

CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE  
INVESTIGACION Y ENSEÑANZA  
CATIE

PROGRAMA DE EDUCACION  
ESCUELA DE POSTGRADO



EFECTO DE ENDOMICORRIZAS Y RIZOBACTERIAS  
EN PLANTULAS DE DOS ESPECIES FORESTALES

Tesis sometida a la consideración de la Escuela de Postgrado. Programa de Educación en Ciencias  
Agrícolas y Recursos Naturales del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza,  
para optar al grado de

*Magister Scientiae*

por

JAIRO LEONARDO CUERVO ANDRADE

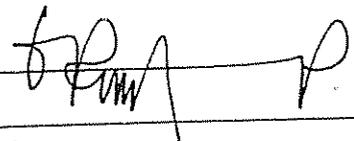
TURRIALBA, COSTA RICA

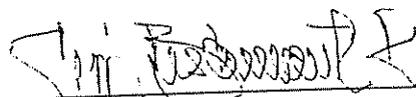
1997

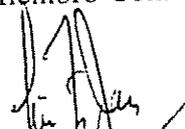
Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma, por la Jefatura del Area de Postgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales del CATIE y aprobada por el Comité Asesor del estudiante como requisito parcial para optar al grado de:

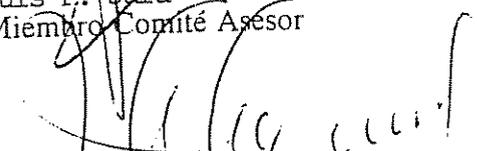
*MAGISTER SCIENTIAE*

FIRMANTES:

  
\_\_\_\_\_  
Galileo Rivas  
Profesor Consejero

  
\_\_\_\_\_  
Elkin Bustamante  
Miembro Comité Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Luis E. Jara  
Miembro Comité Asesor

  
\_\_\_\_\_  
Juan A. Aguirre  
Jefe, Area de Postgrado

  
\_\_\_\_\_  
Markku Kanninen  
Director, Programa de Enseñanza

  
\_\_\_\_\_  
Javier Leonardo Cuervo Andrade  
Candidato

## DEDICATORIA

A mis padres:

Dionisio E. Cuervo M. y Socorro Andrade O, por su orientación y apoyo en la vida.

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero agradecimiento a LA FUNDACION PARA EL DEARROLLO RURAL INTEGRAL COMUNITARIO "ALTERNATIVA COMUNITARIA", por el apoyo financiero que me brindaron para cursar los estudios de maestría en el CATIE.

A Gonzalo Galileo Rivas, por su excelente labor como profesor consejero.

A Johny Pérez, por su apoyo en el análisis estadístico de la tesis.

Al Dr. Elkin Bustamante, por su orientación para la realización de la tesis.

A Asdrubal y M. Campos, por su valiosa colaboración durante el desarrollo de la fase de campo de la tesis.

A Arturo y a Adrian por su colaboración en la fase de laboratorio.

A mis compañeros de estudios, por la amistad y enseñanza que me brindaron sobre sus experiencias tanto en el campo profesional como personal.

CUERVO, J. 1997. Effect of mycorrhizae and rhizobacteria applications on plantlets development of two forest species: *Cordia alliodora* and *Tabebuia rosea*. Thesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 98 p.

## SUMMARY

The increasing utilization of chemical products for farming activities, has intensified the biological perspective directed to solve soil problems. Within this context, mycorrhizae research is fundamental. The relevance of biological agriculture has increased during the last years, especially regarding biological fertilizing, which demonstrates the interest to find new ways to improve crops production and to reduce management activities. Because of the above, the search for economical and efficient phosphatized fertilizing alternatives becomes an urgent need to attain a successful development of agricultural and silvicultural actions. In this area, mycorrhizae as well as other soil microorganisms, (bacteria, algae, etc.) can make transcendental contributions. The application of mycorrhizae is especially useful in areas where native mycorrhizae fungus concentration is low and thus deficient. This situation occurs mainly in nurseries fumigated soils, eroded soils or with residues and in regions where the natural vegetation density is scarce, as in semi-arid zones. A fungus concentration increment in these areas, would increase crops yielding and soils productivity.

The objective of this research was to increase *Tabebuia rosea* and *Cordia alliodora* growth at nursery level using for this purpose mycorrhizae and rhizobacteria. This research involved four experiments: 1) Use of *Glomus occultum*, (LOCT), *Glomus manihotis* (LMNH) and *Entrophospora colombia* (ECLB) mycorrhizae and the application of *Bacillus cereus* (Bc), *Serratia marcescens* (Sm) and *Pseudomonas fluorescens* (Pf) rhizobacteria, at the nursery stage of two forest species; 2) Identification of *Bacillus*, *Serratia* and *Pseudomonas* in soil samples where *T. rosea* and *C. alliodora* were growing; 3) Detection and quantification of mycorrhizae soil samples from several *T. rosea* and *C. alliodora* sites and 4) Use of organic fertilizers on soils with *G. occultum* at the nursery stage of *T. rosea*.

The application of mycorrhizae fostered growth of *T. rosea* and *C. alliodora* plantlets. The variables height, leaves number, foliar area and dry weight, showed superior values than the control ( $p < 0.01$ ). From all variables, LMNH presented the best results for *T. rosea* and ECLB for *C. alliodora*.

The interaction mycorrhizae\*rhizobacteria fostered plantlets development, but the values resulted were not superior to those obtained using only mycorrhizae inoculations. Furthermore, a higher number of spores was achieved as well as a higher percentage of mycorrhizae colonization.

Soil samples obtained from places where *T. rosea* and *C. alliodora* grow presented chitinolytic, fluorescent and Gram negative bacteria as well as the mycorrhiza fungus *Glomus* and *Gigaspora* which have enormous research potential as growth promoters of these forest species.

LOCT application in combination with organic fertilizers favored their own efficiency and promoted *T. rosea* growth. Organic fertilizers served as native mycorrhizae carriers; this condition makes them attractive for plants production.

**Key words:** mycorrhiza, rhizobacteria, *Entrophospora colombiana*, *Glomus occultum*, *Glomus manihotis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*.

CUERVO, J. 1997. Efecto de la aplicación de hongos VA y rizobacterias en el crecimiento de plántulas de dos especies forestales. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 98 p.

## RESUMEN

El incremento en el uso de insumos químicos en la agricultura, hace que cada vez tome más fuerza el enfoque biológico, para solventar los problemas del suelo. Dentro de este contexto, el estudio de las micorrizas es fundamental. En los últimos años la importancia de la agricultura biológica ha aumentado y dentro de ella la fertilización biológica, lo que demuestra el interés por encontrar formas que nos ayuden a mejorar la producción de los cultivos y reducir las labores de manejo. La búsqueda de alternativas económicas y eficientes de fertilización fosfatada, es por tanto una necesidad apremiante para el desarrollo exitoso de la agricultura y silvicultura. En éste punto, las micorrizas al igual que otros microorganismos del suelo (bacterias, algas, etc.) pueden hacer un trascendental aporte. El empleo de hongos VA es especialmente útil en áreas donde la concentración de hongos micorrícicos nativos es baja y por lo tanto deficiente; sobre todo en suelos fumigados de los viveros, suelos erosionados o con rastrojos y en sitios en donde la densidad natural de vegetación es poca, como en las zonas semiáridas. Un incremento de la concentración de hongos en estas áreas, aumentaría el beneficio de los cultivos y la productividad del terreno.

El objetivo de la presente investigación fue, favorecer el crecimiento de *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora* a nivel de vivero, a través del uso de hongos vesículo arbusculares (VA) y rizobacterias. Para esta investigación se trabajaron cuatro ensayos: 1) Uso de las micorrizas *Glomus occultum* (LOCT), *Glomus manihotis* (LMNH) y *Entrophospora colombiana* (ECLB) con la aplicación de las rizobacterias *Bacillus cereus* (Bc), *Serratia marcescens* (Sm) y *Pseudomonas fluorescens* (Pf), en la fase de vivero de 2 especies forestales; 2) Identificación de *Bacillus*, *Serratia* y *Pseudomonas*, en muestras de suelos donde se encontraban creciendo las especies *T. rosea* y *C. alliodora*; 3) Detección de hongos VA y su cuantificación en muestras de suelos de varios sitios con *T. rosea* y *C. alliodora* y 4) Uso de abonos orgánicos en presencia *G. occultum* en la fase de vivero de la especie *T. rosea*.

La aplicación de hongos VA logró promover el crecimiento de las plántulas de *T. rosea* y *C. alliodora*. Para las variables altura, número de hojas, área foliar y peso seco se obtuvo valores superiores con relación al testigo ( $p < 0.01$ ), siendo LMNH la que mejor se comporto para *T. rosea* y ECLB para *C. Alliodora*.

La interacción hongos VA\*rizobacterias ( $p < 0.01$ ) promovió el crecimiento, pero no se obtuvieron valores superiores a los encontrados cuando se realizo la inoculación del hongo VA solo. Además, se consiguió un mayor número de esporas y se favorece el porcentaje de colonización de las micorrizas.

En las muestras de suelos, tomadas de lugares donde crecen las especies *T. rosea* y *C. alliodora*, se encontraron bacterias quitinolíticas, fluorescentes y Gram negativas; al igual que los hongos micorrícicos *Glomus* y *Gigaspora*, los cuales tienen un gran potencial para iniciar investigaciones en la promoción del crecimiento de estas especies forestales.

La aplicación de LOCT en combinación con abonos orgánicos favoreció la eficacia de los mismos, promoviendo el crecimiento de *T. rosea*. Los abonos orgánicos fueron acarreadores de micorrizas nativas, esta situación los hace atractivos para la producción de plantas.

**Palabras claves:** micorriza, rizobacteria, *Entrophospora colombiana*, *Glomus occultum*, *Glomus manihotis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*.

## INDICE

	página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
SUMMARY	iv
RESUMEN	v
INDICE	vi
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ANEXOS	xvi
LISTA DE FOTOS	xvii
I. INTRODUCCION	1
1.1 Objetivo	3
1.2 General	3
1.3 Específicos	4
1.2 Hipótesis	4
II Revisión de literatura	5
2.1 Aspectos generales de las micorrizas	5
2.1.1 Definición de micorrizas	5
2.1.2 Tipos de micorrizas	5
2.1.2.1 Ectomicorrizas	6
2.1.2.2 Endomicorrizas	6
2.1.2.2.1 Géneros de MVA	7

2.1.2.2.2 Etapas en el desarrollo de la colonización	8
2.1.3 Función de las micorrizas	9
2.1.4 Función de la planta	13
2.1.5 Protección a enfermedades	14
2.2 Razones que aconsejan el uso de micorrizas y rizobacterias.	15
2.3 Factores que afectan el desarrollo de las micorrizas	17
2.3.1 Factores físicos	17
2.3.1.1 Temperatura	17
2.3.1.2 Luz	18
2.3.1.3 Agua	18
2.3.2 Factores químicos	18
2.3.2.1 pH	18
2.3.2.2 Fósforo	19
2.3.2.3 Nitrógeno	20
2.3.2.4 Micronutrientes	20
2.3.2.5 Plaguicidas	20
2.3.2.6 Materia orgánica	21
2.3.3 Factores biológicos	22
2.3.3.1 Planta hospedante	22
2.3.3.2 Hongo	22
2.4 Especies forestales usadas en la investigación	23
2.4.1 <i>Cordia alliodora</i>	23
2.4.2 <i>Tabebuia rosea</i>	23
2.5 Esterilización de suelos	24

2.6 Almacenamiento de hongos formadores de micorrizas	25
III Materiales y métodos	26
3.1 Ensayo 1. Efecto de endomicorrizas y rizobacterias en plántulas de dos especies forestales	26
3.1.1 Localización del experimento	26
3.1.2 Clima	26
3.1.3 Suelo	27
3.1.4 Diseño experimental	27
3.1.5 Factores	27
3.1.5.1 Especies forestales	27
3.1.5.2 Micorrizas	28
3.1.5.3 Rizobacterias	28
3.1.6 Plantas	28
3.1.7 Siembra	28
3.1.8 Inóculo micorrícico	29
3.1.9 Inóculo bacterial	29
3.1.10 Variables evaluadas	30
3.1.10.1 Altura	30
3.1.10.2 Número de hojas	30
3.1.10.3 Area foliar	30
3.1.10.4 Peso seco	30
3.1.10.5 Análisis foliar	30
3.1.10.6 Cuantificación de la colonización de MVA	31
3.1.10.7 Conteo de esporas	32

3.1.11 Pruebas de comparación de medias	32
3.1.12 Comprobación del análisis del modelo	32
3.2 Ensayo II. Determinación de la población microbiana en muestras de suelo de baja fertilidad de Turrialba	33
3.2.1 Procedimiento experimental	34
3.3 Ensayo III. Cuantificación de hongos micorrícicos en muestras de suelo donde crecen <i>T. rosea</i> y <i>C. alliodora</i>	35
3.3.1 Procedimiento experimental	35
3.4 Ensayo IV. Efecto de la aplicación de LOCT en el crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>T. rosea</i> solo y con mezcla con abonos	36
3.4.1 Diseño experimental	36
3.4.2 Plantas de prueba	37
3.4.3 Inóculo micorrícico	37
3.4.4 Siembra	37
3.4.5 Riego	37
3.4.6 Luz	37
3.4.7 Variables evaluadas	38
IV Resultados y discusión	39
4.1 Ensayo I: Efecto de endomicorrizas y rizobacterias en plántulas de dos especies forestales	39
4.1.1 Altura (cm)	39
4.1.2 Área foliar (cm <sup>2</sup> )	42
4.1.3 Número de hojas	43
4.1.4 Peso seco del follaje (g)	45

4.1.5	Peso de raíz (g)	45
4.1.6	Número de esporas	48
4.1.7	Colonización MVA (%)	50
4.1.8	Análisis foliar	51
4.2	Ensayo II: Determinación de la población microbiana de los suelos de baja fertilidad de Turrialba	54
4.3	Ensayo III: Cuantificación de hongos micorrícicos en muestras de suelo donde crece <i>T. rosea</i> y <i>C. alliodora</i>	56
4.4	Ensayo IV: Efecto de la aplicación de LOCT en el crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>T. rosea</i> solo y con mezcla con abonos	60
4.4.1	Altura	60
4.4.2	Area foliar	61
4.4.3	Número de hojas	62
4.4.4	Peso seco de follaje	64
4.4.5	Peso seco de raíces	65
4.4.6	Número de esporas de MVA	66
4.4.7	Colonización MVA	66
4.4.8	Análisis foliar	67
V	CONCLUSIONES	69
VI	RECOMENDACIONES	70
VII	BIBLIOGRAFIA	71
VIII	ANEXOS	81
IX	FOTOS	89

## INDICE DE CUADROS

No.	TITULO	PAGINA
1	Sistemática de Zigomicotina micorrizógenos (Morton y Benny 1990, citados por Honrubia et al 1992) y tipo de micorrizas formadas. (MVA = micorrizas vesículo arbuscular; ECM = ectomicorriza)	7
2	Especies forestales y tipo de micorrizas	17
3	Tabla de tratamientos.	33
4	Tratamientos utilizados.	36
5	Resultado de las pruebas de laboratorio que se realizaron a las 6 muestras de suelos en donde se analizó la población de bacterias.	52
6	Número de especies de MVA, porcentaje de colonización y número de esporas por 100 g de suelo en suelos asociados con <i>T. rosea</i> . Costa Rica 1997.	56
7	Número de especies de MVA, porcentaje de colonización y número de esporas por 100 g de suelo en suelos asociados con <i>Cordia alliodora</i> . Costa Rica 1997.	57

## INDICE DE FIGURAS

Nº	DESCRIPCION	PAGINA
1	Altura de las plantas de Tr y Ca, a través del tiempo. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.	39
2	Altura de las plantas de Tr y Ca en interacción al hongo micorrízico aplicado y sin la adición de bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	40
3	Altura de las plantas de Tr y Ca con relación al hongo micorrízico aplicado y la adición de Bc. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	41
4	Altura de las plantas de Tabebuia rosea y Cordia alliodora con relación al hongo micorrízico aplicado y la adición de Sm. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	41
5	Altura promedio de las plantas con relación al hongo micorrízico aplicado y la adición de Pf. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	42
6	Area foliar promedio (cm <sup>2</sup> ) para las especies Tr y Ca, a través del tiempo. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	43
7	Area foliar promedio (cm <sup>2</sup> ) para las especies Tr y Ca, a través del tiempo y dependiendo del hongo micorrízico aplicado. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	44
8	Número de hojas de las especies Tr y Ca, a través del tiempo. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	44
9	Número de hojas de las especies Tr, según la interacción hongo micorrízico *bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	45
10	Número de hojas de las especies Ca, según la interacción hongo micorrízico * bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	46
11	Peso seco de follaje de las especies Tr y Ca, según la interacción especie* micorrizas. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	49
12	Peso seco de raíces de las especies Tr y Ca, según la interacción especie* hongo micorrízico. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	49
13	Producción de esporas según la interacción hongo micorrízico *bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.	49

- 14 Colonización MVA (%) en la especie Tr, con respecto a la interacción hongo micorrícico \*bacteria. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 50
- 15 Colonización MVA (%) en la especie Ca, con respecto a la interacción hongo micorrícico\* bacteria. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 50
- 16 Porcentaje de calcio en el follaje de las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 51
- 17 Contenido de magnesio en el follaje de las especies Tr y Ca, expresado en porcentaje (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 52
- 18 Contenido de manganeso en el follaje de Tr y Ca, en miligramos/kg (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 52
- 19 Contenido de nitrógeno en el follaje de las especies Tr y Ca, expresado en porcentaje (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 53
- 20 Colonización (%) y N° de esporas de MVA/sitio asociado con a) T. rosea. b) C. alliodora. 58
- 21 Nivel del pH en muestras de suelos donde se encontraban creciendo las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 59
- 22 Contenido de Potasio en 20 muestras de suelos, donde se encontraba creciendo las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 59
- 23 Altura de los árboles de Tr, a través del tiempo, según los tratamientos (BCM = bokashi con micorrizas, C1CM = Compost 1 con micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas y TCM = Testigo con micorrizas). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 60
- 24 Altura de los árboles de Tr en cm, a través del tiempo, según los tratamientos sin aplicación de micorrizas (BSM = bokashi con micorrizas, C1SM = Compost 1 con micorrizas, C3SM = Compost 3 con micorrizas y TSM = Testigo con micorrizas). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 61
- 25 Area foliar (cm<sup>2</sup>) de Tr, a través del tiempo, según los tratamientos aplicados 62

(BCM = bokashi con micorrizas, C1CM = Compost 1 con micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas y TCM = Testigo con micorrizas, BSM = bokashi con micorrizas, C1SM = Compost 1 con micorrizas, C3SM = Compost 3 con micorrizas y TSM = Testigo con micorrizas). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

- 26 Número de hojas de Tr, a través del tiempo, según el tratamiento aplicado (B=Bokashi, C1= Compost 1, C3= Compost 3 y T =Testigo) CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 63
- 27 Número de hojas de Tr a los 93 dds, a través del tiempo, según la aplicación de LOCT. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 63
- 28 Peso seco de follaje de Tr a los 93 dds, según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3 y T = Testigo), con y sin la aplicación de micorrizas(M). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 64
- 29 Peso seco de raíces de Tr a los 93 dds, según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3 y T = Testigo), con y sin aplicación de micorrizas (M). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 65
- 30 Número de esporas de hongos MVA, según los diferentes tipos de abonos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3) con y sin la aplicación de micorrizas (M). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 66
- 31 Porcentaje de colonización MVA según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3) con y sin la aplicación de micorrizas (M). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 67
- 32 Contenido de calcio, magnesio, potasio, fósforo y nitrógeno, en el follaje de Tr (C1CM = Compost 1 con micorrizas, C1SM = Compost 1 sin micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas, C3SM = Compost 3 sin micorrizas, BKCM = Bokashi con micorrizas, BKSM = Bokashi sin micorrizas, TCM = Testigo con micorrizas y TSM = Testigo sin micorrizas. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 67
- 33 Contenido de manganeso, zinc y cobre en el follaje de Tr (C1CM = Compost 1 con micorrizas, C1SM = Compost 1 sin micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas, C3SM = Compost 3 sin micorrizas, BKCM = Bokashi con micorrizas, BKSM = Bokashi sin micorrizas, TCM = Testigo con micorrizas y TSM = Testigo sin micorrizas. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997. 68

## ANEXOS

Nº	DESCRIPCION	PAGINA
1	Características del suelo de la finca Florencia	82
2	Comportamiento de la germinación de <i>Cordia</i> sp. y <i>Tabebuia</i> sp	82
3	Número de esporas presentes en el inóculo utilizado.	82
4	Análisis químico de muestras de suelo obtenidas en 10 sitios del Cantón de Turrialba, en donde se hallaba creciendo <i>C. alliodora</i> .	83
5	Análisis químico de muestras de suelo obtenidas en 10 localidades de Costa Rica, en donde se hallaba creciendo <i>T. rosea</i> .	83
6	Análisis químico de las muestras del suelo recolectado, solo y en mezcla con diferentes abonos.	84
7	Análisis químico de las muestras de suelo recolectado, para el ensayo II.	84
8	Valores p de las variables evaluadas en el ensayo I.	84
9	Contenido promedio de Mg, Mn y N , de muestras de tejido vegetal, para las especies <i>T. rosea</i> y <i>C. alliodora</i> .	85
10	Contenido promedio de K y pH de muestras de suelos provenientes de sitios donde se encontraban creciendo <i>T. rosea</i> y <i>C. alliodora</i> .	85
11	Valores p de las variables evaluadas en el ensayo IV.	85
12	Composición de los abonos Compost 1, Compost3 y Bokashi.	85
13	Análisis de fertilidad de tejido vegetal de <i>T. rosea</i> , para el Ensayo I	86
14	Análisis de fertilidad de tejido vegetal de <i>C. alliodora</i> , para el ensayo I	87
15	Análisis de fertilidad de tejido vegetal, ensayo IV.	87
16	Fórmulas de medios de cultivo.	87

## FOTOS

Nº	DESCRIPCION	PAGINA
1	Plantas de <i>C. alliodora</i> . La planta de la izquierda, corresponde al testigo (sin la aplicación de hongos micorrícicos) y a la derecha se encuentra una con aplicación de <i>G. manihotis</i> .	90
2	Plantas de <i>T. rosea</i> , a las cales se les aplicó diferentes fuentes de abonos orgánicos y con la aplicación de <i>G. occultum</i> . Corresponden de izquierda a derecha, Compost 1, Bokashi,, compost 3 y testigo.	90
3	Plantas de <i>T. rosea</i> , a las cales se les aplicó diferentes fuentes de abonos orgánicos y sin hongos micorrícicos. Corresponden de izquierda a derecha, Testigo, Bokashi, Compost 1 y Compost 3.	91
4	Raíces de <i>T. rosea</i> , a las cales se les aplicó diferentes fuentes de abonos orgánicos y con la aplicación de <i>G. occultum</i> . Corresponden de izquierda a derecha, Testigo, Bokashi,, compost 3 y Compost 1.	91

## I. INTRODUCCION

Los suelos tropicales presentan grandes limitantes para la producción de árboles, después de que han sido intervenidos y sobreexplotados por el hombre. Esto ha causado un desequilibrio en la capacidad productiva de los mismos. Aunado a ello, los bajos niveles de nitrógeno y la fijación del fósforo en los suelos, hace que la capacidad productiva de éstos sea cada vez más crítica (Mecinas *et al.* 1970).

Ante la creciente demanda de insumos químicos en la agricultura, cada vez toma más fuerza el enfoque biológico de los problemas del suelo. Dentro de este contexto, el estudio de las micorrizas es fundamental (Sieverding *et al.* 1989). En los últimos años la importancia de la agricultura biológica ha aumentado y dentro de ella la fertilización biológica, lo que demuestra el interés por encontrar formas que nos ayuden a mejorar la producción de los cultivos y reducir las labores de manejo.

Patiño (1989 a) menciona que las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) en los suelos tropicales tienen el papel de proporcionar ventajas ecológicas y agronómicas para las plantas, como la tolerancia a altas temperaturas y la sequía, a la salinidad y toxicidad en el suelo y al ataque de patógenos.

Desde el comienzo de la formación de la vida en la tierra, las plantas forzosa o necesariamente tuvieron que estar en simbiosis con hongos y bacterias; simbiosis como alga y hongo para formar líquenes, fueron evolucionando hasta obtener las plantas modernas y que aún continúan en asociación con hongos a través de la raíz. Se afirma que en condiciones naturales las plantas no pueden vivir, ni desarrollarse satisfactoriamente sin tener el mutualismo con las micorrizas (Arango 1993).

En las zonas húmedas del trópico, los suelos, en la mayoría Ultisoles y Oxisoles, son deficientes en fósforo disponible, lo que hace a las micorrizas especialmente importantes en la absorción y el uso eficiente de este elemento (Ruiz 1991).

Existen aproximadamente 350.000 especies de plantas vasculares terrestres y se calcula que alrededor de 300.000 se asocian con MVA. Se conocen 2000 especies de plantas hospedantes de ectomicorrizas, conformadas por alrededor de 5000 especies de hongos (Ospina y Martínez 1993).

Una estrategia para aumentar los niveles de producción, se basa en la fertilización acorde con los requerimientos de los árboles, pero los altos costos que esto implica y la fijación de los elementos por los suelos, hace que se cree la necesidad de aumentar la eficiencia de los árboles con respecto a la fertilización, de tal manera que con cantidades menores se pueda nutrir bien, para poder tener éxito en la producción final.

En el trópico el estudio de la simbiosis micorriza-planta adquiere particular importancia, debido a la carencia aguda de fósforo en la mayor parte de sus suelos. En Colombia cerca del 60% de los suelos presentan deficiencias extremas de fósforo y altas capacidades de fijación de fosfatos, lo cual crea un marginamiento productivo de vastas regiones del país (Pedraza 1981).

Se ha demostrado que la selección de cepas de hongos MVA eficientes y su producción masiva a escala industrial, pueden contribuir a un gran beneficio para el éxito de la repoblación forestal, demostrándose que la simbiosis MVA constituye una valiosa ayuda para mejorar tanto el crecimiento de pasturas de distintos forestales como el balance ecológico de un ecosistema (Patiño y Quintero 1982).

La búsqueda de alternativas económicas y eficientes de fertilización fosfatada, es por tanto una necesidad apremiante para el desarrollo exitoso de la agricultura y silvicultura, no solamente en Colombia, sino en toda el área tropical. En éste punto, las micorrizas al igual que otros microorganismos del suelo (bacterias, actinomicetes, etc.) pueden hacer un trascendental aporte (Pedraza 1981). Sieverding *et al.* (1989) afirman que a largo plazo se podrá encontrar métodos para la producción de cultivos de bajo costo, con la utilización de los recursos biológicos.

La micorrización es un recurso biológico, su uso se está generalizando en varios países, es realmente de bajo costo comparado con los productos sintéticos (Villafañe *et al.* 1989).

La manipulación de microorganismos para el manejo de los suelos forestales, tiene un gran potencial. Una vez las técnicas para su utilización y manejo estén bien desarrolladas, se podrán reducir los esfuerzos y costos de la reforestación manteniendo los óptimos niveles de nitrógeno y materia orgánica, mejorando la capacidad de captación del fósforo. Asimismo, estableciendo manejos adecuados de los árboles y su habilidad para soportar el estrés por falta de agua y nutrientes, e incrementar la productividad de los suelos (Fortin y Carlisle 1984).

Mediante la micorrización controlada en vivero se consiguen sistemas rizosféricos más potentes, los que proporcionan mayor vigorosidad a la plántula, con incremento de su altura, del calibre de su tallo y del número de ramificaciones; siendo además el sistema radical difícilmente atacado por patógenos (Honrubia *et al.* 1992).

El empleo de micorrizas es especialmente útil en áreas donde la concentración de hongos micorrícicos nativos es baja y por lo tanto deficiente; sobretodo en suelos fumigados de los viveros, suelos erosionados o con rastrojos y en sitios en donde la densidad natural de vegetación es poca, como en las zonas semiáridas. Un incremento de la concentración de hongos en estas áreas, aumentará el beneficio de los cultivos y la productividad del terreno (Sierverding 1989 b).

Los estudios ecológicos de la simbiosis MVA, en varios ecosistemas contribuirán seguramente, a conocer su funcionamiento de modo que se cuente con un banco de datos suficientemente grande como para realizar trabajos de monitoreo (Fernández 1985).

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 General**

Favorecer el crecimiento de especies arbóreas en el ámbito de vivero mediante el uso de microorganismos del suelo.

