



Producción y aplicación de hongos formadores de micorrizas en vivero de caña para panela

Manual práctico de uso

**María Margarita Ramírez Gómez
Andrea María Peñaranda Rolón
Diana Paola Serralde Ordóñez
Urley Adrián Pérez Moncada**

AGROSAVIA
EDITORIAL

Colección Transformación del Agro

Producción y aplicación de hongos formadores de micorrizas en vivero de caña para panela

Manual práctico de uso

María Margarita Ramírez Gómez
Andrea María Peñaranda Rolón
Diana Paola Serralde Ordóñez
Urley Adrián Pérez Moncada

Mosquera, Colombia, 2020

AGROSAVIA
EDITORIAL

Colección Transformación del Agro

Producción y aplicación de hongos formadores de micorrizas en vivero de caña para panela: manual práctico de uso / María Margarita Ramírez Gómez [y otros tres] -- Mosquera, (Colombia) : AGROSAVIA, 2020.

50 páginas (Colección Transformación del Agro)

Incluye referencias bibliográficas, tablas, fotos

ISBN obra impresa: 978-958-740-372-5

ISBN E-book: 978-958-740-373-2

1. *Saccharum officinarum* 2. Caña de azúcar 3. Calidad del suelo 4. Micorrizas arbusculares 5. Rendimiento de cultivos 6. Fertilidad del suelo I. Ramírez Gómez, María Margarita II. Peñaranda Rolón, Andrea María III. Serralde Ordóñez, Diana Paola IV. Pérez Moncada, Urley Adrián

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc
Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA
Centro de Investigación Tibaitatá
Kilómetro 14 vía Mosquera-Bogotá, Mosquera.
Código postal 250047, Colombia.

Este documento hace parte de los resultados obtenidos en el proyecto de investigación: “Recomendaciones de fertilización biológica para el cultivo de caña panelera en el departamento de Nariño”, financiado por el Sistema General de Regalías-Gobernación de Nariño y ejecutado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA.

Colección: Transformación del Agro
Fecha de recepción: 18 de febrero de 2020
Fecha de evaluación: 30 de marzo de 2020
Fecha de aceptación: 4 de junio de 2020

Primera edición: 100 ejemplares
Impreso en Bogotá, Colombia, septiembre de 2020
Printed in Bogotá, Colombia

Publicado septiembre de 2020
Preparación editorial
Editorial AGROSAVIA
editorial@agrosavia.co
Editora: Liliana Gaona García
Corrección de estilo: Juan Solano
Diagramación: Diego Abello Rico
Impresión: DGP Editores

Citación sugerida: Ramírez Gómez, M. M., Peñaranda Rolón, A. M., Serralde Ordóñez, D. P., & Pérez Moncada, U. A. (2020). *Producción y aplicación de hongos formadores de micorrizas en vivero de caña para panela. Manual práctico de uso*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA).

Cláusula de responsabilidad: AGROSAVIA no es responsable de las opiniones y de la información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación. Igualmente, expresan que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente, frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros, relativa a los derechos de autor u otros derechos que se vulneren como resultado de su contribución.

DOI: <https://doi.org/10.21930/agrosavia.manual.7403732>

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@agrosavia.co
<http://www.agrosavia.co/>



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Contenido

Los autores	7
Introducción	11
Capítulo I	
¿Qué son los hongos formadores de micorrizas?	15
Capítulo II	
Ventajas de las plantas micorrizadas	19
Capítulo III	
Ciclo de vida de los HFMA	23
Capítulo IV	
Toma de muestras de suelo para el aislamiento	27
Capítulo V	
Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de HFMA	31
Capítulo VI	
Multiplicación y escalamiento de HFMA	35
Capítulo VI	
Aplicación de HFMA en vivero	41
Referencias	45

Lista de figuras

Figura 1.	Asociación simbiótica entre la planta y el HFMA	16
Figura 2.	Comparación de raíces no micorrizadas (izquierda) y micorrizadas (derecha)	16
Figura 3.	Plantas de caña sin micorrizar (a) y micorrizadas (b, c y d)	20
Figura 4.	Proceso de colonización de raíces y establecimiento de simbiosis planta-micorrizas. Microfotografías de estructuras intrarradicales de los HFMA con amplificación de 40×	24
Figura 5.	Formas adecuadas para realizar la toma de muestras de suelo y raíces en campo	28
Figura 6.	Toma de muestras en campo	29
Figura 7.	Metodología empleada para la extracción de esporas de HFMA para aislamiento y cuantificación	32
Figura 8.	Tinción diferencial de raíces micorrizadas	33
Figura 9.	Proceso de multiplicación y escalamiento de micorrizas arbusculares para producción de inóculo	36
Figura 10.	Escalamiento de inóculos a partir de micorrizas nativas asociadas al cultivo de la caña panelera, con <i>Brachiaria decumbens</i> como planta hospedera	42
Figura 11.	Aplicación de micorrizas en vivero en caña panelera en el departamento de Nariño	43

Los autores

María Margarita Ramírez Gómez

Correo: mmramirez@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-7407-7321>

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, MPhil en Microbiología de Suelos de la University of Wales, Reino Unido, y doctora en Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia. Tiene una amplia experiencia en el estudio de la simbiosis con rizobios y hongos formadores de micorrizas arbusculares. Sus investigaciones parten del aislamiento, identificación y selección de las mejores interacciones plantamicroorganismos en laboratorio, invernadero y campo; igualmente ha liderado la formulación, escalamiento, registro y venta de siete bioproductos basados en microorganismos benéficos. Ha participado en numerosos proyectos de investigación, y en la conformación, coordinación y puesta en marcha de los programas nacionales de Manejo Integrado de Suelos y Aguas, de Recursos Biofísicos y en el Banco de Germoplasmas de Microorganismos con Interés en Biofertilización; así como en la escuela de pensamiento en agricultura tropical. Es la creadora y líder del grupo de investigación Raíces del Futuro. Actualmente se desempeña como investigadora PhD senior del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA.

Andrea María Peñaranda RolónCorreo: apenaranda@agrosavia.coOrcid: <https://orcid.org/0000-0003-1231-646X>

Ingeniera de Producción Biotecnológica de la Universidad Francisco de Paula Santander y máster en Ciencias Ambientales de la Universidad Jorge Tadeo Lozano. Cuenta con una amplia experiencia en el estudio de hongos formadores de micorrizas y rizobios, y en su potencial como biofertilizante en invernadero, vivero y campo. Ha participado en la formulación y ejecución de varios proyectos de investigación en especies frutícolas, leguminosas, forestales y transitorias como la caña para producción de panela. Su experiencia profesional está enfocada en la evaluación de microorganismos con potencial biofertilizante y su impacto económico y ambiental en diversos cultivos. Actualmente se desempeña como investigadora máster del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA.

Diana Paola Serralde OrdóñezCorreo: dserralde@agrosavia.coOrcid: <https://orcid.org/0000-0001-6422-5071>

Profesional en Ecología de la Pontificia Universidad Javeriana y máster en Ciencias-Geofísica de la Universidad Nacional de Colombia. Tiene experiencia en la relación planta-microorganismo-ambiente, especialmente en la simbiosis con hongos formadores de micorrizas arbusculares y su respuesta nutricional en diferentes cultivos de interés agrícola y forestal. Ha participado en la evaluación de la capacidad de estos microorganismos como potenciales biocontroladores de enfermedades fitosanitarias, como el ataque por *Fusarium oxysporum* en uchuva, y como biorremediadores, por su capacidad para inmovilizar metales pesados en plantas de cacao y arroz. Adicionalmente, ha participado en la evaluación de la aplicación de métodos geofísicos en la agricultura como alternativas de bajo impacto para la prospección del subsuelo. Actualmente se desempeña como investigadora máster del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA.

