



Microorganismos Beneficiosos

Kim M. Wilkinson y David P. Janos

13

La trama de la vida depende de los microorganismos, una vasta red de aliados pequeños e invisibles que impregnan el suelo, el agua y el aire de nuestro planeta. Existieron muchos tipos de microorganismos durante miles de millones de años antes de que aparecieran las plantas o los animales. Los microorganismos crearon la atmósfera, convirtieron la roca desnuda y la lava en suelo, ayudaron a las plantas a colonizar la tierra y hoy en día siguen siendo vitales para la supervivencia de las plantas, animales y seres humanos.

Lo que más atrae el interés de las personas que trabajan con plantas, en cuanto a microorganismos se refiere, son las complejas comunidades vivas que forman parte del suelo. Un gramo (el peso de un pequeño clip) de suelo saludable puede contener entre 1,000 y 10,000 millones de microorganismos. El componente vivo del suelo desempeña un papel fundamental en el ecosistema y la salud de las plantas. Las comunidades de bacterias, hongos, algas, protozoos y otros microorganismos ponen los nutrientes a disposición de las plantas, crean canales de agua y aire, mantienen la estructura del suelo, neutralizan a las poblaciones de patógenos y reciclan los nutrientes liberados por la materia orgánica que permiten el crecimiento de las plantas.

Este capítulo se centra en dos de los microorganismos beneficiosos más importantes para los viveros: las bacterias fijadoras de nitrógeno (rizobios, el término genérico para las especies de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*) (figura 13.1) y los hongos micorrícicos (figura 13.2) que forman asociaciones mutuamente beneficiosas con sus plantas huésped. Los científicos denominan a este proceso “simbiosis mutualista.” En el presente manual, a estos microorganismos beneficiosos los denominamos “microsimbiontes.” Las asociaciones entre microorganismos beneficiosos y plantas son esenciales para la salud de estas últimas así como para la salud de los ecosistemas y agroecosistemas.

Página opuesta: Las bacterias fijadoras de nitrógeno conocidas como rizobios (*Bradyrhizobium*) forman nódulos en las raíces de las leguminosas, en este caso, en una plántula nativa de *Acacia koa* en Hawái. Foto de J.B. Friday.

En los ecosistemas naturales, los sistemas radiculares de la mayoría de las plantas presentan asociaciones microbianas que les permiten sobrevivir y crecer aún bajo condiciones adversas. En efecto, las asociaciones microbianas desempeñaron un papel fundamental para que las plantas pudieran colonizar la tierra por primera vez a medida que emergían del mar. Sin socios microsimbiontes, las plantas no crecen y a menudo mueren. Con frecuencia, estas condiciones se atribuyen a la baja calidad de las plantas madre de vivero, cuando el verdadero problema radica en la falta de microsimbiontes adecuados. En el vivero, se pueden introducir microsimbiontes “inoculando” los sistemas radiculares de las plantas con los microorganismos beneficiosos adecuados para que formen asociaciones efectivas.

Simbiosis Mutualista

Técnicamente, *symbiosis* se refiere a dos o más organismos que viven íntimamente interconectados. Como término científico, la simbiosis puede ser mutualista (ambos organismos se benefician), parásita (un organismo se beneficia y el otro se perjudica) o comensal (un organismo se beneficia, pero el otro no se ve afectado). Sin embargo, en el uso popular, “simbiosis” es considerado sinónimo de “simbiosis mutualista”—ambos organismos se benefician. En este capítulo, recurrimos al uso popular del término para referirnos a las bacterias fijadoras de nitrógeno y los hongos micorrícicos como “microsimbiontes”—microorganismos que forman una asociación mutuamente beneficiosa con sus plantas huésped.



Figura 13.1—Entre las bacterias fijadoras de nitrógeno se encuentran los rizobios, que forman relaciones con plantas de la familia de las leguminosas. En la imagen se observan nódulos de rizobios nativos en las raíces del árbol forestal nativo hawaiano (*Acacia koa*). Foto de J.B. Friday.

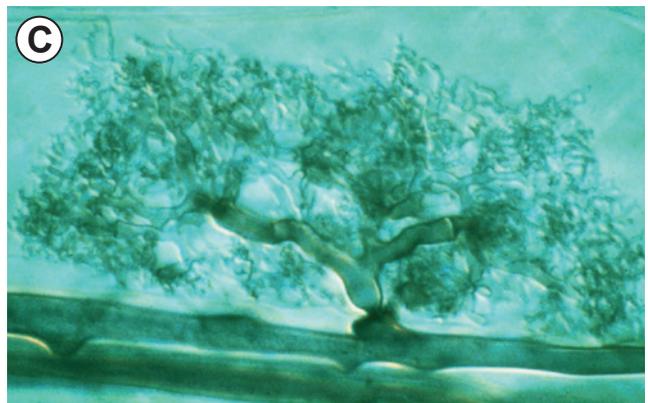


Figura 13.2—“Mico” significa “hongo” y “riza” significa “raíz”; “micorrizas” significa “hongo-raíces.” Punta de raíz micorrizada (flecha) en una raíz de pino (los filamentos blancos son el hongo que se extiende más allá de la raíz) (A). Raíces ectomicorrícicas, dicotómicamente ramificadas, de *Pinus elliotii* en Florida; las raíces más finas están completamente envueltas por los filamentos blancos del hongo (B). Arbúsculo de un hongo micorrícico arbuscular (C) que sirve como lugar de intercambio de nutrientes entre la planta huésped y el hongo. Foto A de Thomas D. Landis, foto B de Tania Wyss y foto C de Mark C. Brundrett.

La Importancia de los Microorganismos Beneficiosos en el Vivero

En los ecosistemas naturales, los sistemas radiculares de muchas plantas tienen asociaciones microbianas con hongos micorrícicos y, si es aplicable, con bacterias fijadoras de nitrógeno. En el vivero, donde las plantas tienen fácil acceso a agua y fertilizante, los beneficios de estas asociaciones pueden no ser evidentes y su ausencia podría pasar desapercibida. Pero en el campo, las plantas necesitan cada ventaja. Las plantas que se han inoculado en el vivero se trasplantan a un área exterior con asociaciones microbianas establecidas y muchas veces tienen una mayor capacidad para sobrevivir en el campo. Sin embargo, las plantas no inoculadas deben “valerse por sí mismas” y establecer asociaciones microbianas en el campo. Muchas siembras tienen lugar en tierras deforestadas o degradadas donde la presencia de poblaciones de microsimbiontes nativos puede ser baja o invariable (figura 13.3).

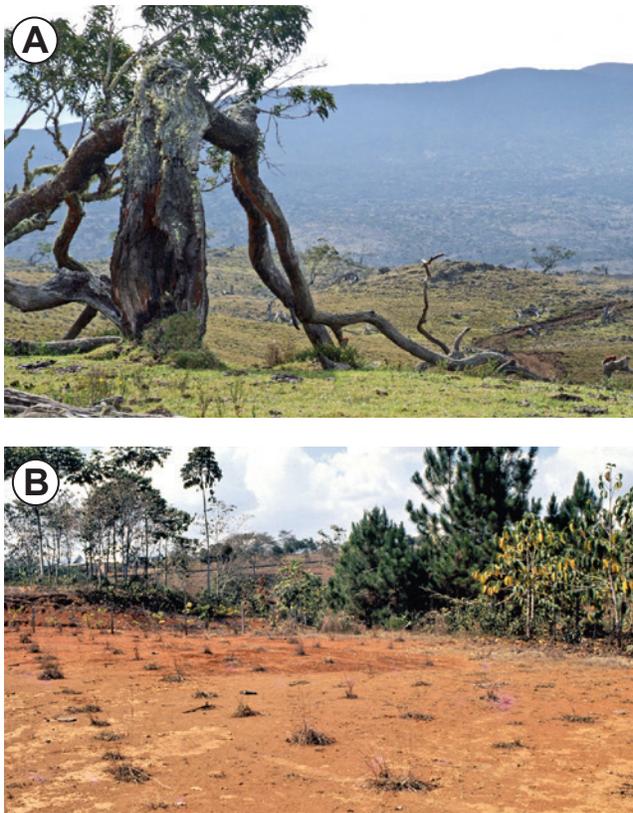


Figura 13.3—En muchos casos, los microsimbiontes no sobreviven en el suelo sin sus plantas huésped. Las poblaciones de microsimbiontes nativos pueden ser escasas en lugares degradados, tal como este pastizal antes boscoso en Hawái (A) y esta mina de superficie de bauxita de prueba en el suroeste de Costa Rica —cuando la tierra vegetal rica en aluminio se retiró de la mina, la mayoría de los hongos micorrícicos se retiraron junto con ella (B). Foto A de J.B. Friday y foto B de David P. Janos.



Figura 13.4—Las plantas con asociaciones de microsimbiontes establecidas muchas veces tienen mayores probabilidades de sobrevivir después de su trasplante a un área exterior. Esta foto muestra una especie de palmera, *Bactris gasipaes*; la planta de la derecha tiene una asociación micorrícica establecida y la planta de la izquierda, de la misma edad, no la tiene. Foto de David P. Janos.

La inoculación de plantas en el vivero es una oportunidad para introducir microsimbiontes selectos (figura 13.4). Al igual que ocurre con las semillas procedentes de fuentes específicas, el administrador del vivero puede hacer coincidir las plantas con los microsimbiontes óptimos según las condiciones específicas del lugar. La presencia de microsimbiontes es a menudo una importante característica deseada en las plantas.

El uso de microsimbiontes en el vivero aporta los siguientes beneficios:

- Reduce los efectos ambientales y el uso de fertilizantes en el vivero.
- Mejora la salud y vigor de las plantas.
- Aumenta la resistencia a las enfermedades.
- Mejora el rendimiento en los sitios de trasplante en exterior.

Si bien este manual está dirigido a viveros tropicales, algunas regiones tropicales tienen hábitats y especies de montaña; es por ello que en este capítulo se menciona una amplia variedad de especies de plantas y microsimbiontes. No todas las especies y socios microsimbiontes están presentes en una región determinada, por lo que es importante evaluar las necesidades de las especies nativas antes de usar microsimbiontes.

Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

El nitrógeno es uno de los nutrientes más importantes para el crecimiento de las plantas. El nitrógeno (N_2) se encuentra en cantidades abundantes en la atmósfera terrestre, pero el gas N_2 debe convertirse a iones de nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+) antes de que la mayoría de las plantas puedan utilizarlo. En la naturaleza, las bacterias fijadoras de nitrógeno convierten (“fijan”) el N_2 del aire en una forma que las plantas pueden utilizar. Cuando las raíces en crecimiento de una planta capaz de formar una asociación con rizobios entran en contacto con una cepa compatible de bacterias fijadoras de nitrógeno en el suelo o el sustrato, las bacterias rizobiales ingresarán a (“infectarán”) las raíces. Luego, se forman nódulos en las raíces de la planta en las que se produce el contacto. Las bacterias viven y se multiplican en los nódulos del sistema radicular de la planta huésped, proporcionando nitrógeno de la atmósfera a su planta huésped (figura 13.5). Cada nódulo contiene millones de bacterias que convierten el nitrógeno atmosférico.