### 1.1.2 Específicos

1. Analizar el efecto de la inoculación de microorganismos al suelo sobre la supervivencia y comportamiento de dos especies forestales en el ámbito de vivero.
2. Seleccionar un tipo de hongo micorrícico y rizobacterias que, en forma más consistente, puedan estimular el crecimiento de *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora* en el ámbito de vivero.
3. Evaluar el grado de asocio de los hongos micorrícicos y rizobacterias para las dos especies forestales en estudio.
4. Determinar la presencia de *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. y *Bacillus* spp. en muestras de suelo de baja fertilidad de Turrialba.
5. Determinar la población de hongos micorrícicos en diferentes sitios donde crecen *T. rosea* y *C. alliodora*.
6. Evaluar el comportamiento de los hongos micorrícicos en plántulas de *T. rosea*, bajo diferentes fuentes de fertilización.
7. Evaluar diferentes abonos orgánicos en el crecimiento y desarrollo de plántulas de *T. rosea*.

### 1.2 HIPOTESIS

- 1.2.1 Los microorganismos promotores del crecimiento en la producción forestal, no son indispensables para el crecimiento y desarrollo de la mayoría de las plantas.
- 1.2.2 El uso de micorrizas y rizobacterias en la producción forestal, no contribuyen a producir material vegetal más vigoroso y sano, capaz de competir mejor con las adversidades del medio ambiente.
- 1.2.3 Los abonos orgánicos no promueven la formación de micorrizas.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos Generales de las Micorrizas

#### 2.1.1 Definición de micorrizas.

El término micorriza fue acuñado por Frank en 1885, y literalmente quiere decir “hongo-raíz”; define pues la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de una planta (Honrubia *et al.* 1992).

Las micorrizas son asociaciones simbióticas, mutualistas, que se establecen entre las raíces de las plantas superiores y hongos benéficos del suelo (Fajardo y Barea 1987; Sieverding 1989 b; Subba 1993; Ospina y Martínez 1993 y De Araujo 1995). Estos hongos dependen de la planta para el suministro de carbono y energía, a la vez que entregan nutrimentos minerales (Sieverding 1989 b).

#### 2.1.2 Tipos de Micorrizas

Todos los hongos formadores de micorrizas pertenecen a la División *Eumycota* y Subdivisión Zygomycotina (Honrubia *et al.* 1992) (Cuadro 1).

Las micorrizas se han venido clasificando con base en su estructura y morfología en ectomicorrizas y endomicorrizas (Fortin y Carlisle 1984, Sieverding 1989 b).

##### 2.1.2.1 Ectomicorrizas

En las micorrizas ectotróficas se han incluido aquellas en las cuales el hongo, normalmente de micelio tabicado, forma un manto que rodea la raíz. El desarrollo del hongo en el interior de la corteza es intercelular, dando un aspecto de red (red de Harting). Este tipo de micorriza esta muy extendido en las especies forestales (Sánchez1991).

Las ectomicorrizas se encuentran formadas generalmente por hongos basidiomicetos, simbiontes que crecen principalmente sobre árboles de las familias Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae, Salicaceae y algunas especies de la familia Mirtaceae (Sánchez 1991, Subba 1993). También forman ectomicorrizas algunas asociaciones de la familias Bulgariaceae,

Helvellaceae, Pizaceae, Elaphomytaceae y Tuberaceae; algunos Deuteromicetos del orden Mycelia Sterilia: géneros *Cenococcum* particularmente (Napier 1985, Sánchez 1991).

### 2.1.2.2 Endomicorrizas

Las endomicorrizas se dividen en varios subtipos: Ectodendomicorriza, Arbustoides, Monotropoides, Ericoides, Orquidáceas y las Arbusculares que son las más comunes. Las micorrizas arbusculares (MVA) pertenecen al orden *Glomales*, el cual abarca 125 especies. El suborden *Glomineae* tiene dos familias: *Glomaceae* que comprende los géneros: *Acaulospora* y *Entrophospora*. El suborden *Gigasporineae*, tiene una sola familia: *Gigasporaceae* con dos géneros: *Gigaspora* y *Scutellospora* (Sieverding 1989 b, Honrubia *et al.* 1994).

La clase taxonómica de las endomicorrizas es Zigomycetes y las ectomicorrizas se encuentran en los Basidiomycetes, Ascomicetes y Phycomycetes (Blanco y Salas 1996).

Se acepta que el 90% de las plantas superiores establecen simbiosis con micorrizas del tipo vesículo arbuscular. A parte de las familias Pinaceae, Betuliaceae, Fagaceae, Ericaceae y Orquidaceae en las que predominan otros tipos de micorrizas, sólo hay que exceptuar a especies de la familia Chenopodiaceae, Poligonaceae, Cruciferaeae, Cariophilaceae, Fumariaceae y algunas otras de menos interés, que normalmente no forman la simbiosis.

Estas especies no micorrizables son en su mayoría herbáceas, habiéndose descrito muy pocas plantas arbóreas no formadoras de micorrizas, ello hace suponer una gran incidencia de las MVA en arbóreas (Sieverding, 1985). Sin embargo De Mars y Boerner (1995) reportaron *Glomus intraradians* en tres especies de crucíferas.

Las MVA se forman entre hongos de la subdivisión *Zygomycotina* y raíces de plantas superiores. El hongo forma con la raíz un consorcio fisiológico caracterizado por la presencia de estructuras típicas, denominadas hifas, arbusculos y vesículas. Las estructuras del hongo dentro de la raíz de la planta están en contacto con el micelio externo que rodea, en una red difusa, la raíz; lugar en donde son formadas, libremente o

en esporocarpos, las azigósporas o clamidósporas del hongo; órganos con base en cuya morfología, únicamente, es posible realizar la identificación del género y la especie, debido a que no se puede desarrollar y multiplicar estos hongos, en medio de cultivo (Sieverding 1989).

Cuadro 1. Sistemática de *Zigomicotina* micorrizógenos (Morton y Benny 1990, citados por Honrubia *et al.* 1992) y tipo de micorrizas formadas. (MVA = micorrizas vesículo arbuscular; ECM = ectomicorriza).

Orden	Suborden	Familia	Género	Micorriza formada
GLOMALES	Glomineae	Glomaceae	Glomus	MVA
			Sclerocystis	MVA
		Acaulosporaceae	Acaulospora	MVA
	Gigasporineae	Gigasporaceae	Entrophospora	MVA
			Gigaspora	MA
			Scutellospora	MA
ENDOGONALES		Endogonaceae	Endogone	ECM

Las MVA son las de mayor distribución mundial y la menos específica en su relación con especies de plantas hospedantes, se observa que la distribución de las especies es heterogénea tanto en el número de especies como también en su cantidad en los diferentes sitios (Sieverding 1989 b).

#### 2.1.2.2.1 Géneros de MVA

Según los caracteres morfológicos de la espora, Honrubia *et al.* (1992) describen los caracteres diferenciadores de cada género.

*-Acaulospora:* forman azigósporas hipogreas aisladas. La esporogénesis se inicia con la formación de un saco esporógeno de pared delgada al final de una hifa gruesa. El contenido de este saco emigra hacia su parte basal y se condensa en una espora séstil. Las azigósporas tienen dos o más paredes, a menudo con ornamentación externa. Forman micorrizas arbusculares con vesículas, a veces con morfologías muy características.

*-Entrophospora:* género próximo al anterior, del cual se diferencia por formar las esporas dentro de la hifa parental, en la parte basal del sáculo esporífero. Las esporas tienen una

pared gruesa y ornamentada y otra interna membranosa. Forman micorrizas con vesículas.

**-*Gigaspora*:** forman azigósporas ectocárpicas sobre una hifa de sustentación de base engrosada. La pared de la azigóspora puede tener de 1 a 20 capas en un solo grupo, siendo la más externa a menudo ornamentada. La germinación se produce mediante uno o más tubos germinativos. Forman micorrizas arbusculares. No desarrollan vesículas intrarradicales; sin embargo se ha observado la presencia de estructuras vesiculares en el suelo, formadas a partir de las hifas del hongo.

**-*Glomus*:** forman clamidósporas aisladas o en esporocarpos, normalmente hipogeos. Las clamidósporas se forman en el extremo de una hifa de sustentación y puede tener una o varias paredes. La germinación de las clamidósporas se produce a través de la hifa de sustentación o a través de la pared. Forman endomicorrizas con vesículas.

**-*Sclerocystis*:** forman clamidósporas siempre en esporocarpos, que pueden tener un verdadero peridio. Es un género filogenéticamente muy próximo a *Glomus*. Forman endomicorrizas arbusculares con vesículas.

**-*Scutellospora*:** género muy próximo a *Gigaspora*, del que se distingue por la presencia en las azigósporas de una estructura especial llamada escutelo o placa de germinación, por donde se produce ésta a partir de uno o varios tubos germinativos. Las azigósporas presentan dos o más grupos de paredes, con una o más paredes flexibles, membranosas o coriáceas en el interior.

#### **2.1.2.2.2 Etapas en el desarrollo de la colonización**

En el ciclo de vida de la simbiosis fungal en la raíz, se desarrollan cinco eventos: 1) germinación de esporas, 2) crecimiento hifal, 3) adhesión, 4) formación de apresorios y 5) penetración de la raíz. Una vez el apresorio es formado, ocurre la penetración hifal en o entre las células corticales. Cuando se establece el punto de entrada, la colonización se extiende en todas las direcciones a lo largo de la raíz. Luego de penetrar la hifa a la raíz, se extiende intercelularmente a lo largo de la corteza y posteriormente intracelularmente, llegando hasta la segunda capa de la corteza, donde la hifa intracelular, da salida a un

completo sistema de ramificación hifal, semejante a “pequeños arbustos” que son llamados arbusculos. El arbusculo es la estructura funcional más importante de la simbiosis y se cree que es el sitio preferido para el intercambio de metabolitos entre las plantas y el hongo (Sieverding 1991).

Los arbusculos son funcionales de 4-13 días, luego ocurre su degradación y las células hospedantes y organelas retornan a su estado no micorrizado. El proceso de formación arbuscular y degeneración ocurre simultáneamente, por lo tanto todos los estados arbusculares siempre se observan en la raíz. En plantas de edad (con varios años) y en estado natural, se observa con más frecuencia arbusculos viejos que arbusculos activos (Sieverding 1991).

Las vesículas se encuentran dentro de la raíz y pueden ser intercelulares o intracelulares, pueden diferir en su tamaño (30-80  $\mu\text{m}$ ). Estas contienen lípidos y son consideradas como organismos de almacenamiento. En los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* nunca se forman vesículas, éstos producen células auxiliares en el micelio externo. La hifa externa crece a lo largo de la superficie de la raíz o se extiende en el suelo alrededor de ésta, cuando la colonización interna ha sido establecida. Las esporas pueden ser producidas por el micelio externo y su diámetro depende de la especie. La formación de esporas, en algunas especies de hongos, puede ocurrir muy pronto, 3-4 semanas después de iniciada la colonización, mientras que otras tardan de 6 meses a 1 año (Azcón *et al.* 1991).

### 2.1.3 Función de las Micorrizas

Entre las funciones atribuidas a las MVA actualmente se reconocen las siguientes:

- Las micorrizas han mejorado el crecimiento de muchas especies de importancia económica (Janos 1983) y en la mayoría de las veces que se compara el crecimiento de las plantas micorrizadas con testigos no inoculados, el desarrollo en las primeras es significativamente mayor (Vaast *et al.* 1991; Azcón *et al.* 1991). Este mejoramiento estaría dado por cambios fisiológicos en la planta, tales como: aumento de la actividad fotosintética, alteración de reguladores de crecimiento (citoquininas

por ejemplo) y cambios en las concentraciones de nutrientes en los tejidos que conlleva a modificaciones en la osmorregulación, entre otros (Linderman 1988).

- La inoculación de hongos micorrizógenos vesículo arbusculares, facilita la absorción de los nutrientes del suelo y mejoran la disponibilidad de elementos nutritivos poco móviles (poco solubles), para alimentar las plantas en forma rápida y por períodos prolongados, aumentando el volumen de suelo explorado y optimizando el consumo de fertilizantes, lo cual se refleja en un mayor crecimiento de las plantas; los nutrientes más favorecidos son: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Azufre, Boro, Calcio y Zinc (Herrera 1985, Ospina y Martínez 1993, Subba 1993). Las hifas de las micorrizas se ramifican por el suelo incrementando la superficie absorbente en cien o mil veces con respecto a una raíz sin micorrizas (Lacrare 1977). Los hongos micorrícicos exploran entre 10 a 200 veces más volumen de suelo y absorben y transportan hacia la raíz más intensivamente aquellos elementos nutritivos que son poco disponibles para la planta (Sieverding 1989 b).
- Mejoran la captación de agua, permitiendo la sobrevivencia de las plantas en condiciones adversas, aumentando la resistencia de la planta a la sequía (Sieverding 1989 b, Brundrett 1991). Un sistema radical de mayor longitud, la absorción de potasio y de fósforo puede ser importante para incrementar la tolerancia al estrés hídrico (Sieverding y Toro, 1991). Se ha observado también un uso más eficiente del agua por unidad de materia seca producida en plantas micorrizadas (Sieverding 1991).
- Inducen la producción de enzimas necesarias para el desarrollo de las plantas (Villafañe *et al.* 1983). Las hifas y las esporas producen auxinas, giberelinas y citoquininas Barea *et al.* 1987). Las enzimas producidas durante el proceso de micorrización cambian la fisiología del hospedaste. Smith y Gianinazzi-Pearson (1988) reportan que a nivel celular, las auxinas estimulan la actividad de la membrana que cubre el ATP.
- Protegen la planta contra el ataque de algunos patógenos y ayudan a sobrellevar situaciones estresantes (Pedraza 1979, Napier 1985, Sieverding 1989 y Brundrett

1991). La resistencia al ataque de patógenos ha sido observada cuando la inoculación con la micorriza precede a la llegada del patógeno, pues cuando la inoculación de ambos ha sido simultánea, no se han observado reducciones en la enfermedad (Paulitz *et al.* 1991, Sieverding 1991). Niveles mayores en la producción de lignina, etileno, fenoles y fitoalexinas en plantas micorrizadas han sido vistos, lo cual daría un efecto protector al ataque de patógenos (Sieverding 1991). Halos y Zorrilla (1979) señalan que la incidencia del marchitamiento bacterial causado por *Pseudomonas solanacearum* se reduce en plantas de tomate micorrizadas. Schenck y Kellam (1978) trabajando con *Gigaspora margarita* y *Glomus macrocarpum*, encontraron que cuando raíces de árboles de las variedades *Citrango carrizo* y *Citrus aurantium* L. se inoculaban previamente con MVA, 110 días antes de la inoculación con *Pseudomonas parasitica*, se reducía el daño del patógeno y las plantas micorrizadas exhibían un mayor peso y diámetro de tallo en comparación con las no micorrizadas.

- 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, numerosas partículas del substrato (Patiño 1989, Paulitz *et al.* 1991, Sieverding 1991).
- Su existencia representa uno de los mecanismos de conservación de nutrientes más importantes en los ecosistemas vegetales naturales y agroecosistemas (Herrera 1985).
- Hacen posible el uso más eficiente de los fertilizantes y otros insumos agrícolas, que necesariamente se deben aplicar para asegurar un mínimo de productividad (Sieverding 1989 b).
- Plantas establecidas en viveros crecen mejor y sobreviven más fácilmente al transplante en el campo (Sieverding 1989 b).
- Sánchez (1991) agrega que las micorrizas mejoran el transporte de agua en las plantas, ayudan a soportar altas temperaturas y reducen los daños por transporte. El papel de las endomicorrizas en la protección contra el estrés de transplante, salinidad y lluvias ácidas; asimismo, no se descarta la posibilidad de su utilización para la colonización de hábitats deteriorados ecológicamente (Patiño 1989).

- También se considera las relaciones sinérgicas entre endomicorrizas y otros microorganismos biofertilizadores y se señala el papel de algunos microorganismos en la dispersión, así como la relación entre micorrizas y metabolitos secundarios de las plantas y entre aquellas y sus ambientes acuáticos y halofíticos (Barea 1985, Patiño 1989).

Un gran número de microorganismos es conocido por realizar actividades que alteran la disponibilidad de nutrientes minerales. Esto sugiere la posibilidad de que interacciones sinérgicas con hongos micorrizógenos pueden mejorar el crecimiento de las plantas. Los ejemplos incluyen microorganismos solubilizadores de fosfatos, fijadores de nitrógeno y rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (Azcón *et al.* 1991).

Las rizobacterias son bacterias de la rizosfera con capacidad para colonizar la raíz, es decir, son capaces de sobre vivir a la inoculación sobre las semillas, o en el suelo, multiplicarse en la esfermosfera en respuesta a los exudados de la raíz, ricos en carbohidratos y aminoácidos, unirse a la superficie de la raíz y, finalmente, colonizar el sistema radical de desarrollo (Azcón *et al.* 1991). Por ello, las rizobacterias son competidores microbianos muy eficaces de la raíz, de la que desplazan a los microorganismos nativos, y en la que persisten a lo largo de los estadios intermedios de la ontogenia de la planta hospedera, a densidades de población relativamente elevadas (Kloepper 1992).

Se han encontrado evidencias experimentales de que bacterias tales como *Frankia* sp., *Azospirillum* sp. y *Azotobacter* sp. llevan a cabo ciertas acciones conjuntas con los hongos VA las cuales tienen importantes consecuencias en el desarrollo vegetal y que estos microorganismos en conjunto tienen que ver con la formación de los agregados del suelo (Barea 1985).

Hernández (1995) estudiando el efecto de micorrizas en *Centrosema*, encontró un mayor peso seco, peso fresco y altura de las plantas, cuando estas se inoculaban con *Rhizobium*, *Glomus fasciculatum*, *Azospirillum* (K-19) y *Azotobacter* (MB-9), en un mismo tratamiento.

En un ensayo de determinación del efecto de *Rhizobium* IH-002 y *Glomus fasciculatum*, Tang (1995) encontró que se obtenía un mayor peso seco, contenido de nitrógeno, peso seco de nódulos y número de nódulos, cuando se mezclaban los dos microorganismos, que cuando estaban individualmente en el tratamiento.

No solo efectos estimulantes se han observado de la interacción entre hongos MVA y otros microorganismos, sino que también inhibitorios y antagonicos. Estos se han visto principalmente en los experimentos en que las esporas germinan en suelo pasteurizado pero no en suelo sin pasteurizar, en donde las esporas dejan de germinar en presencia de bacterias (Paulitz y Linderman 1991).

La comprensión de los procesos que ocurren entre los hongos MVA y otros microorganismos, y estos con las plantas son fundamentales para una exitosa manipulación de las poblaciones de la rizosfera (Azcón y Barea 1991).

#### **2.1.4 Función de la planta**

Las raíces permiten que los hongos penetren a la corteza radicular y tomen los azúcares simples y vitaminas (tiamina) para alimentarse y desarrollarse (Ospina y Martínez 1993), hormonas, aminoácidos y otros exudados (Araujo De 1995).

En la mencionada simbiosis, la planta hospedante provee al hongo de carbohidratos y el hongo le suministra a la planta algunos nutrientes de poca movilidad en el suelo (Cuenca *et al.* 1991).

Cualquier alteración de la planta por el ambiente, como elevada oferta de N ó P, por ejemplo, interfiere en la simbiosis y disminuye los efectos de acción de los hongos (Araujo De 1995).

La población de microorganismos en el suelo está directa o indirectamente determinada por los exudados radicales, por lo tanto la fluctuación en la concentración y diversidad de éstos obedece a factores fenológicos y/o ecológicos y tiene un impacto directo sobre la fluctuación de las poblaciones (García 1987).

Los exudados radicales, especialmente los azúcares, son factores importantes en el desarrollo de las micorrizas vesículo-arbusculares, por lo que es frecuente encontrar en la literatura que los factores abióticos, como la intensidad luminosa o la temperatura del suelo; los factores fenológicos y las aplicaciones foliares de nutrientes, herbicidas o plaguicidas, afectan la velocidad de exudación y el tipo de exudados, en consecuencia deben afectar a las micorrizas (García 1987).

### **2.1.5 Protección a enfermedades**

Schenck y Kellam (1981), recopilaron la mayoría de las investigaciones que se habían realizado hasta 1978, acerca del efecto de varias especies de MVA sobre la severidad de enfermedades patogénicas en algunas plantas; en el 58 % de los casos registran una disminución en la severidad de las enfermedades, en el 24 % no hubo cambio y en el 18 % de los casos, un aumento en la severidad.

Sieverding (1985) considera que los hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares pueden aumentar, disminuir o no tener ningún efecto sobre la intensidad de las enfermedades de las plantas. Se ha encontrado que las plantas micorrizadas son menos susceptibles a patógenos del sistema radical, mientras que el desarrollo de patógenos en la parte aérea pueden aumentar. Los mecanismos de la MVA para reducir la intensidad de las enfermedades pueden ser:

- Una mejor nutrición de la planta, lo cual hace que sea más tolerante o menos susceptible.
- El área radical afectada por patógenos, puede ser sustituida por las hifas del hongo MVA.
- Una protección directa de la raíz por la presencia del hongo en su interior y exterior, que actúa como barrera para la entrada de patógenos.
- Competencia en la rizosfera entre los hongos MVA y los microorganismos patogénicos por carbohidratos.

Los hongos micorrícicos son un importante factor para las raíces de las plantas, pues operan como barrera mecánica (ectomicorrizas) y biológica (ecto y endomicorrizas) protegiéndolas contra el ataque de patógenos (Pedraza 1979).

Napier (1985) establece que las micorrizas protegen contra hongos patógenos. Esto se debe a la presencia del micelio alrededor y dentro de la raíz el cual crea una barrera física a la invasión de la misma por estos patógenos.

## **2.2 Razones que aconsejan el uso de micorrizas y rizobacterias en forestales**

Aunque se descubrieron las micorrizas en 1885, su gran importancia no fue comprendida completamente hasta que en algunos países se intentó introducir especies foráneas de árboles como pino y eucalipto (Napier 1985).

En el trópico no se puede olvidar que todas las tierras originalmente estaban cubiertas por bosques. Así la riqueza en cepas de micorriza que hace posible la asociación micotrófica en pastos y en cultivos tanto tropicales como café, cacao, palma africana, yuca, tomate, tabaco, frijol, maní, piña, papaya, etc.; como subtropicales: trigo, cebada, avena, soya, cebolla, duraznos, manzanos, etc.; constituyen remanentes de la población selvática original de hongos micorrizógenos, adaptados a la deforestación y a las prácticas agrícolas, mostrando con ello una gran plasticidad evolutiva (Patiño 1989).

El conocimiento de la existencia de una simbiosis micorrizal de tipo obligado en la mayoría de las latifoliadas tropicales, junto con observaciones sobre el crecimiento de dichas especies cuando han sido plantadas sobre suelos sometidos al proceso de tumba y quema, prácticas agrícolas, etc., nos inducen a pensar acerca de la necesidad de la micorrización como práctica silvicultural en vivero, para lograr el crecimiento normal de las especies (Pedraza 1979).

Carvajal y Hernández (1989) en un estudio para inocular dos especies nativas, *Tabebuia rosea* y *Cordia alliodora*, con hongos de los géneros *Boletus* e *Hygrophorus* y donde se quería observar el efecto de estos hongos ectomicorrícicos sobre las especies en mención, no encontraron diferencias significativas en los tratamientos. Llegaron a la conclusión

que se deberían de identificar inicialmente si las especies presentaban asociaciones de ectomicorrizas o de endomicorrizas, para no tener fracasos.

Reddell y Warren (1986) recopilaron información sobre diferentes especies de acacias y la presencia de micorrizas en las mismas, encontraron ectomicorrizas en 13 especies; MVA en 29 especies; MVA y ectomicorrizas en sólo 4 especies.

Carrillo *et al.* (1992) analizando los bosques de *Nothofagus obliqua*, *Nothofagus antarctica*, *Peumus boldus* y *Myrceugenia exsuca*, encontraron 91 especies, de un total de 114, que presentaban simbiosis micorrícica, siendo el 73 % de tipo vesículo-arbuscular.

Schoemerberger (1983) citado por Alvarado (1985), encontró en *Eucalyptus regmans*, *Gigaspora margarita* y *Laccaria lacata* formando endo y ectomicorrizas.

En estudios realizados en el bosque húmedo de Dantas (Huanuco, Perú), se encontró la presencia de endomicorrizas en las especies *Cedrela odorata*, *Copaifera reticulata* y *Cedrelinga catenaeformis*, además ectomicorrizas en la última especie, mostrándose un amplio ámbito de infección (Mecinas *et al.* 1991). Sieverding, (1992) citado por Blanco y Salas (1996), indica que existe evidencia que las bacterias promotoras del crecimiento como *Pseudomonas putida* (cepa F-44) actúa sinérgicamente con algunas especies de hongos MA, siendo el efecto mayor si son inoculados simultáneamente en la siembra. El hongo se ve favorecido en una mayor producción de esporas, aspecto que se puede considerar en la producción de inóculo de MVA. Existen diferentes ensayos que demuestran la presencia de micorrizas asociadas con especies forestales (Cuadro 2).

Herrera (1985) en ensayos realizados en Cuba, encontró que de 75 especies pertenecientes a 37 familias en distintos ecosistemas y un vivero forestal, solo la familia Polygonaceae no presentó la simbiosis MVA, 26 especies presentaron un nivel de infección bajo, 25 un nivel de infección medio y 23 se presentaron altamente infectadas.

Cuadro 2. Especies forestales y tipos de micorrizas.

ESPECIES FORESTALES	MICORRIZA	REFERENCIA
<i>Hacer</i> sp.	Ecto + Endo	Meyer 1973
<i>Alnus</i> spp.	Ecto + Endo	Meyer 1973
<i>Betula</i> spp.	Ecto	Meyer 1973
<i>Eucalyptus</i> spp.	Ecto + Endo	Sidhu y Behl 1990
<i>Salix</i> spp.	Ecto + Endo	Meyer 1973
<i>Ulmus</i> spp.	Ecto + Endo	Meyer 1973
<i>Pinus</i> spp.	Endo	Sieverding 1989
<i>Tamarindus indica</i>	Endo	Sidhu y Behl 1990
<i>Cedrela odorata</i>	Endo	Castaño 1989; Mecinas 1991
<i>Tabebuia chrysantha</i>	Endo	Castaño 1989 *
<i>Jacaranda caucana</i>	Endo	Castaño 1989 *
<i>Cordia alliodora</i>	Endo	Castaño 1989 *
<i>Fraxinus chinensis</i>	Endo	Castaño 1989 *
<i>Eugenia</i> sp.	MVA	Smits 1983
<i>Xanthophyllum</i> sp.	MVA	Smits 1983
<i>Gardenia</i> sp.	MVA	Smits 1983
<i>Euodia</i> sp.	MVA	Smits 1983
<i>Palaquium</i> sp.	MVA	Smits 1983
<i>Anisoptera marginata</i>	Ecto	Smits 1983
<i>Dipterocarpus confertus</i>	Ecto	Smits 1983
<i>Vatica</i> sp.	Ecto	Smits 1983
<i>Chaetocarpus castenocarpus</i>	Sin micorrizas	Smits 1983
<i>Aporusa frutescens</i>	Sin micorrizas	Smits 1983
<i>Cedrelinga catenaeformis</i>	Endo ( <i>Glomus</i> spp.)	Mecinas <i>et al.</i> 1991
<i>Copaifera reticulata</i>	Endo	Mecinas <i>et al.</i> 1991
<i>Leucaena leucocephala</i>	Endo	Aguirre y Velazco 1994
<i>Albizia lebbeck</i>	Endo ( <i>Glomus etunicatum</i> )	Pereira <i>et al.</i> 1995
<i>Citrus</i> spp.	Endo	Sieverding 1989

● citado por Ospina y Martínez (1993).

## 2.3 Factores que afectan el desarrollo de las micorrizas

### 2.3.1 Factores físicos.

#### 2.3.1.1 Temperatura

La temperatura ha mostrado una influencia significativa en la colonización de hongos MVA bajo condiciones de invernadero. Schenck y Kellam (1978) citados por Bagyaraj y Manjunath (1980), observaron que el máximo desarrollo arbuscular ocurre cerca a los 30°C, siendo optima la colonización micelial a temperaturas entre 28 y 34°C. Daniels y Trappe (1980) observaron que la temperatura optima de germinación de esporas de *Glomus* y *Acaulospora* es alrededor de 20-25°C.

Los principales factores que intervienen en la asociación entre hongo y raíz, en forma natural son: la planta, el hongo, el suelo y el ambiente en que crecen los dos simbios. Cada factor esta compuesto por diversas características que individualmente pueden influir sobre el beneficio de la MVA para la planta (Sieverding 1989 b).

#### **2.3.1.2 Luz**

La luz puede afectar el desarrollo de las micorrizas. Dar sombra no solamente reduce la colonización de la raíz y la producción de esporas, sino también hace que la planta responda a la MVA, (Bagyraj y Manjunath 1980). Sin embargo, el efecto de la luz en MVA parece depender de la fotosensibilidad de la planta hospedante (Sieverding, 1989 b).

#### **2.3.1.3 Agua**

Los hongos MVA admiten un amplio ámbito de contenido de agua en el suelo. La colonización por ellos ha sido encontrada en regiones áridas, suelos muy húmedos de pantanos y también flotando libremente o sumergidos en plantas acuáticas (Sieverding 1989 b).

