

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

LEON

**FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



Tema

Evaluación de sustratos y micorrizas versículo-arbuscular en *Gliricidia sepium* y *Enterolobium cyclocarpum* en el vivero de la finca El Ojoche, junio 2006-junio2007.

Monografía para optar al grado académico de Licenciado en Biología

Presentada por: Br. Hanatt Fiorela Gómez Cruz.

Tutor: M.Sc Octavio Guevara Villavicencio.

León, Noviembre, 2007.

Dedicatoria

El presente estudio se lo dedico al Médico. Cristóbal Quiroz por su amor y ayuda incondicional brindada para que yo realizara mis estudios universitarios.

Agradecimiento

Agradezco a Dios por darme la vida, fuerza y voluntad para terminar mis estudios universitarios.

A los Licenciados Blas Santana Aguilar y Marlon Meléndez Rodríguez por su cooperación en la realización de este estudio.

Al M.Sc. Octavio Guevara por facilitarme el material utilizado en este estudio.

A la M.Sc. Carlota Jirón por su apoyo en la realización de la etapa de laboratorio en este estudio.

A mis amigos por su paciencia y el apoyo moral brindado.

RESUMEN

El presente estudio se llevo a cabo durante el período de junio de 2006 – junio de 2007. El ensayo de campo se realizó en el vivero de micorrizas en la finca “El Ojoche” de la UNAN-León ubicada aproximadamente a 1Km al sureste del “Técnico La Salle”, León, Nicaragua, estableciendo dos especies forestales: Madero negro (*Gliricidia sepium*) y Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*), en cuatro sustratos: Tierra (testigo), Compost, Compost + Cascarilla de arroz y Compost + Arena, donde se inoculó material micorrizógeno a 120 plantas (60 por especie) a una dosificación de 8 g de Mycoral por bolsa, otras 120 no fueron inoculadas (testigos). Los objetivos principales fueron determinar el efecto de cuatro sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de las plántulas, evaluar el efecto de la inoculación de MVA en ambas especies. Se registraron cada quince días durante tres meses las variables diámetro y altura. Al finalizar el estudio de campo se eligieron al azar 3 plantas por sustrato para un total de 12 por tratamiento y 24 por especie con el propósito de observar la colonización de raíces. El porcentaje de colonización micorrizógena se realizó a través del Método Slide modificado (Martínez 2003). Los resultados obtenidos en la especie *Gliricidia sepium*, para las variables diámetro y altura no existe diferencia significativa entre tratamientos, para el porcentaje de colonización micorrizógena existe diferencia significativa (0.00) entre tratamientos; no existe diferencia significativa entre sustratos para las variables diámetro y porcentaje de colonización micorrizógena, pero si una diferencia significativa mínima (0.047) para la variable altura. En la especie *Enterolobium cyclocarpum*, se encontró diferencia significativa entre tratamientos para las variables altura (0.014) y porcentaje de colonización micorrizógena (0.00), pero no existe diferencia significativa entre tratamientos para el diámetro) y no existe diferencia significativa entre los sustratos en ninguna de las variables. El tratamiento inoculado produjo mejor porcentaje de colonización micorrizógena y mayor altura en el sustrato 3 (compost+arena) para *Gliricidia sepium* sin diferencia entre sustratos para *Enterolobium cyclocarpum*.

INDICE

	Nº página
I. Introducción	1
II. Marco teórico	2
a. Sustratos	2
i. Propiedades físicas de los sustratos	2-4
ii. Propiedades químicas de los sustratos	4-5
iii. Características de algunos materiales para la elaboración de sustratos	6-7
b. Micorrizas	7
i. Importancia de las micorrizas para las plantas	8-9
ii. Importancia de las micorrizas para los suelos	10-11
iii. Relación micorriza planta	11
iv. Tipos de micorrizas	11-14
v. Distribución y ecología de los MVA en el suelo	15
c. Especies forestales	16
i. Guanacaste (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>)	16
ii. Madero negro (<i>Gliricidia sepium</i>)	17-18
III. Objetivos	19
IV. Materiales y métodos	20-25
V. Resultados y discusión	26-33
VI. Conclusión	34
VII. Recomendaciones	35
VIII. Bibliografía	36
IX. Anexos	37-39

I. Introducción

En Nicaragua uno de los principales problemas a los que se enfrenta un productor de plantas es disponer de una gran cantidad de sustrato de buena calidad, que permita un adecuado desarrollo de las plantas y que reduzca los costos de producción. El tipo de sustrato que se use afecta al desarrollo de la plántula, resultando, un bajo estándar de calidad de plantas, reduciendo significativamente la sobrevivencia y la productividad de las plantaciones forestales incluido su sistema radical (Lanuza, 2001).

El sustrato utilizado tradicionalmente en los viveros consiste en una mezcla de tierra y arena gruesa, los bajos niveles de microorganismos benéficos en este tipo de sustratos reducen la disponibilidad de nutrientes para las plantas, por lo que baja la tasa de crecimiento y por ende disminuye la capacidad de soportar el estrés ambiental, periodos de sequía y la presencia de enfermedades en las plántulas (Honrubia, 1995)

En esta investigación se pretende comparar el efecto entre los diversos sustratos orgánicos y Micorrizas Vesículo Arbusculares (MVA), estimulando así, el crecimiento y desarrollo de las plantas forestales priorizadas. Dentro de este contexto es importante señalar que la micorrización controlada en vivero consigue sistemas rizosféricos más potentes, lo que se traduce en mayor vigor de la plántula, con incremento de altura, diámetro de su tallo y del número de ramificaciones, y es difícilmente atacado por patógenos.

II. Marco teórico

a. Sustratos

Es todo material sólido distinto del suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radicular de la planta, desempeñando por tanto, un papel de soporte para la planta. El sustrato puede intervenir o no en el complejo proceso de la nutrición mineral de la planta.

Hay cuatro funciones con las que debe cumplir un medio para mantener un buen crecimiento de las plantas.

- Proporcionar un anclaje y soporte para la planta.
- Retener humedad de modo que esté disponible para la planta.
- Permitir el intercambio de gases entre las raíces y la atmósfera.
- Servir como depósito para los nutrientes de la planta.

i. Propiedades físicas de los sustratos.

-Densidad aparente:

Se le denomina al peso seco del mismo por unidad de volumen que incluyen todos los espacios ocupados por aire y materiales orgánicos. Esta característica es frecuentemente utilizada para estimar la capacidad total de almacenaje del medio de cultivo y su grado de compactación

Un sustrato con baja densidad aparente resulta económicamente beneficioso, debido a que mejora significativamente la capacidad operacional del medio de cultivo, disminuyendo los costos de transporte y manipulación de materiales (Calderón 2007)

Porosidad:

La porosidad de un sustrato consiste en el volumen total que no está siendo ocupado por partículas sólidas, minerales u orgánicas. La administración de los flujos de agua y aire dentro de un sustrato dependerán, principalmente, de la calidad del espacio poroso del medio. Sin embargo, no es suficiente que el sustrato posea una elevada porosidad total, sino que es necesario que ésta se encuentre convenientemente repartida entre poros de gran tamaño o macroporos, que se hallan ocupados por aire, y poros de menor tamaño o microporos que alojan agua en su interior. Al igual que en pleno suelo, los poros en un sustrato están determinados por la irregularidad en la forma de sus partículas primarias y agregados, implicando una alta heterogeneidad en el tamaño, forma y dirección de los mismos (Calderón, 2007)

-Aireación:

Todas las plantas necesitan oxígeno para respirar. Desde el punto de vista de la planta una condición óptima es aquella donde el intercambio gaseoso con la atmósfera es rápido. El tipo de material utilizado, el tamaño y continuidad de sus poros, la temperatura, profundidad, humedad y actividad microbiológica de los sustratos, son aspectos que deben considerarse para entender la dinámica de los gases dentro de un medio de cultivo.

