

UTILIZACIÓN DE MICORRIZACIÓN CONTROLADA EN LA REFORESTACIÓN DE UN SUELO AGRÍCOLA CON PINO CARRASCO

The use of controlled mycorrhiza formation in the reforestation of an agricultural soil with aleppo pine

G. Díaz Espejo, A. Gutiérrez Abobal y M. Honrubia García

Dpto. Biología Vegetal-Botánica. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30100 ESPINARDO (Murcia, España).

Resumen

Se ha realizado una plantación experimental con *Pinus halepensis* micorrizadas con las especies fúngicas *Pisolithus tinctorius*, *Suillus mediterraneensis*, *S. collinitus* y *Rhizopogon roseolus*. El objetivo fue mejorar las técnicas de restauración de la cubierta vegetal en los ecosistemas semiáridos del Sureste Peninsular, principalmente en la recuperación de terrenos marginales y de abandono de cultivos. La plantación se llevó a cabo en una parcela de antiguo cultivo cerealista en el Monte La Une (Letur, Albacete). Durante los 3 años siguientes se observó una mayor supervivencia de las plantas micorrizadas (71-93%) respecto de las no micorrizadas (50%). En general, las plantas inoculadas con *Suillus* y *Rhizopogon* mostraron un incremento significativo en los parámetros de crecimiento con respecto a las plantas control hasta tres años después de la fecha de plantación.

Palabras clave: *Pinus halepensis*, *Ectomicorrizas*, *Semiárido*, *Plantación experimental*

Abstract

An experimental plantation with mycorrhized *Pinus halepensis* was carried out at Monte La Une, Letur, Albacete, Spain. The mycorrhizal fungi used were *Pisolithus tinctorius*, *Suillus mediterraneensis*, *S. collinitus* and *Rhizopogon roseolus*. The objective was to improve plant restoration techniques in semiarid ecosystems of South-East Spain, mainly focused on the recovery of abandoned agricultural lands. Three years after plantation, mycorrhized seedlings showed a higher percentage of survival than non-mycorrhized ones. In general, an increase on plant growth parameters was noted in plants inoculated with *Suillus* and *Rhizopogon*.

Key words: *Pinus halepensis*, *Mycorrhization*, *Semiarid*, *Experimental plantation*

INTRODUCCIÓN

Las actividades antrópicas como la eliminación de la cubierta vegetal para la implantación

de cultivos en terrenos poco aptos y la utilización indiscriminada de agroquímicos, entre otros, hacen que los suelos de vocación forestal, cultivados y posteriormente abandonados, hayan per-

dido total o casi totalmente su potencial de inóculo micorrícico. Por tanto, los procesos de restauración de los ecosistemas forestales deberán integrar, tanto los elementos arbóreos, como los edáficos asociados, tales como los microorganismos rizosféricos y entre éstos, los hongos micorrícicos (HONRUBIA *et al.*, 2002). La utilización de plantas micorrizadas puede suponer una ventaja para sobrevivir en ambientes degradados y para estabilizar la estructura de los suelos.

Son pocas las especies arbóreas capaces de resistir las condiciones de estrés hídrico que se dan en estas zonas áridas y semiáridas del Mediterráneo occidental. *Pinus halepensis* Miller es una de las especies forestales mejor adaptadas a la sequía y por tanto la más utilizada en los programas de reforestación en el Sureste de España.

El objetivo principal de este trabajo es contribuir a la mejora de las técnicas de restauración de la cubierta vegetal en los ecosistemas semiáridos del Sureste Peninsular, principalmente en la recuperación de terrenos marginales y de abandono de cultivos, a través de la micorrización controlada de planta en vivero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Inoculación en vivero

Se utilizaron dos técnicas de cultivo (A y B) para la producción de planta micorrizada que se resumen en las tablas 1 y 2.

Se utilizaron dos tipos de inóculo: miceliar y esporal. Para la producción de *inóculo miceliar* se realizaron aislamientos a partir del carpóforo en medio de cultivo MMN (Melin-Norkrans,

modificado). El cultivo de los micelios se realizó mediante fermentación sólida en botellas de vidrio con una mezcla de turba y vermiculita saturada con medio MMN líquido. El inóculo se aplicó a una dosis 1/10 en proporción al volumen de sustrato del contenedor. Para la producción de *inóculo esporal* de *P. tinctorius*, se desecaron y trituraron los carpóforos. La dosis de inoculación utilizada fue de $1,2 \times 10^{10}$ esporas/planta y se aplicó mediante inyección sobre el sistema radical. La inoculación se realizó según las técnicas expresadas en HONRUBIA *et al.* (1992).