### **2.3.2 Factores químicos.**

#### **2.3.2.1 pH**

La distribución de micorrizas en el suelo, puede ser directamente afectada por el pH del suelo. Estudios realizados sugieren que se obtiene una buena germinación de esporas de MVA en un amplio ámbito de pH que va de 5 a 8 (Siqueira *et al.* 1989). Aggangan *et al.* (1996) trabajando con *Eucalyptus urophylla*, encontraron que la formación de micorrizas no fue afectada por el cambio de pH, sin embargo, la efectividad de las diferentes ectomicorrizas fue menor. La aplicación de enmiendas neutralizadoras del pH puede afectar la población de hongos micorrícicos en el suelo, como lo demostró Sieverding (1991) en un experimento con yuca, en donde observó que de las 15 especies de hongos existentes antes de la aplicación de la enmienda; quedaron, posteriores a esta práctica, solo 8 especies

### 2.3.2.2 Fósforo

Los efectos más significativos de la MVA, sobre el mejoramiento en el crecimiento de las plantas se observan cuando el fósforo (P) presente en el suelo es bajo. En los suelos tropicales la concentración de P en solución del suelo es muy baja y alrededor de la zona de crecimiento radical, los iones de P se agotan rápidamente en una distancia de unos pocos milímetros. Debido a la tasa de difusión tan baja del P, esta zona no alcanza a ser provisionada adecuadamente. El micelio externo de los hongos micorrizógenos crece más allá de esta zona e incrementa el volumen del suelo a partir del cual la planta absorbe P (Sieverding *et al.* 1989).

El fósforo ha mostrado frecuentemente ser inhibidor del desarrollo de las MVA y regulador de la liberación de exudados, principalmente por alteraciones en la fisiología del hospedante (Smith *et al.* 1988). Bajos niveles de fósforo en los tejidos, han sido asociados con un aumento en la permeabilidad de la membrana, atribuido por un descenso en los niveles de fosfolípidos. Esta permeabilidad aumentada se ha correlacionado con incrementos en la tasa de exudación de azúcares solubles, aminoácidos y ácidos carboxílicos en plantas deficientes de fósforo en sus raíces, comparados con aquellas altas en fósforo (Schwab *et al.* 1991).

Se ha observado en ocasiones que la fertilización con fósforo reduce los porcentajes de infección, deprime el desarrollo de arbusculos, vesículas, hifas externas e internas y disminuye el número de puntos de penetración y de esporas (Smith y Gianinazzi-Pearsson 1989, Hetrick *et al.* 1989, Sieverding 1991).

Davis y Linderman (1991) observaron que en semilleros de chile (*Capsicum annuum* L.) los incrementos en la aplicación de fósforo redujeron la colonización de raíces, tendencia que Fairchild y Miller (1990) también observaron en maíz. López *et al.* (1983) encontraron que las muestras de cafetos que no habían recibido fertilización con fósforo, presentaban frecuentemente los mayores porcentajes de infección micorrícica.

Sieverding (1991) en un ensayo en Colombia, evaluó los porcentajes de colonización de las raíces de 30 clones de yuca bajo diferentes cantidades de fósforo aplicado. De ellos, 7

vieron reducida la intensidad de colonización de sus raíces, 11 no fueron afectados y 12 aumentaron los porcentajes de infección. También existió una correlación positiva entre los niveles de colonización y los rendimientos de los clones.

### 2.3.2.3 Nitrógeno

Las plantas colonizadas por MVA generalmente tienen una más baja concentración de nitrógeno en los tejidos que las plantas no colonizadas. Esto es probablemente porque se diluye al haber un incremento en el crecimiento de las plantas colonizadas. Las plantas micorrizadas algunas veces tienen un alto contenido de N, pero no está claro si es debido al incremento en la toma de N o es solamente una parte del efecto de compensación a otra deficiencia, como la del fósforo (Bowen 1973).

### 2.3.2.4 Micronutrientes

La distribución de las micorrizas se ve muy afectada por la fertilidad del suelo. Bofante-Fasolo (1987) plantea que el balance de nutrientes parece ser que es, lo que más influye sobre las micorrizas. Los niveles altos de Al, Mn, Cu, Fe y P parecen tener un efecto negativo en las MVA y en la simbiosis (Fernández *et al.* 1989). Micronutrientes como el magnesio y zinc inhiben la germinación de esporas de hongos micorrizógenos (Hepper y Warner 1983). Los iones de sodio y cloruro inhiben la germinación de esporas de hongos MVA. Bowen (1973) encontró una típica colonización de MVA y esporas en un suelo con más de 5000 ppm de cloruro. Lo anterior muestra su especial adaptación a condiciones de salinidad.

### 2.3.2.5 Plaguicidas

*-Herbicidas* : no todas las especies de hongos MVA son afectadas por los herbicidas en igual intensidad, aunque en términos generales estos químicos producen efectos negativos en ellos (Sieverding 1989 b). Los herbicidas pueden afectar directa o indirectamente la composición de especies de hongos MVA, pues varían las poblaciones de malezas que son hospedantes potenciales. Por esta razón se puede dar una reducción de esporas y su diversidad (Sieverding y Leihner 1984). No obstante, poco se puede concluir sobre tendencias generales de los herbicidas en la formación de MVA y sus

poblaciones, dada la existencia de muchos factores que intervienen como condiciones de suelo, cambios fisiológicos en los hospedantes y en la composición de malezas, poblaciones microbiales del suelo y los herbicidas en sí (Sieverding 1991).

*-Fungicidas:* no se conoce que algún fungicida inhiba totalmente la formación de MVA. No se han observado efectos negativos en las tasas de infección cuando la aplicación se hace posterior al establecimiento de la simbiosis. Sí se ha visto la tendencia a una mayor disminución en los porcentajes de infección cuando el fungicida se ha aplicado a las semillas que cuando se aplica al follaje (Sieverding 1991). Los fungicidas sistémicos como el tiabendazol, benomyl y triadimefon son los más tóxicos para estos hongos. La fumigación del suelo con biocidas, como el bromuro de metilo, cloropicrin, formaldehído, Vapam y Vorlex; efectivamente destruyen endotipos de MVA en las zonas tratadas. Afortunadamente estos hongos colonizan suelos que han sido fumigados por años (Sieverding 1991).

El captol, tiabendazol, etazol y otros han aumentado las tasas de infección en algunos casos. Otros como el benomil, captán, PCNB y triamidedon tienden a afectar negativamente la colonización de las raíces por los hongos MVA (Sieverding 1991).

### **2.3.2.6 Materia orgánica**

La materia orgánica influye en la estructura del suelo, el pH, contenido de nutrientes y la capacidad de absorción del agua; todo esto directa o indirectamente influyen en el desarrollo y eficiencia de las MVA (Saif 1987). Un aspecto de atención dentro del estudio de la materia orgánica es el impacto de residuos de raíces micorrizadas en la ecología de hongos MVA en el suelo. Numerosas plantas son micorrizadas anualmente, y los sistemas de raíces micorrizadas son continuamente incorporados en los suelos y degradados por los organismos del suelo. Los residuos de raíces micorrizadas pueden ser un importante reservorio de inóculo (Sieverding 1991). Rivas Platero (1997) encontró que ciertos productos del compostaje actúan como acarreadores de hongos MVA.

### 2.3.3 Factores biológicos.

#### 2.3.3.1 Planta hospedante

La planta no debe presentar resistencia a la infección por hongos micorrícicos en circunstancias dadas y depender obligatoriamente de ellos para su nutrición; además deben de tener la capacidad de satisfacer la demanda de carbohidratos por parte de los hongos y adaptarse tanto al sustrato como al ambiente donde esta creciendo (Sieverding 1989).

Existen plantas micotróficas y no microtróficas, dentro de esta última se encuentran las familias Chenopodiaceae, Brassicaceae, Portulacaceae y Cruciferae (Janos 1983, Tester *et al.* 1987). En las plantas micotróficas existen dos niveles: facultativas y obligadas, estas últimas no crecerían ni producirían bien en suelos con bajos contenidos de fósforo o con asociaciones micorrizógenas poco efectivas (ej. *Manihot* sp., *Trifolium* sp.) (Howeller *et al.* 1987). Las plantas micotróficas facultativas son aquellas que pueden funcionar con o sin la presencia de hongos micorrizógenos (ej. *Phaseolus* sp., *Oriza* sp., *Cucumis* sp.) (Jeffries y Dodd 1990).

#### 2.3.3.2 Hongo

El hongo favorece a la planta hospedante siempre y cuando la infecte rápidamente, lo cual depende de la especie de hongo, de su abundancia en el suelo y de las condiciones tanto edafológicas como ambientales. Si crece y desarrolla un extenso sistema de micelio externo, abundante fósforo así como otros nutrientes del suelo pueden ser tomados por la raíz. Los hongos micorrícicos deben de ser capaces de competir con microorganismos antagónicos y funcionar sinérgicamente con microorganismos simbióticos, tolerar cambios de las condiciones físicas y químicas del suelo (Sieverding 1989 b).

## 2.4 Especies forestales utilizadas en la investigación

### 2.4.1 *Cordia alliodora*

Arbol de la familia Boraginaceae, se encuentra creciendo desde México hasta el norte de América del Sur. Es de tamaño mediano, de hojas caedizas, alcanza una altura de 21 m y 48 cm de diámetro (Salas, 1993).

La madera en condición seca, presenta una albura de color café oscuro; textura media; grano levemente entrecruzado; superficie mediana a altamente lustrosa. Madera con densidad básica de  $0.48 \text{ gr/cm}^3$ , contracción volumétrica total baja (9.2); presenta propiedades mecánicas muy bajas o algo medianas; seca fácilmente y no se producen defectos importantes; resiste hongos de pudrición e insectos; fácil de trabajar con productos preservantes en albura; fácil de trabajar con maquinarias y herramientas de carpintería (Herrera y Morales, 1994).

El laurel se ha considerado como un buen árbol para reforestación, ya que crece rápidamente, tiene buena madera para muebles y para construcción (Angehr *et al.* 1984).

Castaño (1989), citado por Ospina y Martínez (1993), reporto la presencia de *Glomus manihotis* en *Cordia* sp.

### 2.4.2 *Tabebuia rosea*

Pertenece a la familia Bignoniaceae. Arbol de tamaño mediano, alcanza unos 20 m de altura, copa amplia e irregular y tronco recto. Se adapta a una gran variedad de suelos y de climas. Es abundante en campos abandonados. Originario de América (Salas, 1993).

La madera presenta una albura de color castaño muy pálido; textura media; grano recto y entrecruzado; superficie poco lustrosa. Su densidad es mediana y su contracción volumétrica total baja; presenta propiedades mecánicas bajas a altas; seca al aire con pocos defectos siendo los más notables arqueaduras y curvaturas; duramen moderadamente durable; moderadamente resistente a resistente a hongos de pudrición, fácil de tratar con productos preservantes; posee buenas propiedades de trabajabilidad (Herrera y Morales, 1994).

Castaño (1989), citado por Ospina y Martínez (1993), reporto la presencia de *Entrophospora colombiana* en *Tabebuia* sp.

## 2.5 Esterilización de suelos

Howeler (1989) trabajando con diferentes medios la desinfección del suelo para hacer la inoculación con micorrizas, encontró que la aplicación de formol (desinfectante), Brasicol (fungicida) y Alaclor (herbicida) afectaron la población de MVA nativa, resultando en una menor infección y crecimiento que las no desinfectadas. El secamiento al sol ó al horno a 55° C redujo drásticamente el crecimiento de las plantas y la infección de las raíces. Estos métodos bajaron la población de micorrizas nativas pero no las eliminaron por completo y con el tiempo la población pudo restablecerse. Los métodos más drásticos fueron la pasteurización durante 4 u 8 horas y la esterilización con bromuro de metilo. Con estos tratamientos no hubo infección de las raíces y el crecimiento fue esencialmente nulo, indicando que la MVA nativa había sido eliminada por completo.

Para la aplicación de bromuro de metilo se cubre el suelo con plástico transparente por tres días y dejándolo airear otros tres días antes de usarlo. Es un producto que no se debe recomendar, por que va a salir del mercado (Bustamante 1997, comunicación personal).

Para desinfectar el suelo en un ensayo de micorrizas en frutales, Guzmán (1989) utilizó recipientes de 15 galones, que se colocaron al fuego por dos periodos de 6 horas cada uno y un intermedio de enfriamiento de 12 horas, teniéndose un buen resultado con este método.

Parra *et al.* (1990) utilizaron para la desinfección de un semillero para café, arena esterilizada previamente en autoclave durante 2.5 horas, 120° C y 15 psi y para el suelo de almácigo, desinfectaron con 50 g/m<sup>2</sup> de dazomet.

Alvarado (1985) en un ensayo con micorrizas en *Eucalyptus*, desinfectó el suelo en autoclave a 1.25 kg/cm<sup>2</sup> de presión y 121°C durante 60 min. En Costa Rica trabajando con micorrizas, Cahaverri y Rojas (1986) han usado para desinfectar suelo en *Quercus copeyensis*, bromuro de metilo y cloropicrina.

## 2.6 Almacenamiento de hongos formadores de micorrizas

Toro *et al.* (1989) en un ensayo donde se evaluaban varias formas de almacenamiento de MVA, encontraron que el mejor tratamiento para su almacenamiento, lo constituyó el sustrato de suelo infectado, forma en la cual se pueden conservar durante mas de dos años. Raíces infectadas no se pueden almacenar por mucho tiempo, salvo en el caso, que el hongo forme esporas dentro de ellas. Las esporas se pueden almacenar en solución de Ringer, durante tres meses sin problema.

### III. MATERIALES Y METODOS.

#### 3.1 ENSAYO I. Efecto de endomicorrizas y rizobacterias en plántulas de dos especies forestales: *C. alliodora* y *T. rosea*.

**Objetivo:** Analizar el efecto de la inoculación de microorganismos del suelo, sobre el crecimiento y desarrollo de dos especies forestales.

##### 3.1.1 Localización de los experimentos

Los ensayos se realizaron en el laboratorio de micorrizas, del Area de Agricultura Tropical Sostenible del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

El CATIE se localiza a 9°53' de latitud Norte y 83°38' de longitud Oeste, a una altitud de 602 msnm.

##### 3.1.2 Clima

La temperatura media anual es de 21,7°C, con una precipitación de 2616 mm, distribuida más o menos uniforme a lo largo del año, y una humedad relativa de 87.8 %, la evaporación anual media con tanque A es de 1194 mm. (CATIE, 1995). De acuerdo a la clasificación de Holdridge, el CATIE se encuentra en la zona de vida denominada "Bosque Muy Húmedo Premontano".

La precipitación media anual es de 2636 mm, con un promedio de 246 días de lluvia.

La humedad relativa es de 87% con una variación mensual de  $\pm 3\%$  y la temperatura media anual de 21.7°C, con una máxima y mínima media anual de 26.9°C y 17.8°C, respectivamente. La radiación solar media es de 18 MJ/m<sup>2</sup>día y el brillo solar medio es de 4.6 horas por día.

### 3.1.3 Suelo

Según Aguirre (1971), los suelos son de origen aluvial, pertenecientes a la serie "Juray", orden Inceptisol, suborden Tropepts, grupo Dystropepts, subgrupo Typic Humitropepts, familia Fine mixed hysohyperthermic.

El suelo que sirvió de sustrato fue tomado de un corte de carretera en la Finca Florencia, la cual colinda por el occidente con el CATIE. El suelo se esterilizó en autoclave a 121°C a 20 psi por una hora.

El suelo utilizado presentó una textura franco arcillosa y coloración amarillo-rojizo. Al sustrato se le realizó un análisis químico. Las condiciones fueron: puro y cuando se le adicionó 6.7% de cachaza esterilizada (subproducto del beneficio de la caña de azúcar) (Anexo 1).

### 3.1.4 Diseño experimental

El diseño estadístico utilizado fue bloques completos al azar en un arreglo factorial 2 X 4 x 4 que definen 32 tratamientos y 4 repeticiones. Los niveles que explicaron el arreglo factorial fueron los siguientes: 2 especies forestales, 4 de bacterias y 4 de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA).

### 3.1.5 Factores

#### 3.1.5.1 Especies forestales

Se utilizaron las especies *T. rosea* y *C. alliodora*, debido a su gran potencial para incorporarlas en cultivos agroforestales, son maderas de alto valor económico, se adaptan a la zona en donde se pretende fomentar los resultados de esta práctica (Santander de Quilichao, Colombia), tienen un rápido crecimiento y sobretodo porque los agricultores muestran una alta preferencia por estos árboles.

Especie	Familia	código del nivel	código/texto
• <i>C. alliodora</i>	(Boraginaceae)	e1	Ca
• <i>T. rosea</i>	(Bignoniaceae)	e2	Tr

### 3.1.5.2 Micorrizas

	código del nivel	código/texto
• Testigo	m1	T
• <i>Glomus occultum</i>	m2	LOCT*
• <i>Glomus manihotis</i>	m3	LMNH*
• <i>Entrophospora colombiana</i>	m4	ECLB*

\* Pérez y Shenck (1990)

### 3.1.5.3 Rizobacterias

	código del nivel	código/texto
• Testigo	r1	T
• <i>Bacillus cereus</i>	r2	Bc
• <i>Serratia marcescens</i>	r3	Sm
• <i>Pseudomonas fluorescens</i>	r4	Pf

### 3.1.6 Plantas

Se utilizaron semillas de *C. alliodora* y de *T. rosea*, las primeras distribuidas por SEMICOL (Cerritos, Valle del Cauca, Colombia) y las segundas fueron colectadas por PROSEFOR (Las Juntas, Guanacaste, Costa Rica). En el anexo 2 se presentan características de la germinación.

### 3.1.7 Siembra

Se adicionó a las macetas 2200 cc de suelo esterilizado y se hizo la siembra de 6 semillas por maceta, de las cuales al momento de la germinación se escogieron las mejores

plantas, procurando dejar la población uniforme. Los criterios de selección fueron altura, grosor de la base del tallo, número de hojas, sanidad, coloración y vigor de la planta. A los 30 días de la siembra se ralearon las plantas de *T. rosea* y a los 60 días, las de *C. alliodora*, en las cuales se dejó una planta por maceta.

### 3.1.8 Inóculo micorrízico

Se obtuvo inóculo mixto de micorrizas de la Fundación para el Desarrollo Rural Integral Comunitario (Alternativa Comunitaria), la cual opera en Santander de Quilichao, Colombia. Al momento de la siembra de las semillas, se aplicó 3 g de inóculo por tratamiento. A este inóculo se le determinó el número de esporas por 100 g de suelo (Anexo 3).

### 3.1.9 Inóculo de bacterias

Las bacterias que se usaron pertenecen a la colección del laboratorio MIP-CATIE. Se utilizó 1 ml de unidades formadoras de colonia (ufc) por maceta, de las bacterias *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens* y *Pseudomonas fluorescens*, según el tratamiento.

Como medio de dispersión de las bacterias, se usó cachaza, la cual se sometió al autoclave por una hora a 121°C. Para esta operación se colocó el material en una bolsa autoclavable. Después de enfriarse el material, se procedió a mezclar 1000 cc el sustrato con 30 g de sucrosa, 30 ml de aceite y 30 ml de melaza, hasta obtener una buena humectación. La mezcla se pasó a frascos, a los que se les colocó 80 g, después se autoclavó por una hora a 121° C.

Después de esterilizar el medio, se procedió a la adición de los microorganismos; éstos previamente se rayaron en medios de cultivo específicos (*P. cepacia* en KBM y *S. marcescens* y *B. cereus* en ANQ). El procedimiento de recuperación y mezcla se llevó a cabo en la cámara de flujo laminar. Para recuperar a los microorganismos, se adicionaron 20 ml de agua estéril sobre el crecimiento bacterial y se rayó con el asa bacteriológica para desprender el material. La suspensión bacterial/fungal se acondicionó a una concentración de  $10^9$ , en donde se procedió a aplicar un mililitro de esta concentración a cada frasco, mezclando con pinzas estériles.

Este sustrato más microorganismos, se colocó en las macetas correspondientes, según el tratamiento. Se removió la capa superficial del suelo de la maceta, luego, el sustrato se distribuyó uniformemente y se tapó con el mismo suelo removido. Esta operación se realizó a los 40 días de sembradas las semillas.

### **3.1.10 Variables evaluadas**

#### **3.1.10.1 Altura**

Esta variable consistió en la toma de altura total de las plantas desde la base hasta al ápice terminal de las mismas. Se realizaron mediciones cada 15 días, durante 123 días, tiempo que duró el experimento.

#### **3.1.10.2 Número de hojas**

Cada 15 días se registró el número de hojas presentes por cada planta, considerándose como hojas emitidas, aquellas que presentaban la lámina foliar completamente extendida.

#### **3.1.10.3 Área foliar (cm<sup>2</sup>)**

Se determinó el área foliar de cada hoja, a los 33, 69, 94 y 123 días. Estos datos se tomaron, dibujando el borde de las hojas en papel, para luego cortar las figuras y pasarlas por el aparato de medición de área foliar LI-COR LI-300 AREA METER. La última medición se tomó directamente al pasar las hojas por el medidor de área foliar.

#### **3.1.10.4 Peso seco**

Al final del ensayo se sacaron las plantas y se dividió la parte aérea de la parte subterránea y se llevó a los hornos de secado, manteniendo una temperatura de 60°C por dos días. Secas las muestras, se procedió a la toma del peso de las mismas en una balanza analítica con una precisión de 0.001 g.

#### **3.1.10.5 Análisis foliar**

Con las muestras secas, se tomaron 2.5 g de las 4 repeticiones, para completar una muestra de 10 g, las cuales se llevaron al laboratorio de suelos para la determinación de

los elementos P, K, Ca, Mg, Cu, Mn y Zn. Se correlacionó los niveles de los nutrientes con los tratamientos.

### 3.1.10.6 Cuantificación de la infección

Se procedió a realizar la tinción de las raíces. Para la tinción de las estructuras de los hongos MVA en las raíces, se empleó el método de Phillips y Hayman (1970). Este método se describe a continuación:

Se lavaron las raíces con agua corriente para remover el suelo adherido a las mismas. Luego, se colocaron en tubos de ensayo donde se adicionó KOH al 10% hasta que se cubrieron, se les dejó en baño de María a 90° C por 5 min., después se decantó el KOH y las raíces se lavaron con agua corriente. Después a las raíces se les aplicó HCl al 10%, hasta que se cubrieron completamente, se procedió a colocar los tubos al baño de María por 5 min. (hasta que las raíces tomaron una coloración blanquecina). Se decantó el HCl y las raíces se lavaron con agua. Se aplicó azul de tripano (0,05% en ácido láctico) y las raíces se mantuvieron 5 min. a 90°C, después se decantó el colorante. Las raíces se conservaron en ácido láctico.

Para la cuantificación de la infección se usó el método de intersección de la cuadrícula (Brundrett *et al.* 1994)

Se tomaron 0.25 g de las raíces teñidas, distribuyéndolas al azar en una caja Petri que había sido previamente marcada con líneas, formando una cuadrícula (11.27 mm<sup>2</sup>). Se agregaron aproximadamente 10 ml de agua al disco Petri. Para la observación se usó un microscopio de disección (40 X), en donde cada campo de observación se evaluó por el número de raíces micorrizadas, interceptadas por las líneas de la cuadrícula.

Los datos de todos los campos de observación fueron sumados y expresados como:

$$Z\% = (X/Y) 100$$

X = número de micorrizas interceptadas

Y = número total de intersecciones

Z = porcentaje de la longitud total de raíces infectadas

### 3.1.10.7 Conteo de las esporas del suelo

Para extraer las esporas del suelo se usó el método centrifugación con sacarosa, el cual es la técnica de Jenkins para la extracción de nemátodos y la cual fue modificada por Walker *et al.* (1982). Para usar esta técnica se procedió de la siguiente forma:

Se colocaron 10 g de suelo en un beaker y se añadió 0.5 L de agua, se agitó y vació el sobrante en tamices de (500 y 53  $\mu\text{m}$ ), se repitió el proceso dos veces. Se lavaron los tamices con un chorro de agua fuerte. Se pasó el contenido del tamiz fino (53 $\mu\text{m}$ ) a un tubo de centrifugación con 30 ml de agua, el cual se colocó en la centrifuga a 2500 rpm durante 3 minutos, después del cual se decantó el líquido y se inyectó con una jeringa al fondo del tubo, 30 ml de una solución de azúcar, con una concentración de 47 % (471 g de azúcar más 1L de agua destilada), se llevo de nuevo a centrifugar a 2500 rpm durante 3 minutos. Se vació el líquido, el cual presentó una capa de esporas que se concentran en la parte intermedia del gradiente entre el agua y el azúcar, en un tamiz de 53 $\mu\text{m}$ . Después se lavó y agruparon las esporas, para proceder a recogerlas en un beaker.

Para el conteo de esporas, el contenido del tamiz se vertió en una placa transparente con surcos excavados y se cuantificó con estereomicroscopio a 30-40 aumentos (Brundett *et al.* 1994).

### 3.1.11 Pruebas de comparación de medias

Los análisis estadísticos se realizaron por el procedimiento de análisis de varianza (SAS, 1985), y las comparaciones entre medias, por la prueba de comparación de tratamientos de Tukey (Steel y Torrie 1988).

### 3.1.12 Comprobación del análisis del modelo

Se realizó un análisis de residuos a todas las variables para verificar el cumplimiento de los supuestos del modelo. Los supuestos se describen a continuación:

Cuadro 3. Tabla de tratamientos.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCION
T1	e1m1b1
T2	e1m1b2
T3	e1m1b3
T4	e1m1b4
T5	e1m2b1
T6	e1m2b2
T7	e1m2b3
T8	e1m2b4
T9	e1m3b1
T10	e1m3b2
T11	e1m3b3
T12	e1m3b4
T13	e1m4b1
T14	e1m4b2
T15	e1m4b3
T16	e1m4b4
T17	e2m1b1
T18	e2m1b2
T19	e2m1b3
T20	e2m1b4
T21	e2m2b1
T22	e2m2b2
T23	e2m2b3
T24	e2m2b4
T25	e2m3b1
T26	e2m3b2
T27	e2m3b3
T28	e2m3b4
T29	e2m4b1
T30	e2m4b2
T31	e2m4b3
T32	e2m4b4

**Supuesto No. 1**

1. Normalidad de los residuos
2.  $H_0$ : Los residuos del modelo son normales.  
 $H_1$ : Los residuos del modelo no son normales.
3. Para probar la hipótesis se utilizará la prueba de bondad de ajuste de Shapiro-Wilk (Proc Univariate de SAS).

### Supuesto No. 2

- 1 La media de los residuos es igual a cero:  $\mu = 0$ .
- 2  $H_0: \mu = 0$   
 $H_1: \mu \neq 0$
- 3 Para probar la hipótesis se utilizó una prueba de "t" para la media (Proc Univariate de SAS).

### Supuesto No. 3

- 1 Los residuos tienen igual varianza, o sea, varianza constante.
- 2  $H_0: \sigma^2_1 = \sigma^2_2 = \dots = \sigma^2_t$  (t = tratamientos)  
 $H_1$ : Al menos una difiere
- 3 Para probar esta hipótesis se utilizó la prueba de Homogeneidad de varianzas de Bartlett (Proc Discrim de SAS).
- 4 **ENSAYO II. Determinación de la población microbiana de los suelos de baja fertilidad de la localidad de Turrialba.**

**Objetivo:** Determinar la presencia de *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. y *Bacillus* spp. en suelos donde crecen *T. rosea* y *C. alliadora*.

Se tomaron muestras de suelo con características parecidas al tipo de suelo utilizado en el ensayo 1 (color, acidez, fertilidad), donde se encontraban creciendo las especies *T. rosea* y *C. alliadora*, las cuales se sometieron a análisis de microorganismos, con el fin de identificar la presencia de *B. cereus*, *S. marcescens* y *P. fluorescens*. También se analizó una muestra del suelo utilizado en el ensayo I y otra con el mismo suelo pero sin esterilizar en autoclave.

#### 3.2.1 Procedimiento experimental

Se tomó un gramo de cada muestra para ser colocada en un erlenmeyer con 100 ml de agua doblemente esterilizada. Esta solución se colocó sobre el agitador por 15 minutos.

Posterior a esto, en tubos de ensayo que contenían 9 ml de agua doblemente esterilizada, se colocó 1 ml de la solución de suelo anterior. De este se extrajo un ml para ser colocado en el otro tubo. Las diluciones fueron  $10^0$ ,  $10^1$  y  $10^2$ . Se preparó AN, para hacer la siembra de la solución de suelos, instalando 3 repeticiones por cada dilución. En la cámara de flujo laminar se colocaron 20 $\mu$ l de solución por plato. Estos fueron sellados con cinta parafinada y se colocaron en la cámara de crecimiento, a 24 °C por 48 h. Se observaron los crecimientos de microorganismos y se contó el número de colonias por individuos. Estos microorganismos se sembraron en platos con agar nutriente para hacer cultivos puros. Para determinar organismos quitinolíticos, se procedió a la siembra de los mismos en medio agar-quitina. Se realizó otra siembra de los microorganismos en medio B de King, para determinar organismos fluorescentes. A todos los aislamientos se les hizo la prueba de solubilidad en KOH al 3%, para determinar si eran Gram positivos o Gram negativos. Por último se procedió a preparar viales con AN y otros, con caldo nutritivo deshidratado, para guardar los microorganismos aislados.