Urley Adrián Pérez Moncada

Correo: uperez@agrosavia.co

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-3069-3237>

Ingeniero de Producción Biotecnológica de la Universidad Francisco de Paula Santander y máster en Ciencias Biológicas con énfasis en Microbiología de Suelos de la Pontificia Universidad Javeriana. Tiene experiencia en investigación en biofertilizantes y manejo de suelos y aguas; uso y manejo de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) en diferentes especies frutales con el fin de mejorar la nutrición de las plantas y optimizar la fertilización de síntesis química en los cultivos. También tiene experiencia en el manejo de microorganismos, especialmente de HFMA en el Banco de Germoplasma de Microorganismos con Potencial Biofertilizante y en establecimiento de HFMA bajo condiciones *in vitro*. Actualmente se desempeña como investigador máster del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA.





Introducción

Las malas prácticas en la producción agrícola causan la pérdida de suelo, lugar donde están los nutrientes y la materia orgánica necesarios para el crecimiento de las plantas. Esto ha generado la reducción de calidad y capacidad productiva del suelo, y un continuo desbalance de nutrientes, cuya consecuencia es la baja competitividad y sostenibilidad de los sistemas productivos.

Este manual es producto del trabajo de investigación realizado por un equipo interdisciplinario de profesionales comprometidos con el desarrollo agropecuario y manejo sostenible del suelo del país. El propósito es mejorar la capacidad productiva de los cultivos mediante alternativas tecnológicas como el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) desde etapas tempranas de desarrollo (en vivero).

Los HFMA se asocian con el 71 % de las plantas terrestres de forma natural (Brundrett & Tedersoo, 2018), juegan un papel importante en la nutrición de las plantas, ya que optimizan su capacidad de absorción de agua y nutrientes, mejoran la calidad de los suelos al influir sobre su estructura y, por todo esto, contribuyen a la salud de las plantas (Rouphael et al., 2015; Thirkell et al., 2017). En etapas tempranas del cultivo, durante la formación de raíces, las micorrizas (asociación entre HFMA y la raíz de la planta) permiten un mejor y más rápido crecimiento, lo que favorece el desarrollo y vigor de las plantas, así como su capacidad de adaptación a un sitio definitivo, lo cual se ve reflejado en el aumento de la producción y rendimiento de los cultivos. Los estudios realizados sobre los HFMA en las dos últimas décadas sugieren múltiples beneficios tanto para

la salud del suelo como para la productividad de los cultivos (Begum et al., 2019; Sadhana, 2014). Estos hongos optimizan la fertilización inorgánica, ya que permiten la reducción del uso de fertilizantes de síntesis química hasta en un 50 %, lo cual ahorra costos de producción de los cultivos y aumenta la competitividad y sostenibilidad de los sistemas de producción.

Este manual presenta a los productores de caña panelera las bondades de la tecnología del uso de los HFMA en etapa de vivero, sin embargo los conceptos aquí presentados pueden ser aplicados a otros cultivos de interés agrícola. Además, incluye conceptos generales de aislamiento y multiplicación de HFMA, metodologías de aplicación en etapas tempranas de desarrollo y formas de incorporación práctica de esta tecnología en sistemas productivos en las fincas.







Capítulo I

¿Qué son los hongos formadores de micorrizas?

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son microorganismos que viven en forma natural en el suelo. Se asocian con el 71 % de las especies vegetales (Brundrett & Tedersoo, 2018) mediante una simbiosis en la cual tanto la planta como el hongo se benefician. El hongo es el más beneficiado, ya que es un simbiote obligado, es decir que requiere necesariamente de la planta para poder crecer y multiplicarse. Su función es transportar nutrientes y agua desde el suelo hasta la planta, especialmente desde sitios afuera de la zona de agotamiento de nutrientes y de poros pequeños donde la raíz por sí sola no puede ingresar. El hongo recibe carbohidratos mientras la planta recibe nutrientes y agua. Esta relación permite a las plantas adaptarse más fácilmente a situaciones de estrés biótico (enfermedades, plagas) y abiótico (sequía, deficiencia de nutrientes) (figura 1).

La asociación de plantas-HFMA, que existe desde hace más de 400 millones de años, permitió que las plantas se adaptaran a diversos ecosistemas terrestres (Bonfante & Genre, 2008; Remy et al., 1994), lo cual se refleja en su amplia distribución geográfica y alta cobertura de especies vegetales asociadas con HFMA (Harley & Smith, 1983).

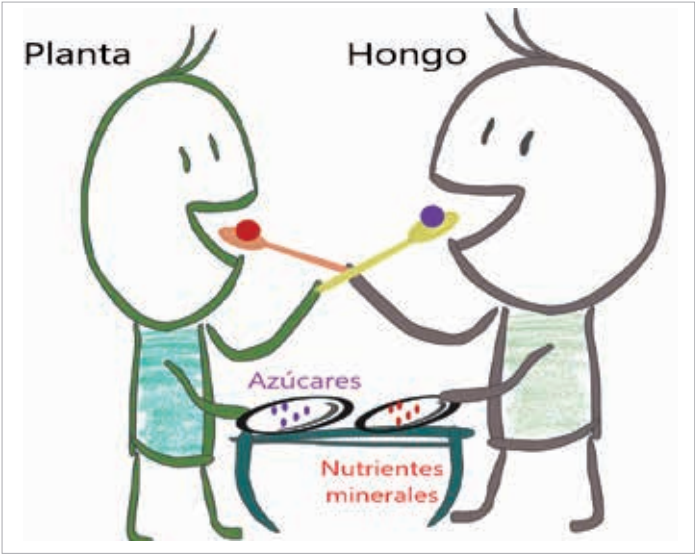


Ilustración: Diana Serralde, adaptado de Redecker (s.f.)

Figura 1. Asociación simbiótica entre la planta y el HFMA.

Una planta micorrizada tiene mayor desarrollo de sus raíces, pues las hifas del hongo sirven como una extensión, de tal forma que, a través de ellas, la planta puede tomar nutrientes que están afuera de su alcance (figura 2).

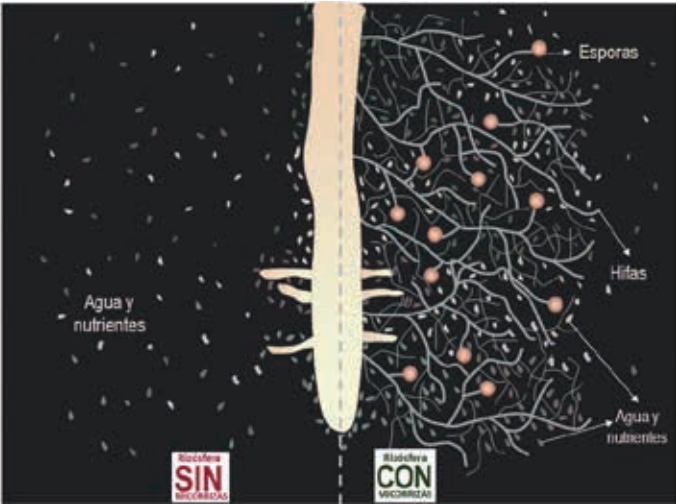


Ilustración: Diana Serralde, adaptada de Antroni Gandia (2013)

Figura 2. Comparación de raíces no micorrizadas (izquierda) y micorrizadas (derecha).







