

5.
MICORRIZACIÓN



5. MICORRIZACIÓN

Las micorrizas (*mycos* = hongo, *rhiza* = raíz) constituyen entidades simbióticas entre un hongo y las raíces de una planta. El nombre fue dado por el botánico alemán Albert Bernhard Frank en 1885, aunque estas asociaciones fueron estudiadas sólo a partir de 1910, y gracias a los trabajos desarrollados por Mosse, en 1955, comienzan a tomar importancia en estudios de crecimiento de vegetales y las asociaciones que se suceden con otros agentes del suelo (Vasco, 2003).

Se estima que alrededor del 95% de las plantas vasculares participan en este tipo de asociaciones, existen excepciones como las familias de las crucíferas, ciperáceas y quenopodiáceas, las cuales no llegan a formar simbiosis (Honrubia cit. por Reyna, 2000).

Aunque la simbiosis entre hongo y planta se encuentra muy extendida en los variados ecosistemas terrestres, los fenómenos de degradación y el uso indiscriminado de sustancias químicas, ha planteado la necesidad de aplicar técnicas como la micorrización inducida, mediante el uso de inoculantes micorrícicos, en las plantas desde la etapa de viverización.

Las micorrizas funcionan como un sistema de absorción que se extiende por el suelo y es capaz de proporcionar a la planta agua y nutrientes, como el nitrógeno y fósforo, y el hongo por su parte recibe de la planta azúcares y carbohidratos provenientes de la fotosíntesis, elementos fundamentales para su desarrollo. Otros

beneficios que otorga la presencia de hongos, están el aumento de la resistencia de las plántulas a la sequía, a temperaturas del suelo y valores de pH extremos, a ataques de hongos patógenos, áfidos y nemátodos, y además proporcionan hormonas estimulantes del crecimiento, como auxinas, citoquininas, giberelinas y vitamina B. Estas últimas se traducen en un aporte adicional, ya que son producidas simultáneamente por la planta, lo que contribuye de esta manera a favorecer un crecimiento y longevidad mayor de las raíces (Slankis, 1973, cit. por Ipinza y Serrano, 1982).

5.1 Asociaciones Micorrícicas de Importancia

Harley y Smith (1983, cit. por Martínez, 1999), proponen una clasificación de las micorrizas que se basa en las características morfológicas de la infección y en los taxones de los simbioses, distinguiendo siete tipos: ectomicorrizas, endomicorrizas o micorrizas vesículo-arbusculares (VA), ectendomicorrizas, arbutoides, monotropoides, ericoides y orquidioides. Los grupos más importantes desde el punto de vista forestal pertenecen a las ectomicorrizas y endomicorrizas.

Dentro de nuestra flora arbórea autóctona del sur de Chile, que comprende un total aproximado de 84 especies, el 50% corresponde a taxas endémicos (Cifuentes, 1995). De ellos, sólo el género *Nothofagus* se presenta como asociadas a hongos ectotróficos (o ectomicorrícicos), y

los restantes a asociaciones endomicorrícicas (Garrido, 1986; Cifuentes, 1995). En las zonas áridas y semiáridas existe también un predominio de especies arbóreas y arbustivas ligadas a las endomicorrizas como son Algarrobo, Boldo, Peumo, Quillay, entre varios otros.

5.1.1 Ectomicorrizas

Dentro del total de especies asociadas a las micorrizas, sólo el 3 al 5% de los vegetales de todo el mundo establecen relaciones de tipo ectomicorrícicas (Trappe, 1977). A pesar de ello, su importancia en el mundo forestal es enorme debido a que se trata de especies vegetales de gran interés económico y ecológico, entre las se encuentran especies de las familias de las *Betulaceae*, *Fagaceae*, *Pinaceae* y *Salicaceae*, y de géneros como *Pinus*, *Fagus*, *Larix*, *Picea* y *Nothofagus* (Alvarez, 1991; Martínez, 1999).