### **3.3 ENSAYO III. Cuantificación de hongos micorrícicos en muestras de suelo donde crecen *T. rosea* y *C. alliodora*.**

**Objetivo:** Determinar la población de hongos micorrícicos nativos, asociados con dos especies forestales.

Se realizó el conteo de esporas y el nivel de infección de hongos micorrícicos en 20 muestras de suelos, que se obtuvieron de 3 sitios localizados en San José, Alajuela y en Cartago (Costa Rica), en donde crecen las especies forestales *T. rosea* y *C. alliodora*, con el fin de conocer la población micorrizal para estas dos especies

#### **3.3.1 Procedimiento experimental.**

Se tomaron 2 submuestras de suelos por sitio, donde se encontraba creciendo un árbol de interés, cuyo diámetro era superior a 10 cm. Cuando los árboles tenían diámetros inferiores a 10 cm, se procedió a tomar más submuestras cuatro por sitio; En total se recolectaron 10 muestras de suelos por especie/sitio. Para la toma de submuestras se procedió a sacar suelo con un barreno, a 25 cm de profundidad, las cuales se recolectaron en el área de crecimiento radical del árbol (proyección de la copa sobre el suelo) y en la

parte media (entre el borde del área de crecimiento y el tronco del árbol). Las submuestras se mezclaron para traer 1 kg de suelo/sitio.

Se determinó el porcentaje de infección, número de esporas presentes, según los numerales 3.1.10.6 y 3.1.10.7. y las especies de micorrizas presentes, se determinaron según la descripción taxonómica sugerida por Shenck y Pérez (1987).

Se hizo un análisis químico del suelo, para determinar Ca, Mg, K, P, Cu, Mn y Zn, con el fin de correlacionar el nivel de fertilidad de los suelos, con el estado de micorrización (Anexo 4).

### 3.4 ENSAYO IV. Efecto de la aplicación de LOCT en el crecimiento y desarrollo de plántulas de *T. rosea*, solo y en mezcla con abonos.

**Objetivo:** Evaluar el comportamiento de *Glomus occultum*, en *T. rosea*, bajo diferentes fuentes de abonos.

#### 3.4.1 Diseño experimental

Se utilizó el diseño estadístico bloques completos al azar con 8 tratamientos (Cuadro 4) y 10 repeticiones. Los tratamientos definidos se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Tratamientos utilizados en ensayo IV

# TRATAMIENTO	ABONO ORGANICO	MICORRIZAS
1	Compost 1	SI
2	Compost 1	NO
3	Compost 2	SI
4	Compost 2	NO
5	Bokashi	SI
6	Bokashi	NO
7	Testigo	SI
8	Testigo	NO

El suelo usado como sustrato, se tomó de la finca "Florencia", colindante con el CATIE. El suelo fue cernido y esterilizado, a 121°C por una hora, luego se hizo análisis químico (Anexo 5). Posteriormente, se procedió al llenado de macetas (capacidad: 2400 ml), con la

aplicación de 2050 ml del mismo, completando el llenado con 150 ml del abono; para totalizar con 2200 ml/tratamiento.

### **3.4.2 Plantas de prueba**

Se germinaron semillas de *T. rosea*, provenientes de Guanacaste, las cuales se habían recolectado por el Proyecto de Semillas Forestales (PROSEFOR-CATIE), estas presentaron una germinación total del 96%. La germinación comenzó a los 13 días y se completó a los 17.

### **3.4.3 Inóculo micorrícico**

Se aplicó al momento de la siembra 2 g de inóculo micorrícico de *Glomus occultum* (LOCT), el cual se produjo en el laboratorio de Micorrizas del CATIE.

### **3.4.4 Siembra**

Se procedió al transplante del semillero, a los 15 días de iniciada la germinación, seleccionando plantas de buena forma, tanto de raíz como de la parte aérea, buen color, vigor y tamaño, sembrando una planta por maceta.

### **3.4.5 Riego**

Se procedió a aplicar igual cantidad de agua a todas las macetas, 150 ml, debido a que al hacer un ensayo previo en donde se llevaron los diferentes sustratos a capacidad de campo (suelo esterilizado + compost 1, suelo esterilizado + compost 2, suelo esterilizado + bokashi y suelo esterilizado solo), el agua de escorrentía recolectada, ocupó el mismo volumen para todas las macetas.

### **3.4.6 Luz**

El ensayo se realizó en bloques al azar debido a las diferencias de luz detectadas en la casa de mallas. Para corroborar esto se utilizó el Centómetro Sunfleck, el cual mide la Radiación Fotosintéticamente Activa (RAFA), encontrándose valores diferentes para cada bloque, valores que van en orden descendente desde 18 % hasta 12 %. Se realizó

una limpieza del techo a los 65 días de montado el ensayo, para que mejorara la entrada de luz, al volver a medir con el Centómetro, se encontraron valores que van desde 38% a 33%.

#### **3.4.7 VARIABLES EVALUADAS**

Los datos y el tiempo de evaluación correspondieron a los mismos tomados para el Ensayo I, en su numeral 3.1.10.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Ensayo I: Efecto de endomicorrizas y rizobacterias en plántulas de dos especies forestales.

#### 4.1.1 Altura

La especie *T. rosea* desde la primera medición fue la que presentó la mayor altura ( $p < 0.01$ ), alcanzando un tamaño final de 14 cm, a los 124 días, mientras que la especie *C. alliodora* alcanzó 9.8 cm. Esta tendencia se mantuvo a lo largo del experimento (Fig. 1).

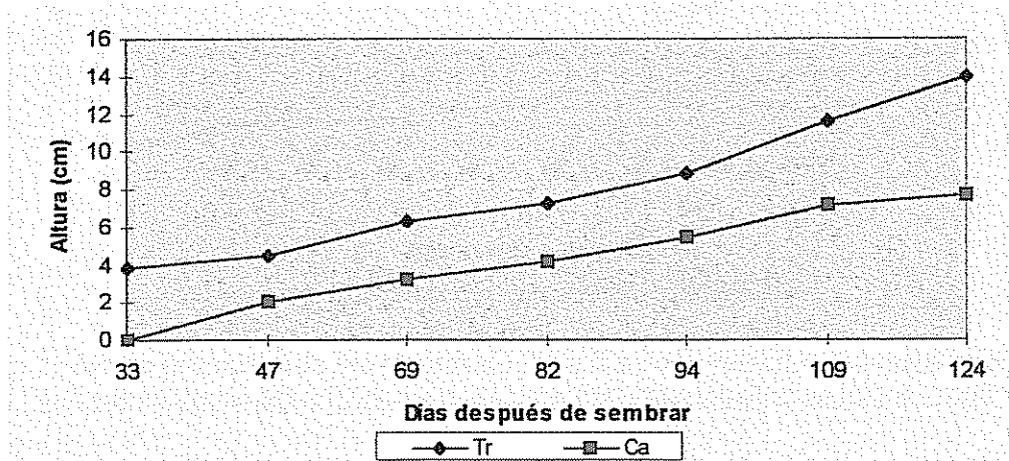


Figura 1. Altura de las plantas de Tr y Ca, a través del tiempo. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre los diferentes hongos micorrícicos empleados. Se ha demostrado a través de varios años que las cepas de hongos varían su efectividad en función de las condiciones edafoclimáticas; además algunas cepas exhiben un amplio rango ecológico, mientras que otras son específicas de determinadas condiciones de suelo y clima (Howeler 1987).

Para la interacción micorrizas\*bacterias, se encontró diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para las dos especies (Anexo 6). Los tratamientos con LOCT, LMNH y ECLB alcanzaron las mayores alturas, cuando se encontraban en ausencia de bacterias, siendo LOCT la que

registró un mayor tamaño, con 15.5 cm (Fig. 3, 4 y 5) (Foto 1), lo cual representó un 230 %; que superó al testigo Para estos mismos tratamientos, **Pf** fue la que mejor asociación presentó, independientemente del tipo de micorriza, sin embargo, aplicada sola fue similar al testigo (Fig 2) Los valores obtenidos con la aplicación de micorrizas en ausencia de bacterias, fue superior a los valores obtenidos en la interacción micorrizas\*bacterias. Este comportamiento posiblemente estaría ligado a un antagonismo resultante entre los dos microorganismos, lo cual hace que no se expresen su potencial para promover el crecimiento de las plantas

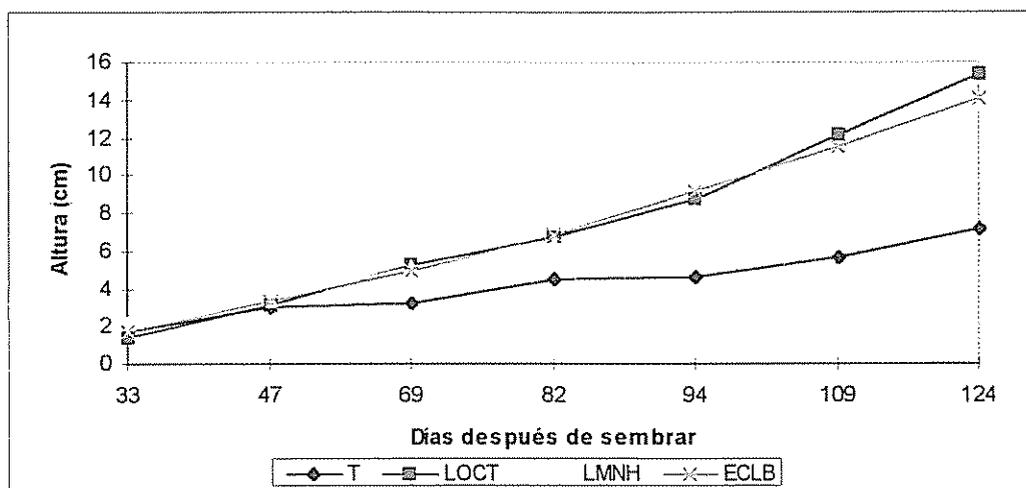


Figura 2 Altura promedio de las plantas de **Tr** y **Ca** con relación al hongo micorrícico aplicado y sin la adición de bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

Para la interacción micorrizas\*bacterias se encontró valores superiores para todos los tratamientos, con relación al testigo, siendo LOCT\*Sm el único tratamiento que alcanzo valores inferiores al testigo Los mejores valores registrados en esta interacción, lo presentó el asocio de las micorrizas con **Pf**, en donde se consiguieron valores muy parecidos a los encontrados en los tratamientos con micorrizas sin bacterias. Posiblemente este efecto se deba a que **Pf** produce un efecto inocuo, lo cual hace que el potencial de las micorrizas se expresen con libertad

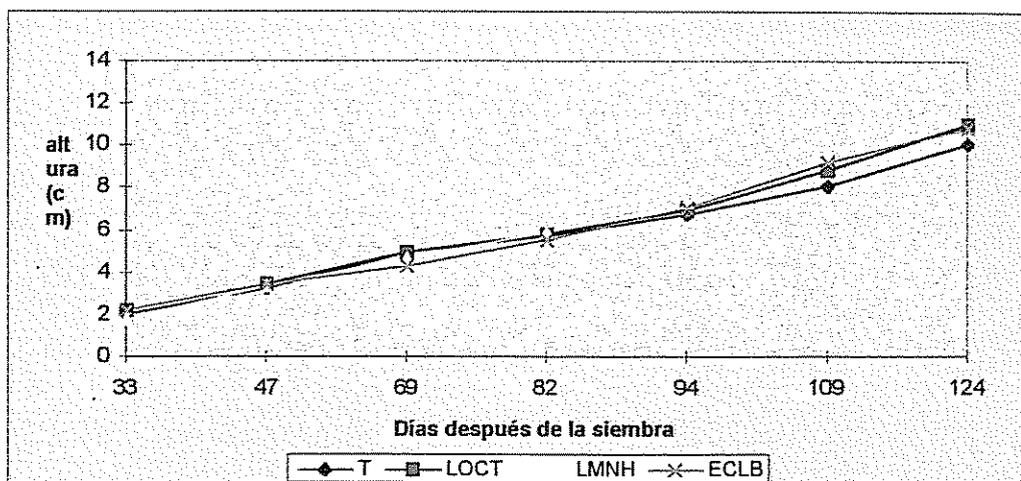


Figura 3 Altura promedio de las plantas de Tr y Ca en la interacción hongo micorrícico\*Be. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

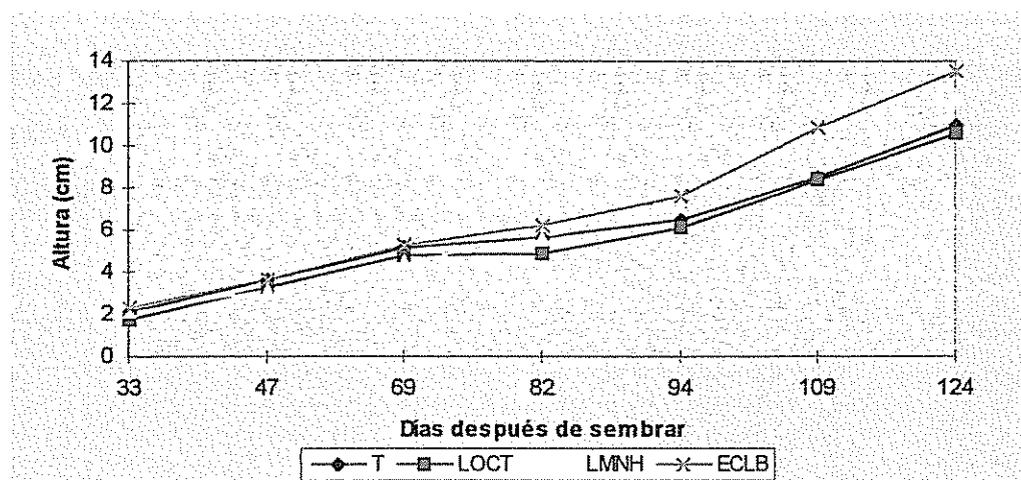


Figura 4. Altura promedio de Tr y Ca en la interacción micorriza aplicada\*Sm. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

La simbiosis hongo micorrícico con la planta promueve la formación, en la rizosfera, de un ambiente antagónico a microorganismos patógenos en tanto que se establece una relación sinérgica con los demás microorganismos benéficos del suelo (Orozco 1996).

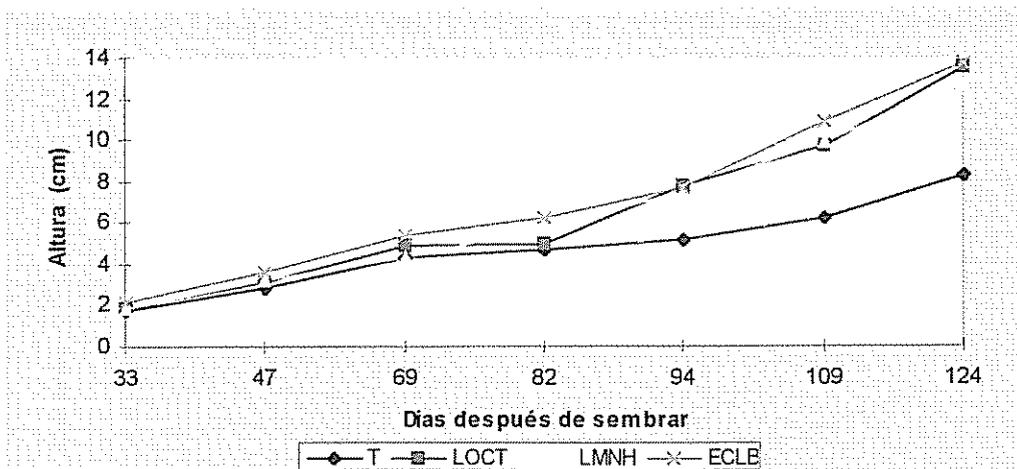


Figura 5 Altura promedio de Tr y Ca en la interacción micorriza aplicada\*Pf CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

#### 4.1.2 Area foliar

Con esta variable, existieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre las dos especies forestales, *T. rosea* obtuvo mayor área foliar, con un valor de  $19.5 \text{ cm}^2$ , mientras que *C. alliodora* presentó  $12.5 \text{ cm}^2$ . (Fig. 6)

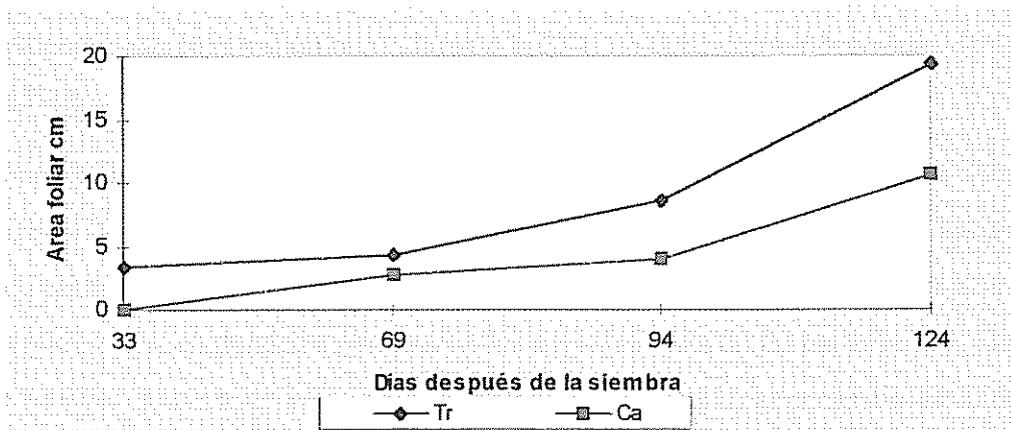


Figura 6. Area foliar ( $\text{cm}^2$ ) promedio para las especies Tr y Ca, a través del tiempo. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

Los tratamientos con la micorriza ECLB fueron los que presentaron las mayores áreas foliares ( $p < 0.01$ ) para las dos especies, con respecto a las demás micorrizas utilizadas, consiguiéndose un área final promedio de  $18 \text{ cm}^2$ , correspondiente al 174% que superó a

las obtenidas con el testigo. En todos los casos el área foliar obtenida con la aplicación de micorrizas, estuvo por encima del testigo (Fig. 7)

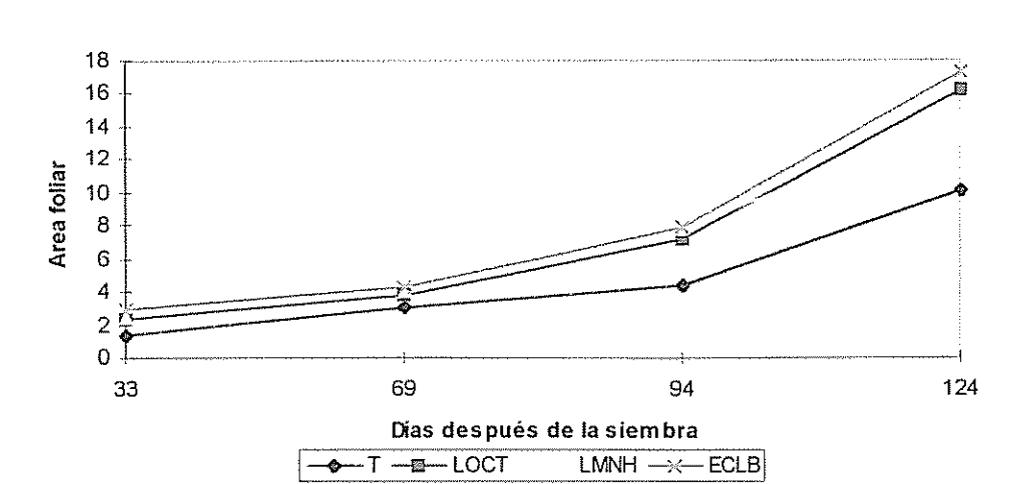


Figura 7. Área foliar (cm<sup>2</sup>) promedio para las especies *Tr* y *Ca*, a través del tiempo, en función del hongo micorrízico aplicado. CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

#### 4.1.3 Número de hojas

La especie *T. rosea*, fue la que presentó un mayor número de hojas ( $p < 0.01$ ), manteniendo este comportamiento, durante todo el ensayo, con un promedio de 16 hojas y *C. alliodora* con 6 (Fig. 8)

El comportamiento de la variable número de hojas, varió mucho a través del tiempo ( $p < 0.01$ ) (Fig. 9) En la especie *C. alliodora*, el tratamiento sin micorrizas y sin bacterias fue el que registró el menor número de hojas, variando este comportamiento con la presencia de las micorrizas, en donde se observaron los mayores valores. La bacteria **Sm**, fue la que mostró mayor número de hojas para la especie *C. alliodora*, en ausencia de micorrizas. Para la especie *T. rosea*, el máximo incremento de esta variable ocurrió con la micorriza LMNH y la bacteria **Pf**. Sin micorrizas, el testigo, registró la mayor cantidad de hojas. El tratamiento sin bacterias y con micorrizas mostró el mayor número de hojas, en promedio 6 hojas/planta (Figs. 9 y 10)

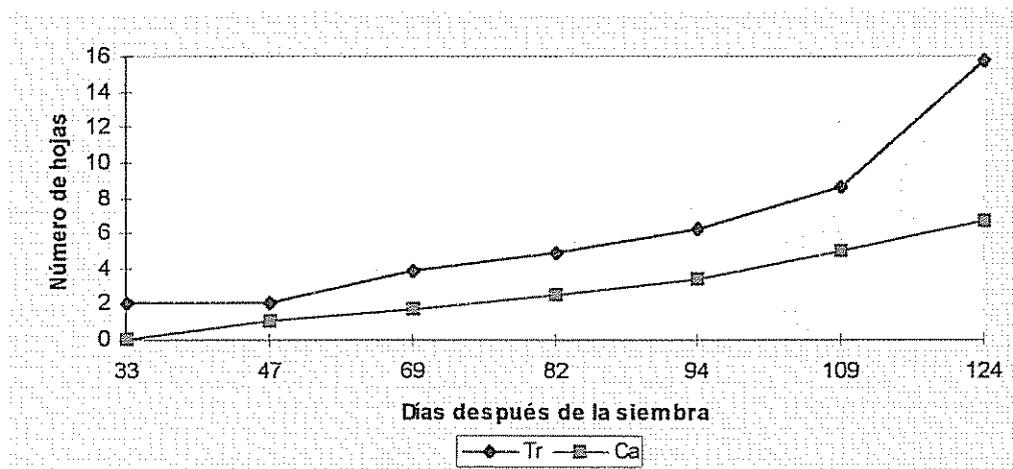


Figura 8. Número de hojas de las especies Tr y Ca, a través del tiempo CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

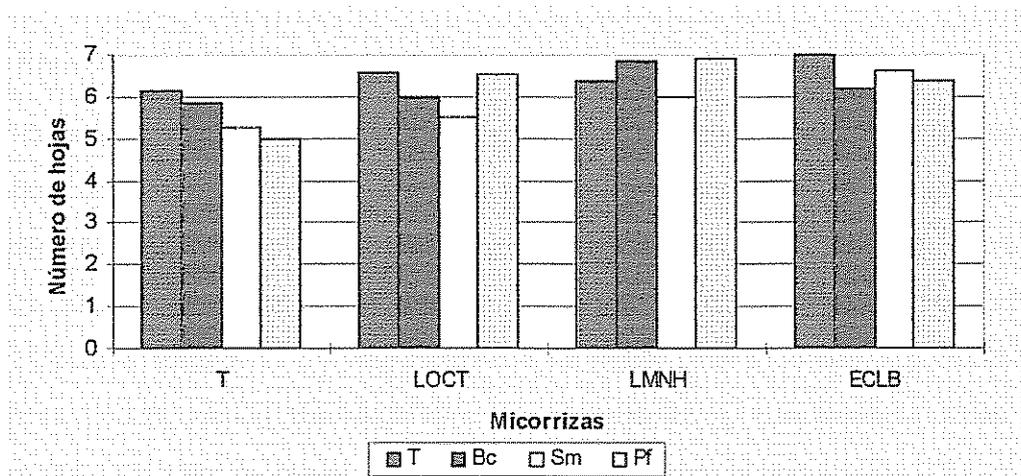


Figura 9. Número de hojas de la especie Tr, según la interacción hongo micorrizico\*bacterias CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

Las micorrizas arbusculares forman parte integral del sistema de absorción de nutrientes de la mayoría de las plantas terrestres. Comparten características propias de la raíz (el micelio externo y los sistemas de transporte), así como los microorganismos del suelo donde crecen. Con ellos interactúan, desarrollando en el ecosistema una serie de actividades de gran interés en el ciclo de los nutrientes y una notable repercusión en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Azcon *et al* 1991).

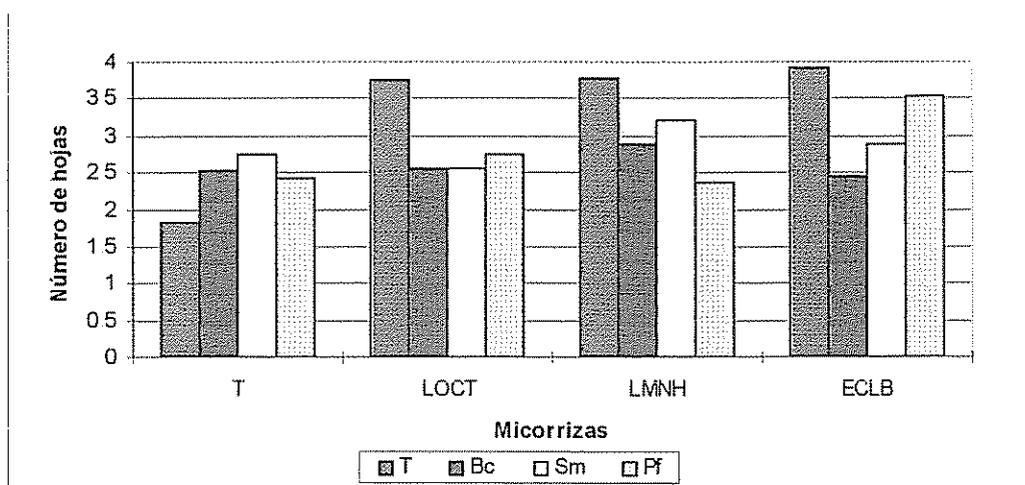


Figura 10 Número de hojas de las especies *Ca*, según la interacción hongo micorrícico\* bacterias CATIE Turrialba, Costa Rica. 1997.

#### 4.1.4 Peso seco del follaje

Esta variable presentó diferencias significativas para la interacción especie\*micorrizas ( $p < 0.05$ ) (Anexo 6). *T. rosea* alcanzó un mayor peso seco, tendencia que se mantuvo para las diferentes micorrizas. Cuando esta especie se encontraba en presencia de la micorriza LMNH, alcanzó el mayor peso promedio (1.8 g/planta), el cual fue un 250% superior, con respecto al testigo. *C. alliodora* presentó un mejor peso seco con la presencia de la micorriza ECLB, siendo significativo este valor ( $p < 0.01$ ), con respecto a las demás micorrizas. Este valor representó un 350% más con respecto al testigo (Fig. 11).

#### 4.1.5 Peso seco raíz

*T. rosea* consiguió un mayor peso seco, cuando se encontraba en presencia de la micorriza LMNH, obteniéndose un peso promedio de 0.9 g/planta, el cual superó en 257% con respecto al testigo. *C. alliodora* presentó un mejor peso seco con la presencia de la micorriza ECLB, siendo 227% superior al testigo (Fig. 12). Este comportamiento fue similar al presentado en las observaciones del peso del follaje.