El control de la micorrización se llevó a cabo a los 6 meses de la inoculación, mediante la estima del *porcentaje de micorrización* de todas las plantas.

Plantación experimental

La plantación se llevó a cabo en 1997 en una parcela situada en el Monte La Une, Letur, Albacete, UTM WH 7737. La altitud de la parcela seleccionada es de 1.100 m.s.n.m. La zona presenta una precipitación de 500-600 mm/m² y una temperatura media anual de 15°C. La vegetación que rodea la plantación está compuesta por las especies *Juniperus phoenicea*, *J. oxycedrus*, *Quercus rotundifolia*, *Cytisus scoparius*, *Genista scorpius*, *Erinacea anthyllis*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Lavandula latifolia* entre otras. La preparación del terreno se realizó mediante un subsolado lineal a 40 cm de profundidad, con una separación de 2 m entre líneas. El diseño experimental consistió en 3 bloques aleatorios, con 3 réplicas de 16 plantas (4 x 4) separadas 2 m entre sí en cada uno. A los 1, 8, 12, 24 y

Sustrato	2:1:1 (v/v) turba sphagnum /turba negra /perlita+vermiculita
Contenedor	Poliforest [®] , 350 cc.
Tratamiento Semillas	esterilización con H ₂ O ₂
Fertilización	Basfoliar (2-4-6) 0,5 %, 7 veces
Tratamientos de micorrización	Control sin inocular <i>Pisolithus tinctorius</i> 30 AM (Moratalla, Murcia) <i>P. tinctorius</i> 11 AM (Benamor, Murcia) <i>P. tinctorius</i> (La Alcayna, Murcia) <i>Rhizopogon roseolus</i> 32 AM (Moratalla, Murcia) <i>R. rubescens</i> var. <i>ochraceous</i> 33 AM (Moratalla, Murcia) <i>S. mediterraneensis</i> 35 AM (Moratalla, Murcia) <i>S. collinitus</i> 34 AM (Moratalla, Murcia) <i>S. collinitus</i> J3-15-32 (Nimes, Francia)

Tabla 1. Condiciones de cultivo A para la producción de planta

Sustrato	6:2:1:1 (v/v) turba de sphagnum/turba negra /vermiculita/arena
Contenedor	Forespot “, 250 cc
Tratamiento semillas	esterilización con H ₂ O ₂ , germinación previa en semillero
Fertilización	Basfoliar (2-4-6) 0.5 %, 7 veces
Tratamientos de micorrización	Control no inoculado <i>Pisolithus tinctorius</i> (La Alcayna, Murcia) <i>Rhizopogon roseolus</i> 13 AM (Benamor, Murcia) <i>R. roseolus</i> 26 AM (Micorriza Las Rejas, Albacete) <i>S. mediterraneensis</i> 22 AM (El Valle, Murcia)

Tabla 2. Condiciones de cultivo B para la producción de planta

36 meses de la plantación se determinó el porcentaje de supervivencia de las plantas y los parámetros morfométricos: altura, diámetro del cuello y número de ramificaciones.

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de la micorrización en la supervivencia

La supervivencia fue inferior al 50% en las plantas control y en las micorrizadas con *P. tinctorius* con la técnica A (figuras 1 y 2) a partir de los ocho meses de la fecha de plantación. Esta importante mortalidad pudo deberse a las extremas condiciones climáticas durante el invierno inmediato posterior a la plantación, debido a las bajas temperaturas y las continuas heladas. Es importante considerar que la parcela experimental se ubica en un área límite de distribución para el pino carrasco por su altitud. Sin embargo, el resto de plantas micorrizadas mostraron tasas de supervivencia muy superiores, hasta un 93% en el caso de *S. collinitus*, 89 % con *S. mediterraneensis* y 79% con *R. roseolus* en la técnica A, o de 72% con *P. tinctorius*, 81% con *R. roseolus* o 69% con *S. mediterraneensis* con la técnica B.