Según lo señalado por Donoso (1981), en los bosques chilenos y chileno-argentinos, la existencia de micorrizas ectotróficas ha sido demostrada en sucesivos estudios para los bosques de *Nothofagus* de la zona húmeda y la zona patagónica (Singer y Morello, 1960; Singer y Moser, 1965; Singer, 1971). Según estos estudios, los bosques dominados por Coigüe, Coigüe de Chiloé (*Nothofagus nitida*), Coigüe de Magallanes (*Nothofagus betuloides*), Ñirre (*Nothofagus antarctica*), Raulí, Roble y Lengua (*Nothofagus pumilio*), son comunidades cuya existencia depende de la formación de este tipo de micorriza. Según Singer y Morello (1960), la asociación micorrícica como una unidad biológica, tiene mayor plasticidad que cualquier otro elemento forestal sin micorriza. Por tal razón, las especies del género *Nothofagus* se distribuirían tan homogéneamente en los bosques mixtos, permitiendo a este género ser más agresivo y resistente a condiciones adversas, logrando mantenerse en áreas deterioradas, permitiéndole actuar a las especies de este género como pioneras.

Las ectomicorrizas principalmente incluyen a los *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* y algunos *Zygomycetes*, las cuales forman un verdadero manto de hifas que recubre las raíces, penetrando en los espacios entre las células corticales, desarrollando lo que se denomina red de Hartig (Figura 1).

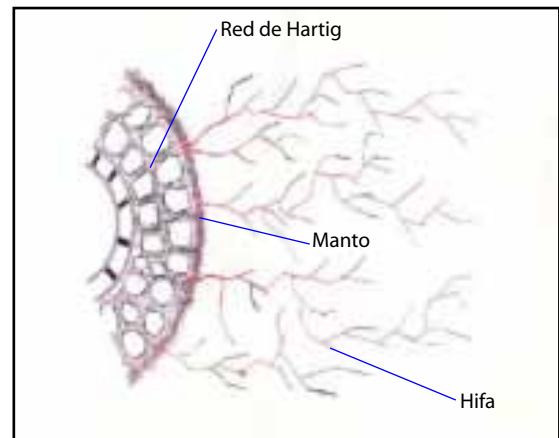


Figura 1: Esquemas de una ectomicorriza (Información modificada de Mikro-Tek).

La mayoría de los *Basidiomycetes* ectomicorrícicos son miembros del orden Agaricales, entre los que se encuentran importantes géneros como *Boletus*, *Cortinarius*, *Descolea*, *Amanita* y *Russula*. Otros miembros importantes son del orden *Gomphales* con el género *Ramaria* y en menor proporción de la clase *Ascomycetes* con el género *Morchella*.

La característica principal de las ectomicorrizas es la formación de cuerpos frutales que sobresalen del suelo, siendo algunos de estos de alto valor comercial (Figura 1), lo que ha motivado en determinados casos a replantear la estrategia para su utilización en plantación y reforestación orientada tanto hacia la producción de madera como hacia la producción de hongos (Becerril, 1996).

Dentro de los hongos micorrícicos importantes asociado al bosque nativo, y que producen cuerpos frutales comestibles, se encuentran las



Foto 31. Algunas especies de hongos comestibles asociados a *Nothofagus*: *Boletus Loyo* (izquierda), *Morchella* sp. (centro) y *Ramaria* (derecha)

especies pertenecientes a los género *Morchella* (morchela) y *Ramaria* (changle), junto con las especies *Boletus loyo* (loyo) y *Cortinarius lebre* (lebre u hongo liebre). Actualmente estas especies son muy apreciadas a nivel internacional, no sólo por sus cualidades culinarias sino que también por sus eventuales propiedades farmacológicas (Foto 31).

Cuadro 11. Hongos micorrícicos asociados a especies del género *Nothofagus* (Garrido, 1986).