Si bien a las plantas que forman una asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno a veces se les denomina “plantas fijadoras de nitrógeno” o “árboles fijadores de nitrógeno,” la planta no puede obtener nitrógeno atmosférico por sí misma. A través de la asociación simbiótica mutualista, las bacterias proporcionan a la planta el nitrógeno acumulado en la atmósfera y, a cambio, las bacterias obtienen energía de la planta bajo

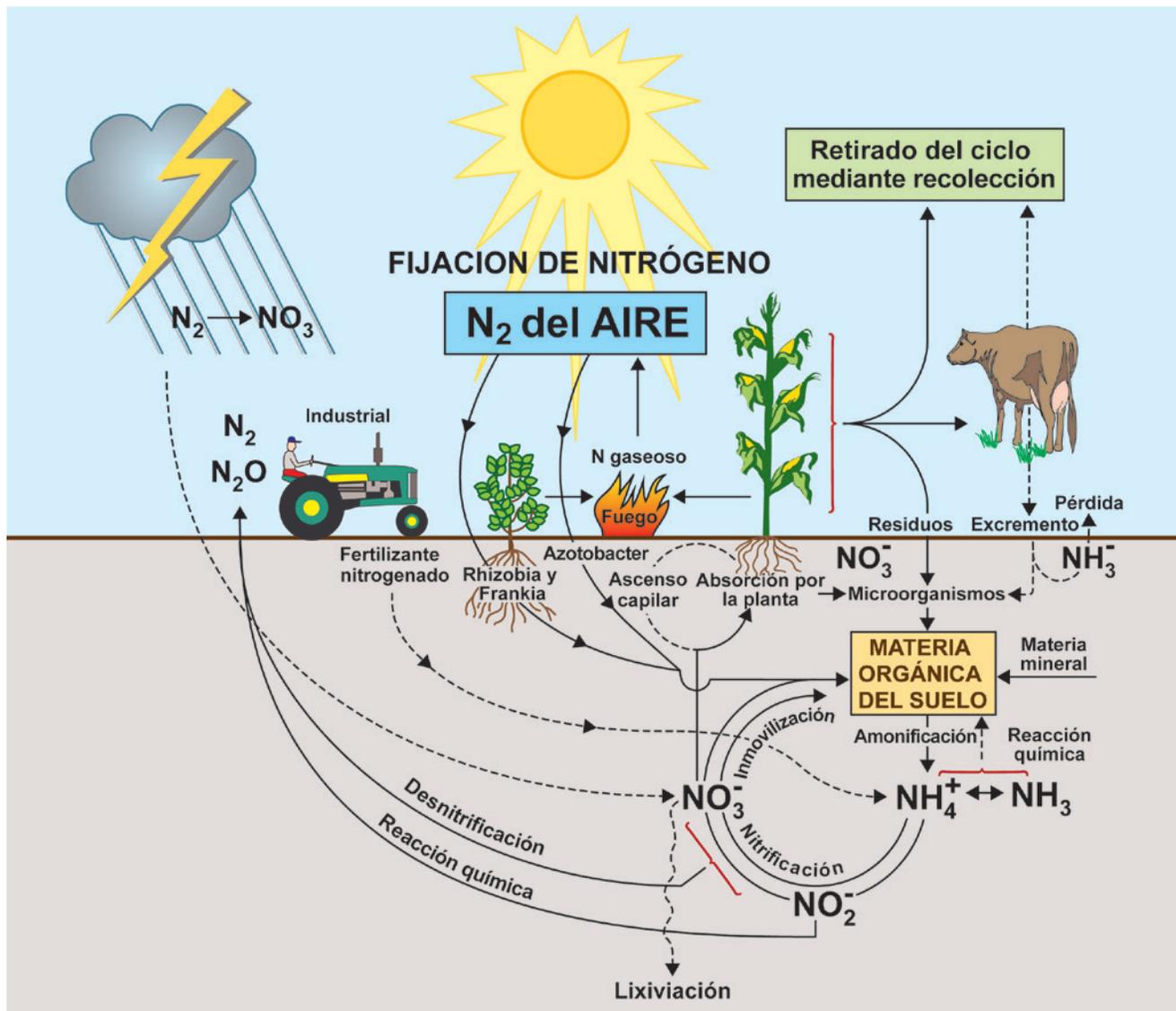


Figura 13.5—El Ciclo del Nitrógeno. Todo el nitrógeno de las plantas se origina como un gas atmosférico, que es fijado por microorganismos (tales como los rizobios y Frankia), fijado por seres humanos en fertilizantes mediante un proceso industrial de alto consumo energético o, en mucho menor medida, fijado por los relámpagos o la actividad volcánica. Las líneas discontinuas en el diagrama representan vías menores; las líneas sólidas representan vías mayores. Adaptado de Brown y Johnson (1996) por Jim Marin.

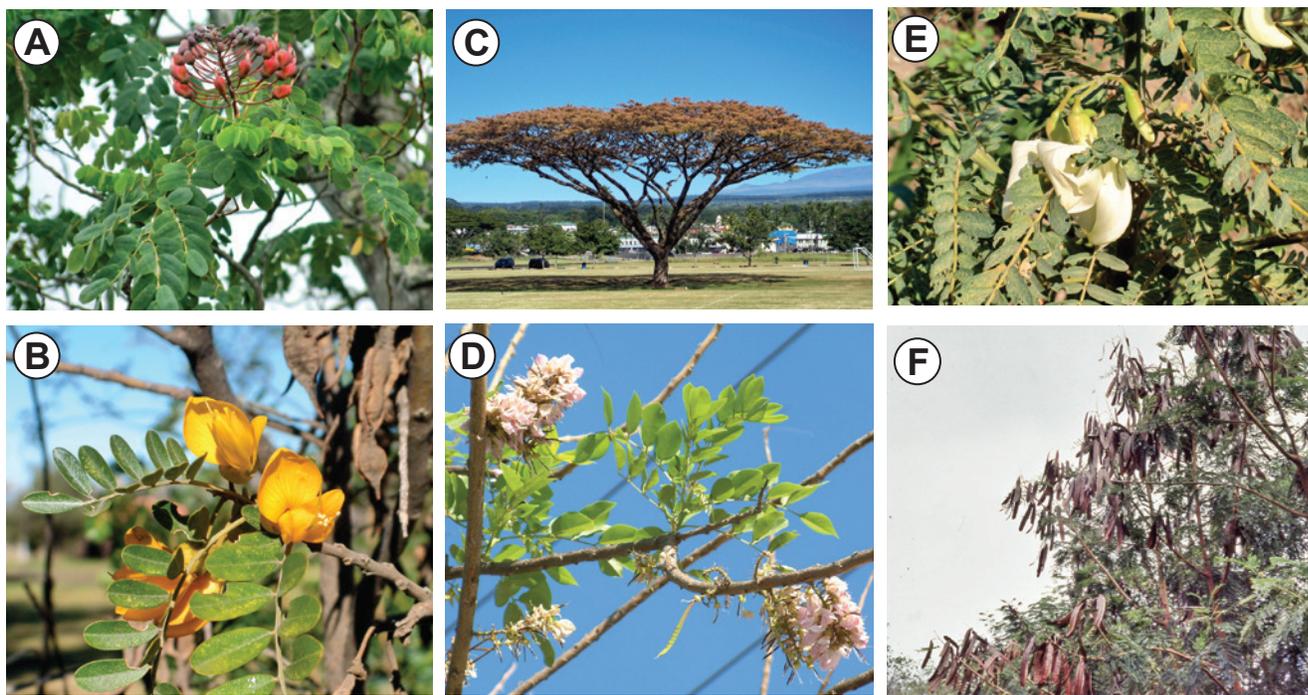


Figura 13.6—Dado que las especies fijadoras de nitrógeno mejoran la fertilidad del suelo en tierras degradadas, se usan bastante para fines de restauración y agricultura sostenible. Algunos ejemplos de especies de leguminosas nativas de Hawái que forman relaciones con bacterias rizobiales fijadoras de nitrógeno son *Caesalpinia kawaiiensis* (*Uhiuhi*) (A) y *Sophora chrysophylla* (*māmane*) (B). Se conocen otras especies fijadoras de nitrógeno en gran parte de los trópicos, como las especies *Samanea* (C), *Gliricidia* (D) y *Sesbania* (E). Algunos árboles fijadores de nitrógeno se consideran malezas fuera de su área de distribución nativa, como las especies de *Leucaena* (F). Fotos A a E de J.B. Friday y foto F de Tara Luna.

la forma de carbohidratos (Singleton y otros 1990). Cuando la planta huésped se desprende de las hojas, se extinguen o mueren el nitrógeno almacenado en los tejidos de la planta se dispersa por todo el ecosistema. El proceso de fijación de nitrógeno proporciona la principal fuente de fertilidad del nitrógeno en los ecosistemas tropicales (figura 13.5).

A inicios del siglo XX, los seres humanos también aprendieron a convertir el nitrógeno atmosférico en fertilizantes a través de un proceso industrial de alto consumo energético llamado proceso Haber-Bosch. El proceso requiere una fuente de gas hidrógeno para reaccionar con el nitrógeno del aire bajo calor y alta presión. Las fuentes de hidrógeno más comunes son los combustibles fósiles, y se gasta energía adicional para impulsar la reacción. Los fertilizantes nitrogenados sintéticos, tales como el nitrato de amonio y la urea, que emplean los cultivos son productos generados mediante este proceso. En contraste con la fijación industrial/sintética del nitrógeno, la fijación biológica del nitrógeno por parte de las bacterias asociadas con plantas verdes utiliza la energía del sol, por lo que es renovable y realmente inagotable.

Los árboles y plantas fijadores de nitrógeno se suelen trasplantar a un área exterior para ayudar a restaurar la fertilidad, el ciclo de nutrientes y la materia orgánica en el ecosistema. Sin embargo, los suelos de los sitios de trasplante en exterior podrían no contener una cepa viable de bacterias para formar

una asociación efectiva con la planta. La inoculación de las plantas en el vivero garantiza la formación efectiva de una asociación para mejorar la supervivencia y crecimiento de la planta y para acelerar la rehabilitación de las tierras degradadas. A diferencia de los hongos micorrízicos, que afectan a la mayoría de árboles y plantas, solo una fracción de las plantas pueden formar asociaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno. No obstante, las plantas fijadoras de nitrógeno desempeñan un papel vital en el ciclo de los nutrientes.

Dos tipos de bacterias fijadoras de nitrógeno forman asociaciones simbióticas con las plantas: los rizobios (compuestos por varios géneros) y el género *Frankia*. Los rizobios forman nódulos en muchos (pero no en todos los) miembros de la familia de las leguminosas (Fabaceae, a veces denominados Leguminosae) (figura 13.6). La familia de las leguminosas se compone de tres subfamilias (Mimosoideae, Caesalpinioideae y Papilionoideae [Faboideae]). Los rizobios también forman nódulos en especies del género *Parasponia* de la familia de los olmos (Ulmaceae). *Frankia* es un género de bacterias filamentosas (en un grupo llamado “actinomicetos” por su apariencia algo similar a la de los hongos) que forman asociaciones con alrededor de 200 diferentes especies de plantas distribuidas en ocho familias (figura 13.7). Las especies afectadas por *Frankia* se denominan plantas “actinorrízicas” (cuadro 13.1).



