

BUSCANDO ALTERNATIVAS PARA VALORIZAR EL BOSQUE NATIVO

A continuación se entrega un estudio realizado por INFOR, donde se presenta una evaluación y comparación del crecimiento en vivero de plantas de Raulí inoculadas con *Morchella sp.* a cielo abierto y cubierto. Estudio de Caso.

Por: Iván Quiroz M.¹; Marta González O.²; Patricio Chung G.³

En los viveros de todo el mundo, la micorrización controlada es una operación que cada vez es más habitual, en la cual los viveristas deberán tener claro el destino final de las plantas producidas y poder tratarlas con los elementos fúngicos más adecuados, debido a que, en determinadas condiciones ambientales, algunas especies de hongos son más beneficiosas que otras, logrando que éstos sean más competitivos tanto en vivero como en la plantación (Sempere y Santamarina, 2001).

Las micorizas funcionan como un sistema de absorción que se extiende por el suelo y es capaz de proporcionar a la planta agua y nutrientes como son el nitrógeno y fósforo, y proteger las raíces contra algunas enfermedades. El hongo por su parte recibe de la planta azúcares y carbohidratos provenientes de la fotosíntesis. Su presencia aumenta la resistencia de las plántulas a la sequía, a temperaturas extremas del suelo y valores extremos de pH, además a ataques de hongos patógenos, áfidos y nemátodos. Por otro lado, estos hongos simbiotes proporcionan hormonas estimulantes del crecimiento, como auxinas, citoquininas, giberelinas y vitamina



B, las cuales son producidas por la planta en forma simultánea a las producidas por el hongo, pasando a constituir éstas últimas un aporte extra de tales hormonas. De esta manera contribuye a aumentar considerablemente el crecimiento y permite una mayor longevidad de las raíces (Slankis, 1973 cit. por Ipinza y Serrano, 1982).

Morchella spp. son hongos micorrícicos comestibles que se encuentran distribuidos alrededor del mundo, principalmente en climas templados húmedos, asociados a una gran variedad de plantas. Todas las especies de este género son considerados hongos de gran importancia culinaria, lo que sumado a su escasez, hace que en muchos países su valor comercial sea muy alto. Los principales consumidores de estos hongos se encuentran en el Hemisferio Norte (Francia, España, USA, Canadá) y por lo general el producto cosechado en estos países no alcanza a cubrir las necesidades internas por lo que se ha generado un gran flujo de producto proveniente de otros países como Nueva Zelanda, Chile y Argentina que se han convertido en uno de los mayores proveedores en contra estación de este hongo.

En Chile, las distintas especies representantes del género *Morchella sp.* se distribuyen desde la V a X Región. Entre ellas figuran



¹ Ing. Forestal (U. Austral de Chile); Dr. Recursos Naturales (Ludwig-Maximilians Universität München – Alemania), MBA (U. del Desarrollo), Director de Proyectos, Instituto Forestal, Sede Bio-Bío, iquiroz@infor.gob.cl
² Ing. Forestal (U. de Chile), Investigadora, Instituto Forestal, Sede Bio-Bío, mgonzale@infor.gob.cl
³ Ing. Forestal (U. de Chile), Investigador, Instituto Forestal, Sede Bio-Bío, pchung@infor.gob.cl

las especies *M. conica*, *M. esculenta* y *Morchella spp.*

En contraste con otros hongos, *Morchella sp.* generalmente está ausente de la dieta tradicional chilena, siendo recolectada únicamente cuando existen poderes compradores.

Normalmente se le encuentra en zonas cordilleranas y precordilleranas, principalmente en asociación con bosque nativo. Actualmente es posible encontrarlos en plantaciones especialmente de coníferas.

Existen dos formas de comercializar estos hongos: frescos, operación que se realiza prontamente una vez recolectado el hongo debido a la alta perecibilidad que presenta; y, deshidratados, con lo cual se logra obtener una mayor durabilidad del producto y un mejor precio. Los precios varían desde \$ 1.000/kg a \$ 10.000/kg fresco. El que aumenta a \$ 20.000/kg a \$ 65.000/kg deshidratado (Gysling *et al.*, 2005).