La micorrización con hongos seleccionados puede mejorar el estado nutricional de las plántulas en vivero (DÍAZ y HONRUBIA, 1999), lo que repercute en parte en su posterior supervivencia en campo (QUORESHI & TIMMER, 2000). Estos autores sugieren que el estado nutricional inicial puede ser mejor criterio que los parámetros morfológicos determinados tradicionalmente, para predecir la calidad de la planta. En nuestro caso, el incremento en la supervivencia de las plantas micorrizadas podría explicarse por una mejora del estado nutricional en el momento de la plan-

tación, en relación a las plantas no inoculadas o a las micorrizadas con *P. tinctorius* con la técnica A (datos no mostrados).

Efecto de la micorrización en el crecimiento

Las plantas micorrizadas con *Suillus* y *Rhizopogon* con la técnica A mostraron un incremento significativo en los parámetros de crecimiento con respecto a las plantas control hasta tres años después de la fecha de plantación, manteniéndose o superándose la ventaja inicial de las plantas micorrizadas (tabla 3). Las plantas micorrizadas con la técnica de cultivo B fueron significativamente mayores que las plantas control en algunos casos, a pesar incluso de la falta de diferencia inicial, lo que demuestra la capacidad de las micorrizas de estimular el crecimiento en condiciones de campo (tabla 4).

La micorrización controlada en vivero implica un manejo adecuado de las condiciones de producción de planta que sean compatibles con el proceso de inoculación y la formación de la micorriza (DÍAZ y HONRUBIA, 1998), manteniendo además unos requisitos mínimos de calidad de planta. El tamaño inicial de las plántulas producidas con la técnica A fue mayor que con la B; esta diferencia se mantuvo en campo durante los primeros años. Puesto que en ambos casos las condiciones ambientales, de fertilización y origen de la semilla fueron similares, dicha diferencia pudo ser debida al estrés sufrido debido al trasplante desde semillero con la técnica B.

El efecto positivo en la estimulación del crecimiento en campo de *R. roseolus* se ha demostrado previamente para *P. pinea* en España (PARLADÉ, 1999). Sin embargo, este hongo mostró un efecto negativo en *P. halepensis* inoculados con esporas en una plantación experimental en Aba-

nilla, Murcia, España (ROLDÁN & ALBALADEJO, 1994), o no dio lugar a ningún efecto con *P. ponderosa* y *P. sylvestris* (CASTELLANO, 1996). También se ha observado un efecto estimulador de *R. rubescens* con *P. banksiana* en Canadá (CASTELLANO, 1996). Asimismo, *S. collinitus* estimuló el crecimiento en campo de *P. halepensis* en un suelo semiárido (ROLDÁN & ALBALADEJO, 1994). Como ya se ha comentado, el efecto de *P. tinctorius* sobre el comportamiento de plántulas en campo es variable según la bibliografía existente tanto en supervivencia como en crecimiento; en muchos casos estimulando el crecimiento de *P. halepensis* (ROLDÁN & ALBALADEJO, 1994; QUEREJETA *et al.*, 1998).

Los tres hongos utilizados en este estudio, principalmente *S. collinitus*, pueden considerarse como pioneros en bosques de *P. halepensis* (HONRUBIA, 2000; HONRUBIA *et al.*, 2002). Por tanto, la inoculación con este tipo de hongos es una ventaja en los primeros estadios de los procesos de reforestación, debido a la mejor adaptación al medio que la simbiosis puede proporcionar a la planta.

El grado de dependencia de las micorrizas y/o especificidad varía según la especie conside-

rada. En este sentido, *P. halepensis* puede considerarse una especie con una gran afinidad ectomicorrícica (HONRUBIA, 2000), por lo que necesariamente hay que valorar los efectos positivos de una inoculación controlada, especialmente con vistas a reforestar suelos agrícolas abandonados u otros suelos degradados, erosionados o con escasez de inóculo ectomicorrícico natural. El efecto de la micorrización es mayor en zonas con algún tipo de estrés ambiental y, tal como se ha demostrado en la mayoría de los casos (PARLADÉ, 1999), este efecto consiste principalmente en un incremento de la supervivencia en los primeros años.