La utilización de sustratos en contenedores de volumen reducido modifica las propiedades de aireación y retención de agua del medio, afectando el normal crecimiento y desarrollo de las plantas. Múltiples investigaciones han encontrado importantes diferencias en la capacidad de intercambio gaseoso al modificar la naturaleza de los materiales del sustrato. Sustratos a base de cortezas, fibras de madera, perlita y turba, han mostrado algún grado de dificultad al paso del aire, debido al pequeño tamaño o discontinuidad de sus poros (Calderón, 2007)

-Retención de agua:

El agua cumple un papel fundamental en la dinámica del continuo sustrato-planta-atmósfera, debido a su participación en la mayoría de los procesos metabólicos de la planta. Junto con esto, el agua favorece la penetración de las raíces, a través de la lubricación del sustrato, y permite la absorción de los nutrientes.

Dentro de un sustrato, el agua es retenida de dos formas, como una delgada película que envuelve las partículas y agregados, adsorción, o en fase líquida dentro de los poros de menor tamaño. La cantidad total de agua retenida por un sustrato en un contenedor dependerá de la proporción de poros de pequeño tamaño y del volumen del contenedor.

Un sustrato puede presentar una pobre retención de agua fácilmente disponible cuando:

- 1) Su porosidad total es baja
- 2) Los poros son grandes y gran parte del agua se pierde por gravedad.
- 3) Los poros son muy pequeños y la planta no es capaz de extraer una parte importante del agua.
- 4) Existe una elevada concentración de sales en la solución acuosa.
- 5) Una combinación de las situaciones anteriores (Calderón, 2007)

ii. Propiedades químicas de los sustratos.

La reactividad química de un sustrato se define como la transferencia de materia entre el sustrato y la solución nutritiva que alimenta las plantas a través de las raíces. Esta transferencia es recíproca entre sustrato y solución de nutrientes y puede ser debida a reacciones de distinta naturaleza:

Química: Se deben a la disolución e hidrólisis de los propios sustratos y pueden provocar:

-Efectos fitotóxicos por liberación de iones H^+ y OH^- y ciertos iones metálicos como el Co^{+2} .

-Efectos carenciales debido a la hidrólisis alcalina de algunos sustratos que provoca un aumento del pH y la precipitación del fósforo y algunos microelementos.

-Efectos osmóticos provocados por un exceso de sales solubles y el consiguiente descenso en la absorción de agua por la planta.

Físico-químicas:

Son reacciones de intercambio de iones. Se dan en sustratos con contenidos en materia orgánica o los de origen arcilloso (arcilla expandida) es decir, aquellos en los que hay cierta capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.). Estas reacciones provocan modificaciones en el pH y en la composición química de la solución nutritiva por lo que el control de la nutrición de la planta se dificulta.

Bioquímicas:

Son reacciones que producen la biodegradación de los materiales que componen el sustrato. Se producen sobre todo en materiales de origen orgánico, destruyendo la estructura y variando sus propiedades físicas. Esta biodegradación libera CO₂ y otros elementos minerales por destrucción de la materia orgánica.

Normalmente se prefieren sustratos inertes frente a los químicamente activos. La actividad química aporta a la solución nutritiva elementos adicionales por procesos de hidrólisis o solubilidad. Si éstos son tóxicos, el sustrato no sirve y hay que descartarlo, pero aunque sean elementos nutritivos útiles entorpecen el equilibrio de la solución al superponer su incorporación un aporte extra con el que habrá que contar, y dicho aporte no tiene garantía de continuidad cuantitativa (temperatura, agotamiento, etc). Los procesos químicos también perjudican la estructura del sustrato, cambiando sus propiedades físicas de partida (Tipos De sustratos de cultivo, 2006)

Características de algunos materiales para la elaboración de sustratos en viveros

-Suelo:

Los suelos clasificados como francos arenosos o francos son ingredientes buenos para la preparación de mezclas con suelo. Los francos tienen las características físicas deseables de las arcillas y las arenas sin mostrar las propiedades indeseables de soltura extrema, baja fertilidad, y baja retención de humedad por un lado, y adherencia, compactación, drenaje y movimiento lento del aire por el otro. Puesto que los problemas que envuelven el drenaje y la aireación son acentuados cuando el suelo es colocado en un recipiente, el franco o el franco arenosos son preferidos a los francos limosos o arcillosos.

Los suelos arenosos generalmente están bien drenados y la aireación no es problema cuando son utilizados para cultivos en recipientes. Los nutrientes para

las plantas y en particular los elementos traza, son relativamente bajos. La humedad y la retención de nutrientes en estos suelos pueden ser mejorados por la adición de materia orgánica (Características de los sustratos utilizados por los viveros forestales, 2006).

-Compost:

No se refiere a un material específico sino a un proceso que bien conducido mejora las propiedades físicas y da un balance a la relación C:N en el material orgánico utilizado para la producción de sustratos. Un buen compostado puede producir un material con casi todas las propiedades de un buen sustrato, peso ligero, buena capacidad de retención de humedad,

sin

ser demasiado caro (Características de los sustratos utilizados por los viveros forestales, 2006).

-Arena:

El tamaño de la partícula de arena es un factor crítico en la selección de este componente. Las arenas finas contribuyen muy poco en mejorar las condiciones del sustrato, y su uso puede resultar en una reducción del drenaje y la aireación; además algunas arenas pueden contener limo y arcilla por lo que se deben lavar, ya que esto provoca una costra en la superficie y una compactación mayor a la deseada (Características de los sustratos utilizados por los viveros forestales, 2006).

-Cascarilla de arroz:

Esta es de peso ligero, uniforme en grado y calidad, resistente a la descomposición, con menos efectos de reducción de nitrógeno por los microbios del suelo y mejora el drenaje del sustrato. Es un material rico en carbono, potasio y calcio (Características de los sustratos utilizados por los viveros forestales, 2006).

b. Micorrizas

El botánico alemán Albert Bernard Frank, en el año 1885, creó el término Micorriza, para designar la asociación que se producía entre las hifas de algunos hongos del suelo, con los órganos subterráneos de la gran mayoría de las plantas superiores.

Actualmente se define como la asociación simbiótica entre determinadas especies de hongos del suelo y las raicillas de diferentes especies de plantas (Páez ,2006)

Importancia de las micorrizas para las plantas

Mejora la asimilación de los nutrientes en las plantas, que facilita un aumento de la producción y mayor calidad biológica de ésta.

Una mayor tolerancia de las plantas frente a muchos factores de estrés: sequía, desequilibrios en el pH, altos contenidos de sales, exceso de viento, entre otros. Esto se debe a que facilita una adecuada evo-transpiración de la planta y un mejor funcionamiento fisiológico de éstas en sentido general.

Al estar mejor nutridas las plantas, promueve en éstas una mayor resistencia frente a organismos patógenos, mejorando su salud sin aplicación de agrotóxicos.

Es sumamente importante para el crecimiento de las plantas. Ello tiene una mayor significación, en aquellas zonas o regiones, en las cuales los factores importantes para la producción agrícola, se encuentran por debajo del estado óptimo para el desarrollo de las plantas (dunas de arena, suelos pobres, superficies devastadas, etc.). Pero también en el cultivo de plantas bajo buenas condiciones en comparación con otras, se obtienen efectos visibles muy positivos después de una inoculación suplementaria con Micorriza.

El desarrollo óptimo de los cultivos demanda una elevada aplicación de fertilizantes minerales y pesticidas. El uso de dichos insumos químicos implica no solo un costo y requerimientos energéticos elevados, sino que su aporte indiscriminado pudiera provocar problemas de salinización y contaminación del manto acuífero. El empleo de las micorrizas significa un ahorro de insumos y una mejor protección del medio ambiente.

La inoculación de las plantas con hongos micorrizógenos provoca, de manera general, un marcado incremento en los procesos de adsorción y traslocación de nutrientes como: N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Mo, Fe, Mn, entre otros.