Capítulo II



Ventajas de las plantas micorrizadas

- A través de las hifas del hongo, que atraviesan la zona de agotamiento que rodea la raíz, la planta puede explorar un mayor volumen de suelo. Esto mejora la absorción de agua y nutrientes, especialmente de aquellos que son poco móviles en el suelo, como el fósforo.
- El flujo de nutrientes y agua a través de la hifa externa del hongo es aproximadamente 1.000 veces más rápido que la difusión en el suelo.
- Los HFMA promueven la producción de hormonas en las plantas que ayudan en su crecimiento y desarrollo.
- Una planta con HFMA (micorrizada) resiste mejor los ataques de plagas y enfermedades (factores bióticos), así como la sequía, deficiencia de nutrientes, toxicidad por iones y metales pesados, pH, aluminio, sales, etc. (factores abióticos).
- Los HFMA mejoran las condiciones físicas del suelo gracias a la producción de glomalina, una especie de pegamento que estabiliza y mejora su estructura por la formación de agregados que protegen contra la erosión.
- Los HFMA trabajan armoniosamente con otros microorganismos benéficos del suelo. Incluso,

mejoran la eficiencia de las plantas, promueven su crecimiento e incrementan la producción de exudados de la raíz. Además, favorecen el crecimiento de raíces e incrementan la vida útil de las absorbentes, pues aquellas micorrizadas persisten durante mayor tiempo que las no micorrizadas.

- El uso de los HFMA permite la sustitución parcial de fertilizantes de síntesis química (cerca del 50 %).

Las fotografías de la figura 3 comparan plantas de caña con y sin inoculación con HFMA. Las plantas micorrizadas tienen mayor desarrollo de las hojas y de las raíces que la planta sin HFMA (extremo izquierdo, *a*).



Foros: Diana Serralde

Figura 3. Evaluación de efecto en el desarrollo en hojas y raíces de la inoculación con HFMA en plantas de caña en vivero. a. Plantas de caña sin micorrizar; b, c y d. Plantas de caña micorrizadas.





Capítulo III

Ciclo de vida de los HFMA

Los HFMA son simbioses obligados, pues necesitan el establecimiento de la simbiosis para completar su ciclo de vida, el cual se divide en dos partes: una afuera de la raíz de la planta hospedera (extrarradical) y otra en su interior (intrarradical).

Los propágulos infectivos del hongo, es decir estructuras como esporas e hifas, o raíces micorrizadas al emplear un inoculante, se encuentran afuera de las raíces de las plantas (en el espacio extrarradical). La fase simbiótica del ciclo de vida del HFMA inicia cuando sus propágulos infectivos entran en contacto con la raíz de la planta y forman un punto de contacto (apresorio), donde la planta permite que el hongo entre a su raíz (figura 4).

El hongo crece y se desarrolla adentro y afuera de la raíz, donde forma una red de micelio (hifas) que le permite explorar un mayor volumen de suelo para transportar los nutrientes y el agua que la planta no alcanza a tomar por sí sola. En la raíz, el hongo crece adentro y afuera de las células y forma varias estructuras como las vesículas, que son órganos de almacenamiento de nutrientes, y los arbuscúlos, que



son la estructura más importante, donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta. Es allí donde la planta, suministra al hongo carbohidratos (azúcares) como alimento.

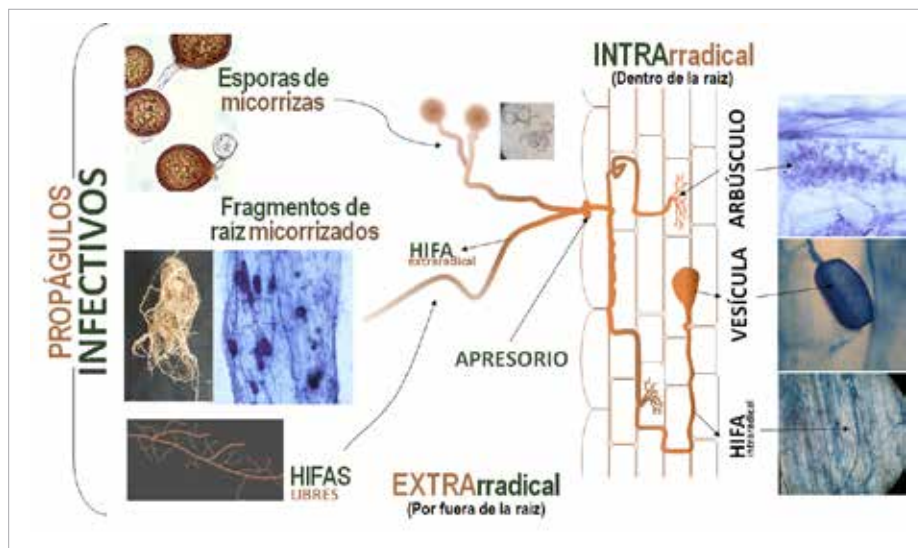
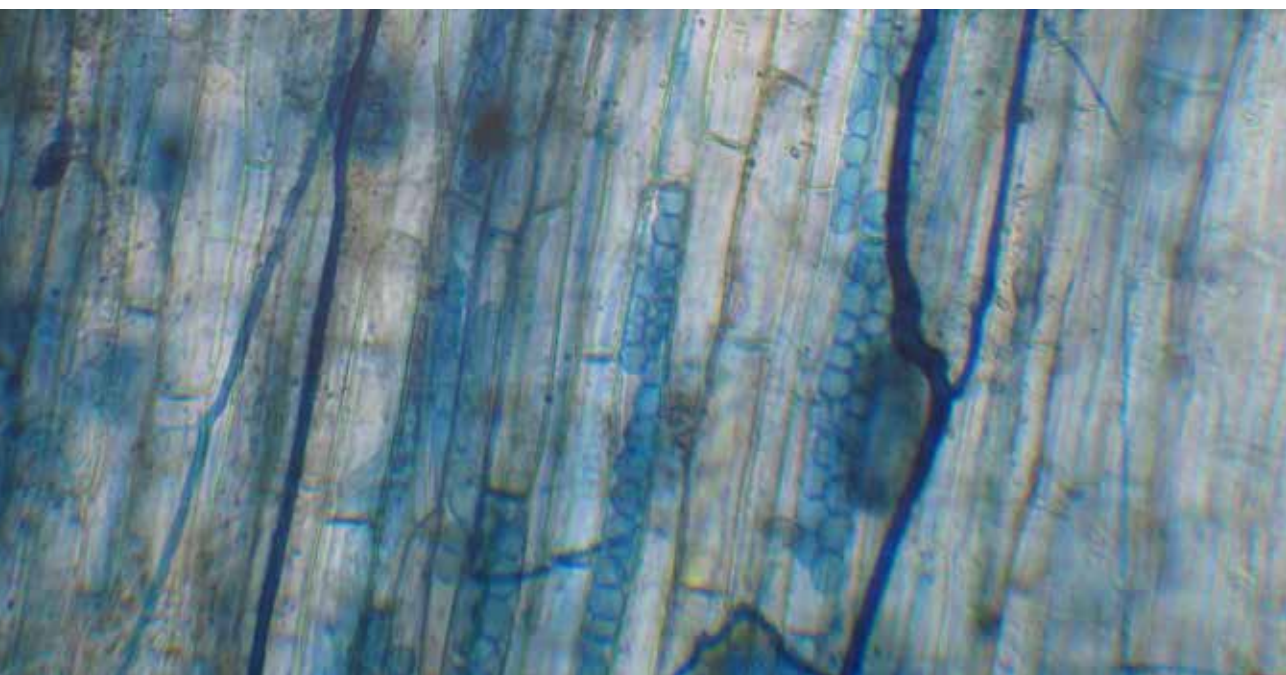
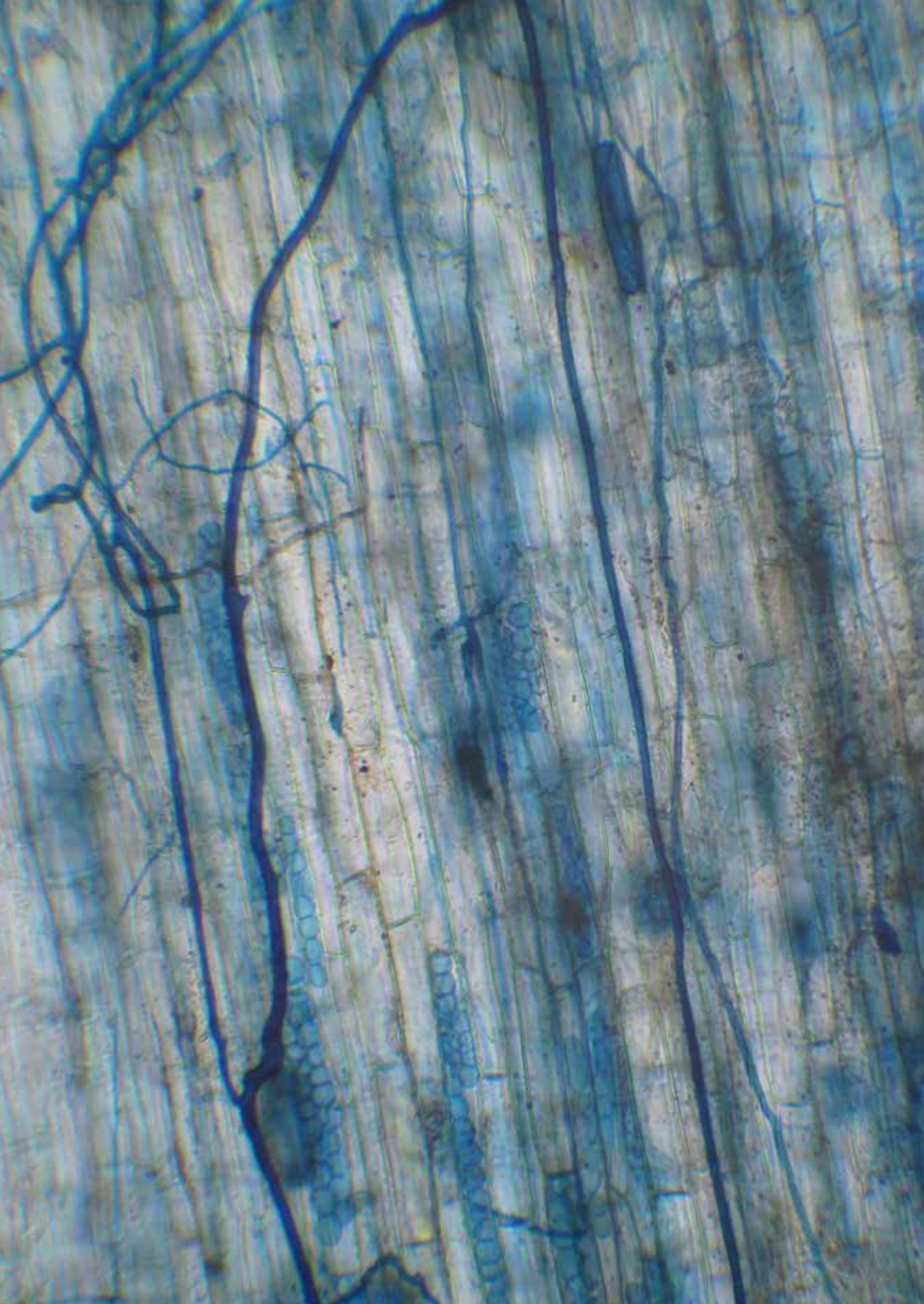


