



Ingeniera en ciencias forestales graduada de la Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Nacional (wengonz.steam@gmail.com)



Académico, Universidad Nacional (carlos.avila.arias@una.ac.cr)



Académico, Universidad Nacional (orlando.chinchilla.mora@una.ac.cr)

Muestreo de suelo y rizosfera para la identificación de hongos micorrízicos arbusculares asociados naturalmente a la especie caoba

Wendy González González

Carlos Ávila Arias

Orlando Chinchilla Mora



La caoba o *Swietenia macrophylla* King es una especie de elevado valor comercial, la cual ha sido explotada en sus lugares de origen desde tiempos coloniales. Al ser tan valiosa y por las reconocidas características de su madera, ha sido muy utilizada por los industriales de la madera ([Calvo, 2000](#)). No obstante, esta especie presenta limitaciones de crecimiento ante la ausencia de fósforo, por lo que se le considera como uno de los principales nutrientes para el desarrollo óptimo de los individuos ([Souza et al., 2010](#)).

Por tanto, resulta oportuno estudiar las micorrizas, las cuales corresponden a una asociación mutualista entre las raíces de la mayoría de las plantas y ciertos hongos ([Lugo et al., 2018](#)). En dicha simbiosis, el hongo coloniza la corteza de la raíz del hospedero sin causarle ningún daño, llegando a ser mediante este proceso fisiológico y morfológicamente una parte funcional de la raíz; con esto, la planta le proporciona compuestos carbonatados derivados de la fotosíntesis y un sitio protegido (Bonfante, 1984; citado por [Vega, 2011](#)), mientras que el hongo a través sus hifas amplía el espacio de absorción de la raíz, permitiéndole a la planta aumentar

hasta 7 cm de superficie radicular (Vega, 2011). Esto genera mayor absorción de nutrientes y con ello mejores crecimientos del árbol (Agrios, 2005).

Pese a los beneficios que generan estas asociaciones mutualistas, se ha evidenciado una falta de investigaciones relacionadas con los *hongos micorrízicos arbusculares* (HMA), particularmente en especies forestales. Esta información ayudaría a comprender el apoyo biológico para suplir necesidades nutricionales en especies como caoba, ya sea en etapa de vivero o durante su crecimiento en campo.

Así, nace un proyecto de investigación dentro del Instituto de Investigación y Servicios Forestales de la Universidad Nacional (INISEFOR-UNA) denominado: “Nutrición temprana en caoba clonal: hacia un manejo integrado”, cuyo inicio se basa en identificar diferencias en la abundancia y diversidad de morfotipos de micorrizas arbusculares asociadas a las raíces de árboles de caoba en distintas zonas de vida. Para este proceso, el proyecto requirió de muestras de suelo y rizosfera obtenidas de manera técnica en seis sitios ubicados diferentes zonas de vida.

Para cumplir dicho propósito, primero se realizó una revisión bibliográfica

exhaustiva, la cual se basó en temas de generalidades de las micorrizas y en metodologías utilizadas en estudios anteriores, para diseñar un método eficiente y apropiado de colecta de las muestras en caoba. Posteriormente se seleccionaron seis lugares de muestreo que contaran con más de dos árboles en condiciones de poca intervención antrópica y donde no se realizaran aplicación de fungicidas, esto para obtener resultados sin distorsiones sobre los HMA asociados a los árboles. Para esta selección de sitios, fue necesario consultar a expertos en caoba y en diversidad florística.

Una vez ubicados los sitios de muestreo se contactó a los dueños o encargados de fincas para conocer si estos accedían a que se realizaran los muestreos en sus propiedades, así como una planificación de las fechas en las que se desarrollaron las colectas. El orden de las fechas se basó tanto en cercanías de los sitios como en la importancia del sitio para el muestreo, es decir, el entorno en el que se ubique el árbol, siendo de principal importancia los bosques, por su menor intervención humana. Finalmente, se realizaron seis giras de campo a los lugares seleccionados para proceder con las colectas de rizosfera y suelo; en cada sitio varió la cantidad de árboles de caoba muestreados y la zona de vida (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Descripción de zona de vida y número de árboles en los sitios de colecta.