BIBLIOGRAFÍA

- CASTELLANO, M.A.; 1996. Outplanting performance of mycorrhizal inoculated seedlings. *En*: K.G. Mukerji (ed.), *Concepts in Mycorrhizal Research*: 223-231. Kluwer Academic Publishers Dordrecht.
- DÍAZ, G. & HONRUBIA, M., 1998. *Factors affecting mycorrhizal infection of containerized Pinus halepensis by Suillus sp., Rhizopogon*

Tratamiento	1 mes después de plantación			1 año después de plantación			2 años después de plantación		3 años después de plantación	
	Altura (cm)	Diametro (mm)	Ramas (n°)	Altura (cm)	Diametro (mm)	Ramas (n°)	Altura (cm)	Diametro (mm)	Altura (cm)	Diametro (mm)
Control	11.8 a	2.3 a	7.7 ab	22.5 a	4.1 ab	11.5 ab	30.1 a	6.9 ab	37.4 a	10.3 a
<i>P. tinctorius</i> 30 AM	11.7 a	2.6 bcd	7.4 a	29.1 bc	4.9 cde	12.1 ab	36.3 abc	7.0 ab	37.8 a	11.7 ab
<i>P. tinctorius</i> 11 AM	12.1 a	2.7 cd	7.8 ab	22.8 a	4.4 abc	10.1 a	33.7 ab	5.9 a	44.3 abc	15.5 c
<i>P. tinctorius</i>	12.8 abc	2.8 d	8.6 b	25.5 ab	3.9 a	12.6 ab	34.3 ab	6.3 a	43.2 ab	10.4 a
<i>R. roseolus</i> 32 AM	12.5 ab	2.5 abcd	7.1 a	28.4 bc	4.6 bcd	13.8 ab	39.9 bcd	8.1 bc	52.6 bcd	13.9 bc
<i>R. rubescens</i> 33 AM	13.5 bc	2.5 abc	8.5 b	28.0 b	4.5 abc	14.7 b	41.4 cd	8.8 cd	56.6 d	14.4 bc
<i>S. mediterraneensis</i> 35 AM	13.8 c	2.4 ab	7.9 ab	28.3 bc	4.3 abc	13.4 ab	40.0 bcd	7.9 bc	48.8 bcd	12.6 abc
<i>S. collinitus</i> 34 AM	14.9 d	2.5 abcd	8.0 ab	33.1 cd	5.2 de	13.5 ab	45.2 d	9.0 cd	53.9 cd	13.9 bc
<i>S. collinitus</i> J3-15-32	15.9 e	2.7 bcd	8.6 b	34.5 d	5.4 e	14.6 b	45.7 d	9.7 d	58.4 d	15.4 c

Tabla 1. Parámetros morfométricos de *P. halepensis* micorrizados y no micorrizados (técnica de cultivo A). Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Duncan ($p < 0.05$)

Tratamiento	1 mes después de plantación			1 año después de plantación			2 años después de plantación		3 años después de plantación	
	Altura (cm)	Diametro (mm)	Ramas (nº)	Altura (cm)	Diametro (mm)	Ramas (nº)	Altura (cm)	Diametro (mm)	Altura (cm)	Diametro (mm)
Control	12.5 b	2.4 b	6.9 a	17.4 a	3.5 a	9.2 a	21.5 a	4.3 a	25.9 a	7.7 a
<i>P. tinctorius</i>	12.9 b	2.3 b	5.2 a	19.3 a	3.5 a	10.5 a	27.6 ab	5.8 bc	32.8 ab	9.1 ab
<i>R. roseolus</i> 13 AM	13.9 b	2.5 b	5.1 a	18.9 a	3.7 a	12.2 a	25.0 ab	5.2 ab	30.8 ab	8.3 a
<i>R. roseolus</i> 26 AM	13.7 b	2.5 b	5.5 a	21.7 a	3.9 a	12.7 ab	29.0 ab	6.9 c	38.1 b	11.9 b
<i>S. mediterraneensis</i> 22 AM	10.5 a	1.9 a	5.5 a	17.5 a	3.3 a	10.3 a	30.3 b	6.3 bc	31.3 ab	9.5 ab

Tabla 2. Parámetros morfométricos de *P. halepensis* micorrizados y no micorrizados (técnica de cultivo B). Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes según el test de Duncan ($p < 0.05$)

