

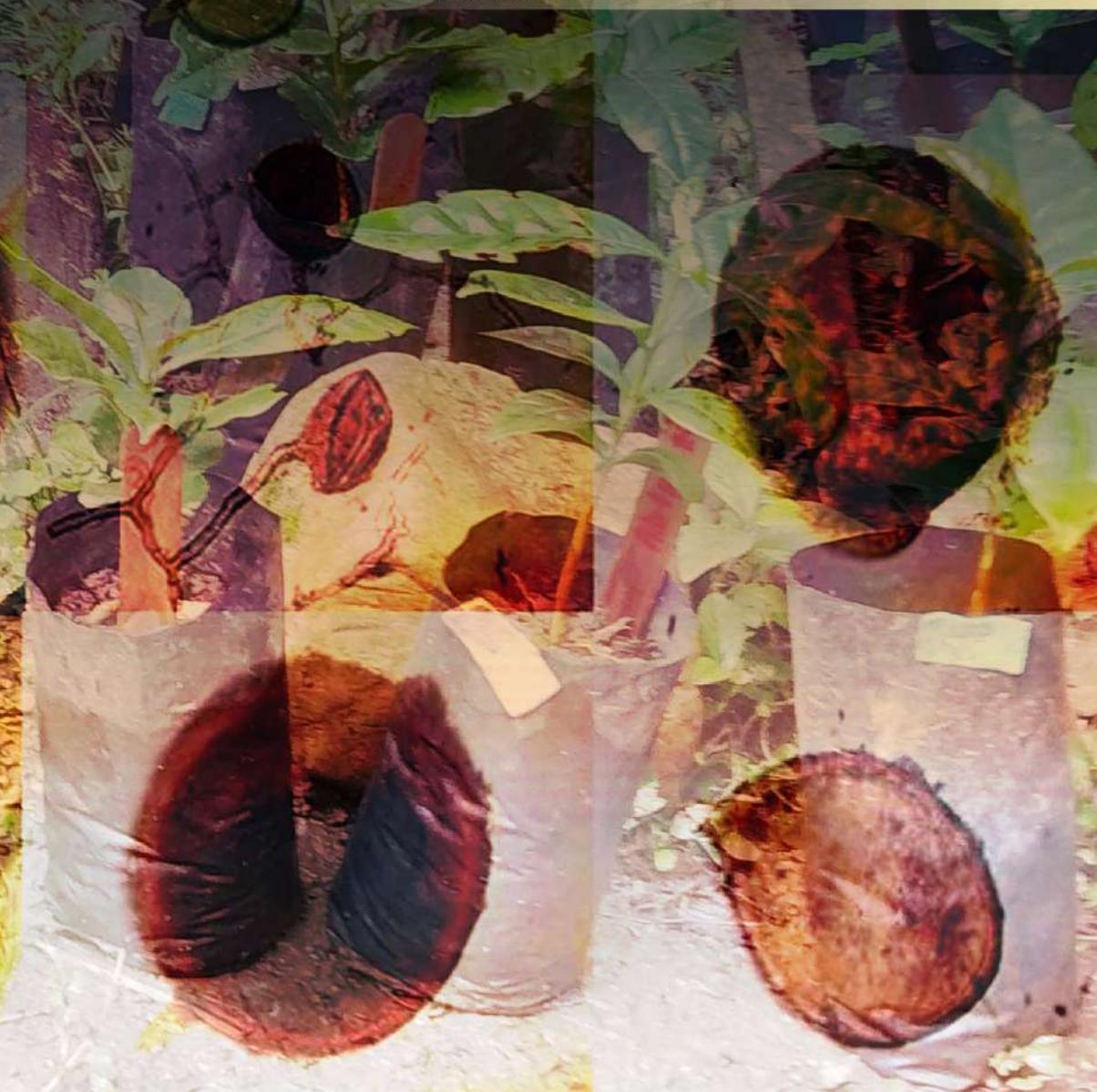
APRENDAMOS en territorios cafetaleros



Guía práctica

Propagación de la micorriza arbuscular

J. David Álvarez-Solís, Kristell K. Robles-González,
Silvia M. Gómez-Nuñez, Noé S. León-Martínez,
Yolanda del C. Pérez-Luna, Angélica Pérez-López,
Pablo Picazzo-Yamazaki.