Ilustración y microfotografías: María Ramírez, Andrea Peñaranda, Diana Serraldey Urley Pérez

Figura 4. Proceso de colonización de raíces y establecimiento de simbiosis planta-micorrizas. Microfotografías de estructuras intrarradicales de los HFMA con amplificación de 40×.









Capítulo IV

Toma de muestras de suelo para el aislamiento de los HFMA

Los HFMA pueden aislarse a partir de una amplia variedad de plantas. Algunas investigaciones realizadas por Corpoica y AGROSAVIA han permitido conformar una colección de trabajo para conocer más sobre estos microorganismos. Para esto se han aislado esporas nativas de diversos cultivos como arroz, caña para panela, cacao, caucho, mora, uchuva, mango, hortalizas, entre otros. La bibliografía de referencia relacionada con los beneficios y bondades de estos microorganismos es extensa y aborda desde conceptos básicos hasta especializados sobre los HFMA. En Colombia, AGROSAVIA y otras instituciones académicas y de investigación han obtenido resultados muy importantes en esta área. AGROSAVIA tiene a su cargo el mantenimiento del Banco de Germoplasma de la Nación, donde hay una colección de microorganismos con potencial biofertilizante, la cual ha sido consolidada por los investigadores de esta y otras instituciones, y cuenta con 25 accesiones, de las cuales 8 fueron incluidas en el banco por investigadores de AGROSAVIA.

El procedimiento para aislar y caracterizar los HFMA inicia con la toma de muestras de suelo y raíces en

los puntos o cultivos de interés para el estudio. Las muestras deben ser preferiblemente compuestas por varias submuestras de diferentes puntos del lote y tomadas entre los 0-30 cm de profundidad. La figura 5 presenta un esquema de las formas más adecuadas para tomar muestras de suelos, en forma de X o de W, para obtener una caracterización general del lote o cultivo cuyas características microbiológicas (de los seres vivos diminutos no visibles al ojo humano) y edáficas (de la composición del suelo) se están evaluando.

Las muestras para aislamiento y caracterización de HFMA deben tomarse cerca de la raíz de las plantas (rizosfera), donde se espera que las esporas sean más numerosas que a mayores profundidades, debido al contacto y asociación con las plantas que estos hongos necesitan para completar su ciclo de vida.

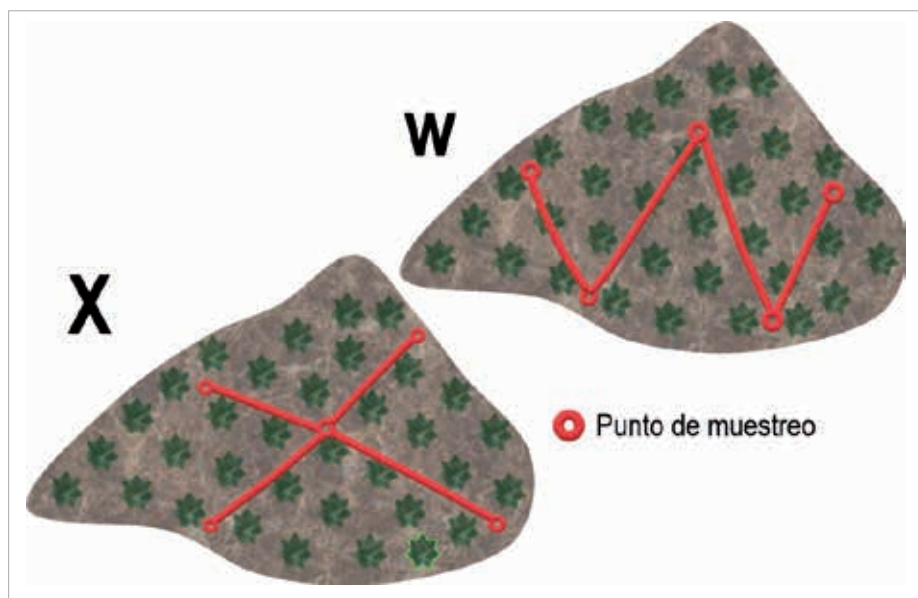


Ilustración: Andrea Peñaranda

Figura 5. Formas adecuadas para realizar la toma de muestras de suelo y raíces en campo.