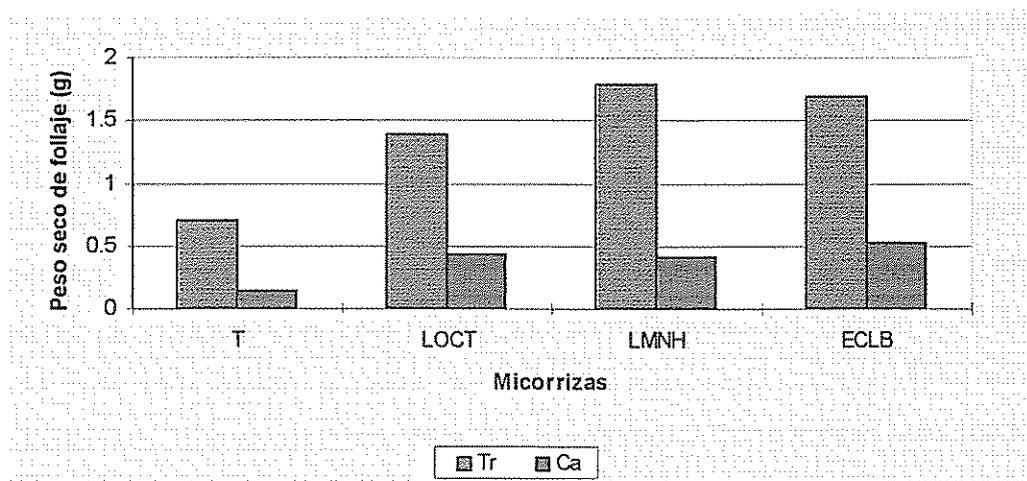


Figura 11. Peso seco de follaje de las especies **Tr** y **Ca**, según la interacción especie\* hongo micorrízico CATIE Turrialba, Costa Rica 1997

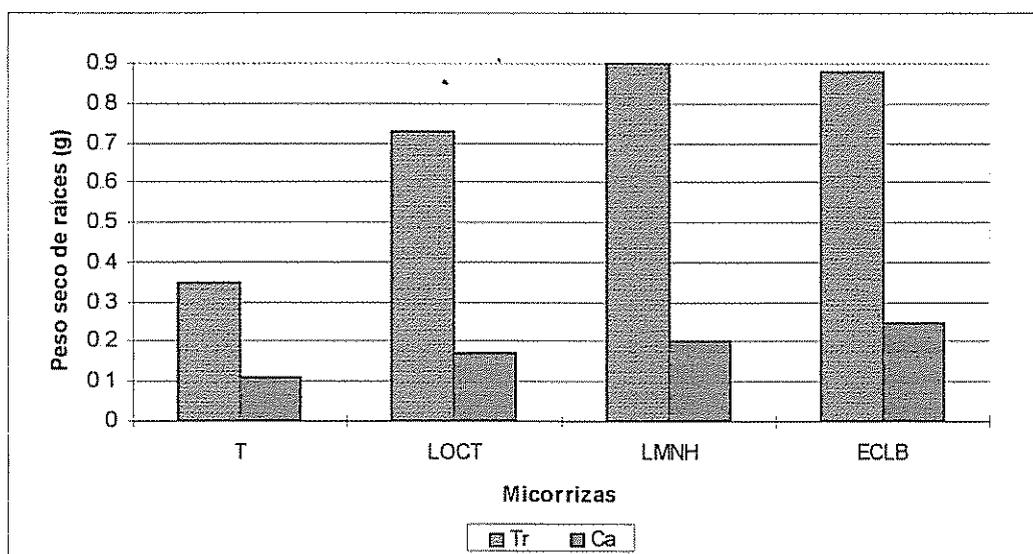


Figura 12. Peso seco de raíces de las especies **Tr** y **Ca**, según la interacción especie\* hongo micorrízico. CATIE Turrialba, Costa Rica 1997

*T. rosea* fue la que mejor comportamiento presentó, al obtener la mayor altura, área foliar, número de hojas, peso seco de follaje y de raíces. Para dicha especie forestal, LMNH fue la micorriza que mejor respuesta mostró para las variables mencionados anteriormente. Mientras que, para *C. alliodora*, lo fue ECLB. La interacción ECLB con **Pf** y **Sm**, fue la más favorable para las dos especies forestales, con éstas se obtuvieron los mejores valores para las variables altura y área foliar. El peso seco puede ser indicador de

una mayor capacidad fotosintética y por lo tanto de mayor secuestro o fijación de carbono.

Sieverding (1991) señala que la efectividad de las micorrizas está relacionada con factores como el estado nutricional del suelo, la planta hospedante, la densidad de propágulos infectivos, la efectividad de las especies de hongos MVA involucrados y su capacidad de competir con otros microorganismos. Castellano y Molina (1989) indican que se debe tener siempre presente, que existe un solo hongo que sea válido para todas las situaciones, más al contrario, cada cepa o ecotipo de hongo, tiene unas limitaciones ecológicas en las que el comportamiento es el más efectivo, en términos de crecimiento de su hospedante. En este estudio, la diversidad de microorganismos empleados hace que haya una gran variación en los resultados, tendientes a mostrar los diferentes grados de asocio entre ellos, los cuales hacen posible seleccionar los mejores, para recomendaciones futuras.

Meyer y Linderman (1986) encontraron que bacterias aplicadas solas o con micorrizas promueven el crecimiento de las plantas de ajo, siendo la combinación de los dos microorganismos la que mejores resultados obtuvo. Tal resultado lo atribuyen a la temprana infección con las micorrizas, las cuales ayudan a establecer las rizobacterias y mejorar la toma de los elementos solubilizados por las rizobacterias. La contribución entre ambos organismos para inducir el crecimiento, parece ser, mutuamente excluyente. Esta situación fue coincidente con los resultados obtenidos.

Otras investigaciones han demostrado que la aplicación de *Pseudomonas* sp. en papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Lycopersicum esculentum*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) permitieron una colonización rápida de la raíz, incrementando significativamente la producción (Glandorf 1994).

Para este trabajo, la promoción del crecimiento con la aplicación de bacterias y micorrizas no fue muy significativa, es decir que no superaron a los hongos MVA solos. Sin embargo, se obtuvieron buenos resultados cuando las bacterias estuvieron solas; en todos los casos, ellas superaron al testigo.

#### 4.1.6 Número de esporas de MVA

Se presentaron diferencias significativas en el número de esporas de MVA ( $p < 0.01$ ), siendo *T. rosea* la que mayor media presentó (Prueba Tukey) (Anexo 7), con un valor de 256 esporas/100 g de suelo.

En la interacción micorrizas\*bacterias, esta variable presentó diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) (Anexo 6). Para LOCT la acción de las bacterias produjo valores inferiores de esporulación de MVA, con relación al tratamiento sin bacterias, variando este comportamiento para LMNH y ECLB, en donde la acción de las bacterias superó los valores obtenidos en los tratamientos libres de bacterias. Los mayores valores en números de esporas se obtuvieron con las micorrizas LMNH y LOCT, no presentando diferencias significativas entre ellas y en la interacción micorriza bacteria la mejor producción se dio entre LMNH y Sm. Con la micorriza LMNH en ausencia de bacterias, se obtuvo el valor más bajo de producción de esporas.

En ausencia de bacterias, la mayor producción de esporas se observó para la micorriza LOCT, presentando diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) con las demás. Esto nos hace pensar que existe una interacción positiva o negativa entre estos microorganismos, la cual permite seleccionar las mejores combinaciones (Fig. 13). De tal manera que uno u otro microorganismo favorece o inhibe el desarrollo del otro, en forma similar a lo encontrado por Conway y Bagyaraj (1984).

Sieverding (1992), citado por Blanco y Salas (1996), indica que existe evidencia que las bacterias promotoras del crecimiento como *Pseudomonas putida* (cepa F-44) actúan sinérgicamente con algunas especies de hongos MVA, siendo el efecto mayor si son inoculados simultáneamente en la siembra. El hongo se ve favorecido porque induce una mayor esporulación.

#### 4.1.7 Colonización MVA (%)

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre especies forestales, micorrizas y bacterias (Anexo 6), obteniéndose los valores más altos para *T. rosea*. Los mejores

porcentajes de infección se encontraron entre los socios de micorrizas y bacterias, variando este valor entre micorrizas y entre especies.

*T. rosea*, presentó el mejor promedio de colonización, con la micorriza LMNH y la presencia de bacterias. Las mejores bacterias para esta asociación fueron **Sm** y **Pf**, las cuales presentaron valores de colonización similares. La colonización con LOCT y sin bacterias fue muy alto, lo cual nos indica que se pueden obtener colonizaciones satisfactorias aplicando sólo la micorriza (Fig 14)

En *C. alliodora* la presencia de bacterias, no produjo un efecto significativo, en la colonización de las raíces, como se puede apreciar en los valores obtenidos con los testigos. Las mejores colonizaciones ocurrieron con LMNH y LOCT (Fig 15). Otras investigaciones muestran que la aplicación de *Pseudomonas putida*, incrementan la colonización de hongos MVA de 7 a 23%, en plantas de *Trifolium subterraneum* (Meyer y Linderman 1986).

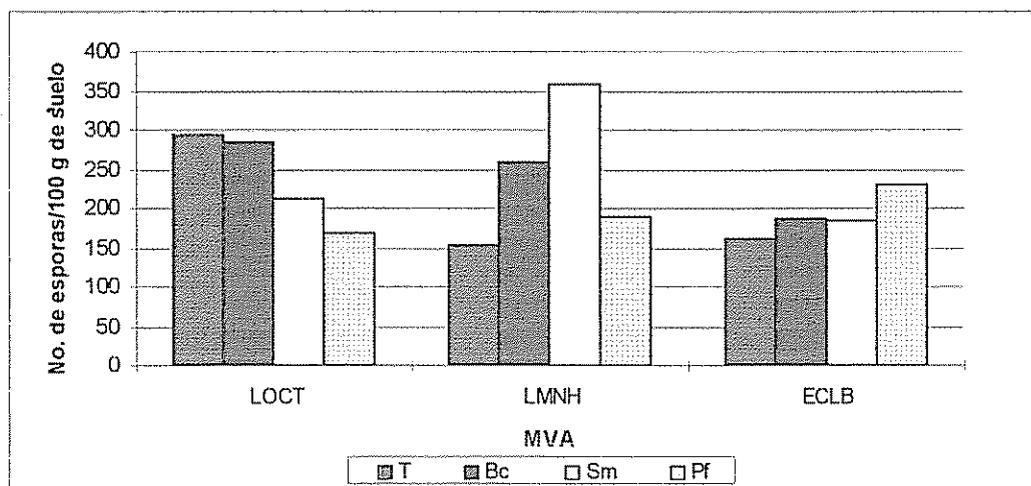


Figura 13. Producción de esporas según la interacción hongo micorrícico\*bacterias CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

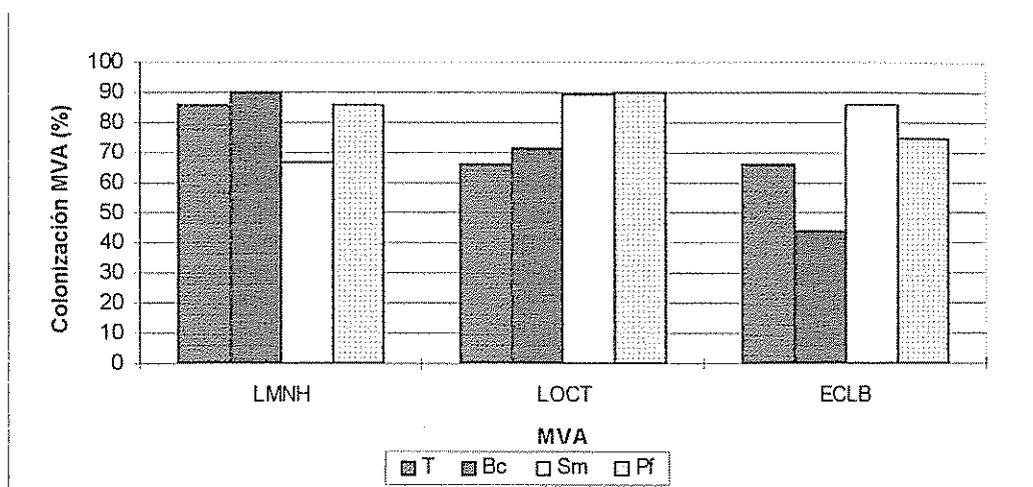


Figura 14. Colonización MVA (%) en la especie *Tr*, con respecto a la interacción hongo micorrizico\*bacteria CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

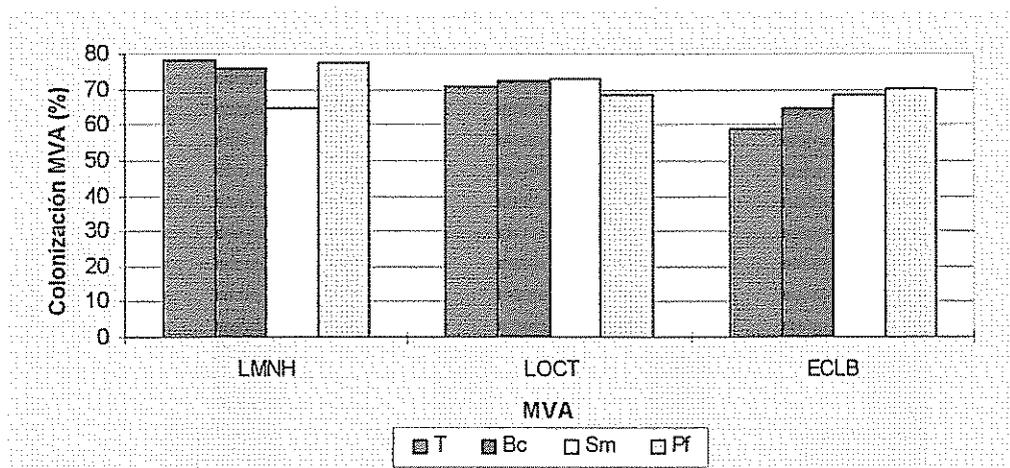


Figura 15. Colonización MVA (%) en la especie *Ca*, con respecto a la interacción hongo micorrizico por bacteria CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

*T. rosea* presentó la mayor producción de esporas y el mejor porcentaje de colonización. La eficacia de LOCT y LMNH, fue consistente en estas dos variables. Ambos hongos MVA presentaron valores de esporulación y colonización superiores a los observados con ECLB.

Azcón-Aguilar (1978) encontraron que las rizobacterias mejoran la colonización de las micorrizas, al presentar antagonismo con hongos patógenos, no siendo fundamentales para su establecimiento. La relación que se presenta entre bacterias y micorrizas no se debe de generalizar, ya que se presentan diferencias entre razas (Meyer y Linderman

1986). En este estudio, solo se usó una cepa por cada especie bacteriana; por lo tanto, podría esperarse que en la población de cada microorganismo se pueden encontrar individuos cuyo asocio con micorrizas contribuyan a optimizar las interacciones

Vejsadova *et al* (1993) trabajando con maíz, encontraron que *Agrobacterium radiobacter* estimuló la colonización de MVA y Alten *et al* (1993) mostraron que *Bacillus mycoides* aceleró la colonización y esporulación de MVA en cultivos de linaza y cebada.

#### 4.1.8 Análisis foliar

Se encontraron diferencias significativas para los elementos Ca, Mg, Mn ( $p < 0.01$ ) y N ( $p < 0.05$ ) (Anexo 6). Para *C. alliodora* no se logró obtener la suficiente cantidad de material para poder realizar análisis para N, para 5 tratamientos.

Para el Ca se encontró diferencias entre la interacción especie\* bacteria, según la prueba Tukey, siendo *C. alliodora* la que presentó mejores valores (Fig 16) (Anexo 6).

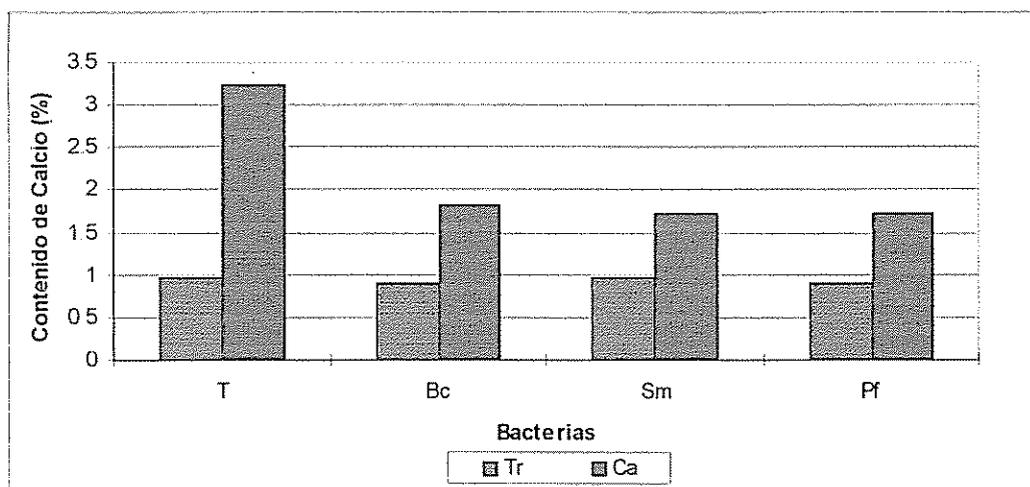


Figura 16 Porcentaje de calcio en el follaje de las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

Se presentaron diferencias en el contenido de Mg, para las variables especie y micorrizas ( $p < 0.01$ ), y en bacterias ( $p < 0.05$ ). *C. alliodora* fue la especie con mayor contenido de Mg (Anexo 8). La presencia de micorrizas favoreció el contenido de Mg en las plantas, según la prueba de medias LOCT fue la micorriza que mejores valores mostró (Fig 17).

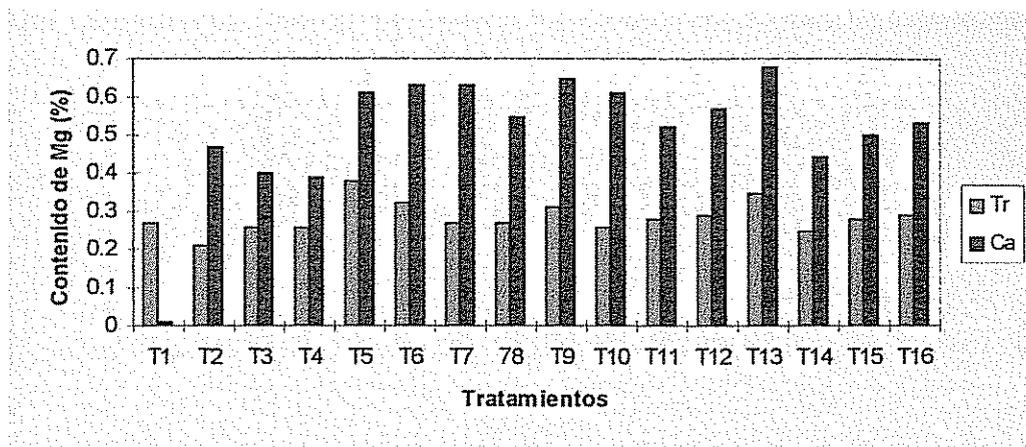


Figura 17 Contenido de magnesio en el follaje de las especies Tr y Ca, expresado en porcentaje (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias). CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

Los niveles de N variaron entre especies, como lo demostró la prueba Tukey, siendo Ca, la especie que mostró los mejores valores de este elemento (Fig 19) (Anexo 9).

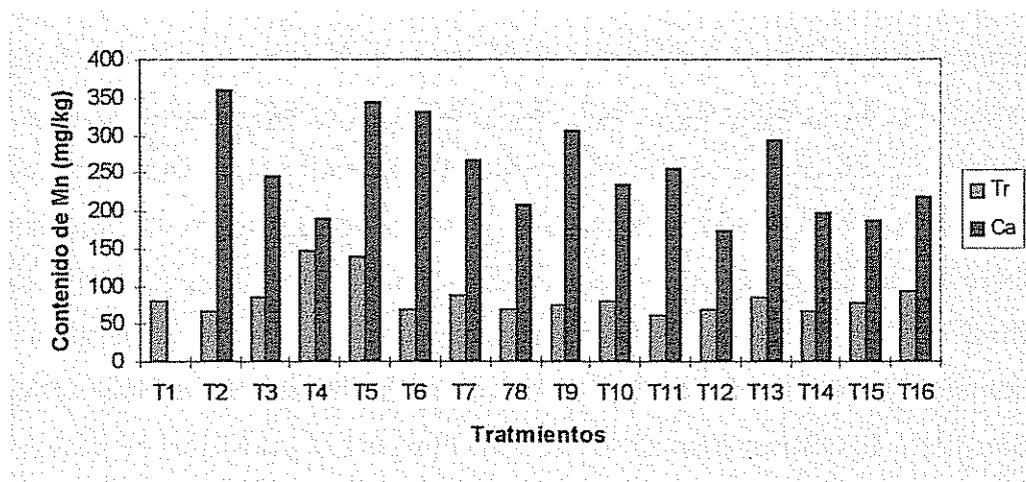


Figura 18 Contenido de manganeso en el follaje de Tr y Ca, en miligramos/kg (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias). CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

Para el contenido de Mn se presentaron diferencias ( $p < 0.01$ ) entre especies, siendo la especie *C. alliodora*, la que mejores valores registró (Fig 18) (Anexo 9).

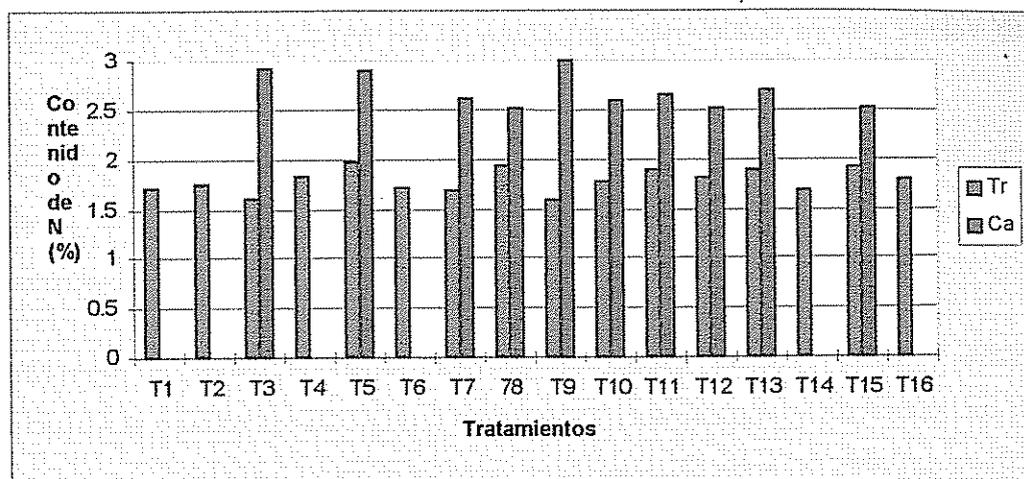


Figura 19. Contenido de nitrógeno en el follaje de las especies Tr y Ca, expresado en porcentaje (T1 = m1b1, T2 = m1b2, T3 = m1b3, T4 = m1b4, T5 = m2b1, T6 = m2b2, T7 = m2b3, T8 = m2b4, T9 = m3b1, T10 = m3b2, T11 = m3b3, T12 = m3b4, T13 = m4b1, T14 = m4b2, T15 = m4b3, T16 = m4b4) (m = micorriza, b = bacterias) CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

El contenido de elementos en la planta varió en relación a la micorriza y la bacteria utilizadas en la investigación. Los niveles de los elementos Ca, Mg, Mn y N variaron en relación a la especie, siendo *C. alliodora* la que más contenido de estos elementos presentó. El contenido de Ca en *C. alliodora* fue variable con la adición de bacterias, haciendo que se obtuviera un mayor nivel de este elemento en ausencia de bacterias. La variación en Ca podría ser un factor de consideración, porque este elemento es esencial para incrementar la resistencia mecánica de los tejidos vegetales y para la división celular; al disminuir la concentración de Ca, se desfavorece la formación de raíces. El nivel de Mg en las plantas se vió influenciado por la micorriza ECLB y la bacteria Pf, debido a que en presencia de estos dos microorganismos, se obtuvo el mayor nivel de este elemento

La hipótesis más apoyada para explicar esta captación mejorada de nutrientes minerales, supone que las hifas externas se comportan como una extensión del sistema de la raíz, constituyéndose en una amplia y bien distribuida superficie de absorción. En consecuencia, la eficacia, la eficacia en la absorción de nutrientes de una planta micorrizica debe estar correlacionada con el desarrollo del micelio externo (Guerrero 1996)

#### 4.2 Ensayo II. Determinación de la población microbiana de los suelos de baja fertilidad de la localidad de Turrialba.

La determinación de los microorganismos del suelo (Anexo 7) permitió encontrar bacterias, a nivel de la rizosfera, con potencial para continuar investigaciones en la promoción del crecimiento de especies forestales.

Se aislaron 14 bacterias en 6 muestras de suelos, de las cuales 4 presentaron características quitinolíticas, 5 Gram positivas, 2 fluorescentes y un bacilo. En total, se encontraron 25 registros de las 6 muestras analizadas, de ellos el 28% fue quitinolítico, el 36.7% Gram positivo, 16% *Pseudomonas* spp y 20% *Bacillus* spp. El resto de las bacterias no presentaron ninguna de estas características (Cuadro 5).

La importancia de los organismos quitinolíticos radica en su posibilidad de afectar a microorganismos cuya composición es en gran parte quitina. El modo de acción se basa en la capacidad de debilitar las estructuras, tales como la pared celular, ya que al digerir la quitina de las hifas, esta se destruye (Mitchell y Alexander 1962).

Por otro lado, las bacterias fluorescentes producen sideróforos que inhiben el crecimiento de otros microorganismos (Kloepper *et al.* 1980), además de su capacidad para producir antibióticos (Leisinger y Margraff 1979, Scher y Baker 1982).

El género *Pseudomonas*, con la característica de fluorescencia, está considerado como grupo rizobacterial promotor del crecimiento, con capacidad de estimular la producción de las plantas (Howell y Stipanovic 1980, Gurusiddaiah *et al.* 1986).

De las bacterias aisladas en las seis muestras de suelos no se encontró la presencia de Bc, Sm y Pf utilizadas en el Ensayo I. Sin embargo, se seleccionaron 4 bacterias (J10, J13, J19 y J21) de las 14 encontradas. El criterio de selección, como se observa en el cuadro 5, fue que presentaran características comunes a las bacterias evaluadas, tales como: ser quitinolíticas, fluorescentes o *Bacillus*.

Para evaluar la patogenicidad de las cuatro bacterias seleccionadas se realizó un prueba con la especie *C. alliodora*, siguiendo las mismas condiciones del Ensayo 1. Durante 45 días se observó que la aplicación de las bacterias no ocasionó la muerte de las plantas y

por el contrario se apreció una mejor apariencia, en cuanto a color y vigor de las plantas, con respecto al testigo. Por lo anterior podemos sugerir que se aislen microorganismos de los sitios donde crecen las especies que se desean estudiar, para que sean el punto de partida de este tipo de ensayos.

Las 14 bacterias aisladas (Cuadro 5) en este ensayo se encuentran en viales con medio de cultivo protegidas en aceite mineral, en el laboratorio MIP-CATIE.

Cuadro 5. Resultado de las pruebas de laboratorio que se realizaron a las 6 muestras de suelos en donde se analizó la población de bacterias. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

SUELO	CODIGO MICROORGANISMOS	Nº DE COLONIAS EN 1 g/suelo	QUITINOLITICOS	SOLUBILIDAD KOH al 3% REACCION DE GRAM	B DE KING <i>Pseudomonas</i> Fluorescentes	<i>Bacillus</i> spp.
T1	J13	8500		-		+
	J21	20000	+	-	+	
	J05	53500		-		
	J12	90000		+		
	J15	36500	+	-		
	J10	5000	+	-		
T 2	J03	5000		-		
	J13	17400		-		+
	J21	5000	+	-	+	
C1	J16	171555		-		
	J10	5000	+	-		
	J13	11500		-		+
	J19	10000	+	+	+	
	J01	145000		+		
C2	J20	25000		-		
	J23	25000		+		
	J13	13500		-		+
	J23	20000		+		
	J02	65000		-		
SS	J12	45000		+		
	J19	10000	+	+	+	
	J13	5000		-		+
	J23	25000		+		
	J09	16500		+		
SE	J03	5000		-		
	J05	5000		-		
	CERO	CERO				

#### PROCEDENCIA DE LOS SUELOS

T1 Suelo recolectado en las cercanías a postgrado y pertenece a suelo donde se encuentra crecimiento la especie *Tabebuia rosea*

T1 Suelo recolectado en la salida de Turrialba (vía el CATIE), en donde se encontraba creciendo *Tabebuia rosea*.

C1 Suelo recolectado en el vivero del CATIE.

C2 Suelo recolectado en la finca del ensayo de diferentes especies forestales (Localidad Pejibaye)

SS pertenece al tipo de suelo utilizado en el ensayo 1 (sin esterilizar)

SE pertenece al tipo de suelo utilizado en el ensayo 1.

### 4.3 Ensayo III. Cuantificación de hongos micorrícicos en muestras de suelo asociadas con *T. rosea* y *C. alliodora*.

El análisis estadístico efectuado para las variables diámetro, número de especies MVA, porcentaje de colonización y número de esporas no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ); lo que nos hace pensar que la población micorrizal se mantiene constante en el tiempo, al igual que su porcentaje de colonización. De ser así, se hace necesario favorecer la población micorrizal en las plantas, en sus primeros días de nacidas, para lograr un mayor crecimiento y desarrollo de los árboles.