A continuación se detalla el objetivo de la investigación realizada, cual es, evaluar el efecto de la inoculación de *Morchella sp* en el crecimiento de plantas de raulí (*Nothofagus alpina*) para las variables altura y dac, en condiciones de cielo abierto (vivero) y cielo cubierto (invernadero).

Para su realización se llevó a cabo la siguiente metodología:

- **Siembra de semillas**

La siembra de semillas de Raulí procedentes de la zona de

la Área Productora de Semillas de Remeco se realizó en el mes de octubre del año 2007 en el invernadero de policarbonato del Instituto Forestal (INFOR) sede Bio-Bío. Esta Área Productora de Semillas, (APS) corresponde a un rodal casi puro de Raulí, de 40 a 60 años, localizado en la precordillera Andina de la Región de Los Ríos, en el predio "Remeco" perteneciente a COFOMAP S.A. (en sector ex Neltume Carranco S. A.). De acuerdo a las intervenciones efectuadas en esta APS el Índice de Calidad aumentó en un 133% en relación al Índice de calidad del rodal original que fue seleccionado para su transformación en APS (Figura 1) (Molina *et al.*, 2006). Las semillas fueron sembradas en tubetes de 140 cc de volumen, bajo condiciones ambientales semicontroladas a una temperatura de 25°C aproximadamente.

- **Tratamiento de semillas de raulí**

Las semillas se colocaron en remojo con ácido giberélico por 24 horas para remover la latencia endógena, tratamiento que reemplaza la estratificación en frío. Luego las semillas se enjuagaron con abundante agua y se dejaron en un recipiente con agua para separar las semillas flotantes o vanas, de las que se hunden (semillas viables). Posteriormente las semillas se llevaron por 4 días a una cámara de germinación para acelerar su proceso de germinación.

La siembra se realizó en forma directa al tubete; el sustrato utilizado consistió en corteza de pino tamizada de granulometría fina G10.

En el mes de diciembre y una vez que las plantas alcanzaron una altura aproximada de 5 cm fueron inoculadas con *Morchella sp.* Esta aplicación se realizó con regadera, en dosis 500 cc de inóculos esporal en 5 litros de agua y así asegurar una carga esporal por planta de 10⁶ esporas.

Para este ensayo se utilizaron un total de 56 almacigueras de 88 cavidades y 10 almacigueras de igual cantidad, que sirvieron de testigo. Esta cantidad se dividió en dos tratamientos, uno en invernadero y el segundo al aire libre. El total de plantas inoculadas fue de 4.928 y 880 plantas de testigo. No obstante de cada almaciguera se evaluaron 6 plantas.

Las variables evaluadas fueron altura en cm y Dac (diámetro a la altura del cuello) en mm.

Análisis estadísticos mensuales

Para examinar estadísticamente los datos en forma mensual, se utilizó el software estadístico Infostat P/2008. Debido a que los datos analizados corresponden a una sola medición, se realizó un análisis de varianza tradicional. El test de comparación utilizado correspondió al de Scott & Knott (1974).

El modelo utilizado fue:

$$Y = \mu + T + L + (T * L) + E$$

Donde : μ = Constante
 T = Tratamiento (Inoculado o no)
 L = Lugar (invernadero o vivero)
 E = Error



Análisis estadísticos en el tiempo

Con el objeto de determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el tiempo, es que se decidió trabajar con Modelos Estadísticos Lineales Mixtos (utilizando el Software SAS) para atender la falta de alguno(s) de los supuestos clásicos que requiere un análisis de varianza tradicional, y que corresponden a:

1. Los datos presentan una distribución normal.
2. Independencia de los datos.
3. Heterogeneidad de varianza.

Para el análisis de las variables dac y altura se realizó un análisis de mediciones repetidas en el tiempo o también conocido como análisis longitudinal. Estas mediciones repetidas son dependientes, lo que señala el no cumplimiento de la independencia de datos (las mediciones del mes 2 dependen de las mediciones del mes 1 y sucesivamente).

Para ello se consideraron, para cada individuo y parámetro, cinco evaluaciones consecutivas en el tiempo (mediciones de diciembre, enero, febrero, marzo y abril). Este análisis permite identificar tanto el efecto medio del tratamiento (tipo de contenedor), el efecto del tiempo, y la interacción tiempo por tratamiento, que corresponden a las tres hipótesis evaluadas, y que por lo tanto generan tres valores p.