Especie hospedante	Hongo micorrícico asociado
<i>Nothofagus</i> spp.	<i>Boletus loyo</i> , <i>Cortinarius lazoi</i> , <i>Descolea antarctica</i> , <i>Hebeloma mesophaeum</i> , <i>Laccaria echinospora</i> , <i>Russula nothofaginea</i>
<i>N. nervosa</i>	<i>Amanita diemii</i> , <i>Boletus loyo</i> , <i>Cortinarius austrosalor</i> , <i>Gomphus nothofagorum</i> , <i>Hygrocybe proteus</i> , <i>Ramaria zippelii</i>
<i>N. antarctica</i>	<i>Cortinarius acerbus</i> , <i>Hygrocybe araucana</i> , <i>Inocybe briggesiana</i> , <i>Laccaria glaerinoides</i> , <i>Thaxterogaster albocanus</i> , <i>Thelephora terrestris</i>
<i>N. betuloides</i>	<i>Amanita umbrinella</i> , <i>Cortinarius acerbus</i> , <i>Elasmomyces nothofagi</i> , <i>Hygrocybe araucana</i> , <i>Laccaria laccata</i> var. <i>laccata</i> , <i>Tricholoma cortinatellum</i>
<i>N. dombeyi</i>	<i>Amanita diemii</i> , <i>Boletus loyo</i> , <i>Cortinarius acerbus</i> , <i>Dermocybe luteostriatula</i> , <i>Gastroboletus valdivianus</i> , <i>Gomphus nothofagorum</i>
<i>N. glauca</i>	<i>Cortinarius austroturmalis</i> , <i>C. columbinus</i> , <i>C. elaiotus</i> , <i>C. gracilipes</i> , <i>C. maulensis</i> , <i>C. viridulifolius</i> .
<i>N. leonii</i>	<i>Cortinarius maulensis</i> , <i>C. viridulifolius</i> .
<i>N. nitida</i>	<i>Cortinarius austroacutus</i> , <i>Dermocybe heterochroma</i> , <i>Inocybe paucigibba</i> , <i>Laccaria tetraspora</i> , <i>Paxillus boletinoides</i> var. <i>boletinoides</i> , <i>Tricholoma fusipes</i> .
<i>N. obliqua</i>	<i>Amanita gayana</i> , <i>Boletus loyo</i> , <i>Cortinarius flammuloides</i> , <i>Gastroboletus valdivianus</i> , <i>Porpoloma portentosum</i> , <i>Ramaria valdiviana</i>
<i>N. pumilio</i>	<i>Amanita umbrinella</i> , <i>Cortinarius acerbus</i> , <i>Dermocybe luteostriatula</i> , <i>Elasmomyces nothofagi</i> , <i>Gautieria chilensis</i> , <i>Laccaria tetraspora</i>

Garrido (1986 y 1988) identificó que, los principales hongos ectomicorrícicos asociados al género *Nothofagus* pertenecen al género *Cortinarius* (Cuadro 11). En Anexo 10.3 se entrega un listado más detallado de los hongos que se asocian a este género.

5.1.2 Endomicorizas

Las micorizas más extendidas a nivel mundial son las de tipo vesículo-arbuscular (VA). Este tipo de micorriza se encuentra en la mayoría de las plantas agrícolas y árboles forestales, y está presente en la mayoría de las Angiospermas. La asociación simbiótica VA se forma en muchas especies perennes leñosas, incluyendo muchas Gimnospermas (Harley y Smith, 1983).

Estas asociaciones pertenecen a la clase *Zigomicetes* y se caracterizan por la producción de estructuras llamadas arbusculos (en todos los casos) y vesículas (en la mayoría de ellos). Estas últimas, son estructuras globosas inter o intracelulares irregulares cuya función es de actuar como órganos de reserva de lípidos. En cambio los arbusculos, son considerados los sitios de mayor intercambio simbiótico con la planta hospedante en la cual se realiza la transferencia de nutrientes (Brundrett *et al.*, 1996) (Figura 2).

Godoy y Mayr (1989) mencionan que, la mayoría de las especies de coníferas chilenas poseen una extraordinaria capacidad de adaptación, pues sobreviven frecuentemente bajo condiciones extremas, condición que estaría muy relacionada al papel que cumplen las asociaciones micorrícicas en estas especies. De los estudios realizados por estos autores, indican relaciones endomicorrícicas para *Araucaria*, Ciprés de la cordillera, *Alerce* (*Fitzroya cupressoides* I.M. Johnst.), Ciprés de las guaitecas (*Pilgerodendron uviferum* (D. Don) Florin), Ciprés enano (*Dacrydium fonckii* (Phill.) Florin), Mañío de hojas punzantes (*Podocarpus nubigena* Lindl.), Mañío de hojas largas (*P. salignus* Lindl.), Lleuque (*Prumnopitys andina* (P. et E.) de Laub.) y Mañío de hojas cortas (*Saxegothaea conspicua* Lindl.).