Figura 13.7—Entre las especies no leguminosas que se relacionan con bacterias *Frankia* fijadoras de nitrógeno se encuentran las especies de *Casuarina*. Foto de J.B. Friday

Beneficios de la Inoculación con Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

La aplicación de inoculante a base de bacterias fijadoras de nitrógeno puede tener algunos beneficios directos en el vivero. Si se forma una asociación efectiva, se cubrirá la mayor parte de las necesidades de nitrógeno de la planta, con lo que se reduce o elimina la necesidad de aplicar fertilizante nitrogenado y se reduce la necesidad del vivero de manejar la contaminación proveniente de las escorrentías de fertilizante.

No obstante, en el campo los beneficios de la asociación son más evidentes. Los árboles y plantas fijadores de nitrógeno enviados por el vivero con sus sistemas radiculares ya nodulados muestran un crecimiento temprano más rápido que las plantas no inoculadas. La inoculación en los viveros puede reducir los costos de establecimiento y mantenimiento. El beneficio de aplicar al vivero un inoculante que tan solo cuesta unos dólares no solo compensa la necesidad de comprar fertilizante nitrogenado, sino que también es mucho menos costoso que reemplazar un árbol que muere por deficiencia de nitrógeno. Además, en lugar de proporcionar chorros de fertilizantes en el campo (que pueden beneficiar a las malas hierbas circundantes, así como a la planta deseada), el proceso de fijación natural de nitrógeno proporciona un suministro constante de nitrógeno para el crecimiento de la planta. Un crecimiento temprano más rápido en el campo puede ocasionar que la cubierta forestal se cierre más rápido, lo que a su vez ensombrece el suelo y el sotobosque, reduce los gastos de manejo de las malezas y permite una restauración más rápida del ciclo de los nutrientes y el papel de fertilidad de las especies fijadoras de nitrógeno en el ecosistema.

La inoculación en el vivero garantiza tanto la efectividad como la oportunidad de la asociación fijadora de nitrógeno. Las plantas no inoculadas pueden llegar a formar una asociación en el campo con una cepa de *Frankia* o rizobios si algunas de las bacterias están presentes en el sitio de trasplante en exterior. Sin

Cuadro 13.1—Plantas que forman asociaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno. Adaptado de NFTA (1989) y Wall (2000).

Bacterias	Familia de plantas	Subfamilia (notas)	Ejemplos (género)
Rizobios	Leguminosas (Fabaceae)	Caesalpinioideae (alrededor de 1,900 especies; alrededor del 23% son fijadoras de nitrógeno)	<i>Cassia</i> y <i>Senna</i>
		Mimosoideae (alrededor de 2,800 especies; alrededor del 90% son fijadoras de nitrógeno)	<i>Enterolobium</i> , <i>Leucaena</i> , <i>Pithecellobium</i> , <i>Acacia</i> , <i>Albizia</i> , <i>Prosopis</i> , y <i>Mimosa</i>
		Papilionoideae (alrededor de 12,300 especies; alrededor del 97% son fijadoras de nitrógeno)	<i>Sesbania</i> , <i>Cajanus</i> , <i>Erythrina</i> , <i>Gliricidia</i> , y <i>Robinia</i>
<i>Frankia</i>	Abedul (Betulaceae)		<i>Alnus</i>
	Roble hembra (Casuarinaceae)		<i>Casuarina</i> , <i>Allocasuarina</i> , y <i>Gymnostoma</i>
	Coriariaceae		<i>Coriaria</i>
	Datisceae		<i>Datisca</i>
	Espino cerval (Rhamnaceae)		<i>Ceanothus</i> y <i>Rhamnus</i>
	Mirto (Myricaceae)		<i>Myrica</i> , <i>Comptonia</i> , y <i>Myrtus</i>
	Oleaster (Elaeagnaceae)		<i>Elaeagnus</i> y <i>Hippophae</i>
Rosa (Rosaceae)		<i>Cercocarpus</i> , <i>Chamaebatia</i> , <i>Cowania</i> , <i>Purshia</i> , y <i>Chamaebatiaria</i>	



Figura 13.8—Algunas leguminosas pueden formar nódulos con una amplia variedad de cepas de rizobios, pero no todas las cepas tienen la misma efectividad para la fijación de nitrógeno. Estas plántulas de leguminosas tropicales se inocularon con diferentes cepas de rizobios. Algunas asociaciones fueron muy efectivas (una planta verde y floreciente como la identificada como 18B indica que se está fijando suficiente nitrógeno a un bajo costo para la planta huésped) pero otras no (una planta como la identificada en 4b es una planta que está un poco verde pero que no está floreciente, y una planta como la identificada como 8b no está verde). La selección cuidadosa de socios microsimbiontes es fundamental para asegurar una asociación productiva. Foto de Harold Keyser.

embargo, esta asociación no garantiza que la planta se beneficie. Algunas plantas formarán nódulos con una amplia variedad de cepas de rizobios, pero no todas las cepas tienen la misma efectividad para la fijación de nitrógeno (Keyser 2002). Algunas cepas son muy efectivas y productivas al suministrar grandes cantidades de nitrógeno a un bajo costo para la planta huésped. Otras cepas no son productivas, pues requieren una gran cantidad de energía de la planta huésped pero devuelven poco nitrógeno (figura 13.8). En otras palabras, las asociaciones pueden ser desde mutuamente beneficiosas hasta parásitas (Evans 2002, Schmidt 2007, Baker y otros 2009). Se cree que la selección de microsimbiontes que forman asociaciones productivas y saludables exige tanta atención como la selección de fuentes de semillas (Schmidt 2007). Además de la fuente, el tiempo es otro factor para las plantas no inoculadas después de su trasplante en el exterior. Pueden pasar meses o incluso años para que se formen asociaciones efectivas si hay pocas poblaciones de microsimbiontes en el suelo o ellas están inactivas. Mientras se forman las asociaciones, las plantas dependen de los aportes de fertilizantes nitrogenados o del nitrógeno disponible en el suelo. Sin fertilizante en las áreas deficientes, las plantas no inoculadas crecerán muy lentamente y, en ocasiones, serán superadas por la maleza.

Adquisición de Inoculantes de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno

Los inoculantes son cultivos vivos de bacterias fijadoras de nitrógeno que se aplican a las semillas o plantas jóvenes y transmiten las bacterias fijadoras de fijadoras de nitrógeno

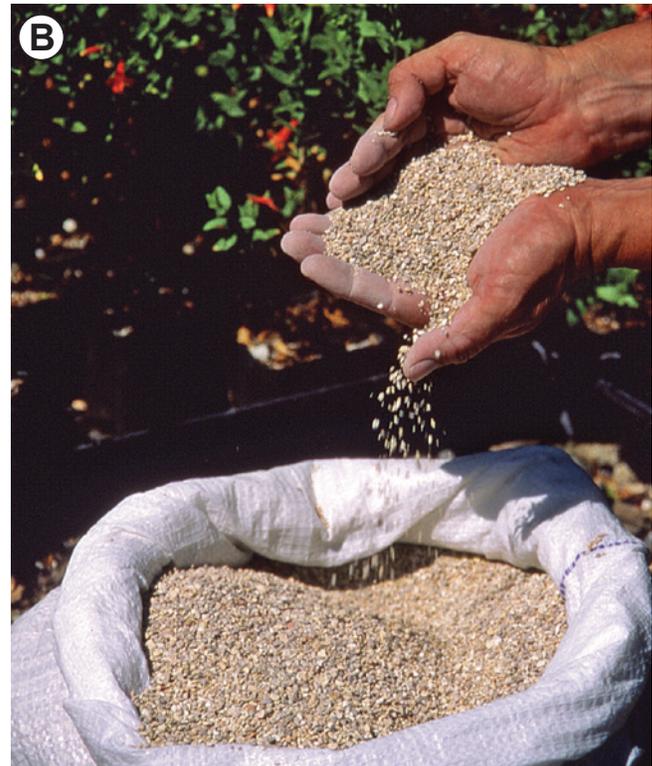


Figura 13.9—Las bacterias fijadoras de nitrógeno están comercialmente disponibles como inoculante de cultivo puro (A), usualmente en un portador (B). Foto A de Tara Luna, y foto B de Mike Evans.

tienden a ser muy especializados. En otras palabras, no son aplicables a todos los casos. Se debe tener cuidado de seleccionar socios fijadores de nitrógeno apropiados y efectivos para especies de plantas específicas. Se pueden usar dos formas de plantas fijadoras de nitrógeno en el vivero: el inoculante de cultivo puro, el cual se compra a proveedores comerciales, a bancos de semillas o, algunas veces, a universidades (figura 13.9); y el inoculante casero (a menudo denominado “crudo”), el cual se fabrica a partir de nódulos recogidos de las raíces de plantas fijadoras de nitrógeno saludables de la misma especie que se va a inocular (figura 13.10). Cualquiera sea la forma que se use, se debe tener cuidado a la hora de manipular los

inoculantes de bacterias fijadoras de nitrógeno, ya que son muy peligrosos. Estas bacterias del suelo viven en el subterráneo bajo condiciones de humedad y oscuridad y a temperaturas frías relativamente estables. Se necesita mantener condiciones similares para garantizar la viabilidad del inoculante durante el almacenamiento, manipulación y aplicación.

Uso de Inoculante de Cultivo Puro

Los inoculantes de cultivo puro a bases de bacterias fijadoras de nitrógeno usualmente vienen en paquetes pequeños de musgo de turba finamente molido. Algunos inoculantes fabricados contienen cepas selectas que se han probado para determinar si forman asociaciones óptimamente productivas con sus especies huésped. El uso de inoculantes de cepas selectas se debe considerar si es posible obtenerlos; estos inoculantes contienen socios óptimos para las especies huésped a las que se han unido y dan a la planta un buen suministro de nitrógeno a un costo bajo. Las cepas superiores pueden generar diferencias significativas en cuanto a la productividad y tasa de crecimiento de la planta huésped; en algunos casos, producen un crecimiento 40 % mejor (Schmidt 2000). No obstante, no todos los inoculantes fabricados son selectos y adecuados para las especies nativas, por lo que debe verificar

la fuente. Si no se puede encontrar uno adecuado, mejor use el método del inoculante crudo. Normalmente, los productos fabricados vienen con instrucciones de aplicación; es importante seguir estas instrucciones. En general, alrededor de 3.5 oz (100 g) de inoculante cultivado es suficiente para inocular hasta 3,000 plantas, superando la recomendación de 100,000 bacterias por planta. Al contener cultivos vivos de bacterias, estos inoculantes son peligrosos y deben mantenerse en ambientes fríos y oscuros, como por ejemplo en un refrigerador.

Los inoculantes a base de turba se mezclan con agua libre de cloro para formar una pulpa. (Si el suministro de agua del vivero contiene cloro, una buena forma de lograr que el cloro se evapore es colocar el agua en un balde descubierto durante 24 horas.) Se recomienda utilizar una batidora o un mezclador eléctrico para mezclar el inoculante con el agua y asegurar que las bacterias se mezclen uniformemente en la solución. Si no se dispone de una batidora, se puede utilizar un batidor manual. Una vez que las plantas empiecen a nodular, los nódulos de sus raíces pueden servir como base para elaborar un inoculante crudo que se pueda utilizar en cultivos futuros. De esta manera, se necesita comprar inoculante una sola vez para cada especie de planta y luego su uso puede perpetuarse en el vivero.

