

INOCULACION MICORRIZICA Y CRECIMIENTO DE
PLANTULAS DE PINO EN SUELO EROSIONADO*

Por: María Valdés**
Francisco Piña** ***
y René Grada** ****

MYCORRHIZAL INOCULATION AND PINE SEEDLINGS
GROWTH IN ERODED SOIL

SUMMARY

Pisolithus tinctorius and *Laccaria laccata* were grown in 2 liter mason jars and nursery plots previously filled with a mixture of eroded soil and sand were inoculated with 2 jars of each symbiont test. *Pinus* seedlings were grown into these plots for 30 weeks, removed from the soil and growth measured. Only 3 of the 8 pine species tested showed under these adverse conditions a good response to mycorrhizal inoculation: *P. pseudostrobus* had a growth increase of 144% and 82% when inoculated with the tested fungi. *P. radiata* showed a growth increase of 79% and 59% with same symbionts inoculation and *P. teocote* had a growth increase of 169% only when inoculated with *P. tinctorius*.

RESUMEN

Pisolithus tinctorius y *Laccaria laccata* se cultivaron en botellas de conserva y se inocularon cajones semilleros con una mezcla de suelo erosionado y arena. Se sembraron en estos semilleros 8 especies de *Pinus* y al cabo de 30 semanas se hicieron medidas de crecimiento. Sólo 3 de las 8 especies de pino ensayadas mostraron, bajo estas condiciones adversas, una buena respuesta a la inoculación: *P. pseudostrobus* incrementó su crecimiento en un 144% y en un 82% cuando se inoculó con los dos hongos experimentados. *P. radiata* tuvo incrementos de 79% y de 59% y *P. teocote* respondió sólo a la inoculación con *P. tinctorius* en un 169%.

* Trabajo realizado con la ayuda financiera de la Fundación Internacional para la Ciencia en Suecia (Apoyo R-39) y la Dirección de Protección y Repoblación de la Subsecretaría Forestal y de la Fauna en México.

** Laboratorio de Microbiología Agrícola, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N., México, D.F. 06400.

*** Domicilio actual: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, La Paz, Baja California.

**** Domicilio actual: Instituto Tecnológico Regional de Apizaco, Apizaco, Tlaxcala.

INTRODUCCION

La erosión afecta en relativas proporciones el 80% del territorio mexicano. Este grave problema constituye una seria amenaza al bienestar económico y social y consecuentemente constituye un grave problema al desarrollo general del país. El deterioro constante y veloz de los ecosistemas, se manifiesta a través del avance de la desertificación, especialmente en las áreas densamente pobladas y con escasos recursos económicos y tecnológicos.

Para el establecimiento de especies forestales, es bien conocido el hecho de que es necesaria la presencia de hongos simbiotes (Mikola, 1973). La importancia de la micorriza ectotrófica en el crecimiento de los árboles ha sido plenamente mostrada (Theodorou y Bowen, 1970, Theodorou, 1971, Vozzo y Hacskaylo, 1971).

En México, este hecho es bien conocido y se utiliza en los almácigos, suelo forestal para la obtención de plántulas. Sin embargo, además de las consecuencias ecológicas y costos de movimiento de grandes volúmenes de suelo, existe con esta medida el peligro de introducción de microorganismos patógenos, que frecuentemente causan mayor daño que el beneficio derivado de los hongos simbiotes presentes en el suelo acarreado.

Por otro lado las plantas producidas por este tradicional método en el que se favorece la simbiosis entre plántula y hongo ectomicorrícico en condiciones de alta humedad y fertilidad, con frecuencia mueren al ser transplantadas en áreas altamente erosionadas, dado que las condiciones son completamente diferentes a las que fueron obtenidas y que los hongos tienen dificultad en sobrevivir y crecer en áreas severamente perturbadas (Marx, 1977).

Los estudios de Melin en Suecia (1953), Moser en Austria (1959) y Vozzo y Hacskaylo en Puerto Rico (1971), han mostrado que el prerrequisito esencial para el crecimiento de árboles ectomicorrícicos, es la presencia de ectomicorriza en sus raíces. En las áreas en donde hay hongos micorrícicos indígenas o nativos, los programas de reforestación con pinos u otros árboles ectomicorrícicos, prosperan rápidamente porque las plántulas que se utilizan para ello tienen ectomicorrizas gracias al suelo empleado en los semilleros, que es un inóculo natural. Pero en áreas desnudas que tienen mucho tiempo desprovistos de vegetación, así como en el caso de especies exóticas, hay necesidad de inocular con hongos simbiotes (ectomicorrícicos) adecuados a las plantas. El papel de las ectomicorrizas es fisiológico, pues incrementa considerablemente la superficie de adsorción y acumulación de iones y las raíces micorrizadas son menos susceptibles a patógenos que las no micorrizadas.