Para la toma de cada una de las submuestras, todas las herramientas que se usen deben estar limpias: balde para mezclar, barreno, sacabocados, pala, palín o garlancha y bolsas plásticas. Todas las muestras deben estar debidamente marcadas con los datos de colección (fecha, localización, coordenadas, datos personales del productor, datos del cultivo, edad, rendimientos, fertilización empleada y toda la información necesaria para referenciar la muestra). Al tomar cada submuestra debe limpiarse la superficie de cada una de las herramientas para eliminar los residuos de materia

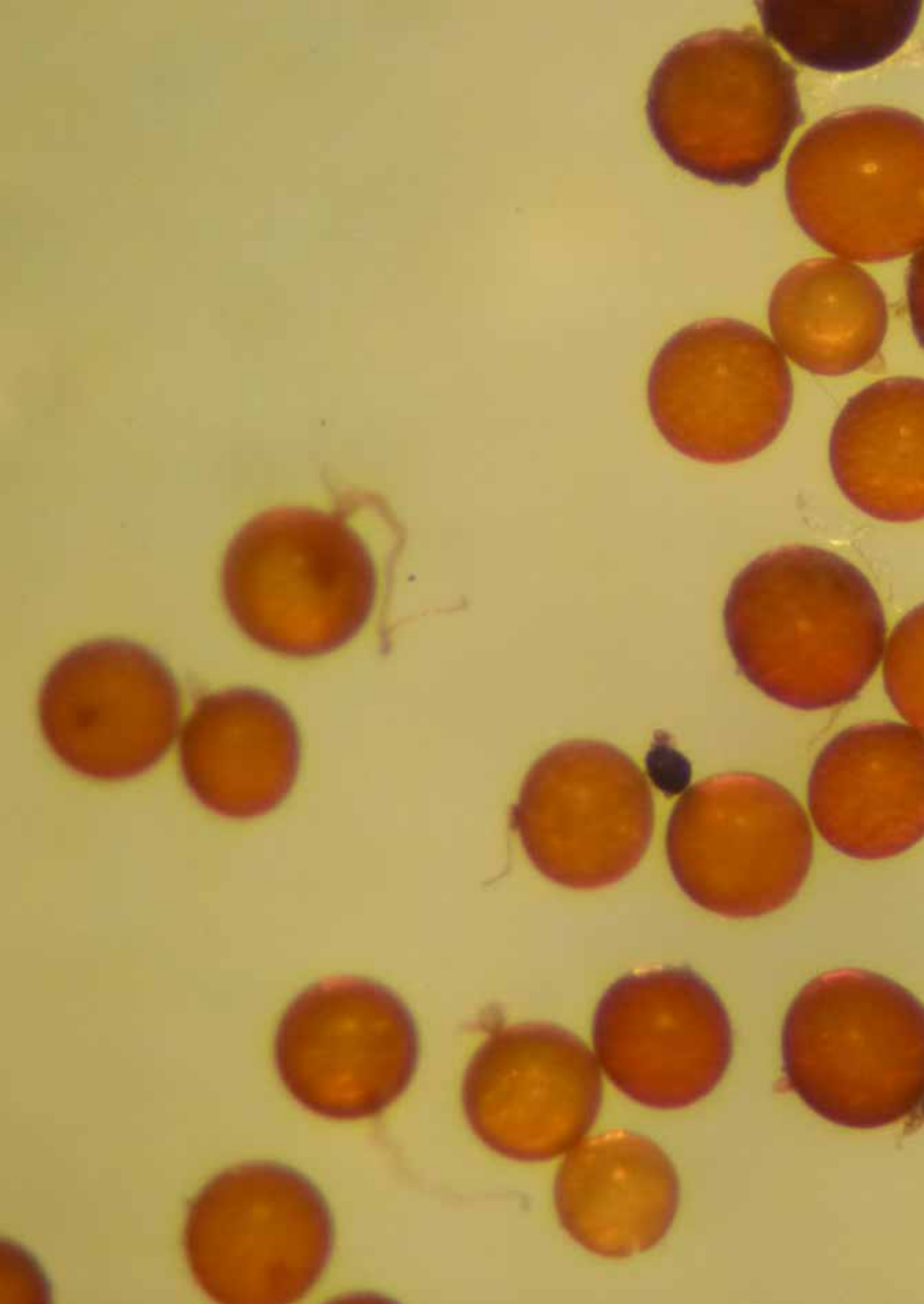
orgánica y malezas que pueden interferir en el resultado. La muestra se toma en un hueco cavado en forma de V del tamaño de la pala (como una porción de pastel) hasta una profundidad aproximada de 20-30 cm. En lo posible deben eliminarse los bordes de esta muestra para tomar la parte central y disponerla en un balde donde se mezclan todas las submuestras de un mismo lote o terreno y se almacenan en una bolsa sellada, marcada con los datos de colección (figura 6).



Ilustración: María Ramírez, Andrea Peñaranda,
Diana Serralde y Urley Pérez

Figura 6. Toma de muestras en campo. a. Pala o barreno a una profundidad entre 20-30 cm en forma de V; b. Retirar los bordes de la muestra; c. Mezclar las submuestras de un mismo lote; d. Guardar en bolsa sellada y marcada.

Se recomienda que las muestras no sean tomadas en sitios donde hay evidencia de quemas, o zonas con residuos de estiércol, cosecha o abonos. Tampoco se deben tomar cerca de carreteras o zonas que no sean representativas del lote en estudio. Las muestras deben ser analizadas de acuerdo con las metodologías estandarizadas para el conteo (cuantificación), identificación de morfotipos de esporas y porcentaje de colonización. El laboratorio de microbiología agrícola del Centro de Investigación Tibaitatá de AGROSAVIA (Mosquera, Cundinamarca) cuenta con este servicio, el cual permitirá conocer las características generales de los HFMA presentes en un lote o cultivo determinado, como número de esporas y porcentaje de colonización de raíces micorrizadas.



Capítulo V

Técnicas de laboratorio utilizadas para el análisis de HFMA

Las muestras de suelo colectadas son llevadas al laboratorio para contar las esporas de HFMA presentes para lo cual se emplea el protocolo diseñado para este fin, basado en la técnica de decantación húmeda de Gerdemann y Nicolson (1963) (figura 7). Una vez contado el número de esporas presentes en la muestra, se conoce el estado de la población viable para HFMA. Para determinar la biodiversidad y riqueza de la población es necesario hacer una identificación taxonómica o molecular de las esporas presentes en las muestras, mediante las claves de Schenck y Pérez (1990); la identificación molecular es aún objeto de estudio para los especialistas en este tipo de hongos, pues una espora tiene varios núcleos, lo que hace que la extracción de ADN sea bastante compleja.

Para la determinación del porcentaje de colonización de raíces, se realiza una tinción diferencial con azul de tripán basada en la técnica de Phillips y Hayman (1970) (figura 8), la cual permite identificar estructuras de los HFMA como hifas, esporas, vesículas y arbusculos adentro de las raíces de las plantas. Una vez procesada la muestra, se hace un montaje en el

microscopio para determinar el porcentaje de colonización de la raíz por parte de HFMA. Esta información permite conocer si hay una asociación efectiva y si tanto la planta como el hongo se están beneficiando de esta simbiosis. Una vez se conoce el estado de la población de HFMA, se procede a concentrar el contenido de esporas mediante una multiplicación escalonada.