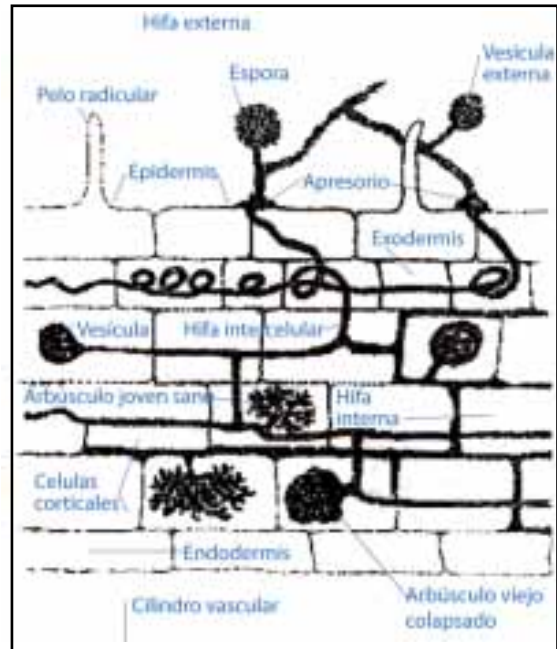


Figura 2. Anatomía de una endomicorriza o micorizas vesículo-arbuscular (Información modificada de Mikro-Tek).

5.2 Micorrización en Vivero

La formación de la micorriza consiste en poner en contacto una raíz de crecimiento activo con algún tipo de hongo micorrícico a través de un proceso de inoculación por medio del uso de esporas o micelio.

En los trabajos de micorrización se deben considerar las interacciones que existen entre la planta hospedera, el hongo simbiote y el suelo donde finalmente llegará a desarrollarse. Además, en este proceso existen varios factores que pudieran afectar el proceso o los porcentajes de micorrización de las plantas, dentro de los cuales se mencionan algunas consideraciones importantes como son:

- El estado fisiológico de la planta y su edad;
- Las condiciones fisiológicas del hongo;
- Presencia de otros hongos que compitan o antagonicen en la formación de micorizas;
- Disponibilidad que tengan los hongos de recursos de carbono,

- La compatibilidad entre hongo micorrízico y planta hospedante;
- El contenido de nutrientes y agua en el suelo;
- El pH del suelo, su estructura y aireación;
- La posible fauna microbiana que se encuentre en el sustrato;
- Tipos y dosis de fertilizantes y pesticidas utilizados;
- La calidad del agua de riego (sales y contaminación);
- La temperatura y la luminosidad.

Teniendo en consideración factores como los mencionados al momento de realizar la inoculación, existe una probabilidad mayor de éxito en la formación de micorrizas. Por último, el transporte y la plantación son aspectos importantes a tener en cuenta para el cuidado de las raíces para que estas no sufran daños por pérdida de las raíces, lugar donde se ubican las micorrizas.

5.3 Tipos de Inóculo de Hongos Ectomicorrízicos

Como inóculo se debe entender a aquel producto biológico que facilita la introducción de microorganismos con diversa actividad fisiológica que favorece el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Para la obtención del inóculo, se ocupa parte del hongo, la cual será capaz de crecer y formar una relación simbiótica con las raíces de los árboles. Se pueden producir diferentes tipos de inoculantes micorrízicos (esporas, micelio, fructíferos, raíces colonizadas, otros), tipo que estará principalmente dado por la forma de aplicación y el hongo a utilizar.

Este inoculante puede presentar diferentes aspectos físicos, ya sea líquidos o sólidos en los que se utilizan acarreadores líquidos como el agua destilada o los sólidos como la turba, el carbón activado, alginatos y otros soportes orgánicos e inorgánicos. Además, existen varias formas



Foto 32. Suelo utilizado como inoculante micorrízico natural.

forzadas de poner en contacto el hongo con la planta huésped para que pueda desarrollarse la micorrización artificial, las que variarán de acuerdo al costo involucrado y al grado de elaboración de los inoculantes. En la actualidad las técnicas aplicadas pueden ser a través de micelio o esporas u otros productos cuyos componentes principales son las dos primeras.

Lo recomendable es inocular las plántulas con sus micorrizas naturales, especialmente si la plántula está destinada a sitios abiertos sin vegetación cercana. Sin embargo, su proliferación en el sustrato de los contenedores no siempre es exitosa, debido a que el Nitrógeno incorporado en la fertilización normalmente las inhibe.