APRENDAMOS en territorios cafetaleros

Guía práctica Propagación de la micorriza arbuscular

J. David Álvarez-Solís, Kristell K. Robles-González,
Silvia M. Gómez-Nuñez, Noé S. León-Martínez,
Yolanda del C. Pérez-Luna, Angélica Pérez-López,
Pablo Picazzo-Yamazaki.

En colaboración con un grupo de productores(as) socios(as)
de la Unión de Productores Maya Vinic.



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS
EN TERRITORIOS CAFETALEROS
Frontera 319049



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



ECOSUR



Coordinadora Mexicana de
Pequeños Productores
de Comercio Justo



INECOL
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.



IIGERCC
Instituto de Investigación en Gestión de
Riesgos y Cambio Climático



FONDO PARA
La Paz



Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

EE
633.73
A6 / 3

Guía práctica. Propagación de la micorriza arbuscular / José David Álvarez Solís, Kristell Karina Robles González, Silvia M. Gómez Nuñez, Noé Samuel León Martínez, Yolanda del Carmen Pérez Luna, Angélica Pérez López, Pablo Picazzo Yamazaki. - San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México : El Colegio de la Frontera Sur, 2024.

1 recurso digital : PDF 15 páginas : fotografías ; 2.7 MB

Bibliografía: página 15.

(Colección Aprendamos en Territorios Cafetaleros; número 3).

1. Micorrizas arbusculares vesiculares, 2. Biofertilizantes, 3. Agricultura, I. Álvarez Solís, José David (autor), II. Robles González, Kristell Karina (autora), III. Gómez Nuñez, Silvia M. (autora), IV. León Martínez, Noé Samuel (autor), V. Pérez Luna, Yolanda del Carmen (autora), VI. Pérez López, Angélica (autora), VII. Picazzo Yamazaki, Pablo (autor).

Este manual es el producto de un trabajo colectivo financiado por el proyecto PRONAII Sistemas Socio-ecológicos Sustentables en Territorios Cafetaleros del Sureste de México. Segunda Fase, PRONAII 319068.

Primera edición digital, julio de 2024
Fotografía de portada: David Álvarez-Solís.

D. R. © El Colegio de la Frontera Sur
Carretera Panamericana y Periférico Sur s/n, C. P. 29290
Barrio María Auxiliadora
San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México
www.ecosur.mx

Se autoriza la reproducción de esta obra para propósitos de divulgación o didácticos, siempre y cuando no existan fines de lucro, se cite la fuente y no se altere el contenido (favor de dar aviso: llopez@ecosur.mx). Cualquier otro uso requiere permiso escrito de los editores.

Hecho en México / *Made in Mexico*

Contenido

Presentación	5
Micorriza arbuscular	6
Propagación de la micorriza arbuscular	6
Obtención de propágulos micorrizógenos	7
Aplicación de propágulos en plantas trampa para propiciar su propagación	11
Cosecha y aplicación del biofertilizante micorrícico	13
Referencias.....	15

Presentación

“**A**PRENDAMOS en territorios cafetaleros” es una colección de documentos diseñados para quienes vivimos, cultivamos, comemos, estudiamos, trabajamos e investigamos en estos territorios. Son una co-construcción realizada a través de un trabajo participativo entre un grupo de personas académicas, productoras, organizaciones civiles y de base social, sustentada en diálogo de saberes.