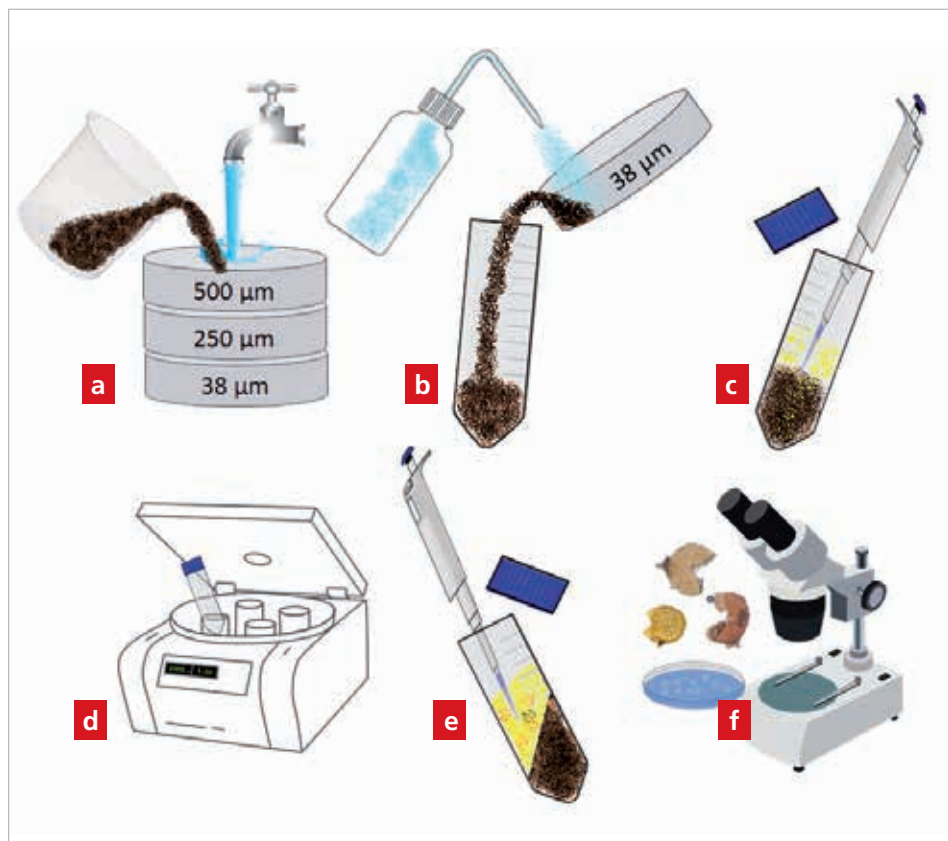


Ilustración: María Ramírez, Andrea Peñaranda, Diana Serralde y Urley Pérez, adaptado de Gerdemann y Nicolson (1963)

Figura 7. Metodología empleada para la extracción de esporas de HFMA para aislamiento y cuantificación. a. Pesar 10 g de la muestra de suelo seca y decantar por tamices de diferentes aperturas (500 µm, 250 µm y 38 µm); b. Llevar el residuo del tamiz más fino (38 µm) a un tubo de 50 ml; c. Aplicar 15 ml de solución de sacarosa + tween 80; e. Centrifugar a 2.000 rpm durante cinco minutos; e. Retirar sobrenadante y lavar en tamiz de 38 µm; f. Cuantificar en un estereoscopio el número de esporas presentes en la muestra.

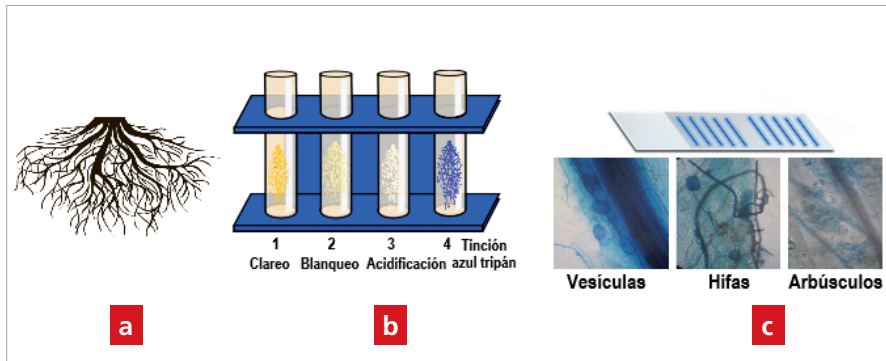


Ilustración: María Ramírez, Andrea Peñaranda, Diana Serralde y Urley Pérez, adaptado de Phillips y Hayman (1970)

Figura 8. Tinción diferencial de raíces micorrizadas. a. Seleccionar muestra de raíces secundarias; b. Proceso de tinción, 1. KOH, 2. KOH + H₂O₂, 3. HCl; 4. Tinción; c. Montaje para microscopio e identificación de estructuras y determinación del porcentaje de colonización de raíz (microfotografías 40×).





Capítulo VI

Multiplicación y escalamiento de HFMA

A partir de las muestras colectadas en campo, y de acuerdo con el análisis de número de esporas y porcentaje de colonización, se escogen las muestras más representativas y de mejor calidad para iniciar el escalamiento y producción de un inóculo que pueda ser empleado como biofertilizante con el objetivo de potenciar el efecto benéfico de la simbiosis. El proceso de multiplicación de HFMA es fácil y se puede adaptar a las condiciones de vivero en las fincas, donde los productores pueden incorporar esta tecnología con una baja inversión.

La figura 9 muestra el proceso de multiplicación de esporas de forma escalonada. Cada planta debe ser inoculada con al menos 70 esporas de HFMA, por lo que esta cantidad depende de los resultados de laboratorio sobre el número de esporas viables en la muestra.

El proceso de multiplicación y escalamiento inicia con la introducción (inoculación) de 70 esporas en las raíces de una planta hospedera, también conocida como planta trampa. Esta permitirá, mediante



la simbiosis, que los HFMA completen su ciclo de vida, generen esporas (esporulen) y aumenten su población.



Fotografías: Diana Serralde y Urley Pérez

Figura 9. Proceso de multiplicación y escalamiento de micorrizas arbusculares para producción de inóculo. a. Preparación de sustrato, mezcla y solarización; b. Inoculación ($70 \pm$ esporas por gramo); c. Multiplicación escalonada (aumento volumen de sustrato); d. Recolección del inóculo después de estrés hídrico; e. Control de calidad (cuantificación de esporas, porcentaje de colonización).

Se recomienda que las plantas trampa sean de especies como lechuga, brachiaria, trébol, kudzu y sorgo, entre otras, que son de rápido crecimiento para obtener la multiplicación en menor tiempo.

Un aspecto importante para que la multiplicación de los HFMA sea mas efectiva es el material empleado (sustrato). Existen en el mercado diferentes formas de introducir estos hongos, sin embargo, la más generalizada es el sustrato sólido. Diferentes materiales pueden ser utilizados: suelo, turba, arena, compost, vermiculita, fibra de coco, etc. Estos materiales puede usarse solos o mezclados, según su disponibilidad, facilidad en la manipulación, retención de humedad, precio y estabilidad en el tiempo. Sin embargo, deben estar libres de contaminantes químicos y biológicos (patógenos).

La recomendación es emplear una mezcla homogénea de suelo, turba y arena de río o arena cuarcítica, en proporción 3:1:2, respectivamente. Los materiales usados deben esterilizarse para evitar los contaminantes biológicos que puedan contener.

Para esterilizar el material en las fincas se recomienda hacer una solarización, que consiste en desinfectar el sustrato por medio del calor generado por el sol, para lo cual debe estar húmedo y ser cubierto con plástico, preferiblemente negro. Este proceso debe durar mínimo 40 días en zonas de clima frío y 20 días en zonas de clima cálido, pues consiste en incrementar la temperatura del sustrato, lo cual destruye directa o indirectamente los posibles contaminantes presentes. La solarización es una alternativa viable ambiental y económicamente que permite la sustitución de productos químicos para la desinfección del suelo.