Lugar de colecta	Número de árboles	Zona de vida
Santa Cecilia, Guanacaste	2	Bosque muy húmedo premontano transición a basal
Sardinal, Puntarenas	3	Bosque húmedo tropical
Santa Ana, San José	4	Bosque húmedo premontano
Puriscal, San José	5	Bosque muy húmedo tropical
Orotina, Alajuela	3	Bosque húmedo tropical
Cañas, Guanacaste	17	Bosque muy húmedo premontano transición a basal

Para ello se prepararon y enviaron 34 muestras de suelo al laboratorio, donde el suelo y raíz se colocaron en bolsas diferentes. Para el caso de las raíces, se realizó un lavado con agua y posteriormente secar con una toalla de papel; ambas muestras fueron rotuladas con el sitio de colecta, número de árbol y número de submuestra.

A partir de estos procedimientos que se obtuvieron 5 productos, los cuales corresponden a: 1- un documento técnico que dicta la metodología para la correcta colecta de suelo y rizosfera para la identificación de HMA en especies forestales; 2- un volante para campo con los pasos de la metodología anteriormente mencionada; 3- una base de datos de zonas en Costa Rica donde se han reportado individuos de caoba; 4- un total de 34 muestras de suelo y rizosfera listas para ser analizadas en el laboratorio y 5- una base de datos con las características propias de los árboles muestreados. El primer producto mencionado consta de tres secciones, la primera con las generalidades de los HMA, la segunda con una descripción general de la caoba y la tercera con la metodología propuesta para las colectas de rizosfera y suelo. Este funciona como base para realizar estudios similares en especies forestales en nuestro país.

La metodología para la colecta de suelo y rizosfera contempla tres momentos (pre, durante y el

almacenamiento y transporte de las muestras). El primero se refiere a una descripción detallada de las condiciones del sitio donde se encuentran inmersos los árboles de caoba, especificando las especies cercanas al árbol muestreado y describir el uso de suelo circundante, además contempla el retiro de hojarasca de los sitios donde se tomarán las muestras y tomar la ubicación geográfica del árbol.

En el segundo momento, se procede con la colecta de las 4 submuestras por árbol, estas se toman a 1.5 metros de distancia del fuste y cada una responde a un punto cardinal, para esto, es necesario guiarse además con las raíces principales y visibles del individuo a muestrear; primeramente, se toma la muestra de suelo utilizando un palín el cual será insertado en el suelo dos veces, con el fin de formar una "V" a 20 cm de profundidad, este suelo será removido y se tomará una porción de aproximadamente 2 cm de grosor, en una de las caras de la "V" formada.

Por último, se tomarán las muestras de rizosfera, para esto es necesario utilizar los mismos huecos; en cada uno de estos se debe continuar removiendo el suelo, hasta encontrar raíces finas (menores a 1 mm de diámetro) y se requieren al menos 30 cm de raíces por muestra. En el tercer momento se indica para el caso de las submuestras de suelo, que cada una debe ir en bolsas plásticas con cierre hermético y de manera individual. Cada bolsa se

rotula con un código que permita su trazabilidad, el cual debe contener número de árbol y número de submuestra; además de fecha de colecta, hora y persona que lo colectó. Para el caso de las raíces, el almacenamiento varía únicamente en que las 4 submuestras pueden guardarse en la misma bolsa. Para el transporte, deben colocarse las muestras dentro de una hielera cerrada y oscura a una temperatura de 4 °C, para asegurar la sobrevivencia de los organismos.

El segundo producto obtenido en el presente estudio se refiere a un resumen de la metodología de colecta, donde se presenta en un volante los pasos para tomar las muestras y los cuidados o consideraciones que se deben tener. Su utilidad radica en la posibilidad de llevarlo al campo y tener la metodología en un formato más accesible (**Figura 1**).

El tercer producto se refiere a una lista de 27 sitios ubicados de manera general en las provincias de Alajuela, Guanacaste, San José y Puntarenas, donde se pueden encontrar poblaciones o individuos de caoba, recopilados a partir de los reportes de personas expertas. En esta base de datos se podrá encontrar el nombre del lugar, el contacto, la cantidad de árboles presentes, coordenadas y una breve descripción del entorno.

Como cuarto y quinto producto se tienen respectivamente: las 136

ESTRATEGIA PARA LA COLECTA DE RAÍCES MICORRIZADAS Y ESPORAS DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Colecta de suelo

Se tomarán 4 submuestras por árbol, cada una encontrará distanciada a 1.5 m del fuste en dirección a los puntos cardinales (Figura 1).

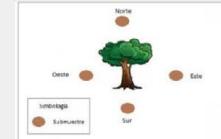


Figura 1. Distribución de muestras por árbol.