Plantea soluciones de experiencias piloto y narraciones de las lecciones aprendidas y seleccionadas por ser buenas prácticas para la producción y alternativas económicas, con la finalidad de motivar el aprendizaje, propagar estas experiencias con las personas interesadas y aquellas involucradas en la formación de capacidades locales, así como también, fomentar el cuidado del ambiente y de la salud alimentaria sin el uso de agroquímicos. Es importante recordar que el uso consciente y responsable de nuestro entorno local garantiza un futuro más próspero para nuestras familias y comunidades.

La presente guía tiene como finalidad ofrecer un material de apoyo al personal técnico, productoras y productores con interés de fortalecer la práctica de producción de la micorriza arbuscular (MA), ponerla a prueba y desarrollar nuevas experiencias.

Estos métodos fueron seleccionados como una alternativa para aprovechamiento en fines productivos, pues las MA disminuye la erosión en los suelos, favorecen la actividad biológica, ayuda a formar agregados estables o terrones con espacios porosos, mejora la infiltración del agua y acelera el crecimiento de la planta.

Los beneficios que la MA confiere a los cultivos, han despertado el interés en el área de la agricultura. Por ello, se ha identificado la importancia de establecer métodos para la propagación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA), que permita su aplicación y favorecer su actividad en los campos de cultivo. Estas técnicas se explicarán a lo largo de este escrito.

Este manual es el producto de un diálogo de saberes en el marco del Proyecto Sistemas Socioecológicos Sustentables en Territorios Cafetaleros del Sureste de México, Segunda Fase, financiado por CONACHYT, 319068.

Micorriza arbuscular

La micorriza arbuscular (MA) es la simbiosis mutualista que se establece entre algunos hongos del suelo, que se conocen como hongos micorrícicos arbusculares (HMA), y la mayoría de las plantas terrestres. Su importancia en la agricultura radica en la función de enlace que tiene la red de micelio del hongo adentro y afuera de la raíz, para conectar a las plantas con minerales y agua, con los microorganismos y con otras plantas, desde donde influye positivamente en la producción de los cultivos y en la conservación de los suelos.

Las plantas que desarrollan la MA adquieren mayor capacidad para absorber nutrientes y agua; también obtienen protección frente al ataque de patógenos con origen en el suelo, aumentan la longevidad de sus raíces, tienen mayor tolerancia a la sequía y la salinidad, y soportan mejor el estrés al trasplante. Los HMA reciben a cambio una fracción del carbono que ha sido fijado por las plantas a través de la fotosíntesis.

Propagación de la micorriza arbuscular

Los HMA son simbiosiontes obligados que dependen de plantas hospederas para completar su ciclo de vida. Esto implica que no pueden ser propagados en medios de cultivo artificiales en el laboratorio. Por lo tanto, en su propagación se utilizan plantas que se conocen como “plantas trampa”, debido a que tienen la capacidad de desarrollar altos niveles de colonización en sus raíces y favorecen la esporulación de HMA. Estos dos elementos son de importancia porque tanto las raíces con hifas del hongo, como el suelo con micelio externo y esporas del hongo, actúan como propágulos micorrizógenos, es decir son la semilla a partir de la cual se desarrolla la MA.

En el proceso de propagación de la MA se consideran aspectos básicos relacionados con: a) la obtención de propágulos micorrizógenos nativos, b) la propagación de los propágulos en plantas trampa, y c) la cosecha del biofertilizante y su aplicación. Estos aspectos se describen brevemente a continuación.