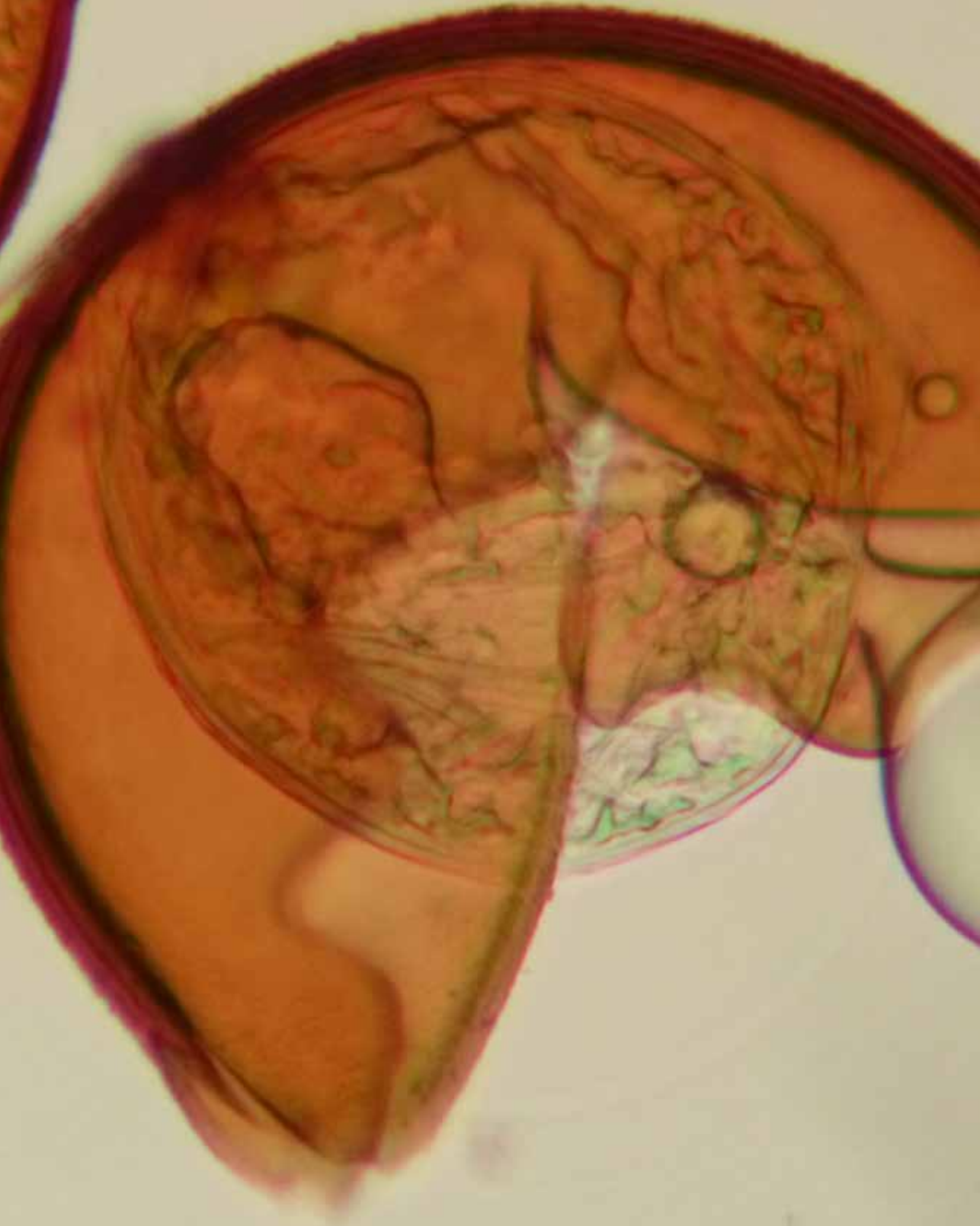
Una vez el material esté desinfectado, puede iniciar el proceso de multiplicación escalonada de los HFMA, que consiste en aumentar paulatinamente la cantidad de sustrato, dependiendo de los requerimientos de inóculo. De esta forma se logra que en cada paso se mantenga la concentración de esporas. Así pues, se inicia con cantidades pequeñas de sustrato, preferiblemente desde semilleros, y se va aumentando en bolsas, materas y camas de mayor capacidad.

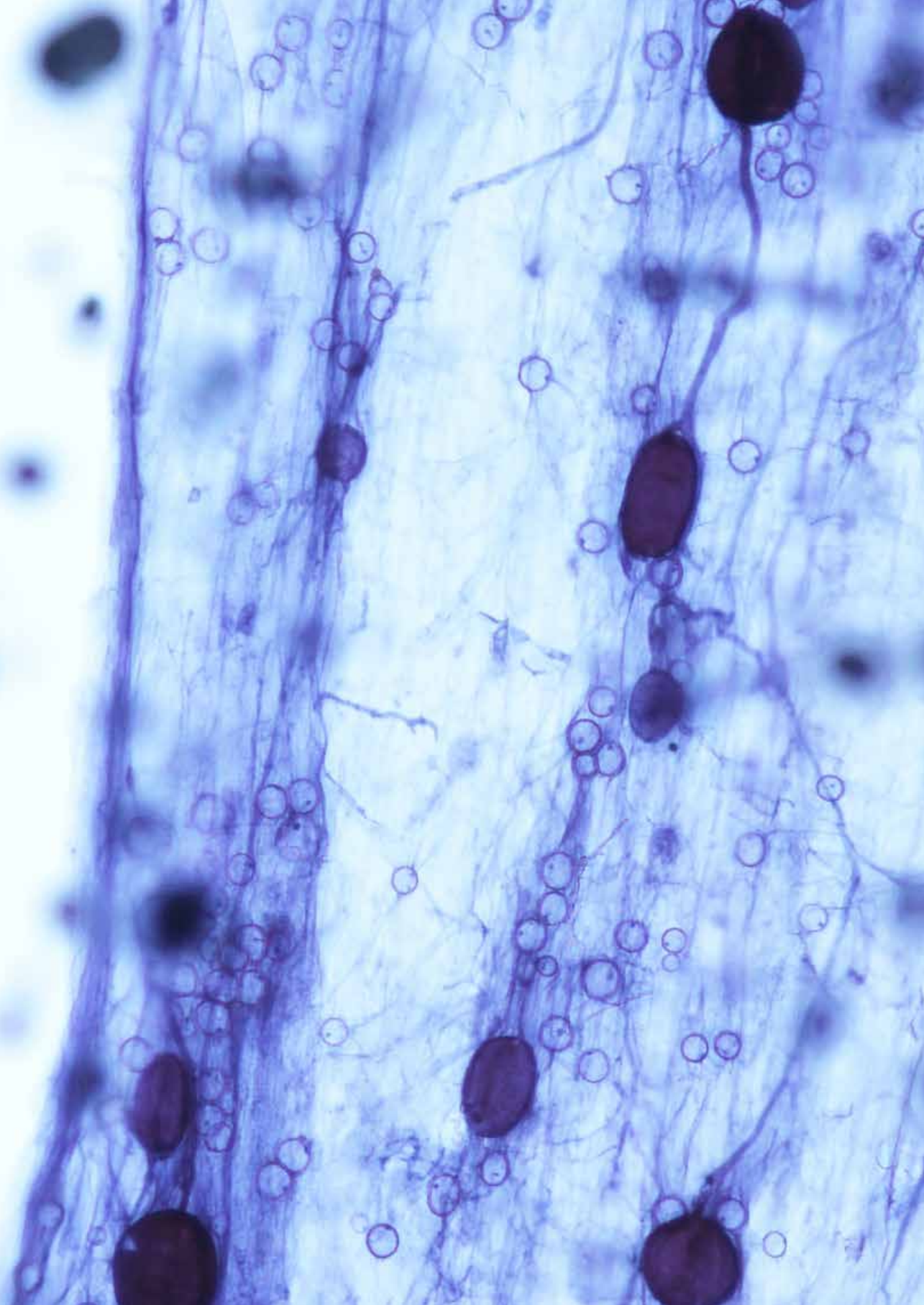
Cada matera, bolsa o cama de multiplicación se llena hasta la tercera parte con la mezcla de sustrato, se humedece, luego se aplica el inóculo de micorrizas y se siembra la planta hospedera a partir de semilla o plántula. Los ensayos se mantienen con riego aproximadamente por 4-5 meses. Una vez finalizado este tiempo se suspende el riego de las plantas (estrés hídrico) por aproximadamente 1 mes, con el fin de aumentar la concentración de esporas de micorrizas, ya que, al experimentar la falta de agua, los HFMA se multiplican rápidamente por supervivencia, lo cual es ideal para obtener un buen inóculo. Un inóculo de buena calidad debe contener al menos entre 70 y 10 esporas por gramo de sustrato.