Pasos

1. Remoción de la hojarasca en sitio de muestreo.
2. Hacer hueco con forma de "V" con un palín a 20 cm de profundidad y retirar esa tierra.
3. Tomar porción de suelo de 2 cm de grosor y a la misma profundidad
4. Con un cuchillo se eliminan los bordes de la tierra en el palín
5. Desmenuzar la tierra dentro de una bolsa plástica hermética, donde se colocaron las 4 submuestras de manera individual
6. Amarrar 4 bolsas de las submuestras juntas, para identificar que es de un mismo árbol
7. Etiquetar las bolsas (fecha, hora, sitio de colecta, n° de árbol, nombre del que colectó y punto cardinal)



Figura 2. Secuencia de procesos.

Colecta de rizósfera

Se utilizarán los sitios donde se extrajeron las muestras de suelo, acá será necesario escavar hasta encontrar la raíz principal, a parte de esta, se buscan las raíces finas (aprox. 1 mm o menos de diámetro) y se extienden un total de 30 cm por árbol.

Se requiere de 7.5 cm de raíz por submuestra, puede ser un solo segmento de esta longitud o varios segmentos mayores a 1 cm que lo conformen.

Las raíces de las 4 submuestras se colocan dentro de una misma bolsa plástica con cierre hermético, a lo cual se le escribirá la siguiente información:

- Fecha de colecta
- Hora de colecta
- Lugar de colecta
- Número de árbol
- Persona que lo colecta



A considerar

1. Se debe realizar una descripción del entorno donde se encuentra el árbol
2. A cada árbol y submuestra se le debe tomar la ubicación espacial mediante un GPS y el nombre se asignará según el número de árbol y punto cardinal (N: 1; S: 2; E: 3; O: 4).
3. Tanto el suelo como las raíces se deben colocar en una hielera a 4°C
4. Desinfectar los equipos con agua y alcohol (70%) posterior a cada muestra
5. No usar equipo que estuvieran en contacto con fungicidas

Materiales necesarios

1. Palín
2. Cuchillo
3. Bolsas plásticas de aprox. 30 x 40 cm
4. Hielera
5. Marcador permanente
6. Cinta métrica
7. Brújula
8. GPS
9. Alcohol de 70%
10. Recipiente con agua
11. Regla
12. Cuerda



Proyecto: Nutrición temprana en caoba clonal: hacia un manejo integrado

Figura 1. Volante para campo con resumen metodológico para la recolección de muestras de suelo y rizósfera.

submuestras de suelo y rizosfera (**Figura 2**) y una base de datos en el programa Excel, donde se encuentra el número de árbol, coordenadas y descripción del entorno.

Aunque el estudio de hongos micorrízicos arbusculares asociados a especies forestales no es muy común, ahora se cuenta con una metodología de fácil aplicación. Al momento de la publicación de este artículo, no se tenían los resultados de laboratorio; sin embargo, se espera que esta pueda utilizarse para hacer estudios en otras especies de gran interés forestal y económico, propiciando innovación en paquetes tecnológicos que permitan su producción intensiva.



Figura 2. Muestra de raíces de caoba con diámetros menores a 1 mm.

Referencias

Agrios, G. (2005). *Fitopatología*. México DF, México: Limusa.

Calvo, J. (2000). *Diagnóstico de la caoba (Swietenia macrophylla King) en Mesoamérica: Visión General*. Centro Científico Tropical, Costa Rica. https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnack120.pdf

Lugo, M., Iriarte, H., Crespo, E., Torres, M., Ontivero, E., Risio, L... Ballesteros, S. (2018). *Manual de metodologías para el trabajo con hongos y sus simbiosis*. San Luis, Argentina: Nueva Editorial Universitaria. https://www.researchgate.net/publication/329755171_MANUAL_DE_METODOLOGIAS_PARA_EL_TRABAJO_CONHONGOS_Y_SUS_SIMBIOSIS

Souza, C., Tucci, C., Silva, J. y Ribeiro, W. (2010). Exigências nutricionais e crescimento de plantas de mogno (*Swietenia macrophylla* King.). *Acta Amazônica*, 40(3). 515-522. <https://www.scielo.br/pdf/aa/v40n3/10.pdf>

Vega, M. (2011). *Identificación de micorrizas vesiculos-arbusculares en especies agrícolas y forestales en la zona de Tingo María* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú. <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/137/AGR-581.pdf?sequence=1&isAllowed=y>