Obtención de propágulos micorrizógenos

La elección del lugar en donde se obtendrá la semilla de la MA y la época de su recolecta son elementos clave al inicio del proceso de propagación. Por lo regular, en la temporada seca del año los HMA esporulan con mayor intensidad y las raíces presentan mayores niveles de colonización. También, los terrenos agrícolas que han sido manejados con alta diversidad vegetal, con asociación o rotación de cultivos, con un bajo nivel de disturbio del suelo y sin aplicación de agroquímicos, tienen un amplio potencial para obtener propágulos micorrizógenos nativos que podrían utilizarse en la propagación. Por ejemplo, se encontró que el cafetal con manejo orgánico y la milpa con abono verde-cultivo de cobertura (AVCC), son sistemas de cultivo que contienen una alta riqueza de especies de HMA (Pérez-Luna *et al.* 2012; Robles-González *et al.* 2023). Asimismo, otros estudios mostraron que los ecosistemas naturales contienen una alta diversidad de HMA (Álvarez-Sánchez *et al.* 2019).

Los arbustos de café son plantas hospederas que albergan un nivel favorable de propágulos micorrizógenos. En este caso, se eligen cafetos sanos y productivos, y se extraen muestras de raíces finas con suelo adherido a una profundidad de 20 cm en la zona de goteo alrededor del arbusto. Las muestras se conservan en bolsas de polietileno en un lugar fresco y protegido de la luz directa del sol o en refrigeración a 4°C. La presencia de la MA se verifica mediante técnicas de laboratorio que consisten en el clareo y tinción de las raíces para examinar si están colonizadas, así como en la extracción y el conteo de esporas del suelo (ver el recuadro correspondiente).

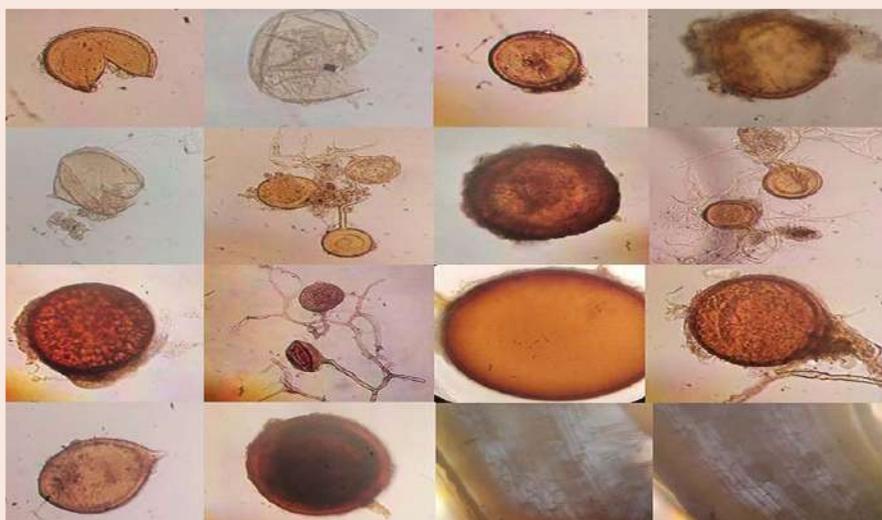
Figura 1. Recolecta de propágulos micorrizógenos del cafetal:



a) Cafetal con manejo orgánico.



b) Recolecta de muestras en la raíz del cafeto.



c) Propágulos micorrizógenos del cafetal (esporas y raíces colonizadas).

Recuadro 1. Método de clareo y tinción de raíces

La técnica de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1970) se utiliza para facilitar la observación de la MA en las raíces. Para esto, se realiza lo siguiente:

1) se extraen las raíces finas de la muestra y se lavan con agua para eliminar el suelo adherido (se recomienda el uso de un colador o tamiz para evitar la pérdida de raíces);

2) se colocan las raíces en un frasco y se adiciona una solución de hidróxido de potasio (KOH 10% en agua) hasta que las raíces estén totalmente cubiertas. Se mantiene las raíces con la solución durante 60 minutos a 90°C, o durante toda la noche a temperatura ambiente, después se retira la solución y se lavan las raíces con agua;

3) se acidifican las raíces mediante una inmersión breve en una solución de ácido clorhídrico diluido (HCL 0.1N), después se retira la solución y las raíces ya no se lavan;

4) se adiciona a las raíces el colorante azul tripano al 0.05% en lactoglicerol (ácido láctico, glicerol, agua destilada 1:1:1), durante 30 min a 90 °C. Las raíces teñidas pueden mantenerse en la solución de tinción hasta que se enfríen, luego se retira la solución de tinción y se agrega agua destilada;

5) se colocan las raíces en un portaobjeto y se examinan con un microscopio de luz transmitida, entonces se observa la colonización que presentan.