Shafer (1988), determina importantes desarrollos radiculares y en las variables de crecimiento aéreo de plantas de Raulí inoculadas con las ectomicorrizas *Laccaria laccata* y *Telephora terrestris*, pero comprueba una disminución

del efecto de las micorrizas producto de una fertilización adicional. Esto coincide con lo establecido por algunos autores en cuanto a que, el crecimiento del hospedero es mayor cuando la planta crece en suelos pobres en nutrientes (Donoso, 1981; Garrido, 1982).

5.3.1 Micorrización mediante suelo de bosque

Este método de bajo costo, en muchas ocasiones, ha entregado buenos resultados de inoculación con los hongos micorrícicos presentes en el suelo, permitiendo incrementos en el crecimiento de las plantas junto con una mayor protección a patógenos del suelo (Foto 32).

Los hongos introducidos de esta forma, podrían ser fácilmente adaptables a las condiciones locales. Por lo general, los viveros forestales que emplean esta metodología de inoculación ocupan gran cantidad de suelo de bosque o de áreas cercanas al vivero, lo que aporta cierta cantidad de esporas de hongos micorrícicos que actúan como inóculos para las nuevas plantas a producir, sin embargo,



Foto 33. Cuerpo frutal de *Telephora terrestris*.



Foto 34. Cuerpos frutales de *Scleroderma citrinum* (izquierda) y *Rhizopogon roseolus* (derecha).

la formación de micorrizas suele ser errática y sin ningún control en la selección específica de los hongos. Por otro lado, el uso de suelos sin esterilizar aumenta el riesgo de aparición de malezas y enfermedades radiculares y de cuello de raíz. Estas suelen ser difíciles de erradicar, disminuyendo notablemente la producción de plantas en el vivero.

La mayoría de las plantas de vivero se micorrizan a través de esporas que transporta el suelo, aire o agua de riego. Existen algunos hongos especializados en micorrizar plántulas, entre ellos el más frecuente es *Telephora terrestris* (Foto 33). Este hongo infecta los viveros produciendo reducidos efectos sobre el desarrollo de la planta, impidiendo por su eficiencia en la competencia por el espacio, que se puedan establecer otros hongos más beneficiosos. Las técnicas actuales permiten estudiar y seleccionar las especies fúngicas que proporcionan el máximo rendimiento a las plantas (Morcillo, 2000).

Este método no es recomendable para la micorrización de plantas a no ser que no existan otras formas de inoculación.

5.3.2 Micorrización mediante esporas

El uso de este tipo de inoculante es muy utilizado en los viveros forestales esencialmente con hongos que producen gran cantidad de esporas o cuerpos frutales. Esto permite inocular un gran número de plantas, como es el caso de *Scleroderma* y *Rhizopogon* (Foto 34), cuyos cuerpos de fructificación pueden ser bastante grandes, conteniendo un gran número de esporas en todo el tejido interno. Estos esporocarpos pueden ser usados para proveer inóculos esporales frescos o secos sin necesidad de requerimientos especiales en cuanto a procedimientos y equipamiento, pudiendo ser usado para la inoculación en vivero a gran escala.

La incorporación de esporas se puede realizar en soluciones acuosas, incluso directamente en



Foto 35. Esporas encapsuladas de alginato de calcio (izquierda) y en polvo diluido en agua para distribución en sistema de riego (derecha).

el sistema de irrigación del vivero. Otra forma es revolver este producto con las semillas un momento antes de la siembra (Garrido, 1986).

Para confeccionar estos inóculos, una vez colectados los cuerpos frutales, se deben limpiar extrayendo toda adherencia, cortándolos en trozos pequeños y eliminando los estípites. Estos pueden ser procesados mediante un secado y macerado del tejido, o por homogeneización de los cuerpos frutales en agua, dejándolos en un tamaño de partículas estándar para facilitar su utilización en sistemas de riego o para facilitar la encapsulación en alginato de calcio (Foto 35).

Las esporas secas o húmedas pueden ser guardadas en refrigeración a 4 °C, sin embargo, se recomienda utilizar esporas frescas y con una dosis de alta concentración. Generalmente, las esporas de los hongos cosechados pueden ser poco efectivo debido a la baja germinación o baja viabilidad, aunque se ha almacenado suspensión de esporas de diferentes especies del género

Rhizopogon hasta por tres años, sin una reducción significativa en la efectividad de la inoculación (Castellano y Molina, 1989).