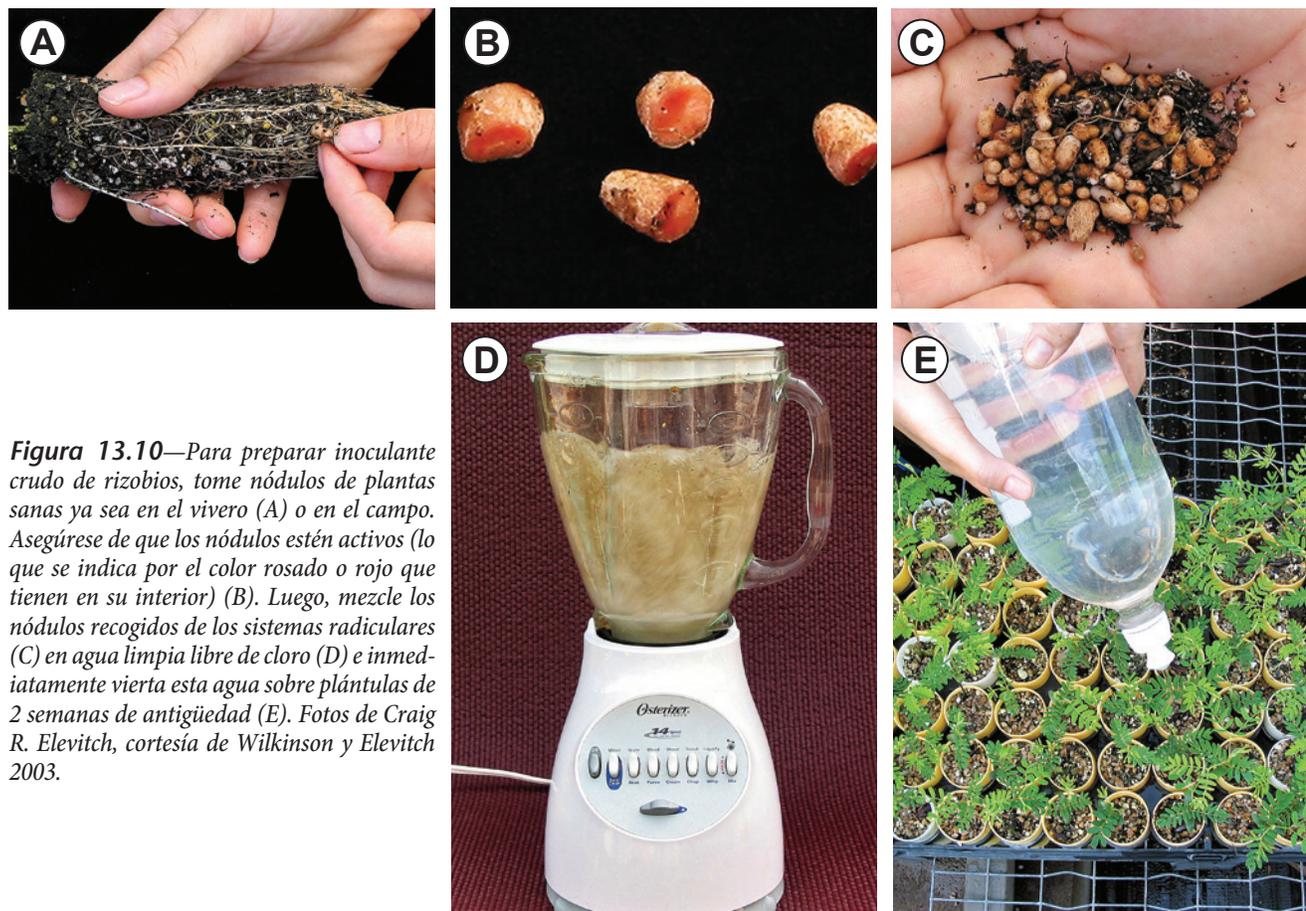


Figura 13.10—Para preparar inoculante crudo de rizobios, tome nódulos de plantas sanas ya sea en el vivero (A) o en el campo. Asegúrese de que los nódulos estén activos (lo que se indica por el color rosado o rojo que tienen en su interior) (B). Luego, mezcle los nódulos recogidos de los sistemas radiculares (C) en agua limpia libre de cloro (D) e inmediatamente vierta esta agua sobre plántulas de 2 semanas de antigüedad (E). Fotos de Craig R. Elevitch, cortesía de Wilkinson y Elevitch 2003.

Preparación de Inoculante Crudo

Los nódulos, las pequeñas estructuras radiculares donde se alojan las bacterias, se usan para preparar inoculante crudo. Los nódulos se pueden seleccionar de las raíces de plantas madre del vivero a las que previamente se aplicó inoculante selecto cultivado, o se pueden recoger nódulos de plantas huésped establecidas sanas. En el caso de los rizobios, un color marrón, rosado o rojo en su interior es usualmente un buen indicador de que hay millones de bacterias en el nódulo fijando nitrógeno activamente. En el caso de *Frankia*, los nódulos que deben escogerse son los que tengan un color blanco o amarillo en su interior. Se deben evitar los nódulos plomos o verdes, pues es probable que estén inactivos.

Para preparar inoculante crudo, escoja plantas vigorosas y sanas de la misma especie que las plantas que se van a inocular. Excave un poco alrededor de la base de la planta nodulada para exponer parte de su sistema radicular. A menudo, las raíces jóvenes contienen los nódulos más activos. Busque nódulos que tengan el color adecuado y recójalos con sumo cuidado (figuras 13.10A, 13.10B). Tome nódulos de varias plantas sanas de la misma especie para asegurar que haya diversidad (figura 13.10C). Coloque los nódulos en una bolsa o contenedor de plástico y guárdelos en un congelador para que estén protegidos de la luz solar y el calor. Tan pronto como sea posible después de recogerlos (dentro de unas cuantas horas), coloque los nódulos en una batidora con agua limpia y libre de cloro (figura 13.10D). Entre 50 y 100 nódulos mezclados en aproximadamente 1 qt (1 L) de agua son suficientes para inocular cerca de 500 plantas. Esta solución es un inoculante líquido casero que está listo para aplicarse de la misma manera que el inoculante cultivado (figura 13.10E).

Aplicación de Inoculante

El inoculante de bacterias fijadoras de nitrógeno se aplica comúnmente cuando las plántulas están emergiendo, usualmente dentro de las 2 semanas posteriores a la siembra, o justo después de que los esquejes hayan formado las raíces. Esto ayuda a asegurar una nodulación exitosa y maximiza los beneficios del uso de inoculantes. El inoculante licuado, preparado a partir de nódulos o de inoculante cultivado según las instrucciones contenidas en las secciones anteriores, se agrega a los sustratos o suelo donde están creciendo las plántulas (figura 13.10E).

Verificación de la Asociación Fijadora de Nitrógeno

Después de 2 a 6 semanas, deben aparecer los siguientes signos visibles, los cuales son indicadores de que la planta ha formado una asociación simbiótica con las bacterias fijadoras de nitrógeno:

- Las plantas empiezan a crecer adecuadamente y tienen un color verde intenso a pesar de la ausencia de fertilizante nitrogenado agregado (figura 13.11A).



Figura 13.11—Las plántulas de *Acacia koa* nativa de 6 semanas (derecha) fueron inoculadas con rizobios a las 2 semanas; las plántulas de la izquierda no fueron inoculadas (A). Nódulos de una plántula de *Acacia koa* muestran un color rosado en su interior, lo que significa que se está fijando el nitrógeno (B). Foto A de Craig R. Elevitch, y foto B de J.B. Friday.

- Los sistemas radiculares desprenden un tenue pero característico olor a amoníaco.
- Los nódulos son visibles en el sistema radicular.
- Cuando se abre un nódulo, su interior es rosa, rojo o marrón (en el caso de los rizobios) (figura 13.11B), o amarillo o blanco (en el caso de *Frankia*).

Consideraciones de Manejo

Como en toda práctica de vivero, familiarizarse con la aplicación y gestión de microsimbiontes fijadores de nitrógeno es un proceso de aprendizaje. Varios factores tienen primordial importancia para el administrador de vivero cuando se usan inoculantes para bacterias fijadoras de nitrógeno:

- **Momento Oportuno**—Asegúrese de que el inoculante se aplique cuando las plántulas hayan acabado de emerger o cuando los esquejes hayan formado nuevas raíces con el fin de garantizar una nodulación exitosa y maximizar los beneficios del uso de inoculantes.
- **Fertilización y micronutrientes**—El uso de un inoculante a base de bacterias fijadoras de nitrógeno requiere algunos ajustes en la fertilización. Un excesivo fertilizante nitrogenado inhibirá la formación de la asociación. Si se forma una asociación óptima, la aplicación de nitrógeno a las plantas fijadoras de nitrógeno se puede eliminar y

es posible que dichas plantas necesiten ser aisladas de las especies no fijadoras de nitrógeno para implementar este cambio en la fertilización. Algunos nutrientes, incluido el calcio, el potasio, el molibdeno y el hierro, son necesarios para facilitar la nodulación. Estos nutrientes deben incorporarse al sustrato. Para la nodulación también se necesita fósforo, suministrado desde el sustrato o, mejor aún, a través de asociaciones micorrícicas.

- **Calidad del Agua**—El exceso de cloro en el agua es perjudicial para los rizobios y *Frankia*. Podría ser necesario analizar el suministro de agua y obtener un filtro de cloro si el exceso de cloro es un problema en el suministro de agua. Como alternativa, el cloro se evaporará si se deja agua limpia en un contenedor sin tapa durante 24 horas antes de su uso.
- **Búsqueda de Fuentes de Inoculantes**—La localización de fuentes adecuadas de inoculantes viables (ya sean cultivados u obtenidos como nódulos) que se ajusten a las especies nativas puede requerir cierta investigación y tiempo, pero los beneficios de una inoculación exitosa bien valen la pena el esfuerzo.
- **Educación del Cliente**—Asegúrese de que los clientes del vivero y las personas encargadas de trasplantar las plantas hacia el exterior tengan un entendimiento sobre las bacterias fijadoras de nitrógeno de modo que puedan apreciar la presencia de nódulos y tengan cuidado de no exponer los sistemas radiculares a pleno sol. Asimismo, eduque a los clientes para que sepan que solo algunas especies de plantas pueden formar esta asociación —de lo contrario, algunos podrían pensar que todas las especies pueden fijar nitrógeno.
- **Consideraciones Sobre los Sitios de Trasplante en Exterior**—Una vez formados los nódulos, los rizobios se encuentran encerrados y usualmente menos afectados por las condiciones del suelo, tales como el pH o la toxicidad del aluminio, que otros microorganismos beneficiosos como los hongos micorrícicos. Sin embargo, en condiciones de trasplante en exterior muy duras (como un pH extremadamente bajo en algunos sitios de rehabilitación), es poco probable que los rizobios se extiendan por el suelo, por lo que podrían no estar disponibles para propagarse a cohortes posteriores de las especies trasplantadas en exterior.

Simbiosis Tripartita

La mayoría de las plantas que forman asociaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno requieren socios micorrícicos. Cuando una planta fijadora de nitrógeno tiene asociaciones efectivas tanto con bacterias fijadoras de nitrógeno como con hongos micorrícicos, a esto se le llama “simbiosis tripartita” porque existen tres socios (una planta huésped y dos microsimbiontes) (figura 13.12). Cuando se trabaja con ambos tipos de



Figura 13.12—Las plantas de *Gliricidia sepium* en el extremo izquierdo se inocularon tanto con rizobios (R) como con hongos micorrícicos (M) y muestran una simbiosis tripartita: una asociación beneficiosa entre la planta huésped, las bacterias rizobias y los hongos micorrícicos arbusculares. Foto de Kenneth W. Mudge

microsimbiontes, simplemente se aplica cada inoculante por separado, tal como se describe en las secciones de este capítulo.