Un aspecto de gran interés en el empleo de las Micorrizas es lo relacionado a la nutrición del Fósforo (P). Éstas desempeñan un importante papel en la toma del P presente en los suelos principalmente en las zonas tropicales donde las cantidades de P asimilables a las plantas son frecuentemente bajas:

- Generalmente bajo estas condiciones, en la zona de crecimiento radical ocurre un rápido agotamiento del P, debido al pobre suministro del mismo provocado por la alta capacidad de fijación del elemento en el propio suelo. Los mecanismos químicos involucrados en la absorción de este elemento por el hongo se desconocen, sin embargo se sabe que toma el P en forma de ion ortofosfato y lo transporta a través de las hifas en forma de polifosfato.

- Se logra una mayor eficiencia en el uso de los fertilizantes fosfóricos aplicados en suelos deficientes y con elevada capacidad de fijación de fosfatos, predominantes en las zonas tropicales.

- Además del efecto directo sobre el crecimiento de las plantas, el favorecimiento en la absorción del P, aumenta el crecimiento de las raíces y la fijación biológica de N en plantas, el cual es deficiente en la mayoría de los suelos tropicales.

Induce a una mayor resistencia de las plantas a las toxinas liberadas en el suelo.

Por su parte, en suelos afectados por los efectos negativos de los metales pesados, se ha comprobado que las plantas micorrizadas poseen mayor resistencia, gracias a la capacidad que obtiene para inmovilizar los metales en la raíz, impidiendo que éstos pasen a la parte aérea de la planta (Páez ,2006).

Importancia de las micorrizas para los suelos

Prolongan el sistema radical de las plantas, y ello facilita una mayor retención física de partículas del suelo, limitando los efectos dañinos de la erosión causada por el agua.

Son regeneradoras de suelos degradados, ya que al facilitar el mejoramiento de la estructura de éste, se incrementa sus posibilidades de retención de humedad, aireación y descomposición de la materia orgánica.

La presencia de estas en los suelos, moviliza una gran cantidad de nutrientes que antes no estaban a disposición de las plantas, por lo que incrementa la fertilidad de éstos. En la medida que los suelos sean menos fértiles se necesitarán mas estructuras fúngicas para lograr una mayor eficiencia micorrízica.

Las Micorrizas mejoran la capacidad productiva de suelos poco productivos, como los afectados por la desertificación, la salinización, la erosión hídrica y eólica.

Otro de los efectos más interesantes de las Micorrizas en el suelo, es su papel en relación con el ecosistema en el que se desarrollan; así interaccionan con diversos microorganismos del suelo, estableciendo provechosas cooperaciones con unos y compitiendo con otros generalmente de tipo patógeno, e incluso interactuando con la microfauna de la rizósfera (Nemátodos, Afidos, Acaros, entre otros).

Prolongan la vida de los suelos agrícolas productivos, contribuyendo a su uso más diverso, económico y ecológico.

En zonas áridas y semiáridas, pueden ayudar a las plantas simbiotes a captar agua para tolerar el estrés hídrico.

Generan sustancias aglomerantes (glomalina), que actúan como cemento o aglutinantes, promoviendo una mayor capacidad y estabilidad física, química y biológica de los suelos (Páez ,2006).

iii. Relación micorriza planta

- Las raicillas de la plántula segregan sustancias en su metabolismo, que son atractivas para las micorrizas.
- Las esporas de las micorrizas maduran, se convierten en hifas e inician la aproximación a las raíces.
- Las hifas forman una tupida red de tubos que envuelven a las raíces como un guante.
- Las hifas invaden el interior de las raíces, bordean a las células que la forman.
- Las hifas forman una cabellera adicional de absorción, en torno a las raíces, de varios kilómetros por hectárea.
- La redcilla, extrae el fósforo, el nitrógeno y otros minerales del suelo, y lo transporta junto con el agua hacia las células de las raíces.
- En el interior de las células, se forman las estructuras arbusculares que almacenan las sustancias que han extraído las hifas del suelo.
- La planta absorbe estos nutrientes por medio de su sistema vascular de conducción y lo distribuye por los tejidos de acuerdo a sus necesidades (Micorrizas, 2004)

iv. Tipos de Micorrizas

Diferentes taxónomos declaran que existen varios tipos o grupos de Micorrizas, aunque los de mayor importancia se distribuyen en dos grupos: *Ectomicorrizas* y *Endomicorrizas*

- Ectomicorrizas: El hongo crece entre las células de la raíz, rodeándolas sin penetrarlas, formando una estructura característica, la "red de Hartig". Además las raíces están rodeadas por una vaina formada por el hongo, llamada manto fúngico; las hormonas que secreta el hongo provocan la ramificación de la raíz, que adopta un aspecto característico esponjoso y ramificado. El micelio se extiende mucho hacia el suelo. Los pelos absorbentes a menudo están ausentes, siendo reemplazados por las hifas fúngicas.

Los hongos que forman ectomicorrizas son basidiomicetes en su mayoría, pero hay también muchos ascomicetes. Son características de ciertos grupos de árboles y arbustos de regiones templadas: Fagaceas (robles), Salicaceas (alamo, sauce), Pinaceas, y árboles como *Eucalyptus* y *Nothofagus* que habita en las zonas límites del crecimiento de árboles. Las asociaciones son muy específicas (Páez ,2006).

- Endomicorrizas: El micelio es capaz de introducirse en el interior de las células de la raíz gracias a los haustorios que desarrolla. Las hifas que forman los arbuscúlos tienen muchas vacuolas con muchos gránulos de polifosfato. Para penetrar la hifa, adelgaza mucho su pared a la par que adelgaza la pared vegetal, aunque el contacto nunca es íntimo, siempre está la membrana celular rodeando a la hifa en la zona de intercambio.

La raíz también presenta caracteres externos, a pesar de tratarse de una endomicorriza, como son:

- Raíces secundarias con un ensanchamiento terminal que es colonizado por el hongo
- Micelio moniliforme (en forma de cuentas de rosario)
- La célula vegetal sin hifas tiene el núcleo periférico, pero con una hifa asociada, tiene una posición más central (Páez ,2006).

Podemos encontrar diferentes tipos de endomicorrizas:

Ectendomicorrizas:

- A veces forman un manto alrededor de las raíces, dependiendo de las características del suelo.
- Tienen red de Harting
- Las hifas penetran al interior de las células formando unos tirabuzones llamados Coil
- La forman principalmente Basidiomycotina y Ascomycotina con árboles y arbustos de Gimnospermas y Angiospermas

Arbutoide:

- Forman manto alrededor de las raíces
- Tienen red de Harting
- Forman Coil
- La forman sólo los Basidiomycotina con *Arbutus* y *Arctostaphylos*

Monotropoide:

- Tienen manto en las raíces
- Forman una red de Harting
- El haustorio no se ramifica en Coil
- Sólo la forman los Basidiomycotina con Monotropáceas

Ericoide:

- No forman ni manto ni red de Harting
- Forman Coil
- Sólo la forman los Ascomycotina con Ericales

Orquideoide:

- No forman ni manto ni red de Harting
- Sí forman Coil, a veces hay haustorios no ramificados
- Aparece entre algunos Basidiomycotina (*Armillaria mellea*) con orquídeas (son muy dependientes de la micorriza pues la semilla tiene poco endospermo y la micorriza ayuda en la germinación).

Vesículo arbusculares o arbusculares:

- No forman ni manto ni red de Harting
- Forman arbusculos en el interior de las células
- Forman vesículas, órganos de reserva del hongo que funcionan también como órgano de reproducción vegetativa.
- La forman tan sólo seis géneros de Zygomycotina (*Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Sclerocystis*, *Entrophospora* y *Scutellospora*) con herbáceas, Gimnospermas, Angiospermas, incluso helechos, algas y briófitos (Micorrizas ,2007)

v. Ecología de las Micorrizas

Muchos son los factores que afectan que afectan la formación y desarrollo de las micorrizas, La fotosíntesis es uno de los mas importantes, pero el manejo de los cultivos, la abundancia del inóculo en los suelos, la susceptibilidad de la planta, las condiciones de temperatura humedad, pH, estación del año, afectaran el grado y la eficiencia de la asociación.

