulas testigo. La mayor sobrevivencia fué en las plántulas tratadas con Pt más Llu.

El mejoramiento en sobrevivencia y crecimiento de las plántulas de pino por ectomicorriza formada por Pt. y el crecimiento pobre de plántulas con otro tipo de ectomicorriza refuerzan la conclusión de Marx (1977) de que ciertas especies de hongos simbioses son más benéficos que otras a los pinos en ciertos sitios.

El mejoramiento de áreas altamente erosionadas para el establecimiento de vegetación requeriría consideraciones tanto biológicas como culturales. Será necesario materia orgánica al subsuelo para mejorar sus características químicas, físicas y biológicas, seleccionar especies de árboles que se adapten fácilmente, será necesario también proteger las áreas replantadas contra el daño causado por el ganado, el cual puede en un día terminar los esfuerzos e varios años de trabajo.

El uso de *P. tinctorius*, un hongo adaptado a condiciones adversas, contituirá una herramienta biológica para la reforestación de sitios erosionados en México.

Las investigaciones futuras deberán también incluir pruebas con otros hongos ectomicorrícicos que no sean buenos simbioses sino también comestibles. La combinación de estas dos características serían de gran valor para las naciones en desarrollo en que tanto las necesidades de reforestación como de producción de alimento son problemas que urge atender.

LITERATURA CITADA

- 1 Bryan, W. C. and B. Zak. 1961. Synthetic culture of mycorrhizae of southern pines. *Forest Sci.* 7:123-129.
- 2 Donald, D. G. M. 1975. Mycorrhizal inoculation of pines. *So. Africa for J.* 92: 27-29.
- 3 Guzmán, G. 1979. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes. Editorial Limusa, México, D. F.
- 4 Marx, D. H. 1975. Mycorrhizae of exotic trees in the peruvian Andes and synthesis of ectomycorrhizae on Mexican pines. *Forest Sci.* 21:353-358.
- 5 Marx, D. H. 1977a. The role of mycorrhizae in forest production TAPPI conf. Papers. *Annu. Meet., Atlanta, Ga.* pp. 151-161.
- 6 Marx, D. H. 1977b. Tres host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* Can. *J. Microbiol.* 23:217-223.
- 7 Marx, D. H. 1980. Ectomycorrhizal fungus inoculations: a tool for improving forestation practice. In: *Tropical Mycorrhizae Research* P. Mikola, Ed. Oxford University Press. pp. 13-71.
- 8 Marx, D. H. and W. C. Bryan. 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil and infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.* 21:245-254.
- 9 Marx, D. H., W. C. Bryan and C. E. Cordell. 1977. Survival and growth of pine seedlings with *Pisolithus tinctorius* after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. *Forest Sci.* 23:363-373.
- 10 Marx, D. H. and J. D. Artman. 1979. *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae improve survival and growth of pine seedlings on acid coal spoils in Kentucky and Virginia, *Reclamation Rev.* 2:23-34.
- 11 Marx, D. H. and S. V. Krupa. 1978. Ectomycorrhizae. In: *Interaction between nonpathogenic soil microorganisms and plants.* Y. R. Domergues and S. V. Krupa, eds. p. 373-400. Elseviere Scientific Pubic. Co., Amsterdam.

TABLA 1.-MEDIA DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO ECTOMICORRIZICO DE PINUS PSEUDOCROBUS DESPUES DE 18 MESES EN SUELO DE VIVERO FUMIGADO INOCULADOS CON 3 HONGOS Y SIN INOCULAR.-

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Longitud raíz (mm)	peso seco (g)	Porcentaje de raíces ectomicorrizadas por: Hongos inocu- otros total			Porcentaje de plántulas con ectomicorri-za espontánea.
<i>P. tinctorius</i>	33.9b ¹	9.7 b	24.8b	21.2a	33b	6c	39b	35c
<i>L. laccata</i>	33.0b	8.9 b	25.4b	18.8b	30b	22b	51a	72b
<i>L. lutea</i>	37.5a	11.6 a	26.8a	20.9a	47a	2d	49a	7a
<i>P. tinctorius</i>								
Testigo	16.5c	8.2b	24.3b	11.2c	-	28a	28c	100a