Varios estudios han demostrado que las leguminosas pueden necesitar formar primero micorrizas arbusculares antes de poder formar nódulos de rizobios. Esto puede ocurrir porque la fijación de nitrógeno es un proceso que demanda energía y el metabolismo de la energía de la planta depende en gran medida del fósforo. En otras palabras, un cultivador que solo aplica un inoculante de rizobios podría tener dificultades para lograr una buena nodulación si no se ha formado la asociación micorrícica (o si el sustrato no dispone de suficiente fósforo). La siguiente sección describe cómo introducir hongos micorrícicos en los cultivos de vivero, a menudo se incorporan al sustrato antes de que se aplique el inoculante de rizobios.

Hongos Micorrícicos

A diferencia de las bacterias fijadoras de nitrógeno, los hongos micorrícicos forman asociaciones con casi todas las familias de plantas y árboles forestales. “Mico” significa “hongos” y “rizo” significa “raíz”; “micorriza” significa “hongos-raíces.” La mayoría de las plantas del mundo dependen de su asociación con hongos micorrícicos para crecer y prosperar. Las raíces de la planta huésped proporcionan un sustrato a los hongos y suministran alimento en forma de carbohidratos simples. A cambio, los hongos micorrícicos ofrecen los siguientes beneficios a la planta huésped:

- **Mayor Absorción de Agua y Nutrientes**—Los hongos micorrícicos ayudan a las plantas a absorber los nutrientes minerales, especialmente el nitrógeno, el fósforo y varios micronutrientes como el zinc y el cobre. Las hijas fúngicas se extienden por el suelo más allá de las raíces de la planta huésped, ampliando la superficie de absorción de agua y minerales para la planta huésped. Los investigadores estiman que las hifas de los hongos micorrícicos pueden explorar volúmenes de suelo cientos o miles de veces mayores que las raíces por sí solas.

- **Protección Contra el Estrés y las Enfermedades**—Los hongos micorrícicos protegen a la planta huésped de diferentes maneras. En el caso de los hongos ectomicorrícicos, por ejemplo, una vaina fúngica (llamada “manto”) cubre completamente las frágiles puntas de las raíces y actúa como una barrera física contra la sequedad, pestes y contaminantes tóxicos del suelo. Otros hongos micorrícicos pueden producir antibióticos, los cuales proporcionan protección química.
- **Mayor Vigor y Crecimiento**—Las plantas con raíces micorrizadas pueden tener un mejor estado hormonal y sobreviven y crecen mejor que las plantas no inoculadas después de que son plantadas en el exterior en un lugar del proyecto. Los estudios muestran que el establecimiento de una asociación con los hongos micorrícicos mientras las plantas están en el vivero da como resultado un mejor crecimiento en el campo (Habte y otros 2001, Baker y otros 2009).

Los siguientes tres tipos de micorrizas son importantes para los viveros de plantas nativas tropicales (cuadro 13.2):

- **Micorrizas Arbusculares (AM)**—Formadas por el tipo de hongos micorrícicos más antiguo y predominante. Los hongos AM se encuentran en las raíces de la mayoría de las plantas tropicales y de muchos de los cultivos de alimentos del mundo (incluido el arroz, el maíz y las legumbres) formando asociaciones con más del 80 % de las familias de plantas del mundo (figura 13.13A).
- **Ectomicorrizas (ECM)**—Son asociaciones con muchos árboles de bosques templados y algunos árboles tropicales abundantes, entre ellos los pinos (*Pinus*), los eucaliptos (*Eucalyptus*), los álamos (*Populus*) y los dipterocarpos (*Dipterocarpus*) (figura 13.13B).

- **Micorrizas Ericoides (ERM)**—Son asociaciones con plantas de la familia de los brezales o brezos (*Ericaceae*), incluidos los géneros de arándanos azules, arándanos rojos, azaleas y rododendros (figura 13.13C).

Los hongos micorrícicos no son aplicables a todos los casos, pero con frecuencia son aplicables a muchos casos.

Cuadro 13.2—Plantas y sus socios micorrícicos. Adaptado de Castellano y Molina (1990) y Wang y Qiu (2006)..

Hongos micorrícicos	Plantas
Micorriza arbuscular (AM)	Más del 80 % de las familias de plantas del mundo, incluidos la mayoría de los árboles tropicales, hierbas y helechos
Ectomicorriza (ECM)	Menos del 10 % de las familias de plantas, incluidos los géneros pino (<i>Pinus</i>), roble (<i>Quercus</i>), eucalipto (<i>Eucalyptus</i>)
AM y ECM	Algunas especies de <i>Allocasuarina</i> , <i>Acacia</i> , <i>Eucalyptus</i> , enebro (<i>Juniperus</i>), álamo (<i>Populus</i>) y sauce (<i>Salix</i>)
Micorriza ericoide (ERM)	Familia de los brezales o brezos (<i>Ericaceae</i> en un amplio sentido, incluidos los antiguos <i>Epacridaceae</i> y <i>Empetraceae</i>), incluso los arándanos azules (<i>Vaccinium</i>) y los rododendros (incluidas las azaleas)

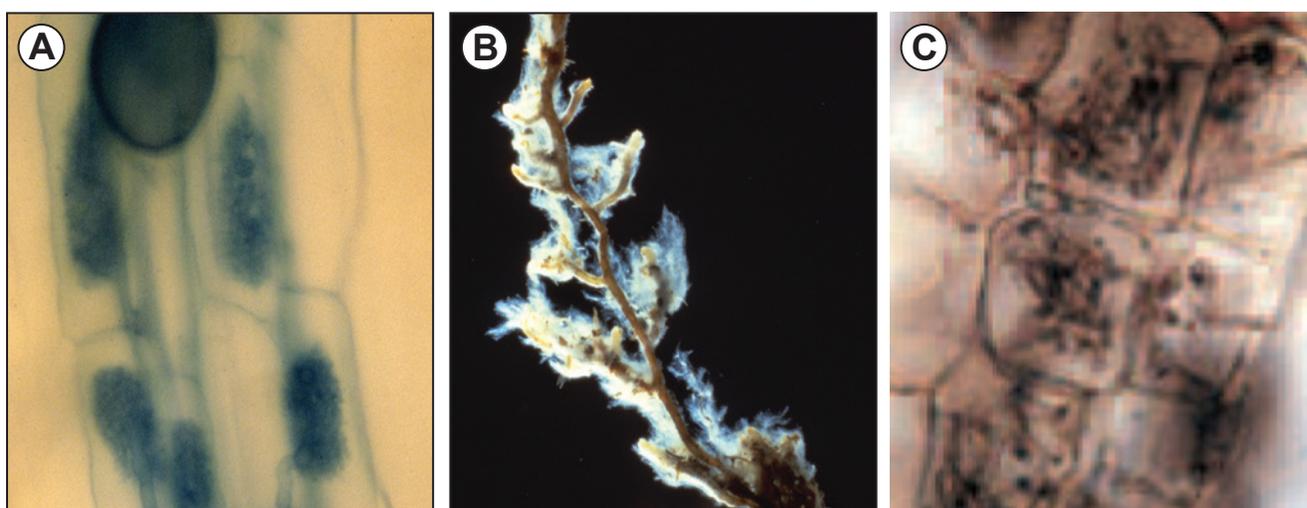


Figura 13.13—Los tres tipos de hongos micorrícicos. Hongos micorrícicos arbusculares (AM) (A). Hongos ectomicorrícicos (ECM) (B)—Los mantos de los hongos ECM pueden ser visibles a simple vista, aunque los hongos ECM en el *Eucalyptus* pueden no ser visibles. Hongos micorrícicos ericoides (ERM) (C). Tanto los hongos AM como los hongos ERM solo pueden verse en las raíces de las plantas con la ayuda de un microscopio. Fotos A y B de Michael A. Castellano, y foto C de Efrén Cazares.

Además, una planta puede asociarse simultáneamente con varias especies de hongos micorrícicos y una planta puede cambiar de socio con el tiempo a medida que crece y se adapta a su entorno (Amaranthus 2010).

No obstante, dado que la mayoría de las plantas se asocia con un tipo específico de hongos micorrícicos, las diferentes especies de plantas tienen diferentes socios fúngicos que deben asociarse apropiadamente para ser efectivos (cuadro 13.2).

Los hongos micorrícicos se pueden obtener de los proveedores comerciales o de las raíces que rodean a una planta huésped saludable de las especies que se están propagando. En todos los casos, el inóculo micorrícico debe entrar en contacto físico con las raíces vivas de la planta para una colonización más efectiva. En las siguientes secciones se explica cómo adquirir hongos micorrícicos y aplicarlos exitosamente. Aunque los hongos tienen un funcionamiento similar y ofrecen beneficios similares a las plantas huésped, aparecen de forma diferente en las raíces. Además, cada tipo de hongo micorrícico tiene un método de aplicación único que debe describirse por separado. Las prácticas de manejo en el vivero son similares y se abordarán al final de esta sección.

Hongos Micorrícicos Arbusculares (AM)

Los hongos AM son esenciales para la mayoría de los árboles tropicales y otras plantas así como para muchos cultivos anuales y pastos. Los hongos AM no son visibles en las raíces de las plantas a simple vista y deben observarse con un microscopio. Las grandes esporas de los hongos AM no son fácilmente esparcidas por el viento, a diferencia de las esporas microscópicas de los hongos ECM que son dispersadas por el viento.

Algunas veces, el inoculante para los hongos AM se recoge de los sistemas radiculares de las plantas huésped AM o del suelo que está debajo de ellas y se incorpora al sustrato. Este método puede funcionar bien porque es probable que los hongos recogidos se adapten a las condiciones propias del lugar (Janos y otros 2001). Las raíces de micorrizas recién recogidas y picadas deben usarse dentro de los seis días siguientes a su recojo; de lo contrario, su eficacia se reducirá. No obstante, muchas veces se desaconseja el uso de este método debido al daño que causa a las plantas y los ecosistemas naturales, su eficacia variable y el riesgo de introducir plagas y patógenos junto con el suelo o las raíces. Las dos principales fuentes de inoculante de hongos AM para los viveros son el “cultivo en maceta” hecho con especies fúngicas conocidas y los cultivos disponibles. Dado que las esporas de los hongos AM son relativamente grandes, es crucial asegurar que estas entren en contacto directo con los sistemas radiculares. Las esporas no pasarán fácilmente a través de inyectores o boquillas de riego. Por lo tanto, para todos los tipos de inoculantes, la mejor práctica consiste en su incorporación total al sustrato.

Inoculante de Cultivo en Maceta



Figura 13.14—En el inoculante de cultivo en maceta, se adquiere una especie concreta de hongo micorrícico arbuscular como cultivo inicial y se agrega a un sustrato estéril con una planta huésped de rápido crecimiento (A). Luego, los brotes de las plantas huésped se retiran y el sustrato, ahora rico en raíces, esporas y micelio, se pica (B) y se incorpora al medio de crecimiento antes de llenar los contenedores. Fotos de Thomas D. Landis.