Fotosíntesis: con CO₂ se demostró la transferencia de compuestos carbonados hacia el hongo. Sombreado o corte de la parte aérea afectan la micorrización. El efecto estacional incide en la colonización, esta aumenta en la estación de activo crecimiento vegetal.

La incidencia de la micorrización es mayor cuando la actividad biológica del cultivo es mas intensa.

Se reconocen tres fases en el desarrollo de las endomicorrizas

- Una latencia inicial, atribuida al desarrollo de las plántulas y germinación de esporas, el crecimiento del tubo de germinación y la colonización (20-25 días).

- Intenso desarrollo de la micorriza, de unos 30 días. Coincide con crecimiento de la parte aérea y del micelio externo, facilitando las colonizaciones.

- Fase de equilibrio, donde la proporción de raíces micorrizadas y no micorrizadas permanece constante, coincide con la etapa de fructificación del hospedante y continua hasta la senectud (Frioni, 1999)

Especies forestales

i. Guanacaste (*Enterolobium cyclocarpum*):

Descripción

Árbol de 30 m de altura y hasta 3 m de diámetro a la altura del pecho. Fuste cilíndrico con pequeñas gambas, copa muy grande y extendida. Corteza lisa a ligeramente fisurada color gris claro a pardusco con lenticelas elípticas suberizadas de 0.5 a 1 cm. Hojas compuestas, bipinadas, alternas con 5 a 15 pares de pinas y cada pina con 20 a 30 pares de hojuelas. Inflorescencia en cabezuelas axilares con flores pequeñas, sésiles color blancuzco a verde claro con numerosos estambres. Frutos en vainas enroscadas, leñosas, lustrosas, indehiscentes de color café claro a oscuro cuando maduras, y conteniendo de 10 a 15 semillas ovoideas y aplanadas.

Distribución

Es nativo de América encontrándose desde México a través de Centroamérica, Cuba y Jamaica hasta el Norte de América del Sur, su distribución es amplia en Nicaragua especialmente en la región del pacifico y en la región central. Crece tanto en climas secos y calientes como en húmedos y frescos.

Silvicultura

La recolección de semillas es en el mes de Abril. La semilla recibe un pretratamiento que consiste en sumergir en agua hirviendo las semillas. El periodo de germinación oscila entre 4 a 15 días y la permanencia en el vivero es de 4 a 6 meses.

Naturalmente en esta especie se encuentran endomicorrizas.

Usos: Es muy útil en sistemas silvopastoriles por su potencial forrajero y como sombra para el ganado. La madera es dura, de peso liviano y fácil de trabajar. Es utilizada para láminas de plywood, madera para construcción,

así como para la elaboración de ruedas para carretas (Alegría y Lanuza, 1995)

ii.

Madero negro (*Gliricidia sepium*):

Descripción

Es un árbol de tamaño pequeño a mediano, alcanzando alturas entre 6 y 20 m, y diámetros de 25 a 60 cm.

El tronco es un poco retorcido, ramas arqueadas, copas irregulares. Corteza externa de color gris blancuzco, a veces amarillento. Hojas compuestas alternas imparipinadas con 7 a 9 hojuelas de 3 a 36 cm de largo y 3 a 12 cm de ancho. Las hojas caen durante el verano y a continuación se da la floración. Inflorescencia en racimo con flores de color blanco rosadas. Frutos en vainas dehiscentes aplanadas de 5 a 20 cm de ancho conteniendo de 3 a 10 semillas.

Distribución

Es una especie nativa de América, donde se extiende desde México y América Central hasta América del Sur; naturalizada en Colombia, Guayana y Las Antillas. En Nicaragua se encuentra en la Región del Pacífico y la Región Central, formando rodales naturales; también se reporta en la región Atlántica (en las minas Siuna, etc.)

Silvicultura:

En la costa pacífica de América Central la producción de semilla se inicia a finales de enero y se extiende hasta comienzos de abril. Las semillas cuando están frescas tienen un alto porcentaje de germinación entre 90 a 100 por ciento sin necesidad de pretratamiento germinativo. La propagación en vivero puede hacerse por tres métodos: plantas en bolsas, estacas y siembra directa. El tiempo de permanencia en el vivero es de 3 a 4 meses. Naturalmente en esta especie se encuentran endomicorizas.

Usos:

Es usada en construcción pesada, postes, mangos de herramientas, artículos pequeños, implementos agrícolas. Excelente para leña, protección y restauración de suelo por ser fijador de nitrógeno; producción de forraje y abonos verdes. También se usa en cercas vivas, sombra de café, soportes vivos para cultivos de uvas, granadillas (Alegría y Lanuza, 1995)

Objetivos

General:

- Determinar la combinación sustrato y tratamiento que mejore el crecimiento de las plántulas.

Específicos:

- Determinar el efecto de cuatro sustratos sobre el crecimiento y desarrollo de las plántulas.
- Evaluar el efecto de la inoculación de MVA en las especies forestales

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental: Se utilizó un diseño factorial de tres factores (2x4x2) en un bloque dividido, donde los factores fueron:

Factor A. Dos especies de árboles

Factor B. Cuatro sustratos

Factor C. Inoculado o no con MVA

Para medir la altura y diámetro, se hicieron 3 repeticiones teniendo como unidad experimental 5 plantas por cada combinación de especie, sustrato, e inoculado, para un total de 240 plantas. Para medir el porcentaje de colonización por MVA se tomaran tres plantas por cada combinación sustratos y tratamientos, para un total de 48 plantas muestreadas.

Especies forestales

Tabla 1. Especies forestales utilizadas.

Nombre Común	Nombre Científico	Familia
1. Guanacaste	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	<i>Mimosaceae</i>
2. Madero negro	<i>Gliricidia sepium</i>	<i>Fabaceae</i>

Las semillas de las especies forestales fueron proporcionadas por el Centro de Mejoramiento Genético y Banco de Semillas Forestales (CMG-BSF).

Sustrato

Compost mixto: procedente de la colecta suelo comportado elaborado con residuos vegetales y estiércol de la finca “El Ojoche” de la UNAN-León ubicada aproximadamente a 1Km al sureste del “Técnico La Salle”. León, Nicaragua.

Dichos residuos son:

Tallos y frutos de musáceas.

Hojas de musáceas, espino dulce, mango.

Estiércol de ganado vacuno y equino.

Desechos vegetales de canavalia y desechos vegetales caseros.

Cascarilla de arroz: Procedente de Trío Arrocerero ubicado en el municipio de León, ubicado en la entrada de la comunidad “La Ceiba” de Chinandega.

Arena Volcánica: Procedente de las erupciones del Volcán Cerro Negro en la zona de los Lechecuago.

Tierra: Procedente de la finca el ojoche.

Una vez adquiridos los materiales de campo se llevó a cabo el siguiente proceso:

Preparado de los Sustratos:

Cada material a utilizar fue zarandeado antes de ser sometido a la mezcla.

Tabla 2. Tratamientos utilizados.

Tratamientos	Descripción	Código
1	Tierra	Testigo
2	Compost	C
3	Compost + Arena	CA
4	Compost + Cascarilla de arroz	CCa

Nota: T3: 2: 1 v/v y T4: 2: 1 v/v

Micorriza

Se empleó un inóculo endomicorrizógeno cuyas cepas son de origen colombiano, el cual está compuesto de raíces infectadas, micelio y suelo con esporas, conteniendo diferentes especies de esporas pertenecientes a tres diferentes géneros de hongos endotróficos (Ver Tabla 3).

Tabla 3. Especies contempladas en el inóculo endomicorrizógeno (Mycoral: Hongos Vesículo-Arbusculares).

Tipo de Micorriza comercial	Nombre Científico	Lugar de Origen	Nombre
MVA MYCORAL	<i>Glomus spp.</i>	Colombia	
MVA	<i>Acaulospora spp.</i>	Colombia	
MVA	<i>Entrophospora spp.</i>	Colombia	

Siembra e Inoculación con MVA: Como se cita anteriormente, se emplearon 4 tipos de materiales (compost mixto, cáscara de arroz, arena volcánica y tierra) para la elaboración de los diferentes sustratos. Los cuatro sustratos fueron inoculados o no con MVA vertiendo 8 gr. del inóculo, a profundidad de 1cm en cada bolsa.