1. En cada columna seguida por la misma letra no hay diferencia significativa a P=0.5

- 12 Mikola, P. 1973. Application of mycorrhizal symbioses in forestry practice. In: ectomycorrhizae: Their ecology and Physiology. G. C. Marks and T. T. Koslowski, Eds. Academic Press. New York and Canada, pp. 383-410.
- 13 Mosser, M. 1958. Die Mykorrhiza-Zusammenleben von Pilz and baum. Umschau 9:267-270.
- 14 Ruehle, J. L. 1980. Growth of containerized loblolly pine seedlings with specific ectomycorrhizae after two years on an amended borrow pit. Reclamation review. 3:99-101.
- 15 Ruehle, J. L. and D. H. Marx, 1977. Developing ectomycorrhizae on containerized pine seedlings. U.S.D.A. Pro. Serv. Res. Note. SE-242.
- 16 Takaks, E. A. 1967. Producción de cultivos puros de hongos micorrizogenos en el centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Castelar. Suplemento Forestal. 4:83-87.
- 17 Theodorou, C. and G. D. Bowen. 1970. Mycorrhizal responses on radiata pine on experiments with different fungi. Aust. Fores. 34:183.
- 18 Valdés, M. 1979. Mycorrhizal inoculation and the afforestation of the deep Valley of Mexico City. Progress Report International Foundation for Science, R-39.
- 19 Valdés, M. F. Piña y R. Grada. 1983. Inoculación micorrizica y crecimiento de plántulas de pino creciendo en suelo erosionado. Bol. Soc. Mex. Micol. 18:65-70.
- 20 Vozzo, J. A. and E. Hacsakadylo. 1971. Inoculation of *Pinus caribea* with ectomycorrhizal fungi in Puerto Rico. Forest. Sci. 17:239-245.
- 21 Zak, B. and W. C. Bryan. 1963. Isolation of fungal symbionts from pine mycorrhizae. Forest Sci. 9:270-277.

TABLA 3.-SOBREVIVENCIA Y DESARROLLO DE Pinus pseudostrobus INOCULADO CON DIFERENTES HONGOS ECTOMICORRIZICOS DESPUES DE 3 AÑOS DE CRECIMIENTO EN UN SITIO SEVERAMENTE EROSIONADO.¹

Tratamiento	Sobrevivencia %	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Volumen de las plántulas $\frac{cm^3}{100}$ 2/
<u>Pisolithus tinctorius</u>	74b ³	92.6a	38.0a	1975a
<u>Lepiota lutea</u> + <u>Pisolithus tinctorius</u>	84a	96.5a	33.0b	1556a
<u>Laccaria laccata</u>	56c	63.0b	20.8c	314b
Testigo	50c	44.5c	25.3c	367b

- 1/ Cada valor es la media de 50 plantas de pino de 3 repeticiones
 2/ Volumen de las plántulas (cm³) = (Diámetro del tallo)² .x altura
 3/ Cada columna seguida por la misma letra no es significativamente diferente a P=0.01.

mgr.

TABLA 2.-MEDIA DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO ECTOMICORRIZICO DE Pinus michoacana DESPUES DE 18 MESES EN SUELO DE VIVERO FUNIGADO, INOCULADO CON Pisolithus tinctorius O SIN INOCULO.

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro del tallo	Longitud raíz prin cipal (cm)	Peso seco	Porcentaje de raíces micorrizadas por: Hongos Inocu otros total	Porcentaje de plántu las con mi corriza es pontánea.
<u>P. tinctorius</u>	24.0a *	26.7a	19.4a	16.3a	22	52b
Testigo	18.4b	24.9a	11.4b	7.4b	15a	89a

* En cada columna seguida por la misma letra no hay diferencia significativa a P=0.05.

mgr.

TABLA 2.-MEDIA DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO ECTOMICORRIZICO DE PINUS MICHOCANA DESPUES DE 18 MESES EN SUELO DE VIVERO FUMIGADO, INOCULADO CON PISOLITHUS TINCTORIUS O SIN INOCULO.

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Longitud raíz prin cipal (cm)	Peso seco	Porcentaje de raíces micorrizadas por: Hongos inoculados.	Porcentaje de raíces micorrizadas por: otros	Porcentaje de plantas con micorriza espontánea.	
<u>P. tinctorius</u>	24.0a *	26.7a	19.4a	16.3a	22	12a	34a	52b
Testigo	18.4b	24.9a	11.4b	7.4b	-	15a	15b	89a

* En cada columna seguida por la misma letra no hay diferencia significativa a P=0.05.