En el inoculante de cultivo en maceta, se adquiere una especie concreta de hongos AM, ya sea por medios comerciales o de un campo, como cultivo inicial y luego se incorpora a un sustrato estéril. Se cultiva una planta huésped, como el maíz, sorgo, trébol o planta nativa herbácea, en este sustrato. A medida que la planta huésped crece, los hongos AM se multiplican en el sustrato (figura 13.14). Una vez que las raíces de la planta huésped se han extendido por todo el medio, sus brotes se retiran y el sustrato, ahora rico en raíces, esporas y micelio, se pica y se incorpora al medio de crecimiento fresco antes de llenar los contenedores y sembrar las semillas o clavar los esquejes. Esta técnica es altamente efectiva para propagar hongos AM en el vivero. Para mayor información sobre cómo emplear este método, consulte las publicaciones señaladas en la sección de Referencias de este capítulo (especialmente, Habte y Osorio 2001, Miyasaka y otros 2003).

Fuentes Comerciales de Inoculantes

También existen fuentes comerciales de inoculantes de

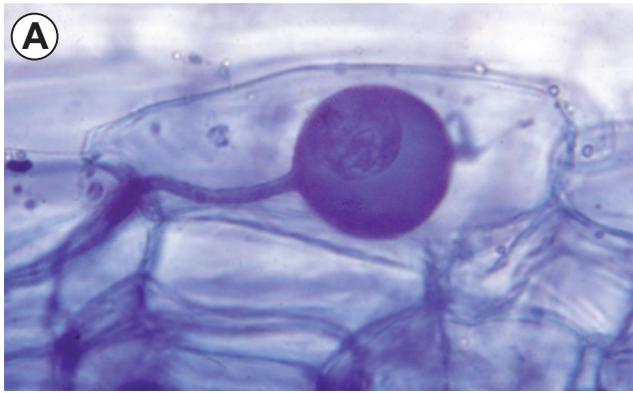


Figura 13.15—En esta foto de microscopio (400 aumentos), una raíz de un árbol tropical se ha aclarado y teñido con un tinte azul de modo que pueda verse con claridad una “vesícula” de hongo AM dentro de las paredes de una célula cortical de la raíz (A). Las vesículas son lugares donde los hongos AM almacenan el exceso de materiales ricos en energía, tales como los lípidos. Las vesículas siempre están unidas al filamento del hongo AM (una hifa), lo que las distingue de las estructuras portadoras de esporas de algunos hongos parásitos de la raíz. Si bien los hongos solo son visibles bajo un microscopio, los trabajadores de viveros podrían observar diferencias entre el crecimiento de las plantas inoculadas y el de las plantas no inoculadas. Un patrón de mosaico de deficiencias de nutrientes como el que muestran estas plántulas de caoba (especie *Swietenia*) podría indicar que algunas plantas han formado asociaciones exitosas mientras que otras no (B). Foto A de David P. Janos y foto B de Tara Luna.

hongos AM que usualmente contienen varias especies o cepas. Debido a que las esporas de los hongos AM son frágiles, usualmente se mezclan con un portador como la vermiculita o la arcilla calcinada para facilitar su aplicación. Estos productos se incorporan por completo al sustrato antes de llenar los contenedores. Se ha demostrado que la efectividad de la inoculación varía considerablemente entre los distintos productos. Por ello, es prudente realizar una prueba antes de comprar grandes cantidades de un producto específico. Los laboratorios pueden proporcionar un recuento de esporas vivas por volumen, que es la mejor medida del vigor del inóculo.

Verificación de la Efectividad de la Inoculación de Hongos AM

Para verificar la efectividad de la inoculación de hongos AM, es necesario teñir las raíces y examinarlas bajo un microscopio (figura 13.15A). A menudo, esta verificación puede realizarse a través de un científico de suelos en una oficina local de extensión agrícola. Después de un poco de práctica, el personal del vivero puede tener una idea de cuándo la inoculación es exitosa, porque muchas veces las plantas no inoculadas crecen más lentamente y podrían tener una mayor incidencia de problemas de raíces podridas. Además, las plantas podrían presentar signos de deficiencia de fósforo (una consecuencia frecuente de la falta de micorrizas), indicada por la coloración púrpura de sus hojas y otros síntomas (figura 13.15B).

Hongos Ectomicorrícicos (ECM)

Muchas setas reconocibles son cuerpos fructíferos de los hongos ECM. Estos cuerpos fructíferos constituyen una pequeña parte del organismo total. En el subterráneo, la cantidad de hongos que cubren las cortas raíces alimentadoras

de las plantas puede ser enorme. Los hongos ECM aumentan significativamente el volumen del área de alimentación y recubren las raíces alimentadoras como una capa protectora. En algunas especies, tales como los pinos (*Pinus*), los mantos de ECM son visibles en las raíces de la planta huésped. En otras especies, tales como muchos *Eucalyptus* ECM, los mantos pueden ser poco visibles. Las ectomicorrizas son importantes para muchas especies de bosques templados, especialmente los de hoja perenne. En los trópicos, una cantidad mucho menor de especies de plantas se asocia con hongos ECM que con hongos AM. En Hawái, por ejemplo, no se conocen ectomicorrizas nativas, aunque es posible que se hayan introducido algunas cepas junto con los árboles introducidos (Amaranthus 2010). Las ectomicorrizas solo afectan un pequeño porcentaje de especies tropicales, incluidos los pinos, eucaliptos, álamos, robles, dicterocarpos y algunas leguminosas (cuadro 13.3).

En los viveros se han utilizado cuatro fuentes de inoculante de hongos ECM. Las plantas nodrizas y las esporas del suelo se han utilizado históricamente, mientras que las esporas y el inoculante de cultivo puro usualmente se recomiendan para los viveros.

Plantas Nodrizas como Fuentes de Inóculo

Cuando recién se intentaba establecer pinos en trópicos donde estos no eran nativos, algunas veces se emplearon plantas nodrizas. Se trasplantaron plántulas micorrícicas notablemente vigorosas a camas de vivero a intervalos de 3 a 6 pies (1 a 2 m) y se dejó que se establecieran, manteniendo los hongos ECM en sus raíces. Luego, se sembraron semillas o se trasplantaron germinantes alrededor y entre estas plantas nodrizas micorrícicas. Una vez colonizadas por los hongos ECM que se propagaban desde las plantas nodrizas, las plántulas se trasplantaron al sitio de trasplante en el exterior. Algunas plantas se dejaron en las

Cuadro 13.3—Familias y géneros tropicales con asociaciones ectomicorrícicas. Adaptado de Brundrett (2009).

Familia	Género
Gnetaceae	<i>Gnetum</i>
Pinaceae	<i>Cedrus, Keteleeria, Larix, Picea, y Pinus</i>
Nyctaginaceae	<i>Guapira, Neea, y Pisonia</i>
Polygonaceae	<i>Coccoloba</i>
Myrtaceae	<i>Allosyncarpia, Agonis, Angophora, Baeckea, Eucalyptus, Leptospermum, Melaleuca, Tristania, y Tristaniopsis</i>
Fabaceae: Caesalpinioideae	<i>Afzelia, Anthonotha, Aphanocalyx, Berlinia, Brachystegia, Cryptosepalum, Dicymbe, Didelotia, Eperua, Gilbertiodendron, Gleditsia, Intsia, Isoberlinia, Julbernardia, Microberlinia, Monopetalanthus, Paraberlinia, Paramacrolobium, Pellegriniodendron, Tetraberlinia, y Toubaouate</i>
Fabaceae: Papilionoideae	<i>Aldinia, Gastrolobium, Gompholobium, Jacksonia, Lonchocarpus, Mirbelia, Oxylobium, y Pericopsis</i>
Fabaceae: Mimosoideae	<i>Acacia y Calliandra</i>
Casuarinaceae	<i>Allocauarina y Casuarina</i>
Fagaceae	<i>Castanea, Castanopsis, Fagus, Lithocarpus, y Quercus</i>
Phyllanthaceae (Euphorbiaceae)	<i>Uapaca y Poranthera</i>
Salicaceae	<i>Populus y Salix</i>
Rhamnaceae	<i>Cryptandra, Pomaderris, Spyridium, y Trymalium</i>
Dipterocarpaceae	<i>Anisoptera, Dipterocarpus, Hopea, Marquesia, Monotes, Shorea, Vateria, Vateriaopsis, y Vatica</i>
Sarcocaulaceae	<i>Leptolaena, Sarcocaula, y Schizolaena</i>

camas para ser usadas como plantas nodrizas para el siguiente cultivo de plántulas. A veces, la propagación de los hongos micorrícicos desde las plántulas nodrizas era lenta (aproximadamente 2 pies por año), lo que sugería que debía haberse corregido alguna propiedad desfavorable del suelo (como un pH alto). Los hongos micorrícicos usualmente se propagan más rápido entre plántulas en suelo esterilizado. Este era un método laborioso y, al igual que con los cultivos a raíz desnuda, se debía tener cuidado de no causar daños a la hora de levantar las plántulas (Mikola 1973).

Suelos como Fuentes de Inóculo

Históricamente, la tierra vegetal o capa de tierra superior, el humus o el mantillo que están debajo de los árboles huésped de hongos ECM se han utilizado para inocular plantas de vivero. Esta práctica es más común en viveros a raíz desnuda de regiones templadas que en viveros que usan contenedores. Puesto que la esterilización mataría a estos hongos beneficiosos, se incorpora suelo y materia orgánica sin esterilizar al sustrato, hasta un 10 % por volumen. En la actualidad, esta práctica suele desaconsejarse para los hongos ECM porque (1) se requieren grandes cantidades de suelo, lo que puede conllevar a que el proceso sea laborioso y tener un efecto perjudicial en el ecosistema natural, (2) la calidad y la cantidad de esporas pueden ser muy variables,

y (3) se podrían introducir patógenos junto con el inoculante. Si se emplea suelo, el inóculo debe recogerse de comunidades de plantas cercanas al sitio de trasplante en el exterior. Se deben recoger pequeñas cantidades de varios diferentes sitios y luego mezclarlas completamente, teniendo cuidado de no dañar las plantas durante el recojo de suelo.

Esporas como Fuentes de Inóculo

Los viveros pueden fabricar su propio inóculo ECM a partir de esporas. Las esporas se obtienen de los cuerpos fructíferos (figura 13.16) de setas, bejines y, especialmente, trufas. Estos cuerpos fructíferos, llenos de esporas, se enjuagan, se cortan y se pulverizan en una batidora durante varios minutos. El líquido espeso resultante se diluye con agua y se vierte en el sustrato de plántulas en germinación o de los esquejes recién enraizados. Usualmente, las plantas se inoculan de 6 a 12 semanas después de la siembra (figura 13.17). Se recomiendan dos aplicaciones cada 2 o 3 semanas para asegurar una inoculación uniforme.