Con el presente ensayo, utilizando diferentes especies de pino, se pretende encontrar las más prometedoras de crecer en circunstancias adversas, utilizando hongos micorrícicos en lugar de suelo de bosque como inóculo. Esto significará reducción de costos por movimientos de grandes volúmenes de suelo y obtención de plántulas adaptables a condiciones adversas al ser transplantadas al campo.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de Inóculo

Los hongos empleados fueron *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Cocker et Couch y

Laccaria laccata (Scop. ex Pr.) Berk. y Br. Estos fueron seleccionados por sus características que los hacen potencialmente útiles en prácticas de reforestación. *P. tinctorius* es común en nuestro país (Guzmán, 1979) y ha sido usado con éxito para inocular suelo de semilleros (Marx y Bryan, 1975) y está adaptado a condiciones adversas de suelo (Marx y Artman, 1979). *L. laccata* es también un hongo común en México (Guzmán, 1979) y registrado como buen formador de ectomicorriza (Marx y Zak, 1965).

Los dos hongos se hicieron crecer en botellas de conserva de 2 litros, conteniendo solución nutritiva modificada de Melin y Norkrans (Marx y Bryan, 1975), a pH 5.5, en una mezcla de vermiculita y turba, en una proporción de 840:600:60 ml. La inoculación de las botellas se hizo con discos miceliales del hongo. La incubación fue a 28°C durante 3 meses.

Preparación de almácigos

Se hicieron cajones semilleros de madera, de 60x60x60 cm y se colocaron en un vivero situado en una zona de reforestación, en Tepetlaoxtoc, Edo. de México. Cada cajón fue llenado con una mezcla de suelo y arena y materia orgánica, en una proporción de 2:1:0.25. Esta mezcla fue previamente fumigada con bromuro de metilo, durante 5 días y aereada 3 días antes de sembrar. El suelo utilizado fue el mismo de la zona, altamente erosionado, con un pH de 7.5 y un contenido en materia orgánica de 0.67%.

Inoculación y siembra

Las especies de *Pinus* estudiadas fueron: *P. ayacahuite*, *P. douglasiana*, *P. michoacana*, *P. montezumae*, *P. pseudostrobus*, *P. radiata*, *P. rudis* y *P. teocote*. El micelio obtenido después de la incubación fue lavado (junto con el soporte) con agua destilada y colocado en bolsas de polietileno y almacenado a 5°C antes de usarse.

Cada cajón semillero fue inoculado con el contenido de 2 botellas. Se conservaron cajones testigos a los que se les adicionó el contenido (mezcla de vermiculita, turba y nutrientes), lavado y esterilizado de 2 botellas. A las semillas, antes de sembrarse, se les esterilizó su superficie, agitándolas 20 minutos en una mezcla v/v de alcohol y de una solución al 30% de agua oxigenada y después se enjuagaron 5 veces con agua destilada estéril.

Parámetros considerados

Las plántulas se mantuvieron en el almácigo del lugar durante 30 semanas, donde fueron regadas 3 veces a la semana. Al cabo de este tiempo, se tomaron al azar 20 plántulas de cada tratamiento y se hicieron las siguientes evaluaciones:

- Diámetro del tallo (mm)
- Altura (cm)
- Número de raíces
- Longitud de raíz (cm)
- Peso fresco de parte aérea
- Peso seco de parte aérea

RESULTADOS

Bajo las condiciones adversas del ensayo, los 2 hongos experimentados formaron ectomicorriza en las 8 especies de pino probadas y 3 de las especies, mostraron una buena respuesta a la inoculación en términos de peso seco y altura: *P. pseudostrobis*, *P. radiata* y *P. teocote* (Tabla 1).

P. pseudostrobis tuvo un incremento en su crecimiento de 144% cuando se inoculó con *Pisolithus tinctorius* y de 82% con *Laccaria laccata*, comparativamente con las plántulas no inoculadas. *P. radiata* incrementó su crecimiento en un 79% en presencia de *Pisolithus tinctorius* y en un 59% con *Laccaria laccata*. Esta especie de pino mostró también mayor número de raíces laterales, altura y peso fresco y seco. *P. teocote* mostró un incremento en su crecimiento al inocularse con *Pisolithus tinctorius* de un 169%. El crecimiento de *P. rudis* fue mejor cuando se inoculó con *Pisolithus tinctorius* (37.9% de incremento) que con *Laccaria laccata* (17.9% de incremento). La respuesta de *P. ayacahuite* a la inoculación fue pobre. *P. douglasiana*, *P. michoacana* y *P. montezumae* no mostraron incremento en su crecimiento al ser inoculados.

DISCUSION

Mucho factores pueden tener influencia en el desarrollo ectomicorrízico. Bajo las condiciones ensayadas quizás el mayor factor limitante fue el pH, dado que las condiciones de humedad y luminosidad eran adecuadas y que se adicionó material orgánico al suelo. La influencia del pH en el desarrollo micorrízico en campo, ha recibido bastante atención. La mayor parte de los hongos simbioses de los árboles se consideran acidófilos (Hacskeylo, 1957).

Se ha sugerido incluso que el pH del suelo influye sobre la distribución de los hongos simbioses y consecuentemente sobre la formación de diferentes asociaciones micorrízicas (Melin, 1953). Algunos autores como Tesic, según Marx y Zak (1965), consideran que estos hongos crecen mejor en suelos ácidos y que forman cuerpos fructíferos sólo en este tipo de suelos. Sin embargo, Goss (1960) estudiando el desarrollo de micorrizas en *P. ponderosa* y encontró micorrizas en suelos de vivero con pH de 7.8.