Adicionalmente se puede determinar el porcentaje de colonización en tres campos de cada segmento de raíz y se registra la presencia o ausencia de estructuras, como hifas cenocíticas, vesículas, arbusculos y esporas (Giovannetti y Mosse, 1980). Para obtener el porcentaje de colonización se divide el número de campos colonizados entre el número de campos observados y se multiplica por 100 (Sieverding, 1983).

Recuadro 2. Método de extracción de esporas de HMA

Las esporas de HMA se extraen con la técnica de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicolson (1963). Esta consiste en:

1) se toma una muestra de 50g de suelo o del material al que se extraerán las esporas (se retiran piedras o partículas mayores de 2 mm manualmente);

2) se mezcla la muestra con agua en un recipiente de un litro y se agita vigorosamente, se deja decantar (reposar) durante 30 segundos; luego se vierte la suspensión a través de tamices con distinto tamaño de diámetro (250, 100 y 40 μm). Este proceso de lavado y decantación (reposo) se repite hasta que el agua salga limpia;

3) las raíces y restos orgánicos mayores son recogidos en el tamiz más grueso, mientras que las esporas quedan retenidas en los tamices más finos. Se recupera el material obtenido en el tamiz más grueso y se observa en el estereoscopio para separar, pesar y procesar las raíces para obtener el porcentaje de colonización;

4) el material obtenido en los tamices más finos se vierte sobre un papel de filtro en un embudo. El papel filtro puede estar previamente marcado con líneas separadas a 7mm entre sí para facilitar el conteo de las esporas;

5) se coloca el papel filtro con la muestra en una caja de Petri y se observa con un microscopio estereoscópico la presencia de esporas, se cuentan y se agrupan por tamaño, color y ornamentación.

Adicionalmente, se puede mejorar la separación de las esporas mediante la centrifugación con sacarosa. Para ello se depositan las muestras retenidas en los tamices más finos en tubos de centrifuga y se centrifuga durante 5 minutos a 2500 revoluciones por minuto (RPM). Se elimina cuidadosamente el sobrenadante y se revuelve el sedimento en una solución de sacarosa al 60% para centrifugar de nuevo durante 1 minuto a 1200 RPM. Se vierte el sobrenadante con las esporas de cada tubo por separado sobre el tamiz más fino y se lava cuidadosamente para eliminar los restos de sacarosa. Se vierte el contenido del tamiz sobre un papel filtro sostenido en un embudo y se sigue los pasos 4 y 5 descritos con anterioridad.

Aplicación de propágulos en plantas trampa para propiciar su propagación

El módulo de propagación puede ser a pequeña o a gran escala, en función de la cantidad de biofertilizante que se requiera producir. Es recomendable iniciar con una producción a pequeña escala para generar el inóculo que será necesario para escalar volúmenes mayores de producción. Para ello se utilizan macetas o canteros de propagación de diferentes tamaños, con sustratos a base de suelo, mezclas de suelo con arena, o de suelo con arena y abono. Los sustratos se esterilizan en autoclave a presión de vapor o por solarización para evitar la presencia de organismos indeseables. La solarización se realiza mediante la exposición del suelo directamente al sol, de preferencia con el suelo húmedo y cubierto con plástico transparente, durante 3 a 4 semanas en la temporada más calurosa del año.