Inóculo de Cultivo Puro

Los hongos ECM están comercialmente disponibles como cultivos puros, usualmente en un portador a base de turba (figura 13.18). Sin embargo, la calidad de las fuentes com-

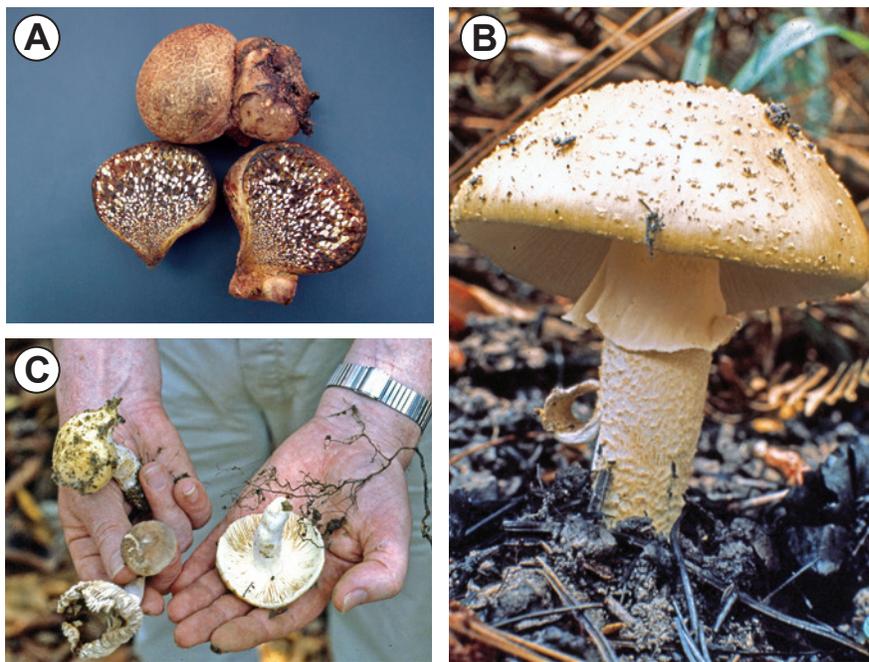


Figura 13.16—Cuerpos fructíferos de hongos ectomicorrícicos. Un bejín de *Pisolithus tinctorius*, que muestra las cavidades donde se encuentran las esporas (A). Una *Amanita* de un bosque de pinos en Guatemala (B), y setas ectomicorrícicas con branquias y raíces de un bosque de dipterocarpos en Malasia (C). Foto A de Michelle M. Cram y fotos B y C de David P. Janos.



Figura 13.17—Inoculación de plántulas de árboles con hongos ectomirrícicos. Se recomiendan dos aplicaciones cada 2 o 3 semanas para asegurar una inoculación uniforme. Foto de Michael A. Castellano.

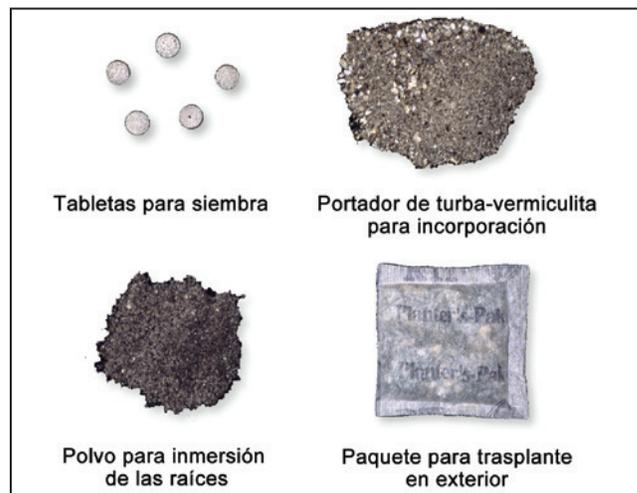


Figura 13.18—Formas de inoculantes ectomirrícicos comerciales disponibles para los viveros. Foto de Thomas D. Landis.

erciales varía, por lo que es importante verificar el vigor comprobando la formación de micorrizas. La mayoría de fuentes comerciales contiene diferentes especies de hongos ECM. El inóculo comercial se puede comprar por separado y mezclar con el sustrato según las instrucciones del producto y antes de llenar los contenedores. En algunas áreas, se pueden comprar balas de sustrato con inóculo premezclado. Es importante averiguar si los proveedores disponen de cepas seleccionadas que se ajusten a las necesidades del lugar.

Verificación de la Efectividad de la Inoculación

de Hongos ECM

Con la práctica, el personal del vivero puede aprender a reconocer los hongos ECM en los sistemas radiculares de las plantas —son bien fáciles de ver y muchas veces implican cambios morfológicos visibles en las raíces más finas. Durante la fase de endurecimiento, es necesario examinar las raíces alimentadoras cortas para ver si su superficie presenta una apariencia de algodón blanco o si se ha formado un manto o vaina de color blanco o brillante sobre ellas (figura 13.19A). A diferencia de los hongos patogénicos, las micorrizas nunca muestran signos de deterioro de sus raíces. Algunas veces, apa-

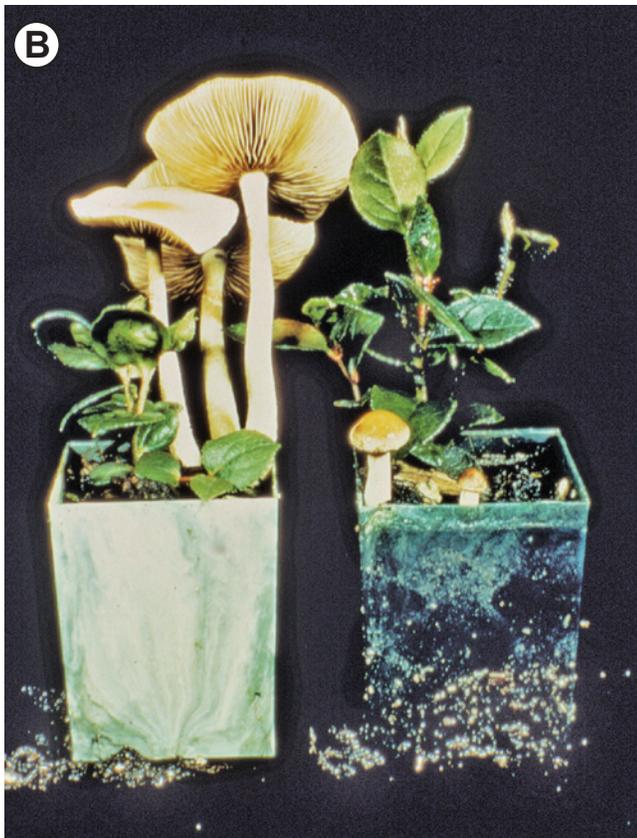


Figura 13.19—El personal de los viveros puede aprender a reconocer la presencia o ausencia de hongos ectomicorrízicos examinando las plantas. Las ectomicorrizas con aspecto de algodón blanco pueden ser visibles en las raíces de algunas especies (A), los cuerpos fructíferos pueden estar creciendo en los contenedores (B). Foto A de William Sayward, y foto B de Michael A. Castellano.

recerán setas u otros cuerpos fructíferos en contenedores junto a sus plantas huésped (figura 13.19B). Si bien estas estructuras son visibles a simple vista, también se recomienda enviar muestras de las plantas a un laboratorio para la respectiva verificación. Es probable que un agente de extensión territorial local o una universidad puedan ayudar en este proceso.

Hongos Micorrízicos Ericoides (ERM)

Las plantas que forman asociaciones con hongos ERM son capaces de crecer en suelos con niveles excepcionalmente bajos de nitrógeno y en condiciones adversas, incluidas las ciénagas, praderas alpinas, tundra e incluso en suelos con altas concentraciones de ciertos metales tóxicos (figura 13.20). Los hongos ERM forman asociaciones en el orden de plantas Ericales en los brezales (Epacridaceae), arándanos negros (Empetraceae) y la mayor parte de la familia de los rododendros (Ericaceae) (cuadro 13.4). De manera similar a los hongos ECM y los hongos AM, los hongos ERM deben entrar en contacto con las raíces de las plantas huésped para formar asociaciones. El inoculante de hongos micorrízicos ericoides está disponible como cultivo comercial o a partir del suelo cercano a plantas huésped sanas. El producto o suelo se mezcla en el sustrato del vivero. El hongo forma una red sobre las estrechas “raíces capilares” (las finas y últimas raíces de las plantas que solo tienen unas cuantas células de ancho), infectando las células exteriores. Al igual que con los hongos AM, los nutrientes se distribuyen a través de las membranas que forman la frontera entre el hongo y las raíces de las plantas. Se recomienda la confirmación en el laboratorio para comprobar que la inoculación se haya realizado con éxito.



Figura 13.20—Una ericoide nativa de Hawái, *Vaccinium reticulatum*, ‘ōhelo, creciendo en un flujo de lava reciente. Las asociaciones con hongos micorrízicos ericoides permiten a estas plantas sobrevivir y prosperar en medio de condiciones duras. Foto de Kim M. Wilkinson.

Table 13.4—Géneros que se sabe se asocian con hongos micorrícicos ericoides. Adaptado de Read (1996) y Smith y Read (1997).

Familia	Género
Ericaceae	<i>Acrotriche, Andersonia, Astroloma, Brachyloma, Cassiope, Calluna, Ceratiola, Conostephium, Corema, Cyathodes, Dracophyllum, Empetrum, Epacris, Erica, Gaultheria, Kalmia, Ledum, Leucopogon, Lissanthe, Lysinema, Melichrus, Monotoca, Needhamiella, Oligarrhena, Pentachondra, Richea, Rhododendron, Rupicola, Sphenotoma, Sprengelia, Styphelia, Trochocarpa, Vaccinium, Woollisia</i>

Consideraciones Sobre el Manejo de Hongos Micorrícicos

Cuando se utilicen inoculantes micorrícicos por primera vez, se recomienda empezar con pocas cantidades y evaluar algunas técnicas y fuentes. Compare algunas bandejas o bancos con y sin micorrizas para determinar cómo se debe modificar el manejo y la periodicidad para cultivar raíces micorrizadas. En algunos casos, usar un producto fabricado de reconocida calidad puede ser la forma más sencilla de empezar; luego, el vivero puede expandirse y recolectar y procesar sus propias fuentes de inoculantes. Se debe monitorear la efectividad de la inoculación y mantener un registro del desarrollo de los cultivos. Consulte el Capítulo 20, Descubrir Formas para Mejorar las Prácticas del Vivero y la Calidad de las Plantas, para mayor información sobre cómo realizar algunos pequeños ensayos y experimentos.

Aunque los hongos micorrícicos no son muy especializados, se cree que las diferentes cepas de micorrizas se comportan de manera distinta según los retos que plantea el lugar. Algunos inoculantes selectos o de cultivo puro pueden ser altamente productivos bajo determinadas condiciones de ciertos lugares, pero pueden ser menos productivos que las cepas nativas en otros lugares. Por ejemplo, algunas cepas pueden ser más beneficiosas si la falta de nutrientes es el principal desafío, mientras que otras pueden ayudar de manera particular a sus huéspedes a resistir los patógenos del suelo o incluso los metales pesados. De ser posible, trabajar con varias cepas para obtener diversidad en el campo puede ser una buena garantía, especialmente porque las plantas pueden asociarse con múltiples cepas de manera simultánea y pueden cambiar de socio si es necesario para adaptarse a las condiciones del lugar. El cultivador puede realizar cierta investigación o trabajar con un especialista que lo ayude con las siguientes tareas:

- Seleccionar socios micorrícicos óptimos para las especies y lugares de trasplante.
- Determinar las fuentes más apropiadas de inoculantes y

evaluar su efectividad en el vivero.

- Diseñar ensayos de trasplante en exterior para evaluar el vigor y la supervivencia de las plantas, y modificar las fuentes de inoculantes si se requieren mejoras.