Variables medidas: A partir de los 30 días después de la siembra se realizaron mediciones cada 15 días, durante 90 días (3 meses).

a)

Altura (cm): Esta consistió en medir la altura de todas las plantas de cada una de las 2 especies forestales en los diversos sustratos, esta se midió desde la base del tallo hasta el ápice terminal de las mismas con una cinta métrica.

b) Diámetro (mm): Esta se midió a los 2cm de la base del tallo con un vernier digital.

Variables a medir al finalizar el período de campo.

A los 4 meses después de la siembra se procedió de la siguiente forma:

A las 48 unidades experimentales se les trasladó al Laboratorio de Microbiología de suelo ubicado dentro de las instalaciones del Campus Agropecuario de la UNAN-León donde se les retiró las bolsas dejando al descubierto el sustrato con el sistema radicular de las plantas en estudio, se aisló de forma manual el sustrato adherido al sistema radicular, finalmente dicho sistema se sometió a enjuagues en una pana plástica para separar gránulos de sustrato no deseado.

Una vez colectadas las raíces de cada especie forestal se enjuagó con agua destilada y se seleccionaron las raíces mas finas y delgadas, luego se escurrieron sobre papel secante.

Fijación de raíces en solución FAA:

Las raíces se colocaron dentro de placas de Petri de plástico para someterlas a fijación en 0.5 ml de solución FAA (Formaldehído- Acido acético y Alcohol etílico); cuya preparación fue la siguiente: 5 ml de Formaldehído al 37%, 2.5 ml de Ácido acético glacial y 25 ml de Alcohol etílico glacial los que se aforaron con 17.5 ml de Agua destilada, dichas placas fueron tapadas, selladas con parafilm y luego guardadas a 4°- 5° Celsius para su posterior análisis (Martínez ,2003).

Porcentaje de Colonización micorrizógena: Se realizó a través del Método Slide modificado. La cuantificación radicular se realizó a través de los correspondientes procedimientos y respectivas técnicas que a continuación se detalla:

Observación de colonización: Técnica de tinción de raíz

Se empleó la técnica de tinción de raíz y observación de infección intraradicular, en la que se hace uso de Azul de Tripano. Las raíces se lavaron con agua destilada para eliminar la solución FAA, luego se depositaron dentro de rejillas de plásticos (Fisher Omnisette). Se dispuso en un Beaker de 400 ml la cantidad de 100 ml de KOH al 10% se colocó sobre una cocina eléctrica, se calentó hasta alcanzar los 80° Celsius y hasta entonces se incorporaron las rejillas por 30 minutos, después se decantó el KOH y las raíces se lavaron con agua corriente por cinco veces. Las rejillas se sometieron a inmersión en H₂O₂ al 3% durante 10 minutos a ≤ 50° Celsius, y nuevamente se enjuagaron por cinco veces con agua.

Se cubrieron las rejillas con HCL al 10 %. Se decantó el HCL sin realizar lavados. Se preparó el Azul de Tripano al 0.05 % en lactoglicerol se calentó hasta alcanzar los 80° Celsius, se adicionaron las rejillas por separado (tratamientos) manteniéndolos a esta temperatura por 30 minutos, luego se dejó enfriar hasta que la temperatura bajó a 50 ° Celsius, se decantó el colorante y las raíces se enjuagaron una sola vez con agua. Posteriormente se colocaron las raíces en placas de Petri que contenían lactoglicerol, luego se sellaron con Parafilm y se conservaron en refrigeración de 4° - 5° Celsius (Martínez ,2003).

Porcentaje de colonización radicular (P.C.): Slide modificado

Después de haber sido teñidas las raíces se determinó el porcentaje de colonización micorrizógena (P.C.), se utilizó el procedimiento sobre láminas de portaobjetos. Se procedió de la siguiente forma:

Las raíces teñidas se distribuyeron al azar en una placa de Petri plástica (con muy poco de lactoglicerol), se seleccionaron 30 raíces teñidas (por planta) de 1 cm. de longitud con ayuda de una pinza las que se depositaron sobre una lámina portaobjetos cubiertas con un cubreobjetos. Se observaron las raíces en el microscopio con los objetivos de 10 y 40X de aumentos. El movimiento de la lámina se realizó de forma transversal a las raíces por medio del carro portaobjetos, pasando 3 veces por cada segmento de raíz a distancias equidistantes, de manera que el objetivo las interceptara. Cada intersección representó un campo positivo (colonizado) o negativo (no colonizado). Se contó la intersección como colonizada si se observó que en la raíz existía alguna estructura fúngica (arbúsculos, vesículas o hifas), independientemente de la intensidad de micorrización entonces se le asignó el valor de 1, para el cálculo del Porcentaje de Colonización se aplicó la fórmula

$$P.C. = \frac{\text{No. de campos colonizados} \times 100}{\text{No. total de campos interceptados}}$$

(Martínez ,2003).

Análisis estadístico

El paquete estadístico utilizado es el SPSS versión 12.0. Las pruebas realizadas fueron las de Kruskal Wallis (diferencia entre grupos) y la de Mann-Whitney U (comparaciones entre grupos).

IV. Resultados y discusión

En la especie *Gliricidia sepium*, para las variables diámetro (gráfico 1) y altura (Gráfico 2) según la prueba estadística de Mann-Whitney U, no existe diferencia significativa entre tratamientos, para el porcentaje de colonización micorrizógena (Gráfico 3) existe diferencia significativa (0.00) entre tratamientos, (ver Tabla 1).