En el presente ensayo teniendo el suelo pH 7.5, pudimos observar la presencia de micorriza en las raíces de las plántulas, aunque en algunos casos un desarrollo menor que en otros. Si consideramos que el desarrollo micorrízico está también influenciado por el mismo desarrollo de la plántula y que el pH puede también tener influencia en este desarrollo, quizás podremos comprender las diferencias de la respuesta de la inoculación en el crecimiento de las diferentes especies y en el mismo crecimiento bajo de algunas especies probadas. Independientemente de los hongos, las plántulas se desarrollan mejor a ciertos pH de substrato, obteniéndose en estos casos mejor altura y peso seco de las plántulas (Marx y Zak, 1965).

TABLA 1
Especies de Pinus

	M	E	D	I	D	A	S	ayacahuite	douglasiana	michoacana	montezumae	pseudostrobis	radiata	rudis	teocote
I															
diámetro del tallo (mm)	1.55	1.37	1.76	1.59	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.01
altura (cm)	4.13	6.80	7.70	2.60	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	3.38
No. raíces laterales	6.60	4.80	8.10	8.50	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	6.40
longitud de raíz (cm)	16.60	10.70	14.4	13.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	15.1	14.1
peso fresco parte aérea (mg)	207	287	561	255	197	197	197	197	197	197	197	197	197	197	142
peso seco parte aérea (mg)	67	72	184	64	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	17
II															
diámetro de tallo	1.56	1.08	1.66	1.07	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.06
altura	6.48	6.00	9.10	2.39	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2	3.60
No. raíces laterales	6.90	4.80	6.90	5.90	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	8.8	5.80
longitud de raíz	18.00	10.50	13.90	14.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	12.7
peso fresco	230	192	516	229	380	380	380	380	380	380	380	380	380	380	149
peso seco	80	65	187	50	137	137	137	137	137	137	137	137	137	137	45
incremento (%) ²	19	-	-	-	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	144.6	169
III															
diámetro de tallo	1.54	1.25	1.81	-	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	0.96
altura	6.24	5.80	7.20	-	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	6.6	3.35
No. raíces laterales	8.90	5.40	9.20	-	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	5.30
longitud de raíz	19.20	9.20	18.20	-	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	13.6	14.3
peso fresco	241	211	564	-	229	229	229	229	229	229	229	229	229	229	75
peso seco	78	64	195	-	102	102	102	102	102	102	102	102	102	102	26
incremento	16	-	-	-	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	82.1	-

1: cada dato es el promedio de 20 plántulas

2: aumento de peso seco de las plántulas micorrizadas en comparación con las no inoculadas testigo

I: Testigos, II: *Pisolithus tinctorius*, III: *Laccaria laccata*.

LITERATURA CITADA

- Goss, R.W., 1960. Mycorrhizae of ponderosa pine in Nebraska grassland soils. *Univ. Nebraska College Agr. Res. Bull.* 192, 47 pp.
- Guzmán, G., 1979. *Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes*. Ed. Limusa, México, D.F.
- HacsKaylo, E., 1957. Mycorrhizae of trees with special emphasis on physiology of ectotrophic types. *Ohio J. Sci.* 57: 350 - 357.
- Marx, D.H., 1977. The role of mycorrhizae in forest production. *TAPPI Cienf. Papers, Annu. Meet.*, Atlanta, pp. 151 - 161.
- Marx, D.H. y J.D. Artman, 1979. *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae improve survival and growth of pine seedlings on acid spoils in Kentucky and Virginia. *Reclam. Rev.* 2: 23 - 31.
- Marx, D.H. y W.C. Bryan, 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infested with the fungal symbiot *Pisolithus tinctorius*. *Forest Sci.* 21: 245 - 254.
- Marx, D.H. y B. Zak, 1965. Effect of pH on Mycorrhizal formation of slash pine in aseptic culture. *Forest Sci.* 11: 66 - 75.
- Melin, E. 1953. Physiology of mycorrhizal relations in plants *Ann. Rev. Plant Physiol.* 4: 325 - 346.
- Mikola, P., 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. pp. 388 - 411 in: *Ectomycorrhizae: their Ecology and Physiology*. G.C. Marks y T. Kozłowski (Eds.), Academic Press, Nueva York.
- Moser, M., 1959. Die kunstliche Mykorrhizainpfung won Forstpflanzen III. Die Impfmethodic im Forstgarten. *Forstwiss Zentralbl* 78: 193 - 202.
- Theodorou, C. y G.D. Bowen. 1970. Mycorrhizal responses of radiata pine in experiments with different fungi. *Aust. Forest* 34: 183.
- Theodorou, C., 1971. Introduction of mycorrhizal fungi into soil by spore inoculation of seed. *Aust. Forest* 35: 23 - 26.
- Vozzo, J.A. y E. HacsKaylo, 1971. Inoculation of *Pinus caribea* with ectomycorrhizal fungi in Puerto Rico. *Forest Sci.* 17: 239 - 245.