Los suelos asociados con *T. rosea* mostraron un número de especies de hongos MVA que variaron entre 2 a 5; la colonización de estos hongos también fue variable, 33 a 100%. De igual manera el número de esporas/100 g de suelo (Cuadro 6). Lo contrario ocurrió con los suelos donde estaba *C. alliodora*; la colonización fue menor y el número esporas de los hongos MVA fue mayor que en el caso anterior (Cuadro 7)

Cuadro 6. Número de especies de MVA, porcentaje de colonización y número de esporas por 100 g de suelo en suelos asociados con *T. rosea*. Costa Rica 1997.

MUESTRA	LOCALIDA D	CULTIVO ASOCIADO	No. DE ESPECIES MVA	% DE COLONIZACION DE LA MVA	No. ESPORAS/ 100 g de suelo
1	San José	-	5	100	248
2	Cartago	Maní forrajero	3	100	928
3	Alajuela	Pasto	5	81	494
4	Alajuela	-	3	84	508
5	San José	Pasto	3	72	850
6	Cartago	Pasto	3	79	514
7	San José	Pasto	4	33	282
8	San José	-	5	91	412
9	Alajuela	Pasto	5	83	908
10	Cartago	Pasto	2	18	250

Cuadro 7. Número de especies de MVA, porcentaje de colonización y número de esporas por 100 g de suelo en suelos asociados con *Cordia alliodora*. Costa Rica 1997.

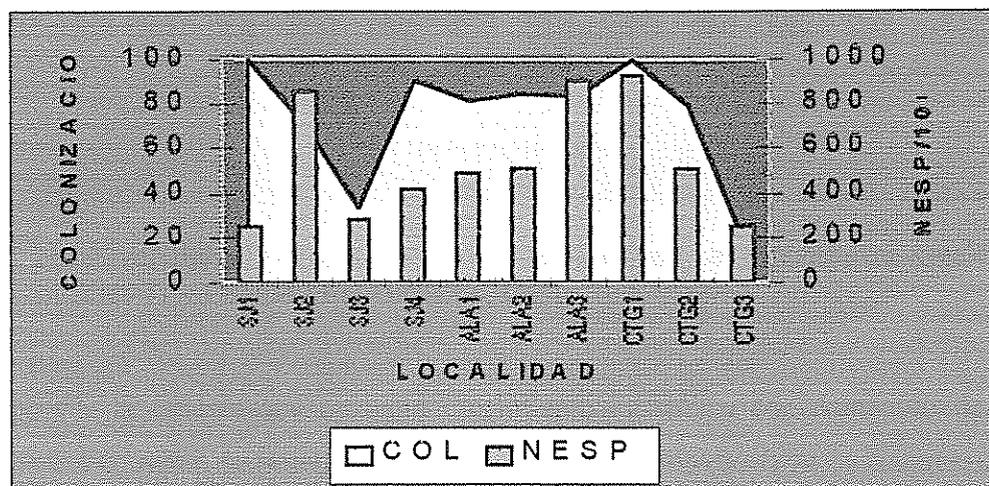
MUESTRA	Sitios en Turrialba	CULTIVO ASOCIADO	No. DE ESPECIES MVA	% DE COLONIZACION DE LA MVA	No. ESPORAS/ 100 g de suelo
1	CATIE	Bosque	3	58	272
	Bosque en 88				
2	CATIE	Pasto	5	37	258
	Siberia				
3	CATIE	Café	3	22	538
	Madeleña				
4	CATIE	Laurel	3	94	354
	Vivero				
5	CATIE	Laurel	3	87	536
	Vivero				
6	CATIE	Café	5	66	702
	Cabiria				
7	CATIE	Café	2	73	1680
	Cabiria				
8	CATIE	Café	3	71	1258
	Cabiria				
9	CATIE	Café	3	57	688
	Bajo el Chino				
10	Fin. Florencia	Café	3	34	872

Los géneros más abundantes de hongos MVA encontrados en las muestras de suelo, para las especies forestales *T. rosea* y *C. alliodora* fueron *Glomus* spp. y *Gigaspora* spp.; con 60 y 20% respectivamente. Otros menos frecuentes fueron *Acaulospora* sp. y *Entrophospora* sp.

El ANDEVA del análisis de suelo presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para las variables pH y contenido de potasio. Las diferencias observadas para ambas variables corresponden únicamente entre especies, según la prueba Tukey. Según Abbot y Robson (1991), las características físicas y químicas de los suelos en general afectan de manera determinante la composición de la población de hongos formadores de MVA. Por ejemplo el pH del suelo ejerce un papel significativo en la presencia de ciertas especies de hongos formadores de MVA. La especie *T. rosea* fue la que presentó crecimientos en suelo con pH >6, frente a un valor de 5.23 para la especie *C. alliodora* (Fig. 20) (Anexo 10).

No se encontró correlación ( $p > 0.05$ ) entre el porcentaje de colonización y el número de esporas, lo cual indica que a un mayor número de esporas no siempre va a implicar una buena colonización de MVA en las raíces (Figs. 20a y 20b).

a)



b)

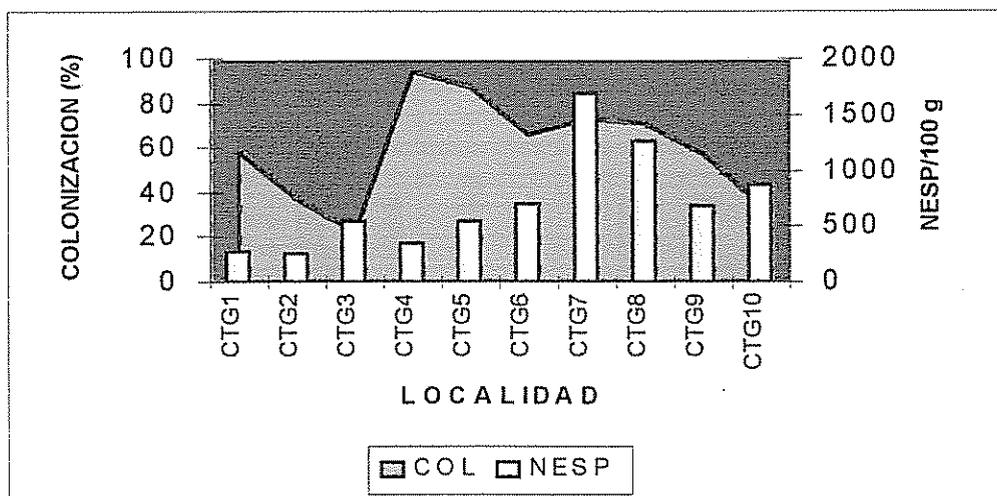


Figura 20 Colonización (%) y N° de esporas de MVA/sitio asociado con a) *T. rosea* y b) *C. alliodora* en Costa Rica.

Según Miranda (1982), el número de esporas en el suelo y el porcentaje infectado en la raíz puede ser considerado como indicador del establecimiento de los hongos en el suelo; y no como una indicación de la efectividad en el crecimiento de las plantas.

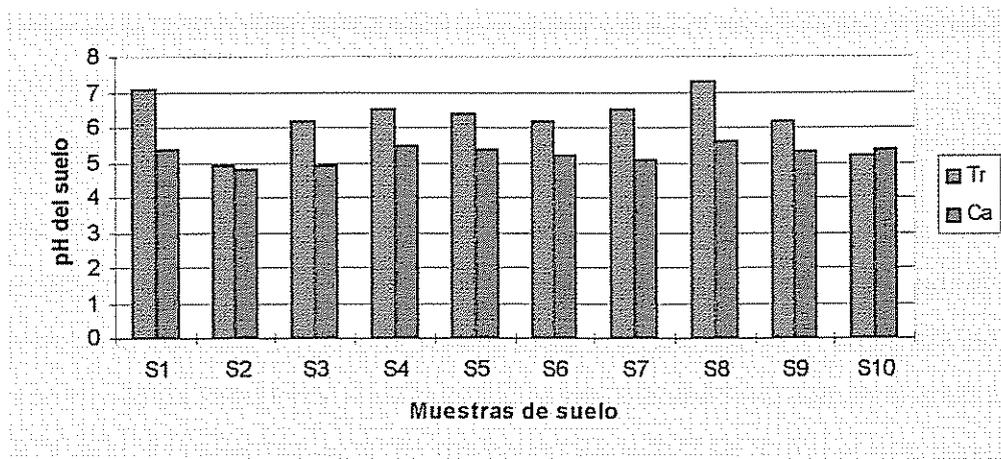


Figura 21. Nivel del pH en muestras de suelos donde se encontraban creciendo las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

*T. rosea* fue la especie que presentó crecimiento en suelos con contenido de potasio superior a 1.0, según la prueba Tukey (Anexo 10); promedió 0.94 %, mientras que *C. alliodora* 0.39% (Fig 22)

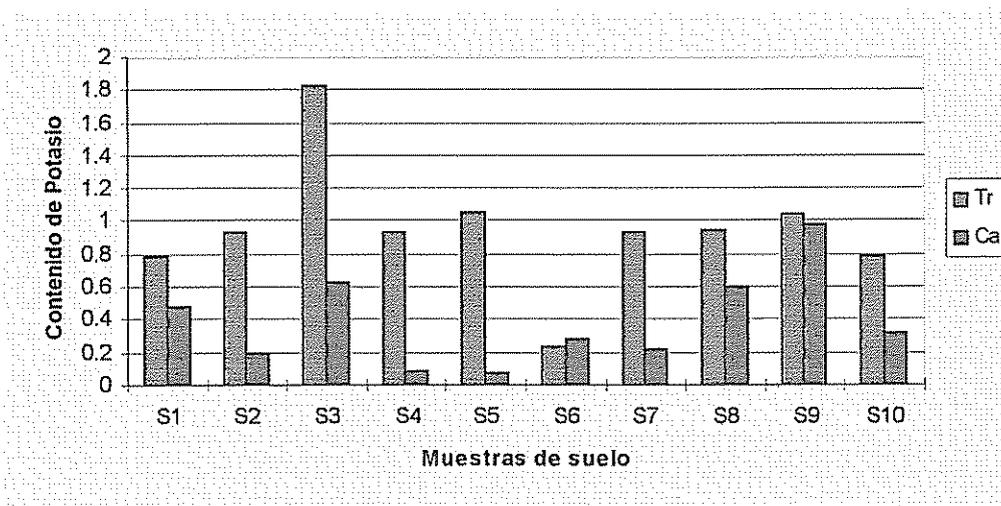


Figura 22. Contenido de Potasio en 20 muestras de suelos, donde se encontraba creciendo las especies Tr y Ca. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

#### 4.4 Efecto de la aplicación de *Glomus occultum* sobre el crecimiento y desarrollo de *T. rosea*, en mezcla con abonos.

##### 4.4.1 Altura

Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en la interacción fecha\*tratamiento (Anexo 10). Los tratamientos con abonos superaron los valores obtenidos por el testigo, superándolo en más del 50%. Los tratamientos con abonos y la presencia de LOCT presentaron valores superiores a los registrados por tratamientos con abonos en ausencia de LOCT (Fig 22) (Fotos 2 y 3). El tratamiento con B\*LOCT fue el que mayor altura presentó, mostrando un promedio de 23 cm

Se observó un valor alto en esta variable, para las plantas sin LOCT, la cual no se distanció mucho de las tratamientos a los cuales se les adicionó el hongo MVA. Este comportamiento hace pensar que los hongos MVA detectados en los diferentes abonos (especies nativas) presentan un gran potencial para ser trabajados en posteriores investigaciones

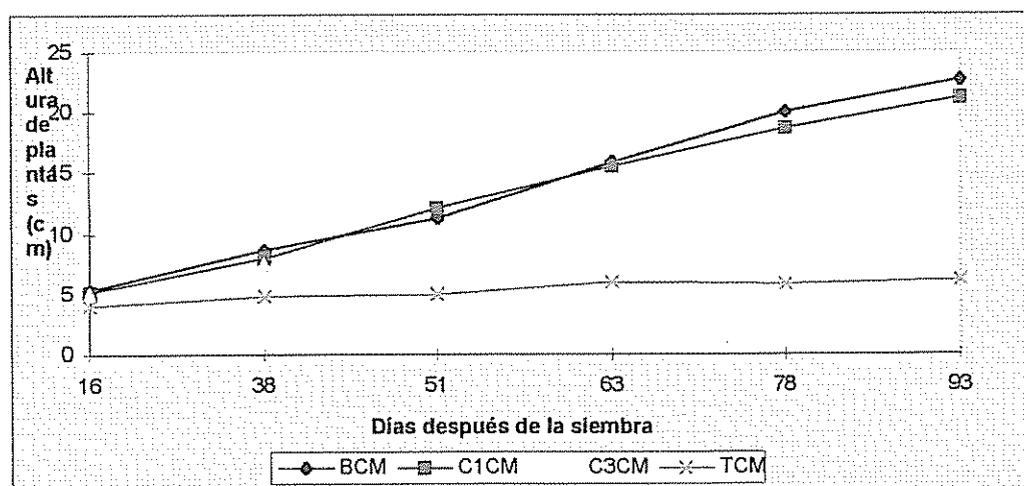


Figura 23. Altura de los árboles de *Tr*, a través del tiempo, según los tratamientos (BCM = bokashi con micorrizas, C1CM = Compost 1 con micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas y TCM = Testigo con micorrizas) CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

Los números de esporas de MVA encontrados en los abonos utilizados en este ensayo, fueron los siguientes: Bokashi 22, C1 225 y en C3 fueron 191 esporas/100 g suelo. El tratamiento Bokashi fue el que presentó el menor número de esporas y el que mejor comportamiento mostró para las variables evaluada, siendo mayores los valores obtenidos, con la presencia de LOCT

Para los tratamientos sin micorrizas, el mejor incremento en altura se presentó en C1. Los valores obtenidos con C3 y B, no se alejaron mucho a los de C1, pero si difirieron mucho del testigo (Fig 24)

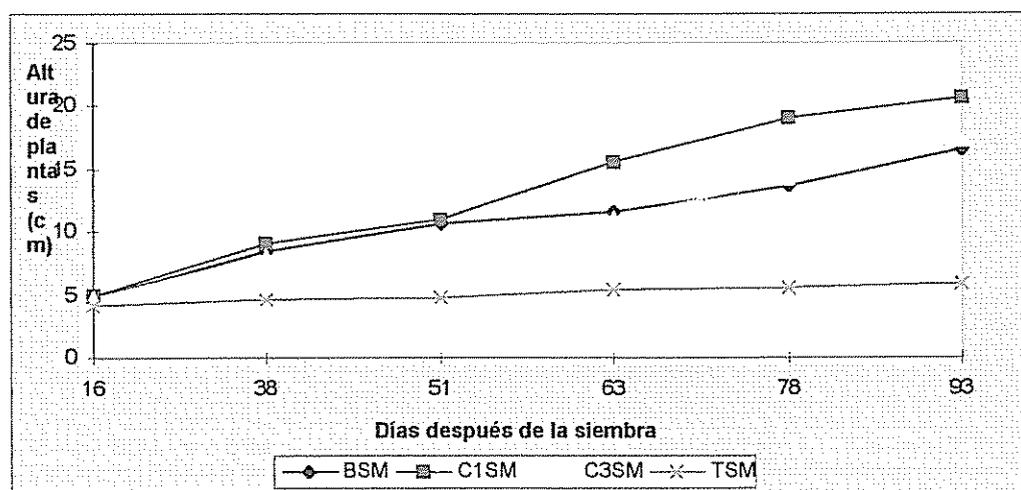


Figura 24. Altura de los árboles de Tr en cm, a través del tiempo, según los tratamientos sin aplicación de micorrizas (BSM = bokashi con micorrizas, C1SM = Compost 1 con micorrizas, C3SM = Compost 3 con micorrizas y TSM = Testigo con micorrizas) CATIE Turrialba, Costa Rica. 1997.

#### 4.4.2 Area foliar

El área foliar presentó diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) La mayor área de los árboles se obtuvo en el tratamiento con bokashi+LOCT, donde se alcanzó un valor promedio de 42  $\text{cm}^2$ , este valor se mantuvo a lo largo del ensayo. El tratamiento de compost 1 sin micorrizas, superó al de C1+micorrizas, lo cual demuestra que las poblaciones nativas (PN) de micorrizas, pueden ser más efectivas que las poblaciones introducidas. Varios aspectos podrían estar involucrados con la ineficacia o habilidad de las poblaciones nativas de MVA. Sieverding (1991) señala que la efectividad de las PN está relacionada

con factores como el estado nutricional del suelo, la planta hospedante, la densidad de propágulos infectivos, la efectividad de las especies de hongos MVA involucrados y su capacidad de competir con otros microorganismos. Se conoce bien que la mayor o menor adaptabilidad de hongos MVA depende de la fertilidad del suelo (Janos 1983), provocando variación de las poblaciones con respecto a los niveles de P (Sylvia y Neal 1990) y al N (Vaast y Zasoski 1991)

El área foliar para el T + LOCT y el T sin micorrizas presentaron iguales valores en el área foliar. Esto sugiere, de acuerdo a las condiciones experimentales, que se requiere de un mejor nivel de fertilidad para favorecer el proceso de micorrización (Fig 25).

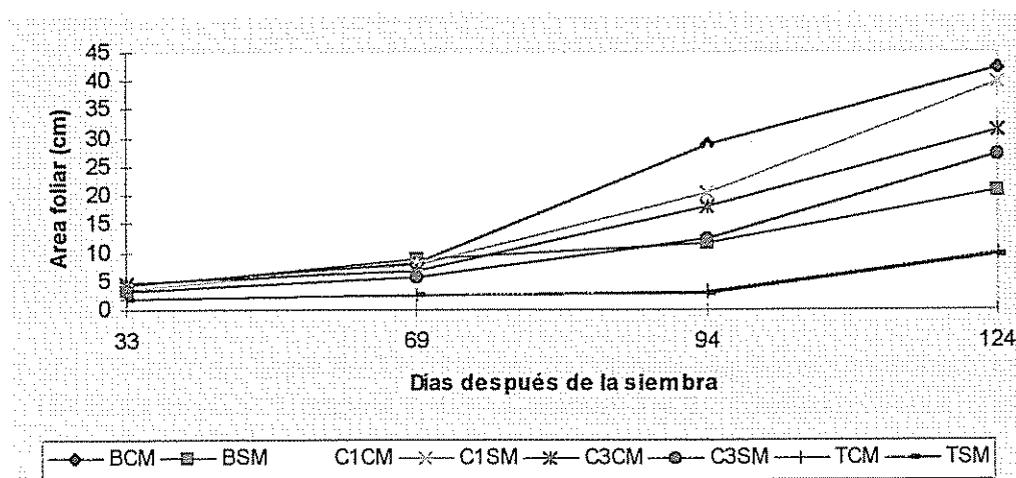


Figura 25. Área foliar ( $\text{cm}^2$ ) de *Tr*, a través del tiempo, según los tratamientos aplicados (BCM = bokashi con micorrizas, C1CM = Compost 1 con micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas y TCM = Testigo con micorrizas, BSM = bokashi con micorrizas, C1SM = Compost 1 con micorrizas, C3SM = Compost 3 con micorrizas y TSM = Testigo con micorrizas). CATIE Turrialba, Costa Rica 1997

#### 4.4.3 Número de hojas

Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en los tratamientos y en las micorrizas. El C1 fue el que presentó el mayor número de hojas, con un valor promedio de 11. Sin embargo, se observó que el resto de materiales orgánicos mostraron un efecto positivo en la producción de hojas cuando se compararon con el testigo. Dicha diferencia se mantuvo durante todo el tiempo en que transcurrió el experimento (Fig 26).

Es posible que el efecto del C1 se deba a la composición del mismo, el cual presentó en el análisis químico un contenido superior de P con respecto a los demás abonos (Anexo 5). Los tratamientos con micorrizas presentaron un mayor número de hojas, con un promedio de 10 hojas/planta (Fig. 27).

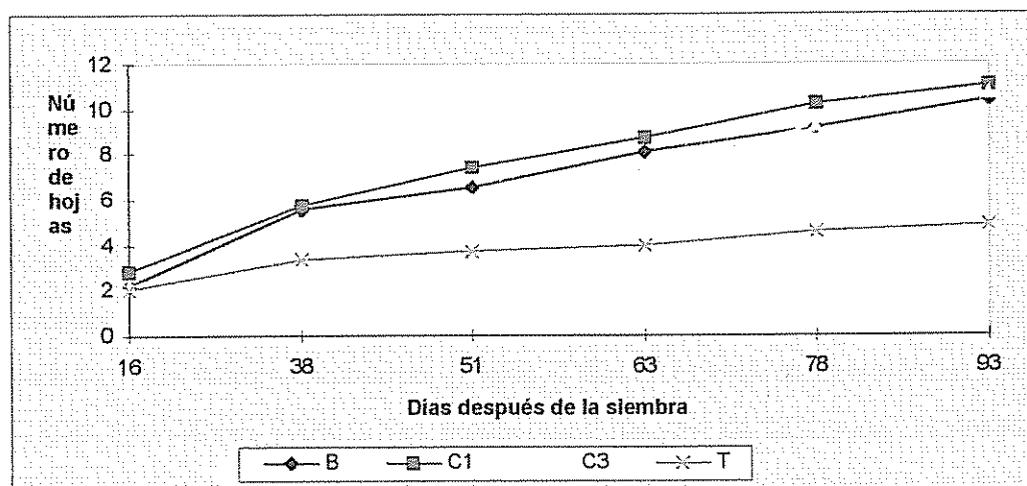


Figura 26 Número de hojas de Tr, a través del tiempo, según el tratamiento aplicado (B=Bokashi, C1= Compost 1, C3= Compost 3 y T =Testigo) CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

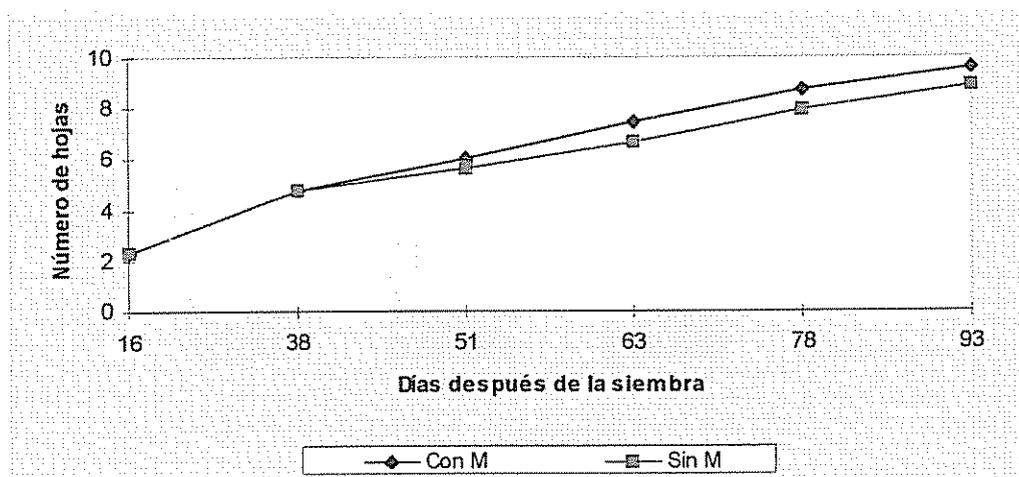


Figura 27. Número de hojas de Tr a los 93 dds, a través del tiempo, según la aplicación de LOCT. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997.

#### 4.4.4 Peso seco de follaje

Existieron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) para la interacción tratamiento\*micorriza. El mayor peso foliar se consiguió con el tratamiento bokashi sin micorrizas, seguido por el tratamiento bokashi + micorrizas. Para los tratamientos compost 1, compost 3 y testigo, los mejores resultados se obtuvieron con la presencia de micorrizas (Fig. 28). Estos resultados concuerdan con las observaciones encontradas por Abbott y Robson (1981) en plantas de café, en donde se obtuvieron aumentos de follaje con cinco especies de hongos micorrícicos introducidos, en suelos con una población alta de hongos nativos; en el cual, los mejores beneficios se presentaron en sitios de baja población de hongos nativos.

Se encontró en este ensayo una superioridad en las variables evaluadas, para los tratamientos que tenían la micorriza introducida (LOCT), frente a las poblaciones nativas detectadas en los diferentes abonos. Blanco y Rowe (1994) encontraron una superior efectividad de LMNH frente a las poblaciones nativas de MVA de 31 localidades, trabajando con *Cajanus cajan*, lo cual demuestra que la selección de cepas es importante para poder obtener una mejor promoción del crecimiento en los cultivos.

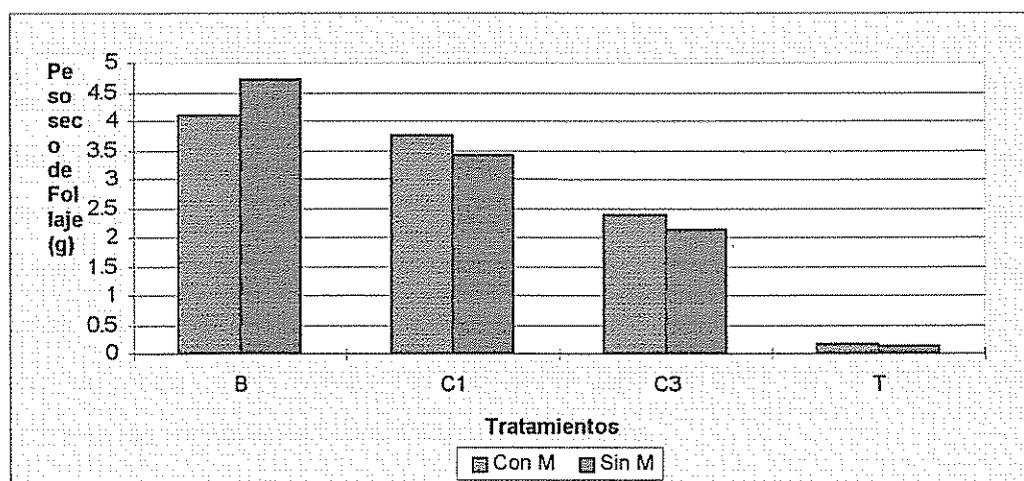


Figura 28. Peso seco de follaje de *Tr* a los 93 dds, según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3 y T = Testigo), con y sin la aplicación de hongos micorrícicos (M). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

#### 4.4.5 Peso seco de raíces

Esta variable mostró diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en la interacción de tratamientos\*micorrizas. El mayor peso se obtuvo con B\*LOCT, con un nivel de 2 g/raíz (Fig 29) (Foto 4)

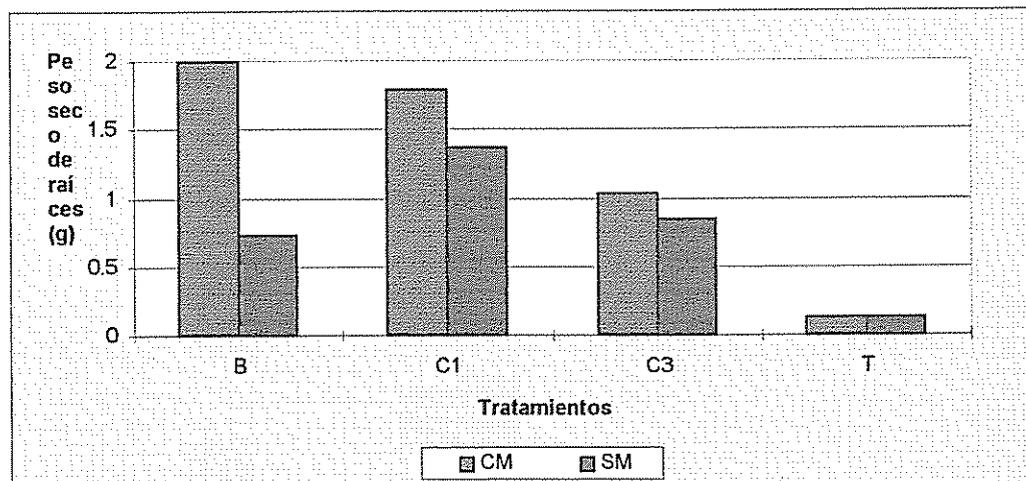


Figura 29. Peso seco de raíces de Tr a los 93 dds, según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3 y T = Testigo), con y sin aplicación de hongos micorrícicos (M) CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) (Anexo 11) para todas las variables altura, área foliar, número de hojas, peso seco de follaje y peso seco de raíz con respecto a todos los tratamientos (B, C1, C3 y T) y con o sin la aplicación de LOCT. El tratamiento de bokashi con LOCT fue el que mejor comportamiento presentó, al obtenerse con este las mayores alturas, áreas foliares y peso seco de follaje. Los tratamientos más bajos fueron el testigo sin micorrizas y el testigo con micorrizas, no existieron diferencias significativas entre estos dos, lo que nos hace pensar que se requiere un mejor nivel nutricional del suelo para permitir su desarrollo, como lo demostraron los tratamientos con la adición de abonos.

La similitud en los valores obtenidos en tratamientos sin micorrizas, para las variables área foliar, número de hojas y los mayores valores en peso seco de raíces, hacen pensar que las poblaciones nativas de micorrizas, poseen eficacia semejante o superior a las de las poblaciones introducidas.