Gráfico 1

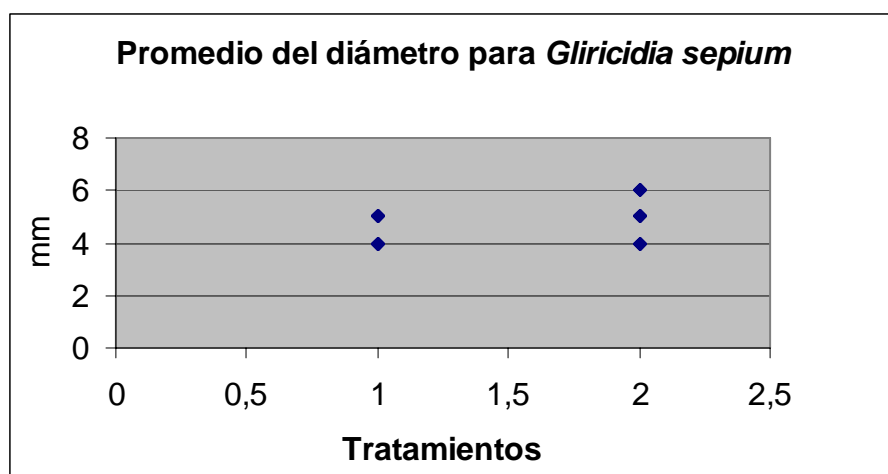


Gráfico 2

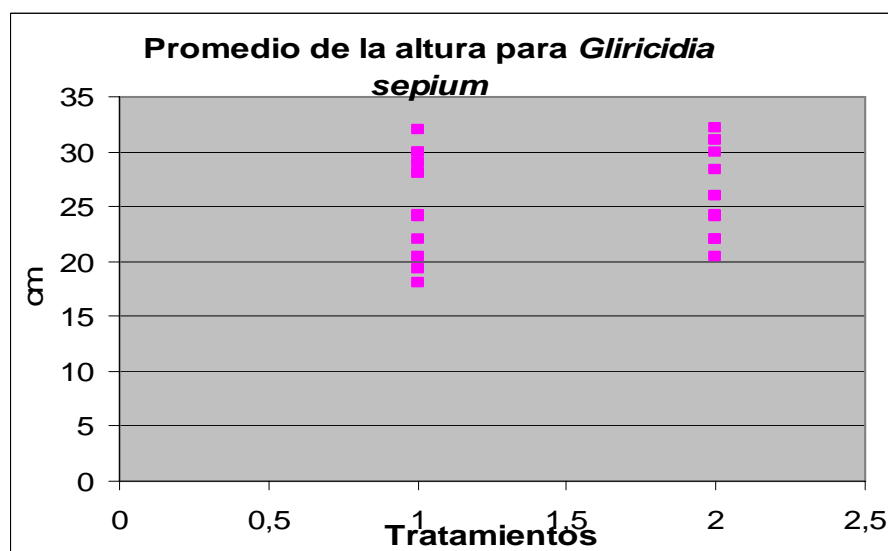


Gráfico 3

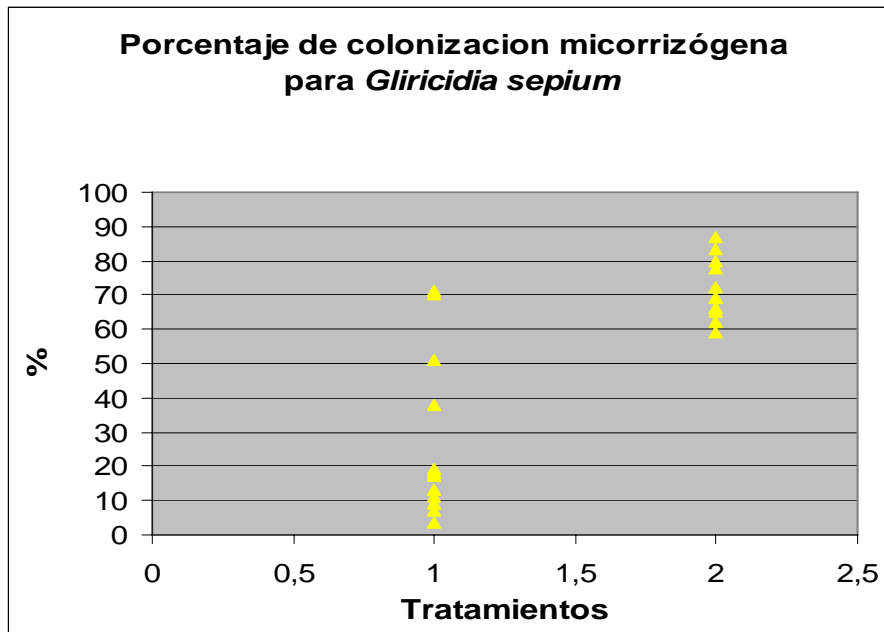


Tabla 1

Prueba de Mann-Whitney U

Diferencia entre tratamientos para *Gliricidia sepium*

Variables	Diámetro	Altura	% colonización
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.242(a)	.551(a)	.000(a)

Según la prueba de Kruskal Wallis no existe diferencia significativa entre sustratos para las variables diámetro (Gráfico 4) y porcentaje de colonización micorrizógena (Gráfico 6), pero si una diferencia significativa mínima (0.047) para la variable altura (Gráfico 5), (ver Tabla 2).

Gráfico 4

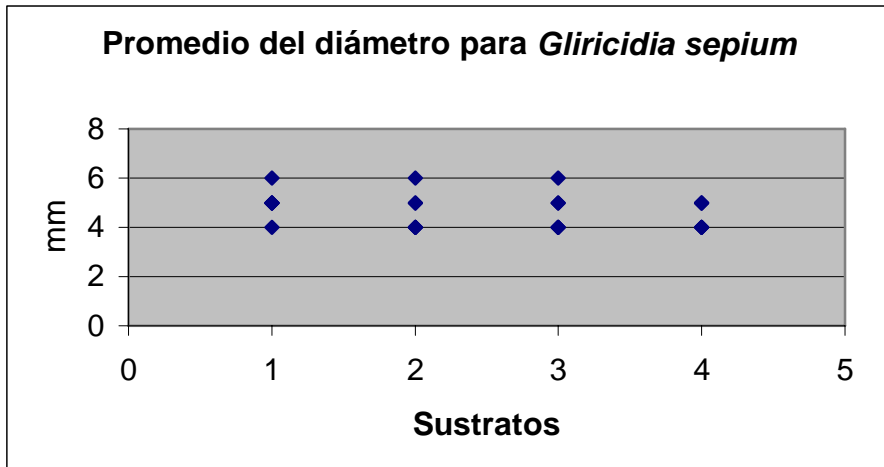


Gráfico 5

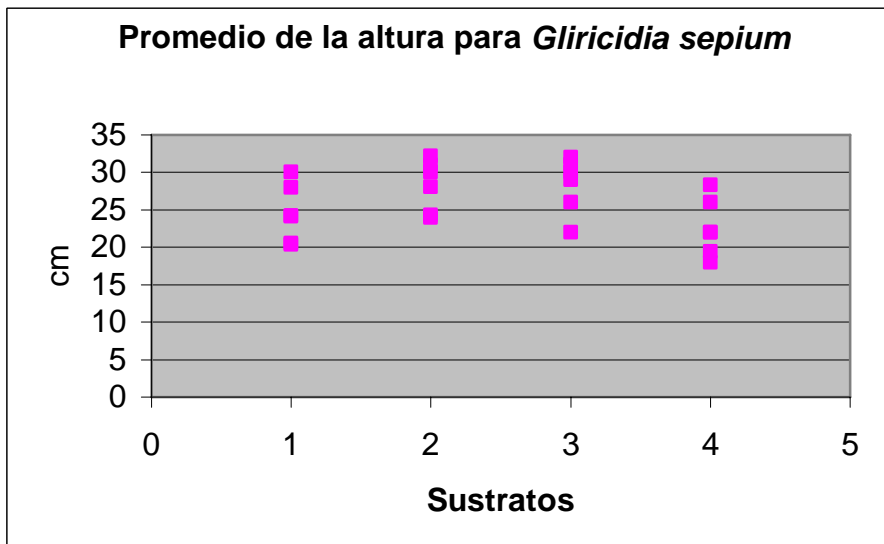


Gráfico 6

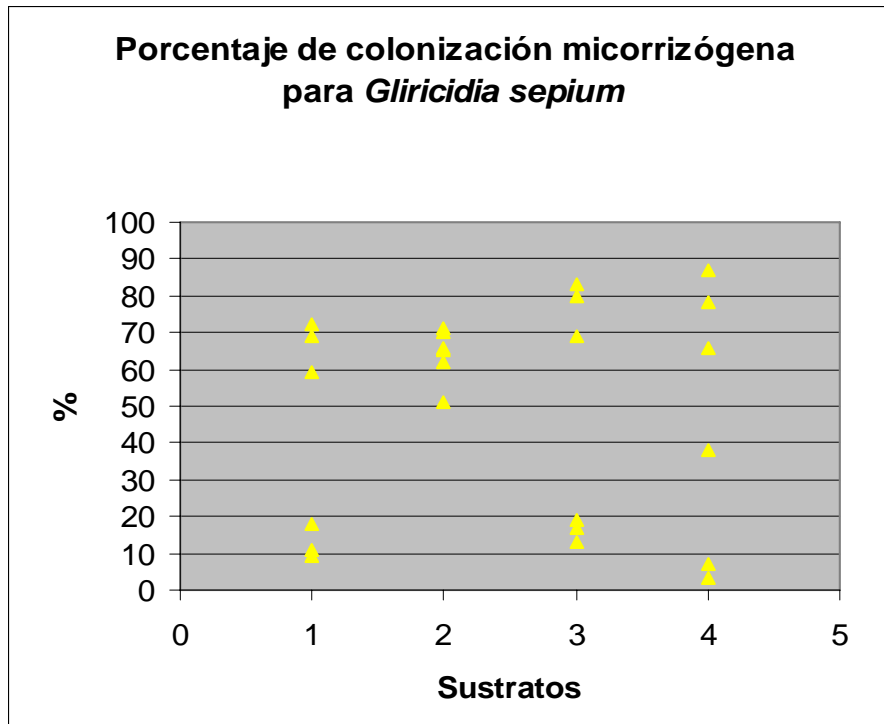


Tabla 2

Prueba de Kruskal Wallis

Diferencia entre sustratos para *Gliricidia sepium*

Variables	Diámetro	Altura	% colonización
Significancia	.622	.047	.755

En la especie *Enterolobium cyclocarpum* según la prueba estadística de Mann-Whitney U, existe diferencia significativa entre tratamientos para las variables altura (Gráfico 8) (0.014) y porcentaje de colonización micorrizógena (Gráfico 9) (0.00), pero no existe diferencia significativa entre tratamientos para el diámetro (Gráfico 7), (ver Tabla 3).