Una vez finaliza el periodo de estrés hídrico, se cosechan las plantas trampa, se descartan hojas y ramas, se recoge todo el sustrato y las raíces, las cuales se cortan, y se mezclan bien junto con el sustrato mediante un tamizado. De esta forma el inóculo tiene un alto contenido de propágulos infectivos: esporas, raíces con micelio e hifas libres. El producto se almacena en bolsas plásticas a temperatura ambiente, y se realiza un control de calidad del inóculo para el conteo (cuantificación) de esporas.

En todos los casos se debe aplicar una delgada capa de inóculo con 70 o más esporas por gramo de forma tal que las semillas de la planta hospedera deban pasar necesariamente por ella. Por lo anterior, en la medida en que el escalamiento se incrementa, se debe tener mayor cantidad de inóculo disponible.







Capítulo VII

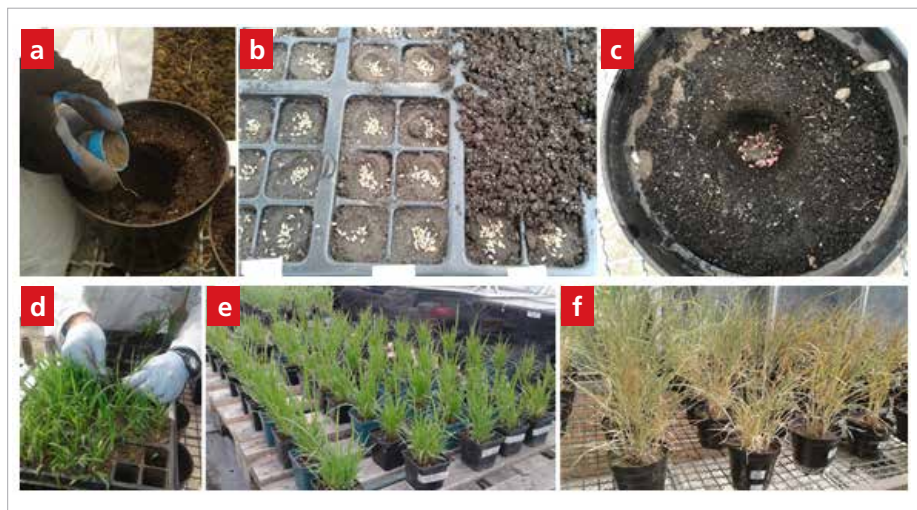
Aplicación de HFMA en vivero

La aplicación de HFMA como biofertilizante se puede efectuar en cualquier momento de desarrollo del cultivo. Sin embargo, es recomendable que la inoculación se haga en las primeras etapas de crecimiento de las plantas, ya que la simbiosis favorece su nutrición. Esto las hace más robustas y, por lo tanto, mejor adaptadas para soportar condiciones de estrés, como cuando son trasplantadas a un sitio definitivo.

La aplicación de HFMA se debe realizar siempre en procura de que la semilla o las raíces de las plántulas estén en contacto con el inóculo. Cuando la inoculación se realiza en semillero, se hace una única vez en dosis de 70 esporas por semilla o plántula. En esta medida, la cantidad de inóculo para cada planta depende de los resultados del conteo (cuantificación) de esporas por gramo.

Como se mencionó, los HFMA optimizan la fertilización mineral y, por tal razón, las plantas tratadas con ellos requieren solo el 50 % de fertilización química convencional. El riego y manejo de enfermedades se hace normalmente, aunque es recomendable usar productos de un bajo grado toxicológico,

especialmente en el caso de los fungicidas. La figura 10 y la figura 11 muestran el proceso de inoculación de plantas con los hongos.



Fotografías: Andrea Peñaranda y Diana Serralde

Figura 10. Escalamiento de inóculos a partir de micorrizas nativas asociadas al cultivo de la caña panelera, con *Brachiaria decumbens* como planta hospedera. a. Aplicación del inóculo (70 esporas/planta); b. Siembra de semilla de planta trampa en contacto directo con el inóculo en bandejas de germinación; c. Siembra en materas a partir de semilla d. Trasplante de plántulas para aumentar volumen de sustrato. e. Mantenimiento del ensayo. f. Suspensión del riego previo a la recolección del inóculo.



Fotos: Andrea Penaranda

Figura 11. Aplicación de micorrizas en vivero en caña panelera en el departamento de Nariño. a. Plántulas de caña panelera; b. Apertura de huecos para aplicación de inóculo de HFMA; c. Aplicación de inóculo; d. Siembra de plántulas; e. Aclimatación de plántulas antes del trasplante al sitio definitivo.





Referencias

- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., & Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*. Article 10:1068. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>
- Bonfante, P., & Genre, A. (2008). Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends in Plant Science*, 13(9), 492-498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.07.001>
- Brundrett, M. C., & Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220, 1108-1115. <https://doi.org/10.1111/nph.14976>
- Gandia, A. (2013, enero 8). Decoding the mycorrhizal symbiosis: why plants like fungi so much. *Fungicultura.info DIY Mushroom Cultivation*. <https://fungicultura.wordpress.com/2013/01/08/decoding-the-mycorrhizal-symbiosis-why-plants-like-fungi-so-much/>
- Gerdemann, J., & Nicolson, T. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species, extracted from soil by wet-sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235-244. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(63)80079-0)
- Harley, J. L., & Smith, S. E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press.
- Phillips, J. M., & Hayman D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Redecker, D. (s. f.). Arbuscular mycorrhiza/mutualism cartoon. <http://science.redeckeria.org/mutualismnew.jpg>

- Remy, W., Taylor, T. N., Hass, H., & Kerp, H. (1994). Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(25), 11841-11843. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.25.11841>
- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., De Pascale, S., Bonini, P., & Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196, 91-108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002>
- Sadhana, B. (2014). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) as a biofertilizers a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 3(4), 384-400. <https://www.ijcmas.com/vol-3-4/B.Sadhana.pdf>
- Schenck, N. C., & Pérez, Y. (1990). *Manual for identification of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi*. Synergistic Publications.
- Thirkell, T. J., Charters, M. D., Elliott, A. J., Sait, S. M., & Field, K. J. (2017). Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *Journal of Ecology*, 105(4), 921-929. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12788>



Impresión y encuadernación:
DGP Editores

Terminó de imprimirse
en septiembre de 2020 Bogotá, D. C., Colombia

AGROSAVIA

Corporación colombiana de investigación agropecuaria

Este manual presenta el potencial de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) como biofertilizantes, para mejorar la nutrición del cultivo de la caña para producción de panela. Es una iniciativa de los investigadores de AGROSAVIA para dar a conocer, en forma práctica y útil, los resultados de investigaciones científicas realizadas en el departamento de Nariño, con el apoyo de la Gobernación. Este manual describe las características generales de los HFMA y es una guía completa para el escalamiento sencillo de inóculos, los cuales pueden ser empleados para mejorar la fertilización, con grandes beneficios de producción. Esta publicación busca generar un cambio técnico en el sector panelero en todo el país, que promueva el uso de estrategias amigables con el medio ambiente, competitivas y sostenibles, no solo para este cultivo, sino para otros de interés agrícola.



CORREO: **bac@agrosavia.co**
TELÉFONO: **(57 1) 422 73 00 EXT. 1257 o 1274**
SKYPE: **[biblioteca.agropecuaria](https://www.skype.com/name/biblioteca.agropecuaria)**

www.agrosavia.co

ISBN: 978-958-740-372-5



Distribución gratuita
Prohibida su venta



**El campo
es de todos**

Minagricultura