#### 4.4.6 Número de esporas de MVA

La producción de esporas, presentó diferencias ( $p < 0.01$ ) en la interacción tratamiento\* micorrizas. El tratamiento que mayor número de esporas presentó, fue C1 sin micorrizas, con un valor promedio de 550 esporas/100 g de suelo, seguido muy de cerca por el tratamiento C1 con micorrizas. Los tratamientos con abonos y sin adición de micorrizas produjeron esporas, debido a la presencia de hongos micorrícicos en ellos (Rivas Platero 1997) Estos hongos nativos tienen un gran potencial para la infección de plantas (Sieverding 1991), como lo demuestra el tratamiento C1, sin micorrizas (Fig. 30).

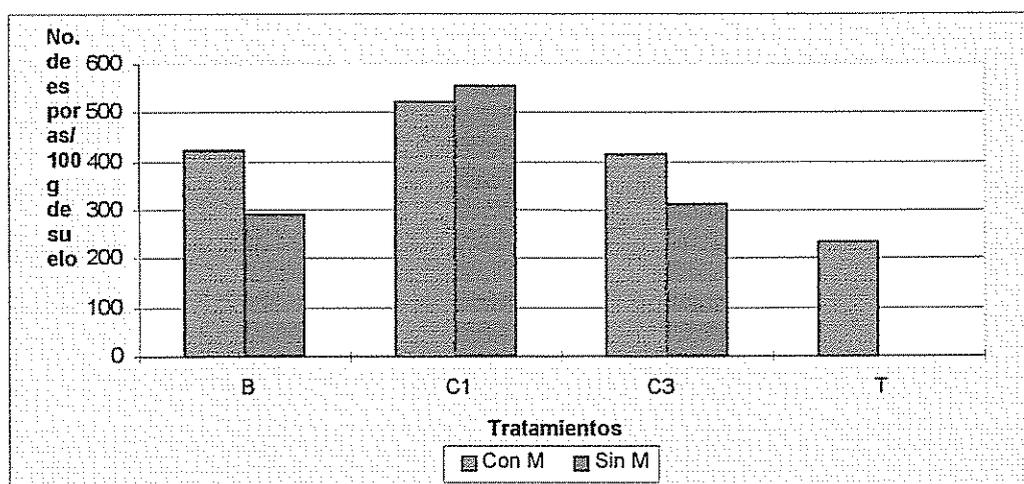


Figura 30 Número de esporas de hongos MVA, según los diferentes tipos de abonos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3) con y sin la aplicación de micorrizas (M). CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997

#### 4.4.7 Colonización MVA

La colonización de MVA mostró diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en la interacción tratamientos\*micorrizas, encontrándose los mejores valores para los tratamientos con micorrizas (Fig. 31)

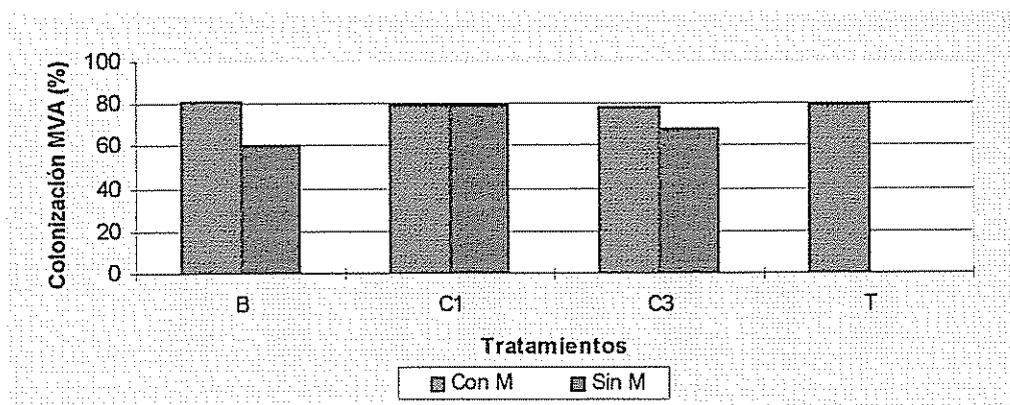


Figura 31. Porcentaje de colonización MVA según los tratamientos (B = Bokashi, C1 = Compost 1, C3 = Compost 3) con y sin la aplicación de micorrizas (M). CATIE Turrialba, Costa Rica 1997.

#### 4.4.8 Análisis foliar

No se realizó el ANDEVA para el análisis de suelos, debido a que solo se tomó una muestra de cada tratamiento, con el fin de disminuir los costos del ensayo. Los valores obtenidos en el análisis de suelos se presentan en las figuras 32 y 33.

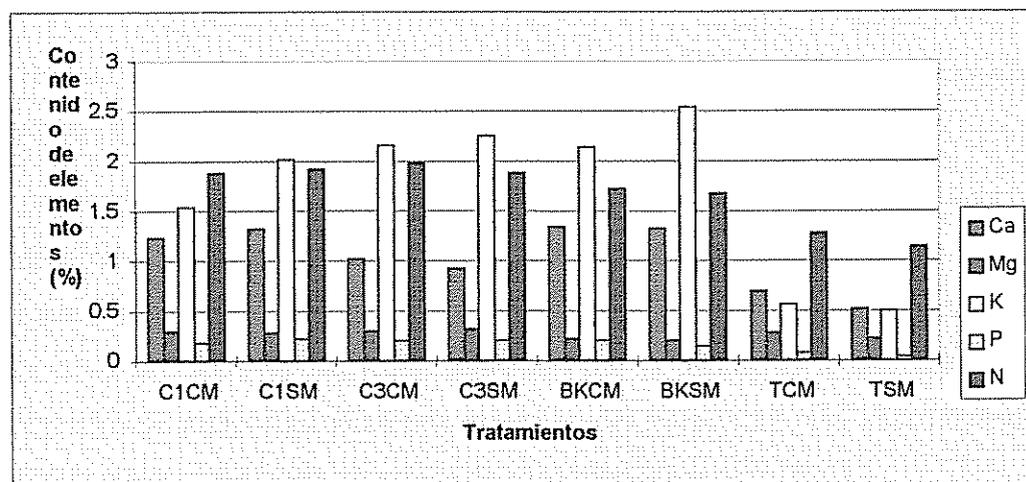


Figura 32. Contenido de calcio, magnesio, potasio, fósforo y nitrógeno, en el follaje de Tr (C1CM = Compost 1 con micorrizas, C1SM = Compost 1 sin micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas, C3SM = Compost 3 sin micorrizas, BKCM = Bokashi con micorrizas, BKSM = Bokashi sin micorrizas, TCM = Testigo con micorrizas y TSM = Testigo sin micorrizas). CATIE Turrialba, Costa Rica. 1997.

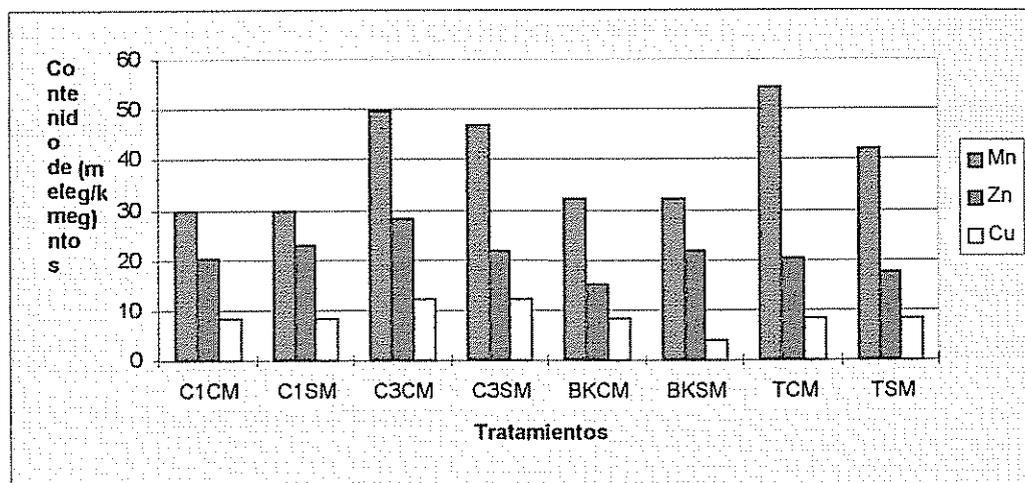


Figura 33. Contenido de manganeso, zinc y cobre en el follaje de Tr (C1CM = Compost 1 con micorrizas, C1SM = Compost 1 sin micorrizas, C3CM = Compost 3 con micorrizas, C3SM = Compost 3 sin micorrizas, BKCM = Bokashi con micorrizas, BKSM = Bokashi sin micorrizas, TCM = Testigo con micorrizas y TSM = Testigo sin micorrizas CATIE Turrialba, Costa Rica. 1997.

Para todos los elementos evaluados en el análisis de suelos, los niveles de Ca, Mg, P, N, Zn, Mn y Cu fueron altos en los tratamientos con aplicación de *G. occultum*, en relación con los tratamientos sin este hongo micorrícico. Estos resultados coinciden con las observaciones registradas en otros ensayos (Bowen 1973, Hepper y Warner 1983, Cooper 1985, Fasolo 1987, Saif 1987, Smith y Gianinazzi-Pearson 1988, Fernández *et al.* 1989, Sieverding 1991).

Los hongos micorrícicos contribuyen al desarrollo de las plantas debido a su intervención en la absorción de nutrientes, especialmente fósforo, potasio y nitrógeno (Harley y Smith 1983, Sieverding 1991, Honrubia *et al.* 1992). La hipótesis más apoyada para explicar la mejora en la captación de nutrientes minerales por la planta, es la que supone que las hifas externas se comportan como una extensión del sistema de raíz, constituyéndose en una amplia y bien distribuida superficie de absorción (Guerrero 1996).

## V. CONCLUSIONES

- Los hongos MVA utilizados promovieron el crecimiento de *T. rosea* y *C. alliodora*.
- La aplicación de hongos MVA mejoró significativamente, la altura, el área foliar, el número de hojas y el peso seco de las plantas en ambas especies.
- ECLB fue el hongo micorrícico que mejor comportamiento presentó para *C. alliodora* y LMNH el mejor para *T. rosea*.
- Pf presentó un sinergismo positivo con todas las micorrizas evaluadas.
- Las rizobacterias Sm y Pf mejoraron la producción de esporas y la colonización de las micorrizas evaluadas.
- Los suelos asociados con *C. alliodora* y *T. rosea*, presentaron rizobacterias, con características potenciales para ser trabajadas como promotoras del crecimiento.
- Los géneros de micorrizas más comunes encontrados en los suelos donde crecen *T. rosea* y *C. alliodora*, fueron *Glomus* y *Gigaspora*.
- Los abonos orgánicos fueron acarreadores de hongos micorrícicos, lo que los hace más eficaces en su uso.
- La aplicación de LOCT favoreció la acción de los abonos orgánicos, ya que mejoró el crecimiento, área foliar, número de hojas y el peso seco de las plantas.
- Las especies de micorrizas presentes en los abonos orgánicos tiene un gran potencial como promotores del crecimiento, así como lo demostró el compost C1, el cual mostró valores altos para todas las variables evaluadas en este ensayo.

## VI. RECOMENDACIONES

- 1- Las investigaciones encaminadas a trabajar con microorganismos del suelo, deben de comenzar con el aislamiento e identificación de los mismos, directamente de los sitios de origen de las especies forestales, con el fin de conocer los microorganismos que son más afines con la especie y así poderlos comparar con otros introducidos o aislados en otros sitios. Esto permitirá determinar los individuos más potenciales y las combinaciones de los mismos con más significancia biológica.
- 2- Evaluar el comportamiento de las micorrizas y rizobacterias trabajados en este ensayo, en condiciones de campo, para la fase de establecimiento de las dos especies forestales.
- 3- Continuar con este tipo de investigaciones, con el fin de poder identificar la relación de las rizobacterias y micorrizas, con el desarrollo y crecimiento de las especies forestales.
- 4- Probar las rizobacterias y micorrizas encontradas como organismos potenciales para una determinada procedencia forestal, en diferentes sitios. De esta manera se logrará determinar el ámbito de acción de estos microorganismos y se mejorará la selección de los individuos.
- 5- Continuar las investigaciones en la producción forestal, con el uso de abonos orgánicos y microorganismos promotores del crecimiento.

## VII. BIBLIOGRAFIA

- ABBOT, L. K.; ROBSON, A. D. 1977. The distribution and abundance of vesicular-arbuscular endophytes in some Western Australian soils. *Aust. J. Bot.*, Victoria, 25: 515-522.
- \_\_\_\_\_. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 35: 121-150.
- ADJOURD, D.; PLENCHETTE, C.; HALLI-HARGAS, R.; LAPEYRIE, F. 1996. Response of 11 eucalyptus species to inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 6: 129-135.
- AGGANGAN, N.; DELL, B.; MALAJCZUK, N. 1996. Effects of soil pH on the ectomycorrhizal response of *Eucalyptus urophylla* seedlings. *New Phytol.* 134: 539-546.
- AGUIRRE, A. 1971. Estudio de los suelos del área del Centro Tropical de Enseñanza e Investigación, IICA. 138 p
- AGUIRRE, J.; VELAZCO, M. 1994. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento de *Leucaena leucocephala* Lam (De Wit) al inocularse con micorriza VA y / o *Rhizobium loti*. *Agricultura Técnica en México* 20 (1): 43-52.
- ALTEN, H. VON.; LINDERMAN, A.; SCHONBECK, F. 1993. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza by fungicides or rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza* 2: 167-173.
- ALVARADO, B. 1985. Asociación micorrícica de los hongos *Higrophorus* sp. y *Pysolithus* sp. con *Eucalyptus saligna*. In *Ciclo lectivo sobre el tema técnicas de investigación en micorriza*. CATIE, FIC. Turrialba, Costa Rica. pp 107-110.
- ANGEHR, G.; COLEY, P.; WORTHINGTON, A. 1984. Guía de los árboles comunes del parque nacional soberanía Panamá. Smithsonian Tropical Research Institute / Dirección Nacional de Recursos Naturales Renovables. 71 p
- ARANGO, C. 1993. Aspectos generales sobre micorrizas y algunas experiencias en Caldas. *Agronomía (Col.)* 5 (2-3): 71-76.
- ARAUJO, J. DE 1995. Produção e controle de qualidade de mudas florestais. Paraná Brasil Universidade federal do Paraná / Universidade Estadual do Norte Fluminense / Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná. 451 p.

- AZCON-AGUILAR, C.; 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., Ottawa, 24: 520-524.
- AZCON, R.; RUBIO, R.; BAREA, J.M. 1991. Delective interactions between different species of mycorrhizal fungi and *Rhizobium meliloti* strains, and their effects on growth, N<sub>2</sub>-fixation (<sup>15</sup>N) and nutrition of *Medicago sativa* L. New Phytologist 117: 399-404.
- BAGYARAJ, A.; MANJUNATH; REDDY, D. 1979. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with root knot nematodes in tomato. Plant and Soil 51: 397-403.
- BAREA, J.; AZCON-AGUILAR, C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen fixing plants. Adv. Agron. 36: 1-54.
- \_\_\_\_\_. 1985. Interacción de los hongos formadores de MVA con microorganismos benéficos del suelo, especialmente con *Rhizobium* spp. In Ciclo lectivo sobre el tema técnicas de investigación en micorriza. CATIE, FIC. Turrialba, Costa Rica. pp 91-92.
- \_\_\_\_\_; AZCON-AGUILAR, C. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N<sub>2</sub> fixation and N uptake from soil as assessed with a <sup>15</sup> N rechnique under field conditins. New Phytologist 106: 717-725.
- BLANCO, F.A.; ROWE, Y. 1990. Efectividad de 31 poblaciones nativas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) In XL Reunión Anual de la Sociedad del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales. San José, Costa Rica. 23 p.
- \_\_\_\_\_, F.A.; SALAS, E.A. 1996. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. In Congreso Nacional Agronómico y de los Recursos Naturales (10), Congreso Nacional de Fitopatología (3), Congreso Nacional de Suelos (2, 1996, San José, C.R.) ¿ Puede la agricultura sostenible ser competitiva?: Memoria. Eds. J. Bertseh; W. Badilla; E. Bornemiza. San José, EUNED / EUNA. v.3, p. 69-79.
- BONFANTE-FASOLO, P. 1987. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae; fungus-plant interaction at the cellular level. Philadelphia, E.E.U.U, Balaban publishers. p. irr.
- BOWEN, G.D. 1973. Mineral nutrition of ectomycorrhizae. Marks, G.C. y Kozlowski, T.T. (Eds). Ectomycorrhizae their ecology and phisiology. N.Y. pp. 151-205.
- BRUNDRETT, M. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. Advances in Ecological Research 21: 171-312.
- BRUNDRETT, M.; MELVILLE, L.; PETERSON, L. 1994. Practical methods in micorrhiza research. Canada. Mycologue Publications. 161 p.

- CARVAJAL, C.; HERNANDEZ, J. 1989. Influencia de las micorrizas en el desarrollo de dos especies nativas en la etapa de vivero. *In* Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. p. 176-179.
- CARRILLO, R.; GODOY, R.; PEREDO, H. 1992. Simbiosis micorrícica en comunidades boscosas del valle central en el sur de Chile. *Bosque (Chile)* 13 (2): 57-67.
- CASTAÑO, J. 1994. Principios básicos de fitopatología. Zamorano Press. Honduras. 450p.
- CASTELLANO, M. A.; MOLINA, R. 1989. Mycorrhizae. *In* Landis, T. D. Tinus, Manual. Vol. 5. The Biological Component: Nursery Pests and Mycorrhizae. Agric. Handbook 674. USDA. Forest Service. Washington. pp 101-171.
- CENTRO AGRONOMICO TROPICAL DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA. 1995. Resumen de datos meteorológicos del año 93, 94 y acumulados. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 3 p.
- CONWAY, LI.; BAGYYARAJ, D.J. 1984. VA mycorrhiza. CRC Press, Inc. Florida. 186 p.
- COOPER, K. M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. *In* VA Mycorrhiza, editado por C. Powell y D.J Bagyaraj, CRC Press, Florida, pp: 155-203.
- CUENCA, G.; HERRERA, R.; MENESES, E. 1991. Las micorrizas vesículo arbusculares y el cultivo del cacao en Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 42: 153-159.
- DANIELS, B. A ; TRAPPE, J. M. 1980. Factors affecting spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia* 72: 457-471.
- DAVIS, F.; LINDERMAN, R. 1991. Short term effects of phosphorus and VA Mycorrhizal fungi on nutrition, growth and development of *Capsicum annuum* L. *Scientia Horticulturae* 45: 333-338.
- DE MARS, B.G ; BOERNER, R. 1995. Arbuscular mycorrhizal development in three crucifers. *Mycorrhiza* 5: 405-408.
- FAIRCHILD, G.L.; MILLER, M.H. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and the soil disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize, III. Influence of P amendments to soil. *New Phytologist*: 641-650.
- FAJARDO, R.; BAREA, J. 1987. Micorrizas VA en arboles y arbustos. *Anales de Edafología y Agrobiología* 46 (1-2): 229-246.

- FERNANDEZ, A.B.; SIQUEIRA, J.O. 1989. Micorrizas vesicular-arbuscular em cafeiros da regio sul do estado de Minas Gerais. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 24(12): 1489-1498.
- FORTIN, J.; CARLISLE, A. 1984. The use of root symbiosis in intensive forestry. Report No. 4. 1984. Biomass Growth and Production and ENFOR, Environment Canada. Canadian forestry service. Quebec, Canada. 96 p.
- GARCIA, M.T. 1987. Ecología de las raices. *Revista Mexicana de Fitopatología* 5 (2): 128-135.
- GERDEMANN, J.W. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- GLANDORF, D. C. M. 1994. Agglutination, adherence and root colonization by fluorescent *Pseudomonas*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (6): 1726-33.
- GUERRERO, E. 1996. Fundamentos biológicos y estado del arte. In *Micorrizas recursos biológico del suelo*. Fondo FEN Colombia. p: 1-46.
- GURUSIDDAIAH, S.; WELLER, D. M.; SARKAR, A.; COOK, R. J. 1986. Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Pythium* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 29: 488-495.
- GUZMAN, F. 1989. Efectos benéficos de microorganismos del suelo en el desarrollo de algunas especies frutales. In *Investigaciones sobre micorrizas en Colombia*. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. p: 252-262.
- HALOS, P. M.; ZORRILLA, R. A. Vesicular-arbuscular micorrhizae increase growth and yield of tomatoes and reduce infection by *Pseudomonas solanacearum* Sum. In Saif, R. F. *Bibliography on vesicular-arbuscular micorrhizae 1970-1982*. CIAT 103 p.
- HARLEY, J. L.; SMITH, S. E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, Londres. 481 p.
- HEPPER, C.M.; WARNER, A. 1983. Role of organic matter in growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, Cambridge, 81:155-156.
- HETRICK, B.A.; WILSON, G.W.; OWENSBY, C.E. 1989. Influence of mycorrhizal fungi and fertilization on big bluestem seedling biomass. *Journal of Range Management* 42(3): 213-216.
- HERNANDEZ, M. 1995. Respuesta del *Centrocema pubescens* IH-129 a la aplicación de biofertilizantes. *Pastos y Forrajes (Cuba)* 18: 251-255.

- HERRERA, R. 1995. Las micorrizas vesículo-arbusculares como ayuda para la población forestal en Cuba. In Ciclo lectivo sobre el tema técnicas de investigación en micorriza. CATIE, FIC. Turrialba, Costa Rica. pp 377-407.
- HERRERA, S.; MORALES, A. 1994. Propiedades y usos potenciales de 100 maderables nicaragüenses. Instituto Nicaragüense de Recursos Naturales y del Ambiente / Corporación Sueca al Sector Forestal / Servicio Forestal Nacional, Departamento Investigación Nacional / Laboratorio de Tecnología de la Madera. 178 p.
- HONRUBIA, M.; TORRES, P.; DIAZ, G.; CANO, A. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. España, Universidad Murcia. 66 p.
- \_\_\_\_\_; TORRES, P.; DIAZ, G.; MONTE, A. 1994. Biotecnología forestal: técnicas de micorrización y micropropagación de plantas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. España, Universidad Murcia. 85 p.
- HOWELER, R. 1989. Aspectos prácticos de la investigación de micorrizas vesículo-arbusculares demostrados en el cultivo de la yuca. In Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. p 43-61.
- \_\_\_\_\_; SIEVERDING, E.; SAIF, S. R. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant and Soil*, 100: 249-283.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R.D. 1980. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 70: 712-714.
- JANOS, D. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12 (supl.): 56-64.
- \_\_\_\_\_. 1983. Tropical rain forest; ecology and management. Ed. S.L. Sutton, T.C. Whitware and A.C. Chadwick. Oxford, G.B., Blackwell Scientific Publications pp 327-345 systems. In: *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (Ed. By G. R. Safir). Boca Raton, Florida. pp. 107-134.
- \_\_\_\_\_. 1987. V A mycorrhizas in humid tropical eco
- JEFFRIES, P.; DODD, J.C. 1990. The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture. The University of Kent, England. pp:155-185.
- KLOEPPER, J. W.; LEONG, J.; TEINTZE, M.; SCHROTH, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.

- LARCHER, W. 1977. *Ecofisiología vegetal*. Barcelona, España. 305 p.
- LEISINGER, T.; MARGRAFF, R. 1979. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiol. Rev.* 43: 422-442.
- LINDERMAN, R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: their mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78: 336-371.
- LOPEZ, E. S.; OLIVEIRA, E.; DIAS, R.; SCHENCK, N.C. 1983. Occurrence and distribution of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in coffee (*Coffea arabica* L.). *New Phytologist* 117: 649-655.
- MECINAS 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. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- MECINAS, J.; DOOR, C.; CHUNG, A.; MORENO, P. 1991. Micorrizas en tres especies forestales de la amazonía peruana. *Revista Forestal del Perú* 18 (2): 29-43.
- MEYER, F. H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forest. In: *Ectomycorrhizae, Their Ecology and Physiology* (Ed. By G. C. Marks and T. T. Kozlowski). Academic Press, New York. pp. 79-105.
- MEYER, J. R.; LINDERMAN, R.G. C. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18 (2): 185-190.
- MEYER, F. H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and manmade forest. In Marks, G. C. y Kozlowski, T.T. (Eds.). *Ectomycorrhizae: ecology and physiology*. Academic Press. N.Y. pp. 383-411.
- MEYER, J. R.; LINDERMAN, R. G. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Bio. Biochem.* Vol. 18, N<sup>o</sup>. pp. 185-190.
- MITCHELL, R. M.; ALEXANDER, M. 1962. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. *Proc. Soil. Sci. Soc. Amer.* 26: 556-558.
- MIRANDA, J. C. C. DE. 1982. Influencia de hongos micorrizógenos inoculados en campo, na cultivo de sorgo e soja en un solo sobcerrado. *Bras. Ci. Solo*, 6: 19-23.
- MORTON, J. B.; BENNY, G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, *Glomales*, two new suborders, Glominae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae, *Nycotaxon*, 37: 471-491.

- MOSQUERA, O. 1989. Influencia de la inoculación con micorriza sobre la respuesta del frijol carioca a la fertilización fosfórica. **In**. Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Facultad de ciencias agropecuarias, Palmira. pp 154-160.
- NAIDER, I. 1985. Técnicas de viveros forestales. Con referencia especial a Centroamérica. Siguatepeque, Honduras, Escuela Nacional de Ciencias Forestales / Corporación Hondureña de Desarrollo Forestal. 274 p. (Publicación miscelánea. no 5).
- OROZCO, C. 1996. Ectomicorrizas en plantaciones forestales. **In** Micorrizas recursos biológicos del suelo. Fondo FEN, Bogotá. Colombia. p:105-124.
- OSPINA, A.; MARTINEZ, F. 1993. La micorriza, un milagro como biofertilizante en cultivos agrícolas y forestales en Colombia. *Agronomía (Col.)* 5 (2-3): 67-76.
- PARRA, M.; SANCHEZ, M.; SIEVERDING, E. 1990. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular en café *Coffea arabica* L. variedad colombiana en almácigo. *Acta Agronómica (Col.)* 40 (1-2): 88-99.
- PATIÑO, H.; QUINTERO, H. 1982. Trascendencia ecológica de la selva tropical con referencia especial al neotrópico. Partes I y II. *Coagro*. Nos. 38 y 39
- \_\_\_\_\_ 1989. Micorrizas como componentes simbióticos de los sistemas selváticos tropicales. **In** Curso Nacional sobre Micorrizas (1, 1984, Palmira, Col.) Memorias. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias p 86-87.
- PAULITS, T.C.; LINDERMAN, R.G. 1991. Mycorrhizal interactions with soil organisms. **In** Handbook of Applied Mycology. Vol 1. Soil and Plants. Ed. Dilip K. Arora, Bharat Rai, K.G. Mukerji, Guy R. Knudsen. Marcel Dekker Inc. (New York). pp 77-129.
- PEDRAZA, J. 1979. Respuesta de plántulas de *Pinus caribea* var *hondurensis* Barr et Golf a micorrización y fertilización fosfatada en un oxisol de los Llanos Orientales de Colombia. Congreso de la ciencia del suelo (1) y Coloquio de suelos uso y sobre manejo de suelos de la Orinoquia y la Amazonia (4). Villavicencio, Colombia.
- \_\_\_\_\_ 1981. Ocurrencia e importancia de las micorrizas en los ecosistemas tropicales. Bogotá, Colombia, Facultad de Ingeniería Forestal de la Universidad Francisco José de Caldas. 22 p.
- PEREZ, Y.; SCHENCK, N. C. 1990. A unique code for each species of VA mycorrhizal fungi. *Micologia*, 82 (2) pp 256-260.

- PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roods and staining parasitic and VA mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 158-161.
- REAL, D. 1993. Mycorrhizas. In *Tropical soil biology and fertility. Handbook of methods*. Edited by Anderson and Ingram. C.A.B international, ISSS, Unesco, UIBS. p 121-131.
- REDDELL, P.; WARREN, R. 1986. Inoculation of acacias with mycorrhizal fungi: Potential benefits. In *Australian acacias in developing countries*. Gympie, Australia / ACIAR. p 50-53. (ACIAR Proceedings no. 16).
- RIVAS PLATERO, G.G. 1997. Avances de investigación en micorrizas vesículo arbusculares. In *Actas de la III semana científica (3 al 19 de Febrero, 1997)*. CATIE. Turrialba, Costa Rica. p: 124-126.
- RUIZ, D. 1991. El rol de las micorrizas en pijuayo (*Bactris gasipaes* H.B.K.). In *Congreso internacional sobre biología, agronomía e industrialización del pijuayo (4)*. Iquitos, Perú. Editado por la Universidad Nacional de Costa Rica. Editores: Mora, J; Szott, L; Murillo, M; Patiño, V. San José, Costa Rica. pp 127-144.
- SAIF, S.R. 1987. Growth responses of tropical forage plant species to vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant and Soil* 97: 25-35.
- SALAS, E. 1990. Selección de plantas hospederas para reproducción de inóculo de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares MVA, en macetas. Tesis Lic. Ing. Agr. Heredia, Costa Rica / Universidad Nacional. 94 p.
- SALAS, J. B. 1993. *Arboles de Nicaragua*. Instituto Nicaragüense de Recursos Naturales y del Ambiente. 388 p.
- SANCHEZ, M. 1991. La simbiosis micorriza vesículo-arbuscular (MVA) en soya *Glycine max* (L.) Merrill. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira, Colombia. *Boletín Técnico* 2:53
- SANO, S. M. 1984. Influencia de endomicorrizas nativas do cerrado no crescimento de plantas. *R. bras. Ci. Solo*, Campinas, 8:25-29.
- SAS INSTITUTE INC. 1985. *SAS user's guide: Statistics*. Cary, EE.UU., SAS Institute Inc. 629 p.
- SHANNON, M. 1987. Taxonomía de los hongos micorrícicos vesículo-arbusculares-agrícolas. *Revista Mex. de Fitopatología* 5(2): 137-149.
- SCHENCK, N. C; KELLAM, M.K. 1978. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on disease development. University of Florida, Gainesville. Agricultural Experiment Stations Institute of Food and Agricultural Sciences. *Bulletin* 798. October 1978. pp 1-15.

- SCHER, F. M.; BAKER, R. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology* 72:1567-1573.
- SCHWAB, S. M.; MENGE, J.A.; TINKER, P.B. 1991. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist* 117: 387-398.
- SIDHU, O.; BEHL, H. 1990. Endomycorrhizal fungi from leguminous tree species for foelwood plantation in alkaline soil sites. *Nitrogen Fixing Tree Research Reports*. (USA) 4: 34-36.
- SIEVERDING, E.; LEIHNER, D.E. 1984. Effect of herbicides on population dynamic of VA-mycorrhiza with cassava. *Botanik*. 58: 283-294.
- \_\_\_\_\_. 1989 a. Aspectos de la taxonomía y la identificación de hongos formadores de micorriza vesículo-arbuscular. In: *Investigaciones sobre micorrizas en Colombia*. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. p 209-223.
- \_\_\_\_\_. 1989 b. La micorriza un componente biotecnológico en la producción forestal. *Ciencia y Tecnología (Col.)* 7(1) 9-11.
- \_\_\_\_\_; SANCHEZ, M.; BRAVO, N. 1989. Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. 275 p.
- \_\_\_\_\_; TORO, T. S. 1988. Influence of soil water regimes on va mycorrhiza. V. Performance of different vam fungi species with cassava. *J. Agronomy & Crop Science* 16: 322-332.
- \_\_\_\_\_. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical cooperation, Federal Republic of Germany. Eschborn. Schriftenreihe der GTZ. No. 224 371 p.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; OLIVEIRA, E. 1989. Ocorrência de micorrizas vesicular-arbusculares em agro-ecossistemas naturais do Estado de Minas Gerais. *Pesq. Agrop. Bras.*, Brasília, 24(12): 1496-1506
- SYLVIA, D. M.; NEAL, L. H. 1990. Nitrogen affects phosphorus response of VA Mycorrhiza. *New Phytologist*. 115: 303-310.
- SMITH, S.E.; GIANINAZZI-PEARSON, V. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39: 221-244
- SMITS, W. Th. M. 1983. Dipterocarps and mycorrhiza. An ecological adaptation and a factor in forest regeneration. *Flora Malasiana Bull.* 36: 3926-3937.

- STEEL, R.D.G.; TORRIE, J.C. 1988. Bioestadística: principios y procedimientos. 2da. de Trad. Por Ricardo Martínez. México, McGraw-Hill. 622 p.
- SUBBA, N. 1993. Biofertilizers in agriculture and forestry. New York, International science publisher. 242 p.
- TANG, M. 1995. Efecto de la inoculación con rizobio y micorriza vesículo-arbuscular en *Teramnus labialis*. Pastos y Forrajes (Cuba)18: 251- 255.
- TESTER, M.; SMITH, S.E.; SMITH, F.A. 1987. The phenomenon of "Non mycorrhizal" plants. Can. J. Bot. 65: 419-431.
- TORO, S. 1985. Estudio sobre la presencia de los hongos formadores de micorrizas vesículo-arbuscular en la caña de azúcar (*Saccharum* spp) en el Valle del Cauca, Colombia. In: Ciclo lectivo sobre el tema técnicas de investigación en micorriza. CATIE, FIC. Turrialba, Costa Rica. pp 93-106.
- \_\_\_\_\_; GALVEZ, L.; SIEVERDING, E.1989. Evaluación de varias formas de almacenamiento de hongos formadores de micorriza vecículo-arbuscular. In Investigaciones sobre micorrizas en Colombia. Palmira, Colombia, Facultad de Ciencias Agronómicas. p 224-236.
- VAAST, P; ZASOSKI, R. J. 1991. Effect of nitrogen sources and mycorrhizal inoculation with different species on growth and nutrient composition of young arabica seedlings. Café, Cacao, Thé (Francia). 35 (2): 121-128.
- VEJSADOVA, H.; KATSAKA, V.; HRSELOVA, H.; GRydLER, M. 1993. Influence of bacteria on growth and phosphorus nutrition on mycorrhizal corn. Journal of Plan Nutrition. 16: 9, 1857-1866.
- VILLAFANE, V.; MUÑOZ, J.; TORRES, H. 1989. Efecto de hongos micorrizógenos en dos patrones de cítricos limón rugoso, *Citrus spp* y mandarina cleopatra, *Citrus reshni*. Acta Agronómica.(Col), 39 (3-4): 159-171.
- WALKER, C.; MIZE, C.W.; McNABB, H.S. 1982. Populations of endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. Can. J. Bot. 60: 2518-2529

## VIII. ANEXOS

Anexo 1. Características del suelo de la finca Florencia. Turrialba, Costa Rica. 1997

Tipo de suelo	pH	Ca cmol(+)/ kg	Mg cmol(+)/ kg	K cmol(+)/ kg	P mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Zn mg/kg
Sin mezcla	4.7	0.21	0.11	0.02	8.8	9.3	2.03	0.30
Con 6.7 % Cachaza	4.8	0.57	0.17	0.09	7.6	9.06	8.54	0.59

Anexo 2. Comportamiento de la germinación de *Cordia* sp. y *Tabebuia* sp. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

ESPECIE	GERMINACION %	INICIO GERMINACION días	TERMINA GERMINACION días
<i>Tabebuia rosea</i>	86	12	19
<i>Cordia alliodora</i>	78	29	38

Anexo 3. Número de esporas presentes en el inóculo utilizado. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Género	# Esporas/100 g suelo seco
<i>Entrophospora colombiana</i>	539
<i>Glomus manihotis</i>	595
<i>Glomus occultum</i>	836

Anexo 4. Análisis químico de muestras de suelo obtenidas en 10 sitios del Cantón de Turrialba, en donde se hallaba creciendo *C. alliodora*. CATIE, 1997.

SITIOS EN TURRIALBA	pH	Ca cmol(+)/ kl	Mg cmol(+)/ kl	K cmol(+)/ kl	P mg/kl	Cu mg/kl	Mn mg/kl	Zn mg/kl
CATIE	5.4	2.87	2.47	0.48	3.3	19.82	11.25	3.15
Bosque en 88								
CATIE	4.8	3.10	1.02	0.20	8.0	24.47	64.89	5.29
Siberia								
CATIE	4.9	4.22	1.50	0.62	13.4	18.36	35.33	3.39
Madeleña								
CATIE	5.5	5.48	1.28	0.08	7.3	21.05	14.85	8.02
Vivero								
CATIE	5.4	5.07	1.33	0.07	7.3	20.07	8.51	9.27
Vivero								
CATIE	5.2	7.00	2.05	0.28	8.6	28.39	22.35	6.95
Cabiria								
CATIE	5.1	8.26	1.80	0.22	7.9	37.93	11.10	6.48
Cabiria								
CATIE	5.6	10.10	2.60	0.60	10.1	27.66	5.05	4.93
Cabiria								
CATIE	5.3	5.51	1.53	0.98	52.7	19.82	36.77	6.12
Bajo El Chino								
Fin. Florencia	5.4	13.42	4.47	0.32	6.7	17.87	9.95	3.92

Método de análisis: extracción en KCl 1M y OLSEN modificado (Laboratorio suelos, CATIE, 1997).

Anexo 5. Análisis químico de muestras de suelo obtenidas en 10 localidades de Costa Rica, en donde se hallaba creciendo *T. rosea*. CATIE, 1997.

LOCALIDAD	pH	Ca cmol(+)/kl	Mg cmol(+)/kl	K cmol(+)/kl	P mg/kl	Cu mg/kl	Mn mg/kl	Zn mg/kl
SJ1	7.1	11.93	0.98	0.72	13.5	29.61	1.15	9.39
SJ2	6.4	8.95	3.01	1.05	4.8	18.11	3.17	2.32
SJ3	6.5	9.18	3.35	0.93	10.4	23.98	3.46	4.34
SJ4	7.3	12.85	1.45	0.94	17.7	17.38	2.60	9.80
ALA1	6.2	7.57	2.67	1.83	13.7	21.54	4.33	5.88
ALA2	6.5	9.29	3.45	0.93	12.8	22.76	4.18	4.34
ALA3	6.2	8.03	3.43	1.04	10.7	20.31	9.66	3.09
CTGO1	4.9	4.34	1.20	0.93	47.3	17.87	11.54	5.64
CTGO2	6.2	6.08	1.06	0.23	11.2	43.07	2.74	9.33
CTGO3	5.2	4.34	1.74	0.79	16.4	16.40	28.84	3.15

Método de análisis: extracción en KCl 1M y OLSEN modificado (Laboratorio suelos, CATIE, 1997).

Anexo 6. Análisis químico de las muestras del suelo recolectado, solo y en mezcla con diferentes abonos. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

TIPO DE SUELO	pH	Ca cmol(+)/k g	Mg cmol(+)/k g	K cmol(+)/k g	P mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Zn mg/kg
suelo esterilizado	4.7	0.21	0.11	0.02	8.8	9.30	3.03	0.30
suelo esterilizado + compost I	5.5	6.08	3.10	0.50	227.7	9.79	38.65	3.21
suelo esterilizado + compost II	4.8	1.68	0.72	0.24	2.4	9.30	5.09	2.67
suelo esterilizado + bokashi	7.3	7.23	4.11	1.08	72.2	5.38	42.54	4.46

Anexo 7. Análisis químico de las muestras de suelo recolectado, para el ensayo II. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

TIPO DE SUELO	pH	Ca cmol(+)/k g	Mg cmol(+)/k g	K cmol(+)/k g	P mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Zn mg/kg
Turrialba. CATIE Vivero	5.4	5.07	1.33	0.07	7.3	20.07	8.51	9.27
Fin	5.4	13.42	4.47	0.32	6.7	17.87	9.95	3.92
Florencia Turrialba, CATIE	5.2	4.34	1.74	0.79	16.4	16.40	28.84	3.15
Postgrado Turrialba av Américas	6.2	6.08	1.06	0.23	11.2	43.07	2.74	9.33
Esterilizado	4.7	0.21	0.11	0.02	8.8	9.3	2.03	0.3

Anexo 8. Valores p de las variables evaluadas en el ensayo I. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Variable	Esporas	Infección	Area	peso raíz	Altura	Nº Hojas	Ca	Mg	Mn	N
R	0.01	0.01	0.01	ns	0.01	0.01	ns	ns	ns	ns
E	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	ns	0.01	0.01	0.01
M	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	ns	0.01	ns	ns
E * M	ns <sup>1</sup>	ns	ns	0.01	ns	ns	ns	ns	ns	ns
B	0.05	0.05	0.01	ns	0.01	0.01	ns	0.05	ns	ns
E * B	ns	0.05	ns	ns	ns	ns	0.01	ns	ns	ns
M * B	0.01	0.01	ns	ns	0.05	ns	ns	ns	ns	ns
E*M*B	ns	0.01	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F	ns	ns	0.01	ns	ns	0.01	ns	ns	ns	ns

1= no significativo

Anexo 9. Contenido promedio de Mg, Mn y N, de muestras de tejido vegetal, para las especies *T. rosea* y *C. alliodora*. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Variable	<i>T. rosea</i>	<i>C. alliodora</i>
Contenido de Mg (%)	0.28 A	0.55 B
Contenido de N (mg/kl)	1.79 B	2.69 A
Contenido de Mn (mg/kl)	84.61 B	254.13 A

Promedios con letras iguales no difieren significativamente ( $p < 0.05$ ), según la prueba Tukey.

Anexo 10. Contenido promedio de K y pH de muestras de suelos provenientes de sitios donde se encontraban creciendo *T. rosea* y *C. alliodora*. Costa Rica. 1997.

Variable	<i>T. rosea</i>	<i>C. alliodora</i>
Contenido de K	0.94 A	0.39 B
Nivel de pH	6.25 A	5.26 B

Promedios con letras iguales no difieren significativamente ( $p < 0.05$ ), según la prueba Tukey.

Anexo 11. Valores p de las variables evaluadas en el ensayo IV. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Variable	Raíz	Infección	Peso raíz	Nº Hojas	Altura	Area	Nº Esporas	Peso follaje
Repetición	ns <sup>1</sup>	ns	ns	0.01	0.01	ns	ns	0.050
Tratamiento	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
T*M	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Micorriza	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Fecha	ns	ns	ns	0.01	0.01	0.01	ns	ns
F*I	ns	ns	ns	0.01	0.01	0.01	ns	ns
F*M	ns	ns	ns	0.01	0.01	0.01	ns	ns
F*I*M	ns	ns	ns	0.01	0.01	0.01	ns	ns

1= no significativo

Anexo 12. Composición de los abonos Compost 1, Compost3 y bokashi. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997.

Material	kg	Material	kg	Material	Cantidad
Compost 1		Compost 3		Bokashi	
Desecho cultivos	10	Desecho cultivos	10	Cal	8 kg
Hojas de plátano	20	Hojas plátano	20	Cascarilla de arroz	1 saco(50 kg)
Desecho del lago	100	Estiércol aves	100	Carbón en polvo	1 saco
Broza	200	Broza	200	Suelo de montaña	2 sacos
Boñiga	220	Boñiga	220	Gallinaza	1 saco
				Melaza	1 litro
				Semolina	1/3 saco
				Concentrado / ganado	1/3 saco

Anexo 13. Análisis de fertilidad de tejido vegetal de *T. rosea*, para el Ensayo I, CATIE.  
Turrialba, Costa Rica. 1997.

Tratamiento	Ca (%)	Mg (%)	K (%)	P (%)
Testigo	1.18	0.27	1.33	0.22
Bc	0.86	0.21	2.04	0.2
Sm	1.07	0.26	2.06	0.19
Pf	0.86	0.26	2.02	0.26
LOCT	0.53	0.38	0.87	0.22
LOCT + Bc	1	0.32	1.89	0.23
LOCT + Sm	0.89	0.27	1.93	0.22
LOCT + Pf	0.89	0.27	1.66	0.22
LMNH	0.77	0.31	0.75	0.2
LMNH + Bc	0.89	0.26	1.66	0.23
LMNH + Sm	1	0.28	1.77	0.23
LMNH + Pf	0.93	0.29	1.85	0.24
ECLB	0.43	0.35	0.89	0.21
ECLB + Bc	0.86	0.25	1.73	0.22
ECLB + Sm	0.89	0.28	1.52	0.23
ECLB + Pf	0.89	0.29	1.97	0.23

Método Análisis: Digestión húmeda con mezcla de ácidos nítrico-perclórico, y determinación por AA, y por colorimétrica para fósforo.

Anexo 14. Análisis de fertilidad de tejido vegetal de *C. alliodora*, para el ensayo I.  
CATIE. Turrialba, Costa Rica. 1997

Tratamiento	Ca (%)	Mg (%)	K (%)	P (%)
Teatigo	-	-	-	-
Bc	1.61	0.47	2.76	0.13
Sm	1.28	0.4	2.52	0.16
Pf	1.14	0.39	2.24	0.14
LOCT	3.49	0.61	1.06	0.2
LOCT + Bc	1.96	0.63	2.64	0.13
LOCT + Sm	2.28	0.63	3.22	0.22
LOCT + Pf	1.89	0.55	2.89	0.2
LMNH	2.74	0.65	1.23	0.21
LMNH + Bc	2.39	0.61	0.24	0.23
LMNH + Sm	1.71	0.52	2.81	0.19
LMNH + Pf	2.14	0.57	3.12	0.18
ECLB	3.49	0.68	1.31	0.16
ECLB + Bc	1.35	0.44	1.97	0.15
ECLB + Sm	1.64	0.5	2.45	0.2
ECLB + Pf	1.71	0.53	2.43	0.23

Método Análisis: Digestión húmeda con mezcla de ácidos nítrico-perclórico, y determinación por AA, y por colorimétrica para fósforo

Anexo 15. Análisis de fertilidad de tejido vegetal, ensayo IV. CATIE. Turrialba, Costa Rica 1997

Tratamiento	Ca <sup>1</sup>	Mg <sup>1</sup>	K <sup>1</sup>	P <sup>1</sup>	Cu <sup>2</sup>	Mn <sup>2</sup>	Zn <sup>2</sup>	N <sup>2</sup>
C1CM	1.25	0.31	1.54	0.19	8.26	29.7	20.3	1.88
C1SM	1.32	0.29	2.02	0.22	8.26	29.7	22.9	1.93
C3CM	1.03	0.3	2.16	0.21	12.4	49.5	28.2	1.98
C3SM	0.93	0.32	2.27	0.21	12.4	47.0	22.0	1.98
BCM	1.35	0.22	2.14	0.21	8.26	32.2	15.0	1.73
BSM	1.32	0.2	2.54	0.15	4.13	32.2	22.0	1.68
TCM	0.71	0.28	0.56	0.09	8.26	54.5	20.3	1.29
TSM	0.53	0.23	0.5	0.05	8.26	42.1	17.6	1.15

Método Análisis: Digestión húmeda con mezcla de ácidos nítrico-perclórico, y determinación por AA, y por colorimétrica para fósforo.

<sup>1</sup> % de los elementos

<sup>2</sup> mg/kg

Anexo 16. Fórmulas de medios de cultivo.

**AGAR NUTRIENTE**

- Agar nutriente 23 g
- Agar granulado 5 g
- Agua destilada 1000 cc

**AGAR QUITINA**

- Agar nutriente 23 g
- Agar granulado 5 g
- Quitina 20 g

**B DE KING**

- Proteasa peptona No 3 20 g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1.5 g
- Glicerol 15 cc
- Agar 18 g
- H<sub>2</sub>O 1000 cc

**IX FOTOS**

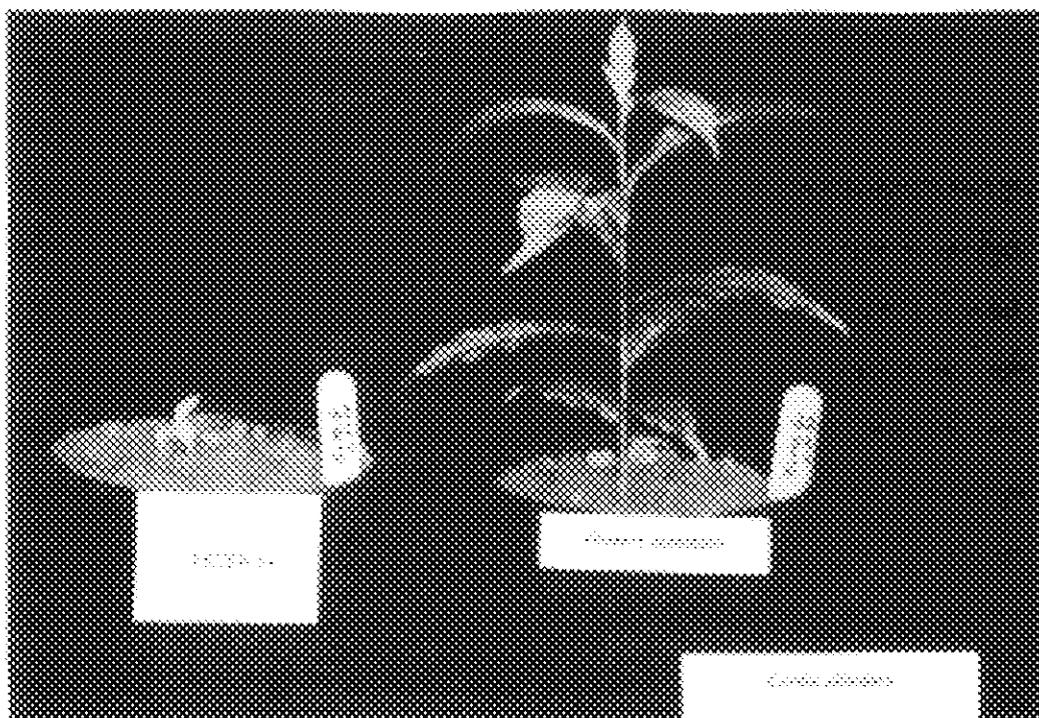


Foto 1. Plantas de *E. affinis*. La planta de la izquierda, corresponde al testigo (sin la aplicación de hongos micorrízicos) y a la derecha se encuentran una con aplicación de *G. mombasa*.

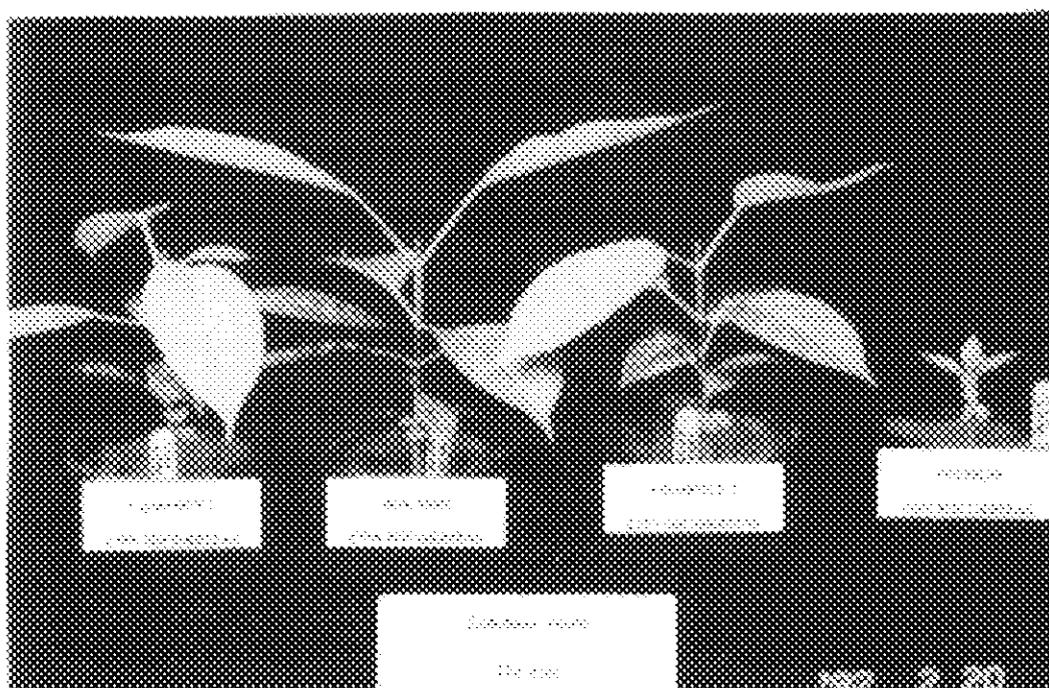


Foto 2. Plantas de *E. curatella* a las cuales se les aplicó diferentes fuentes de abonos orgánicos y con la aplicación de *G. curatella*. Corresponden de izquierda a derecha, Campos 1, Makishi, campos 2 y testigo.

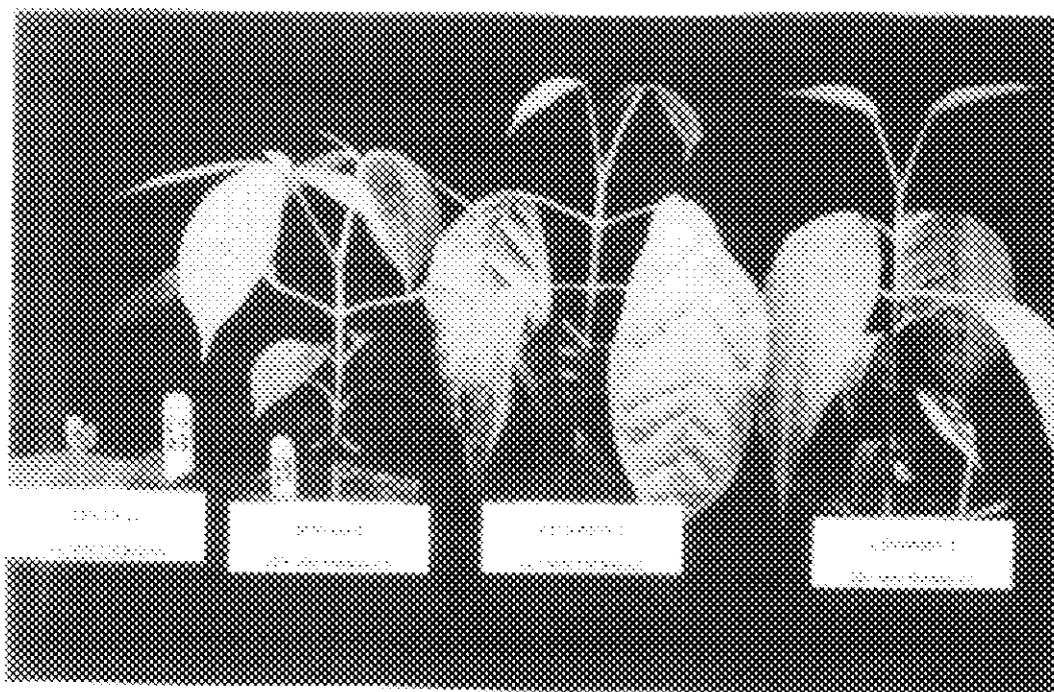


Foto 1. Plantas de *E. rostrata* a las cuales se les aplicó diferentes dosis de extracto vegetal y con la aplicación de *C. rosellum*. Corresponden de izquierda a derecha, Testigo, Tratamiento 1, Tratamiento 2 y Tratamiento 3.

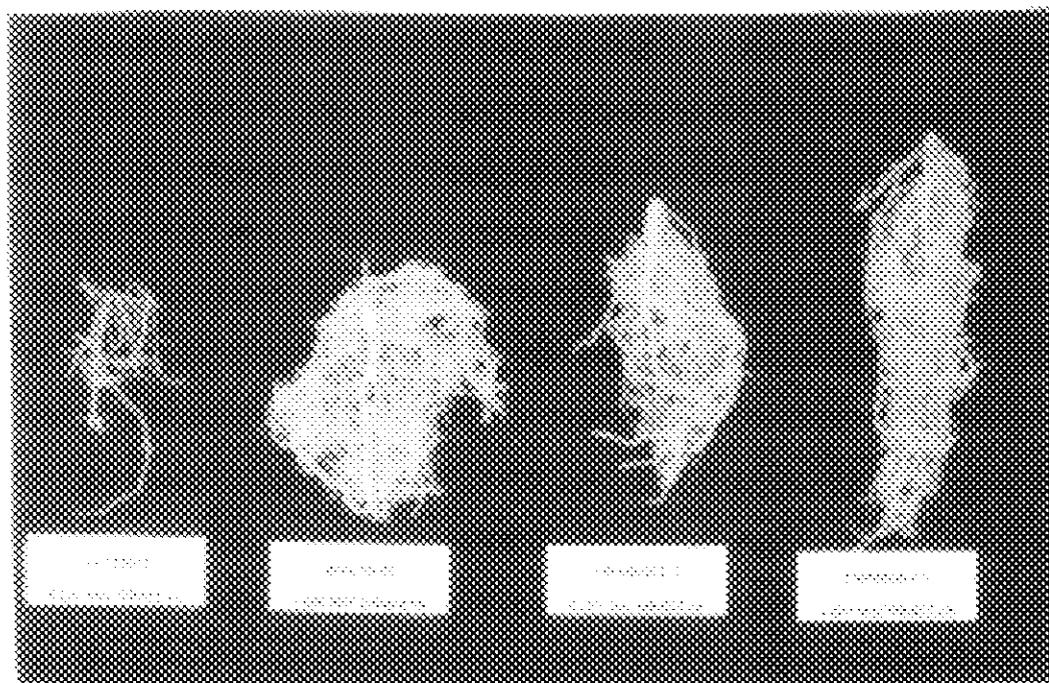


Foto 2. Plantas de *E. rostrata* a las cuales se les aplicó diferentes dosis de extracto vegetal y con la aplicación de *C. rosellum*. Corresponden de izquierda a derecha, Testigo, Tratamiento 1, Tratamiento 2 y Tratamiento 3.