TABLA 1.-MEDIA DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO ECTOMICORRIZICO DE PINUS PSEUDOSTROBUS DESPUES DE 18 MESES EN SUELO DE VIVERO FUMIGADO INOCULADOS CON 3 HONGOS Y SIN INOCULAR.-

Tratamiento	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Longitud raíz (mm)	peso seco (g)	Porcentaje de raíces ectomicorrizadas por: Hongos inoculados	Porcentaje de raíces ectomicorrizadas por: otros	Porcentaje de plantas con micorriza espontánea.	
<u>P. tinctorius</u>	33.9b ¹	9.7 b	24.8b	21.2a	33b	6c	39b	35c
<u>L. laccata</u>	33.0b	8.9 b	25.4b	18.8b	30b	22b	51a	72b
<u>L. jutea</u>	37.5a	11.6 a	26.8a	20.9a	47a	2c	49a	7c
<u>P. tinctorius</u>								
Testigo	16.5c	8.2b	24.3b	11.2c	-	28a	28c	100a

1. En cada columna seguida por la misma letra no hay diferencia significativa a P=0.5

TABLA 3.-SOBREVIVENCIA Y DESARROLLO DE Pinus pseudostrobus
 INOCULADO CON DIFERENTES HONGOS ECTOMICORRIZICOS
 DESPUES DE 3 AÑOS DE CRECIMIENTO EN UN SITIO SEVERAMENTE
 EROSIONADO.¹

Tratamiento	Sobrevivencia %	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Volúmen de las plántu- las ³ $\frac{(\text{cm}^3)}{100}$ 2/
<u>Pisolithus tinctorius</u>	74b ³	92.6a	38.0a	1975a
<u>Lepiota lutea</u> +				
<u>Pisolithus tinctorius</u>	84a	96.5a	33.0b	1556a
<u>Laccaria laccata</u>	56c	63.0b	20.8c	314b
Testigo	50c	44.5c	25.3c	367b

1/ Cada valor es la media de 50 plantas de pino de 3 repeticiones

2/ Volúmen de las plántulas (cm^3) = (Diámetro del tallo)² x altura

3/ Cada columna seguida por la misma letra no es significativamente diferente a $P=0.01$.

DISCURSO DE CLAUSURA

**JACQUES GAILLARD, SECRETARIO CIENTIFICO
FUNDACION INTERNACIONAL PARA LA CIENCIA "IFS"**

Primero que nada quiero expresar mi satisfacción por el éxito que ha tenido este Ciclo Lectivo sobre Micorrizas, el cual se ha debido a varias razones:

Al ambiente amistoso y la buena interacción que ha habido entre participantes y asesores, lo que ha permitido un excelente intercambio de ideas y de conocimientos.

A la excelente contribución de los asesores, quienes han trabajado voluntariamente en este ciclo lectivo.

Al gran interés y entusiasmo demostrado por los participantes, y a la calidad de sus trabajos, que nos permite esperar que se dé un mayor desarrollo en la investigación sobre micorrizas en el futuro, lo cual será de vital importancia para Latinoamérica.

A la valiosa colaboración de Elvira Busch, quien se ha preocupado porque el curso haya sido un éxito en todo momento.

Finalmente, a la contribución del CATIE, principalmente del Proyecto Erythrina, en la organización local de este evento.

Quisiera agradecer en nombre de la IFS a todas las personas que han participado y colaborado en este evento.

Nos sentimos muy orgullosos de que este Ciclo Lectivo haya servido también para sentar las bases de la Sociedad Latinoamericana de Micorrizólogos, a la cual le deseamos nuestros mejores deseos.

Para mí este momento es muy especial, debido a que coincide con la terminación de mi trabajo con la IFS. Durante los pasados once años, mi asociación con la IFS me ha enriquecido, principalmente por la gran cantidad de personas de diversas nacionalidades que he tenido la oportunidad de conocer. Para mí la IFS es como una gran familia, y yo quisiera que todos ustedes se sientan bienvenidos a ella.

A pesar de que es difícil para mí dejar la IFS, sé que seguiré siendo parte de esta familia, y espero poder estar de nuevo con ustedes en un futuro.

Muchas gracias.