- sp.* and *Pisolithus tinctorius* in nursery conditions. Second International Conference on Mycorrhizae (ICOM 2). Uppsala, Sweden.
- DÍAZ, G. Y HONRUBIA, M.; 1999. *Crecimiento y nutrición de plántulas micorrizadas de Pinus halepensis bajo diferentes regímenes de fertilización*. III Congreso Latinoamericano de Micología. Caracas.
- HONRUBIA, M.; TORRES, P.; DIAZ, G. Y CANO, A.; 1992. *Manual para micorrizar plantas en viveros forestales*. Monografías ICONA 54: 1-45.
- HONRUBIA, M.; 2000. Mycorrhizas in *Pinus halepensis* Miller. En: G. Ne'eman & L. Trabaud (eds.), *Ecology, biogeography and Management of Pinus halepensis and P. brutia Forest Ecosystems in the Mediterranean Basin*: 191-202. Backhuys Publishers. Leiden.
- HONRUBIA, M.; MORTE, A. Y DIAZ, G.; 2002. Dinamismo del componente fúngico micorrízico y su incidencia en la regeneración del bosque mediterráneo. En: J. Charco (ed.), *La regeneración natural del bosque mediterráneo en la Península Ibérica. Evaluación de problemas y propuesta de soluciones*: 87-114. DGCONA. Madrid.
- PARLADÉ, X.; 1999. *Comportamiento en campo de planta de reforestación inoculada con hongos ectomicorrízicos*. Actas I Congreso Hongos: Micorrización. Cáceres.
- QUEREJETA, J.I.; ROLDAN, A.; ALBALADEJO, J. & CASTILLO, V.; 1998. The role of mycorrhizae

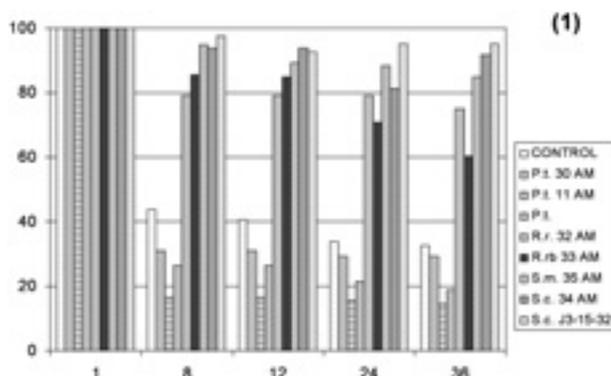


Figura 1. Porcentaje de supervivencia de *Pinus halepensis* inoculado con diferentes hongos ectomicorrízicos y producidos en contenedor mediante siembra directa según técnica de cultivo A, durante un periodo de tres años tras plantación en un suelo agrícola abandonado en Monte La Une, Albacete. P.t.: *Pisolithus tinctorius*, R.r.: *Rhizopogon roseolus*; R.rb.: *Rhizopogon rubescens*; S.c.: *Suillus collinitus*; S.m.: *Suillus mediterraneensis*

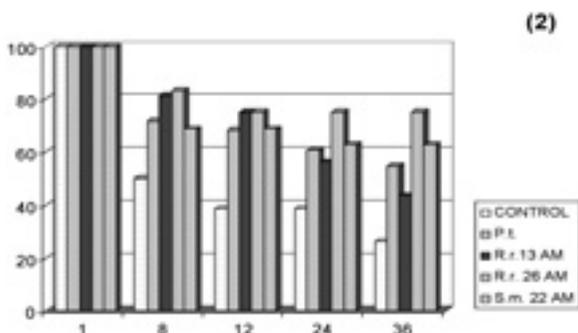


Figura 2. Porcentaje de supervivencia de *Pinus halepensis* inoculado con diferentes hongos ectomicorrícicos y producidos en contenedor tras trasplante desde semillero según técnica de cultivo B, durante un periodo de tres años tras plantación en un suelo agrícola abandonado en Monte La Une, Albacete. P.t.: *Pisolithus tinctorius*, R.r.: *Rhizopogon roseolus*; S.m.: *Suillus mediterraneensis*

zae, site preparation, and organic amendment in the afforestation of a semi-arid mediterranean site with *Pinus halepensis*. *For. Sci.* 44(2): 204-211.

QUORESHI, A.M. & TIMMER, V.R.; 2000. Early outplanting performance of nutrient-loaded containerized black spruce seedlings inocu-

lated with *Laccaria bicolor*: a bioassay study. *Can J. For. Res.* 30 (5): 744-752.

ROLDÁN, A. & ALBALADEJO, J.; 1994. Effect of mycorrhizal inoculation and soil restoration on the growth of *Pinus halepensis* seedlings in a semiarid soil. *Biol. Fert. Soils* 18: 143-149.