Con el sustrato preparado se llena la maceta o el cantero. Este último se puede construir sobre el propio suelo, mediante la extracción de la capa superficial a una profundidad de 25cm y el apisonamiento del subsuelo, en un área de terreno plano con dimensiones variables de acuerdo con la cantidad que se espera producir y la facilidad de su manejo. El área excavada se aísla con una fina capa de arena que a su vez facilite el drenaje y se rellena con el sustrato a utilizar, el cual puede ser el suelo extraído luego de haber sido solarizado y mezclado con abono orgánico.

Las raíces y el suelo adherido con la MA, que se recolectaron en el campo como fuente de inóculo, se desmenuzan finamente con un machete o un molino y se aplican debajo de la semilla de la planta trampa en la siembra. Entre las especies que han sido utilizadas como plantas trampa se encuentran: pasto insurgente (*Brachiaria brizantha*), pasto señal (*Brachiaria decumbens*), sorgo forrajero (*Sorghum vulgare*), zacate bahía (*Paspalum notatum*), maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), trébol (*Trifolium pratense*), cebolla (*Allium cepa*), entre otras (Fernández, 2003; Ijdo *et al.* 2011).

Las plantas trampa se dejan crecer por un periodo de 4 a 6 meses, con deshierbe manual y aplicación de riego con agua corriente de acuerdo con las necesidades de las plantas. Después de ese tiempo se recomienda recolectar una muestra proveniente de las macetas o los canteros y analizar

la colonización micorrícica de las raíces y el número de esporas. En función del resultado que se obtenga el biofertilizante estará disponible para su cosecha.

Figura 2. Cantero para la propagación de la micorriza arbuscular.



a) Siembra e inoculación.



b) Desarrollo de la planta trampa.



c) Cosecha de raíces con suelo adherido.

Cosecha y aplicación del biofertilizante micorrícico

En la cosecha se procede a separar la parte aérea y se deja secar el sustrato a temperatura ambiente, el cual contendrá las raicillas colonizadas, el micelio externo y las esporas que en su totalidad constituyen el biofertilizante micorrícico. El biofertilizante se desmenuza finamente con machete o molino y puede utilizarse para aplicarlo a las plantas de interés o almacenarse por un periodo de tiempo no mayor a dos meses a una temperatura de 4°C (Fernández, 2003).

La aplicación del biofertilizante micorrícico se lleva a cabo de manera que se permita un estrecho contacto de éste con las semillas o las raíces de las plántulas del cultivo de interés. En el caso del café (*Coffea arabica*) la biofertilización se realiza al momento de la siembra del almácigo o durante el trasplante de plántulas en estadio de “soldadito” o “mariposita”, colocando el biofertilizante debajo de las semillas y cubriendo con una capa delgada de sustrato, o alrededor de las raíces de las plántulas en el hoyo del trasplante en las bolsas de vivero. En otros cultivos, como el maíz (*Zea mays*), las semillas se humedecen ligeramente con agua y después se agrega el biofertilizante, mezclándolos bien hasta que el biofertilizante recubra las semillas. Luego se dejan secar durante toda una noche y al día siguiente por la mañana se siembran en la parcela (Pérez-Luna y Álvarez-Solís, 2021).

El café es una planta que de manera natural desarrolla la MA y responde a la aplicación de biofertilizante micorrícico. La inoculación de consorcios nativos de HMA del cafetal ha mostrado efectos positivos en el crecimiento de plántulas de algunas variedades de café en fase de vivero y en su sobrevivencia al trasplante en campo (Trejo-Aguilar *et al.*, 2011; Hernández-Acosta *et al.*, 2020). Por lo tanto, la tecnología de propagación de la MA nativa del cafetal y la biofertilización de las plantas en etapas tempranas de su desarrollo en el vivero, podrían ayudar a mejorar la nutrición y el crecimiento de las plantas de café. Estos aspectos deberán ser puestos a prueba en los campos de producción, de tal manera que permita realizar los ajustes y adaptaciones que se consideren necesarios para su adopción y su contribución en el fortalecimiento de la agricultura campesina en las zonas cafetaleras de nuestro país.