Gráfico 7

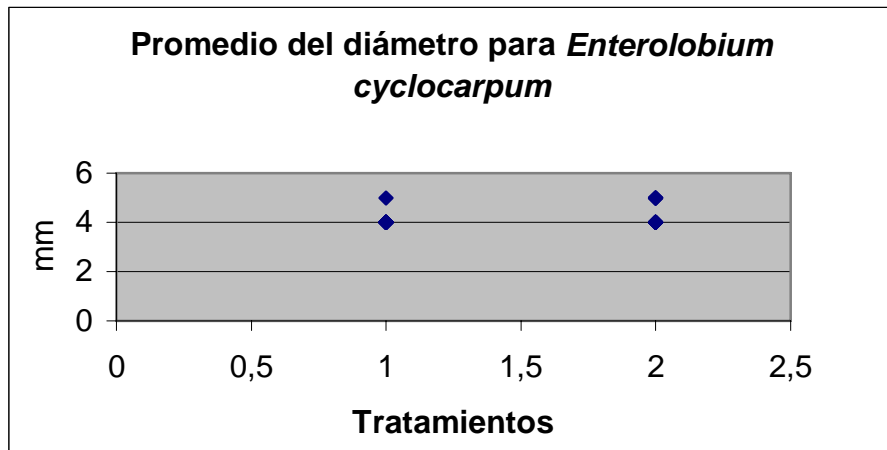


Gráfico 8

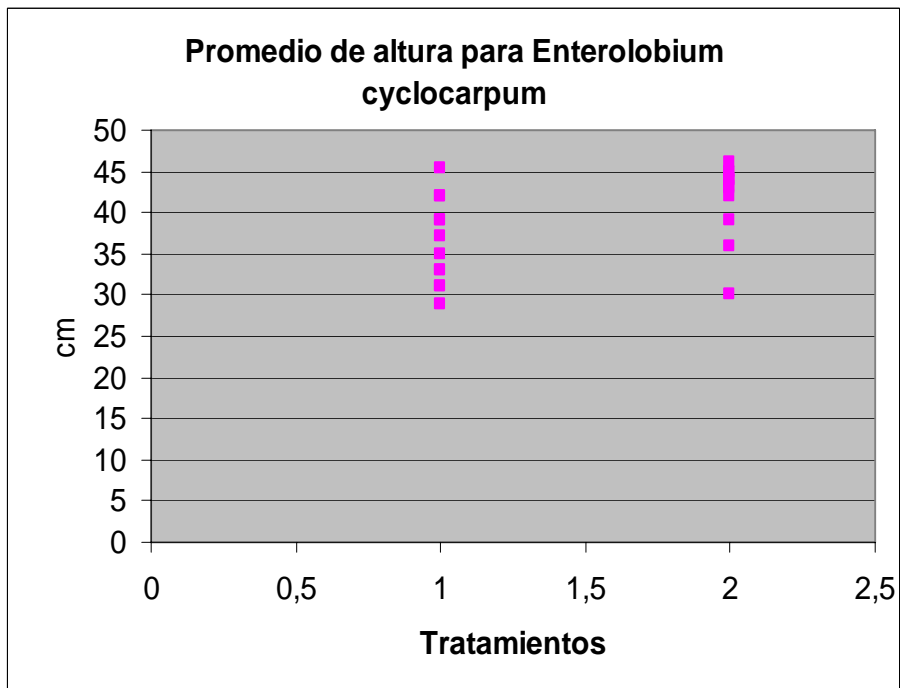


Gráfico 9

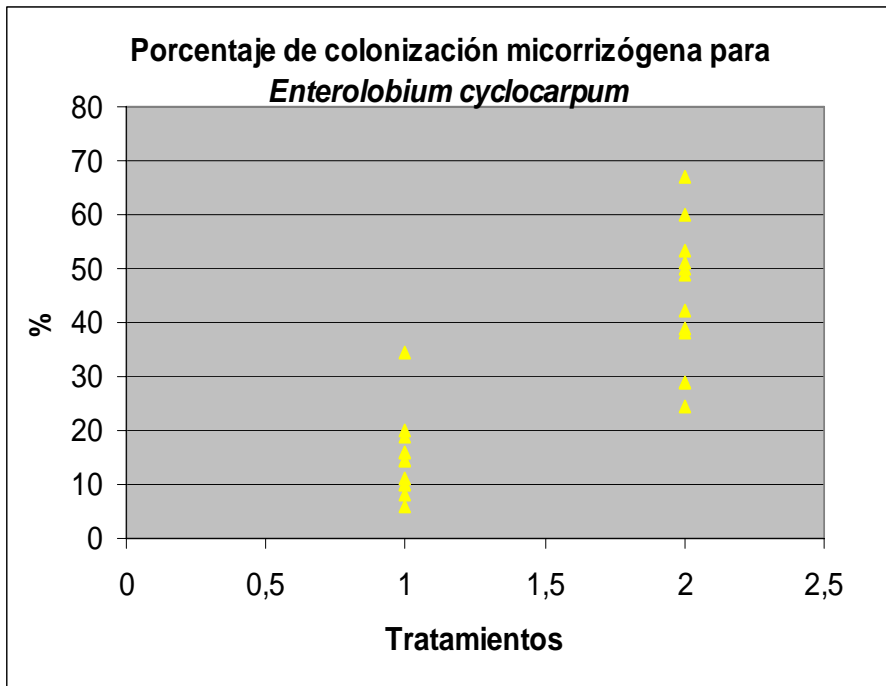


Tabla 3

Prueba de Mann-Whitney U

Diferencia entre tratamientos para *Enterolobium cyclocarpum*

Variables	Diámetro	Altura	% colonización
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.178(a)	.014(a)	.000(a)

Según la prueba de Kruskal Wallis no existe diferencia significativa entre los sustratos en ninguna de las variables (Gráficos 10-12), (ver Tabla 4).