La inoculación con hongos micorrícicos afecta el crecimiento de las plantas (figura 13.21). Se necesitará ajustar las prácticas de fertilización para apoyar la formación de asociaciones micorrícicas en el vivero. Una cantidad excesiva de fósforo inhibe la formación de la asociación; por lo tanto, se debe reducir el fósforo. Sin embargo, debe haber suficiente fósforo para evitar que los hongos micorrícicos compitan con su planta huésped por el nutriente y puedan convertirse en parásitos en lugar de simbióticos. Se recomienda usar niveles “bajos pero suficientes” de fósforo para facilitar la asociación (Miyasaka y otros 2003). En algunos casos, podría ser necesario reducir la cantidad total de fertilizante a la mitad o más debido a la eficacia de los hongos micorrícicos para la absorción de nutrientes. El tipo y la forma de fertilizante también son importantes. Si se aplica nitrógeno, el nitrato de amonio es mejor aprovechado por una amplia variedad de plantas que el nitrógeno nítrico solo (Castellano y Molina 1990). En general, los fertilizantes de liberación controlada pueden ser más adecuados que los fertilizantes líquidos para las plantas inoculadas, ya que liberan pequeñas dosis de nutrientes de manera gradual en lugar de altas dosis repentinas de manera periódica. Una cantidad excesiva o insuficiente de agua inhibirá la presencia de hongos micorrícicos y la formación de la asociación, por lo que es necesario modificar los calendarios de riego de manera correspondiente. El personal del vivero que esté dispuesto a adoptar una actitud observadora y flexible a medida que el vivero se embarca en el uso de los hongos micorrícicos será el que tome mejores decisiones en cuanto a la modificación de los regímenes de fertilización y riego para apoyar a los microsimbiontes.

Podría ser necesario hacer otros ajustes de manejo a causa de la mejora en la supervivencia y el crecimiento. Los mejores porcentajes de supervivencia afectarán las estimaciones y las tasas de sobresiembra. Los calendarios también podrían verse afectados; las plantas inoculadas podrían estar listas para su trasplante más pronto que las plantas no inoculadas. La aplicación de determinados fungicidas es perjudicial para los hongos micorrícicos; la susceptibilidad varía de una especie a otra, por lo que es necesario evaluar y ajustar la aplicación de pesticidas.

Algunas plantas forman asociaciones tanto con los hongos AM como con los hongos ECM. Entre ellas se encuentran algunas de las especies de *Allocasuarina*, *Acacia*, *Eucalyptus*, *Juniperus* y *Populus*. En estos casos, se deben realizar ensayos para ver si el inoculante produce los mejores resultados en el vivero y si estos resultados persisten después del trasplante. En el caso de algunas especies, se podría requerir una inoculación adicional con el segundo tipo de micorrizas (usualmente los hongos

ECM vienen después de los hongos AM) antes del trasplante.

Además, la mayoría de las plantas que forman asociaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno requieren socios micorrícicos. Por ejemplo, muchos árboles leguminosos se asocian tanto con los rizobios como con los hongos AM; en estos casos, podría ser conveniente aplicar los hongos AM antes que los rizobios (como se ha mencionado anteriormente). Árboles como los alisos (*Alnus*) se asocian tanto con los hongos *Frankia* como con los hongos ECM. En estos casos, los inoculantes se pueden aplicar por separado al mismo cultivo de plantas.

Otros Microorganismos Beneficiosos

En el suelo natural, las comunidades de bacterias, hongos, algas, protozoos y otros microorganismos ponen los nutrientes a disposición de las plantas, crean canales para el agua y el aire, mantienen la estructura del suelo y reciclan los nutrientes y la materia orgánica. Una población saludable de microorganismos del suelo ayuda a mantener el

equilibrio ecológico, previniendo la aparición de problemas serios causados por los virus del suelo u otros patógenos. Es importante darse cuenta de que el suelo está vivo y reducir o eliminar prácticas que puedan ser dañinas para la microvida del suelo. Como aconsejaba Aldo Leopold, “La primera regla de un reparador inteligente es conservar todas las piezas.” El uso de compost, mantillo y materia orgánica es importante para la vida del suelo. Proteger el suelo de la erosión y de las perturbaciones innecesarias, eliminar la contaminación de los fertilizantes solubles y minimizar el uso de fungicidas, desinfectantes y otros productos químicos que pueden matar la microvida son prácticas esenciales. La introducción de hongos micorrícicos y de bacterias fijadoras de nitrógeno en el vivero puede favorecer el equilibrio de microorganismos beneficiosos del suelo.

Reconocimientos

Los autores agradecen a las siguientes personas por la asistencia brindada y los conocimientos compartidos durante la elaboración de este capítulo:

Mike Amaranthus, Grants Pass, OR. Microbiólogo; profesor asociado adjunto de la Universidad Estatal de Oregon; presidente de Mycorrhizal Applications, Inc.

Mitiku Habte, Honolulu, HI. Profesor de Ciencias del Suelo, Departamento de Plantas Tropicales y Ciencias del Suelo de Mānoa, Universidad de Hawái.

Harold Keyser, Kahului, HI. Administrador del condado de Maui, Facultad de Agricultura Tropical y Recursos Humanos (CTAHR), Universidad de Hawái.



Figura 13.21—Plántulas de guava (*Psidium guajava*) de cuatro meses en el vivero en un suelo arcilloso ácido tropical de tierras bajas y poca fertilidad (aproximadamente 8 ppm de fósforo disponible); la planta de la derecha tiene una asociación micorrícica, mientras que la planta de la izquierda no la tiene (A). Incluso con una abundante fertilización a base de fósforo, la falta de hongos micorrícicos puede reducir la velocidad de crecimiento de las plantas. La foto muestra capas de aire de lichi (*Litchi chinensis*) cultivadas por 16 meses en macetas de 25 galones con un sustrato libre de suelo después de haber sido cortadas de los árboles fuente (B). Si bien la fertilización con fósforo no afectó el crecimiento, la inoculación con hongos AM recogidos en campo mejoró el crecimiento de los brotes en un 39 % (consulte Janos y otros 2001). Fotos de David P. Janos.

Jim Trappe, Corvallis, OR. Profesor, Departamento de Ciencias Forestales, Universidad Estatal de Oregon.

Kenneth Mudge, Ithaca, NY. Profesor asociado, Departamento de Horticultura, Universidad de Cornell.

Referencias

Amaranthus, M. 2010. Personal communication. Grant's Pass, OR. Microbiologist; Adjunct Associate Professor, Oregon State University; President, Mycorrhizal Applications, Inc.

Baker, P.J.; Scowcroft, P.G.; Ewel, J.J. 2009. Koa (*Acacia koa*) ecology and silviculture. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR-211. Albany, CA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Research Station. 129 p.

Brown, L.; Johnson, J.W. 1996. Nitrogen and the hydrologic cycle. Ohio State University Extension Fact Sheet AEX-463-96. Columbus, OH: Ohio State University, Food, Agricultural and Biological Engineering. <http://ohioline.osu.edu/aex-fact/0463.html>. (June 2012).

Brundrett, M.C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*. 320: 37–77.

Castellano, M.A.; Molina, R. 1990. Mycorrhizae. In: Landis, T.D.; Tinus, R.W.; McDonald, S.E.; Barnett, J.P.; The Container Tree Nursery Manual, Volume 5. Agriculture Handbook 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 101-167.

Evans, J. 2002. Plantation forestry in the tropics. 2nd ed. New York: Oxford University Press Resources. 47 p.

Habte, M.; Miyasaka, S.C.; Matuyama, D.T. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi improve early forest tree establishment. In: Horst, W.J.; Schenk, M.K.; Burkert, A.; Classen, N., eds. Plant nutrition-food security and sustainability of agro-ecosystems. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 644-645 p.

Habte, M.; Osorio, N.W. 2001. Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum. Honolulu, HI: University of Hawai'i, College of Tropical Agriculture and Human Resources. 47 p.

Janos, D.P.; Schroeder, M.S.; Schaffer, B.; Crane, J.H. 2001. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi enhances growth of *Litchi chinensis* Sonn. trees after propagation by air-layering. *Plant and Soil*. 233: 85–94.

Keyser, H. 2002. Personal communication. Paia, HI: University of Hawai'i NifTAL Project.

Landis, T.D.; Tinus, R.W.; McDonald, S.E.; Barnett, J.P. 1989. The container tree nursery manual: volume 5, the biological component: nursery pests and mycorrhizae. Agriculture Handbook 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. 171 p.

Mikola, P. 1973. Application of mycorrhizal symbiosis in forestry practice. In: Marks, G.C.; Kozłowski, T.T., eds. Ectomycorrhizae: their ecology and physiology. New York and London: Academic Press: 444 p. Chapter 10.

Miyasaka, S.C.; Habte, M.; Friday, J.B.; Johnson, E.V. 2003. Manual on arbuscular mycorrhizal fungus production and inoculation techniques. Honolulu, HI: University of Hawai'i at Mānoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources. 4 p.

Nitrogen Fixing Tree Association (NFTA). 1989. Why nitrogen fixing trees? NFTA 89-03: 1-2. Morrilton, AR: Forest, Farm and Community Tree Network (FACT Net), Winrock International. <http://www.winrock.org/fnrm/factnet/factpub/FACTSH/WhyNFT.htm>.

Read, D.J. 1996. The structure and function of the Ericoid mycorrhizal root. *Annals of Botany*. 77: 365–374.

Schmidt, L. 2000. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Humlebaek, Denmark: Danida Forest Seed Centre. 511 p.

Schmidt, L. 2007. Tropical forest seed. Berlin, Germany: Springer-Verlag. 409 p.

Singleton, P.W.; Somasegaran, P.; Nakao, P.; Keyser, H.H.; Hoben, H.J.; Ferguson, P.I. 1990. Applied BNF technology: a practical guide for extension specialists. Module Number 3: Introduction to rhizobia. Honolulu, Hawai'i: University of Hawai'i-Mānoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources. 13 p. <http://www.ctahr.hawaii.edu/bnf/Downloads/Training/BNF%20technology/rhizobia.PDF>. (April 2012).

Smith, S.E.; Read, D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. San Diego: Academic Press. 605 p.

Wall, L. 2000. The actinorhizal symbiosis. *Journal of Plant Growth Regulation*. 19: 167–182.

Wang, B.; Y.L. Qiu. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*. 16: 299–363.

Wilkinson, K.M.; Elevitch, C.R. 2003. Growing koa: a Hawaiian legacy tree. Holualoa, HI: Permanent Agriculture Resources.

Lecturas Adicionales

Alexander, I.; Selosse, M.A. 2009. Mycorrhizas in tropical forests: a neglected research imperative. *New Phytologist*. 182: 14–16.

Brundrett, M.C. 2008. Mycorrhizal associations: the Web resource. <http://mycorrhizas.info/info.html> <http://mycorrhizas.info/info.html>. (February 2013).

Dawson, J.O. 2009. Ecology of Actinorhizal plants. In: Pawłowski, K., ed.; Newton, W.E. series ed. Nitrogen-fixing Actinorhizal symbioses. Dordrecht, The Netherlands: Springer: 199–227. Chapter 8.

Margulis, L.; Sagan, D. 1997. Microcosmos: four billion years of evolution from our microbial ancestors. Berkeley, CA: University of California Press. 301 p.