Figura 3. Biofertilización de plantas de café en vivero:



a) Inoculación de plántula al trasplante.



b) Plántulas con biofertilizante.



c) Desarrollo de plántulas con y sin MA nativa del cafetal.

Referencias

- Álvarez-Sánchez, J., Camargo-Ricalde, S.L., García-Sánchez, R., Gavito-Pardo, M., Guadarrama-Chávez, P., Montañón, N.M., Núñez-Castillo, O., Ramos-Zapata, J. Sánchez-Gallén, I. 2019. Ecología de la micorriza arbuscular en México. En: Biodiversidad de microorganismos de México. Importancia, aplicación y conservación. Álvarez-Sánchez, F.G., Rodríguez-Guzmán, P., Alarcón, A. (Coord.). UNAM, México.
- Fernández, F. 2003. Avances en la producción de inoculantes micorrízicos arbusculares. En: Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso el Caribe. La Habana:MINREX. p. 144-166.
- Gerdemann, J. W. y Nicolson, T. H. 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)
- Giovannetti, M. y Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84:489-500, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Hernández-Acosta, E., Trejo-Aguilar, D., Rivera-Fernández, A. y Ferrera-Cerrato, R. 2020. La micorriza arbuscular como biofertilizante en cultivo de café. *Terra Latinoamericana* 38:613-628, <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.659>
- Ijdo M., Cranenbrouck, S. and Declerck, S. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza* 21:1-16, <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0337-z>
- Pérez-Luna Y. C., Álvarez-Solís, J.D., Mendoza-Vega, J., Pat-Fernández, J.N., Gómez-Álvarez, R., y Cuevas L. 2012. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en maíz con cultivo de cobertura y biofertilizantes en Chiapas, México. *Gayana Botánica* 69:46-56, <https://doi.org/10.4067/S0717-66432012000100006>
- Pérez-Luna, Y. C., Álvarez-Solís, J.D. 2021. Efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre el rendimiento de maíz en parcelas con y sin cobertura vegetal. *IDESIA (Chile)* 39 (4): 29-38. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292021000400029>
- Phillips, J. y Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of the infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161, [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Robles-González, K.K., Álvarez-Solís, J.D., Bertolini, V. y Pérez-Luna, Y.C. 2023. Diversidad y propagación de hongos micorrízicos arbusculares nativos de un cafetal orgánico en Chiapas, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 46(2): 147-155. <https://doi.org/10.35196/rfm.2023.2.147>
- Sieverding, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. CIAT, Cali, Colombia. 56 págs.
- Trejo Aguilar, D., Ferrera-Cerrato, R., García, R., Varela, L., Lara, L. y Alarcón, A. 2011. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural* 84:23-31, <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2011000100002>

Guía práctica
Propagación de la micorriza arbuscular

Redacción de textos: J. David Álvarez-Solís¹, Kristell K. Robles-González, Silvia M. Gómez-Nuñez, Noé S. León-Martínez, Yolanda del C. Pérez-Luna, Angélica Pérez-López y Pablo Picazzo-Yamazaki en colaboración con un grupo de productores(as) socios(as) de la Unión de Productores Maya Vinic².

Responsable del proyecto: María Lorena Soto Pinto.
Coordinación editorial: Eduardo Bello Baltazar
Cuidado editorial: Fátima del Carmen García Salinas.
Fotografías: Dr. David Álvarez-Solís.
Diseño: Rina Pellizzari Raddatz.

El Colegio de la Frontera Sur
San Cristóbal de Las Casas
Chiapas, 2024.

¹ El Colegio de la Frontera Sur (dalvarez@ecosur.mx)

² <https://www.mayavinic.com/>



Coordinadora Mexicana de
Pequeños Productores
de Comercio Justo