Para todos los métodos de inoculación con esporas, las concentraciones de esporas pueden ser determinadas por un conteo de estas, mediante un submuestreo del inóculo con un hemocitómetro (contador de células). Generalmente una media de 106-108 esporas viables por plántula puede resultar suficiente para obtener elevados porcentajes de micorrización (Honrubia, 1995).

Para la aplicación de esporas mediante sistema de riego, se realiza inicialmente un humedecimiento inicial del sustrato de los contenedores durante un minuto, luego se aplican esporas durante dos minutos y, finalmente, un humedecimiento adicional durante dos minutos para que las esporas puedan descender dentro de cada cavidad.

Al igual que en la inoculación vegetativa, no todos los hongos pueden ser utilizados de



Foto 36. Utilización de biofermentador para una mayor producción micelial de hongos ectomicorrícicos (izquierda). Aspecto del crecimiento de micelio en vaso de 7 litros en condiciones controladas (derecha).

manera efectiva con este método. El inóculo no está libre de otros organismos y pudiera haber una probabilidad de contaminación, pero de acuerdo a Castellano y Molina (1989), no se encontró ningún efecto dañino en plantas que han sido inoculadas en forma esporal en ensayos realizados con diferentes inóculos durante 7 años. Sin embargo, y de acuerdo a estos autores, los cuerpos reproductores a utilizar en la elaboración de la suspensión, sólo pueden encontrarse en ciertas épocas del año, siendo la constitución genética de las esporas variable año a año y de lugar a lugar, a diferencia de la inoculación con micelio. Por otro lado, la micorrización de las plantas no se consigue en forma rápida como cuando se trabaja con inóculo micelar.

5.3.3 Micorrización mediante micelios

El inóculo micelar es el método más seguro y carente de riesgos de introducción de otros organismos no deseados, y el más efectivo y con el que se alcanza mayores porcentajes de

micorrización controlada en un menor tiempo. No obstante, requiere cierto conocimiento respecto a los aspectos propios de crecimiento y desarrollo de los hongos utilizados, siendo además costoso y de mayor complejidad en el manejo.

Este inóculo puede ser producido en medio líquido y/o sólido, y la forma de elaborarlo dependerá de las exigencias eco-fisiológicas de cada especie, entre estas se puede indicar:

- La posible acumulación en el medio de pigmentos polifenólicos;
- Rangos de pH;
- Nutrición nitrogenada;
- Disponibilidad de azúcares, entre otros.

La agresividad de cada cepa dependerá de la rapidez de crecimiento en el medio de cultivo y este a su vez de las condiciones de cultivo (pH, temperatura, agitación, oxigenación y oscuridad (Honrubia, 1995). Una técnica bastante utilizada para obtener este micelio, es el cultivo de hongos



Foto 37. Utilización de botellas y agitador orbital para producción a menor escala de micelio de hongos ectomicorrícicos (izquierda). Micelio de *Morchella* multiplicándose en botella en medio líquido (derecha).

en equipos de fermentación en medio líquido, los cuales permiten controlar estas variables y optimizar la producción (Foto 36).

Otro método comúnmente utilizado es el uso de botellas en agitación, para ello se requiere de un agitador orbital (Foto 37).

La incubación es otra técnica empleada, esta consiste en producir inóculos en grandes contenedores con sustrato sólido, como es el caso de la turba con vermiculita saturada y enriquecida con medio nutritivo. Una vez que el micelio ha invadido el sustrato, este es lavado con agua destilada estéril para eliminar el exceso de nutrientes, y así evitar una futura contaminación microbiana. Este sustrato obtenido podría ser usado inmediatamente, minimizando el riesgo por pérdida de viabilidad miceliar (Foto 38).

Otras formas de inoculantes son el uso de segmentos de agar con micelio en plantas bajo cultivo aséptico o la producción micelar en recipientes con solución nutritiva líquida o parcialmente solidificada bajo constante agitación. Su utilización es en forma directa a la planta como pasta disuelta en riego, previa fragmentación o envueltas en alginato, como una forma de protección contra la deshidratación del micelio.



Foto 38. Preparación de inóculo miceliar en sustrato sólido de vermiculita con turba.