Gráfico 10

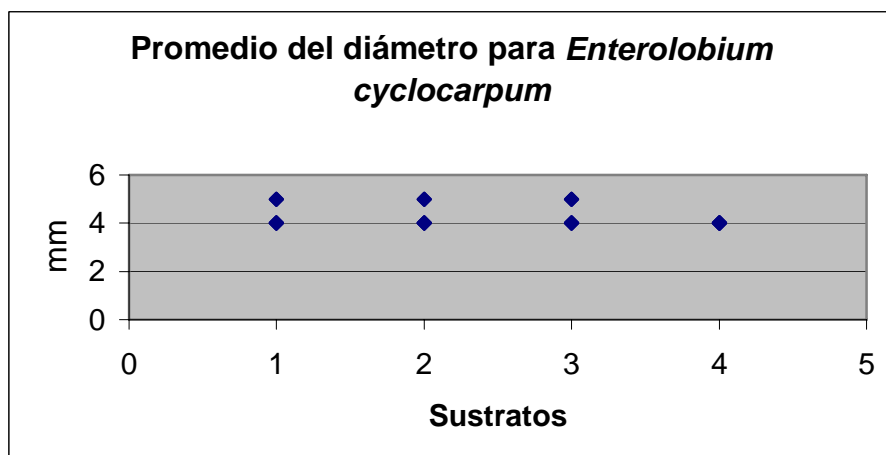


Gráfico 11

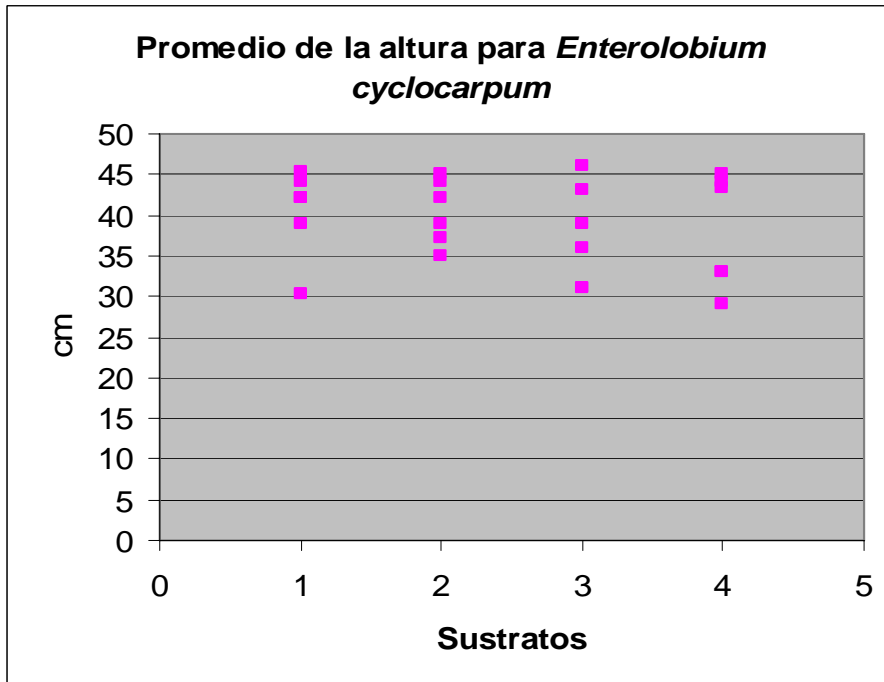


Gráfico 12

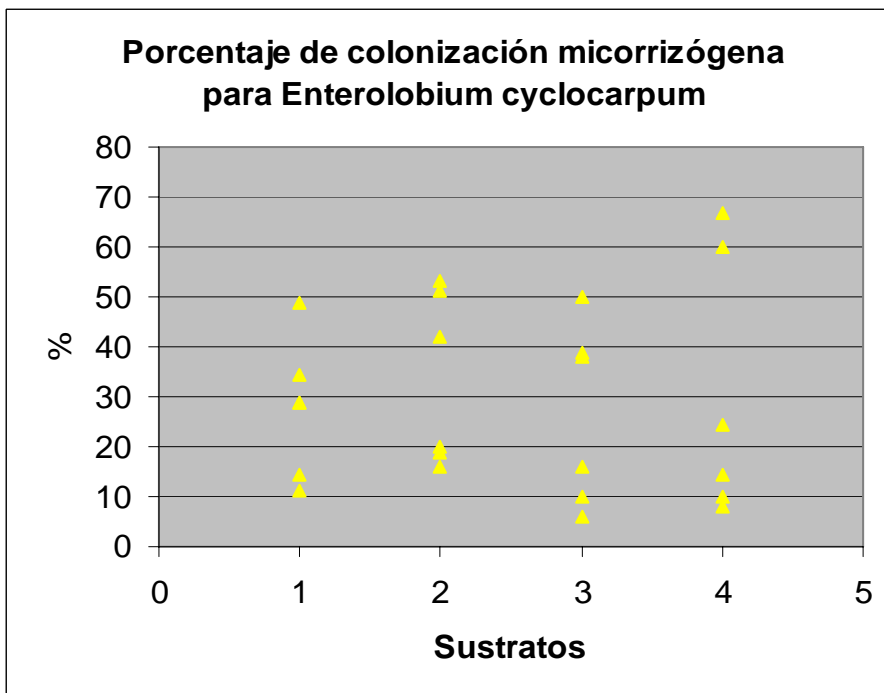


Tabla 4

Prueba de Kruskal Wallis

Diferencia entre sustratos para *Enterolobium cyclocarpum*

	Diámetro	Altura	% colonización
Asymp. Sig.	.465	.853	.766

En base a los resultados se puede decir que debido a que no se esterilizó el sustrato utilizado se presentó una competencia entre las micorrizas nativas y las inoculadas por lo que no se obtuvieron resultados positivos a favor de la inoculación en *Gliricidia sepium*.

I. Conclusión

En el caso de la especie *Gliricidia sepium* los análisis estadísticos mostraron diferencia significativa entre tratamientos solamente para el porcentaje de colonización micorrizógena obteniendo los mayores porcentajes en el tratamiento Con MVA y entre sustratos hay diferencia significativa para la variable altura, siendo el sustrato 3 (compost+arena) el que obtuvo los mejores resultados.

En la especie *Enterolobium cyclocarpum* los análisis estadísticos mostraron que no hay diferencia significativa entre los sustratos para ninguna de las variables y únicamente se encontró diferencia entre tratamientos para las variables altura y porcentaje de colonización micorrizógena obteniéndose el mayor promedio y porcentaje en el tratamiento Con MVA

II. Recomendaciones

Evaluar estos sustratos en otras especies forestales, y el uso de un método de esterilización de los mismos.

Realizar aislamientos de micorrizas naturales del país para preparar un inóculo micorrizógeno ya que en los estudios realizados en esta área se ha utilizado inóculos producido en suelos de El Zamorano, Honduras.

III. Bibliografía

Alegría Herrera Zoila, Lanuza Bernardo. Especies para reforestación en Nicaragua. (MARENA, SEF) 1995.

Calderón Arturo. Propiedades físicas de los sustratos. Facultad de Cs. Agronómicas-U de Chile.2007.

Disponible en http://www.biosustratos.cl/pdf/Propiedades_fisicas_Sustratos.pdf (Consultado 20-02-07)

Características de los sustratos utilizados por los Viveros Forestales.2006

Disponible en <http://www.inta.gov.ar/ediciones/idia/forest/manejo06.pdf> (Consultado 01-05-06)

Frioni Lillian. Procesos Microbianos.1999.Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto Argentina.

Honrubia, M; Torres, P; Díaz, G; Morte, A. 1995. Biotecnología forestal: Técnicas de micorrización y micropropagación de plantas. Murcia, España. Secretariado de Publicaciones, Universidad de Murcia.

Lanuza Bernardo R., Proyecto forestal de Nicaragua (PROFOR-MAGFOR-BM)2001. Disponible en <http://www.sifor.gob.ni/boletines/2001julio/viveros.htm> (Consultado 08-04-06)

Martínez Oporta A, Torrez Narváez E.2003. Validación de los efectos del inoculante micorrizogeno en cuatro especies forestales. León-Nic UNAN.

Micorrizas.2004. Disponible en www.diccionariosdigitales.net, www.fundaciondoctordepando.com (Consultado 08-04-06)

Micorrizas.2007.Disponible en:

<http://kyparissos.iespana.es/kyparissos/endo.htm> (Consultado 20-02-07)

PáezOmarMicorrizas.2006.Disponible en:

<http://www.soil-fertility.com/micorhize/espagnol/index.shtml>(Consultado 25-04-06)

Tipos de sustratos de cultivo.2006. Disponible en

http://www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos3.asp(Consultado 01-05-06)

IV. Anexo

Fotos de raíces de *Gliricidia sepium*



Tierra Con Micorrizas



Compost Sin Micorrizas



Compost Con Micorrizas



Compost+arena Sin Micorrizas



Compost+arena Con Micorrizas

Fotos de raíces de *Gliricidia sepium*

(Continuación)



compost+cas. de arroz Sin Micorrizas



compost+cas. de arroz Con Micorrizas

Fotos de raíces de *Enterolobium cyclocarpum*



Tierra Sin Micorrizas



Tierra Con Micorrizas