Análisis micológico

Este análisis fue realizado por la Universidad de Concepción, y consistió en determinar el porcentaje de micorrización efectiva lograda por las plantas.

Las plantas fueron cuidadosamente extraídas del contenedor con el cepellón completo, y sumergidas en un baño de agua para empapar el sustrato. Después, se procedió a eliminar el sustrato de las raíces de las plantas, utilizando baño ultrasonido para no romper las raíces finas. El segundo paso en el examen fue una primera observación de todo el sistema radical de la planta a la lupa y microscopio estereoscópico, observando la presencia de raíces tróficas, su estado micorrícico, su clasificación y la presencia de contaminantes.

La preparación y conteo de ápices consistió en: 1) Eliminación del tallo y corte del sistema radicular de la planta en dos o cuatro partes iguales en sentido longitudinal, eligiendo aleatoriamente una parte para su análisis. 2) Corte del sistema radical en segmentos de 2-3 cm. y situarlos sobre una cuadrícula de 1 x 1 cm. en una bandeja de agua para el análisis. 3) Distribución de los segmentos homogéneamente por toda la superficie de la bandeja evitando romper ápices y comenzar el conteo utilizando cuadrículas elegidas aleatoriamente. 4) Clasificación de todas las raíces tróficas en las siguientes categorías: micorrizadas con la especie de interés y micorrizadas con micorrizas contaminantes. Los ápices senescentes se considerarán no micorrizados. 5) Término del

conteo hasta haber observado un mínimo de 300 ápices según metodología descrita por Fischer y Colinas (1996). Los datos fueron incorporados en la hoja de cálculo de cada planta.

Después de haber examinado 300 ápices o más, se calcularon las siguientes proporciones: porcentaje de micorrización (PM) de la planta de raulí con la especie de interés, calculándose con la siguiente fórmula:

$$[PM(\%) = AME/(ANM+MC)]$$

donde :

AME, es la cantidad de ápices micorrizados efectivamente con la especie de interés.

ANM, es el número de ápices no micorrizados.

MC, es el número de ápices micorrizados con contaminantes.

ANÁLISIS Y RESULTADOS

Análisis mensuales mediante Andeva

• Evaluación del factor Lugar (invernadero y vivero)

Cuadro 1. Resultados de Altura y Dac de Raulí en invernadero y vivero

Mes de Evaluación	Raulí Invernadero		Raulí Vivero	
	Altura (cm)	Dac (mm)	Altura (cm)	Dac (mm)
dic-07	8,52 a	1,56 a	8,56 a	1,57 a
ene-08	14,56 a	2,06 a	15,99 b	2,24 b
feb-08	16,79 a	2,54 a	19,73 b	2,82 b
mar-08	19,18 a	2,85 a	22,92 b	3,47 b
abr-08	19,77 a	3,16 a	23,41 b	3,67 b

Letras distintas en una misma fila para el mismo parámetro, indican diferencias significativas ($p <= 0,05$)

Para el caso de la comparación, del Lugar, es decir, donde se encontraban ubicadas las plantas, se observa que para la altura y dac de raulí, existen diferencias estadísticamente significativas, siendo las plantas ubicadas en el exterior o vivero las que presentan una altura y dac estadísticamente superior a aquellas ubicadas en invernadero, independiente si las plantas se encontraban o no inoculadas.

• Evaluación del factor Tratamiento (Testigo y Morchella)

Cuadro 2. Resultados de Altura y Dac de Raulí en plantas con y sin Morchella

Mes de Evaluación	Raulí Testigo		Raulí Morchella	
	Altura (cm)	Dac (mm)	Altura (cm)	Dac (mm)
dic-07	7,72 a	1,49 a	9,35 b	1,64 b
ene-08	14,24 a	2,04 a	16,31 b	2,27 b
feb-08	16,60 a	2,54 a	19,92 b	2,83 b
mar-08	19,94 a	3,04 a	22,16 b	3,28 a
abr-08	20,61 a	3,31 a	22,57 a	3,52 a

Letras distintas en una misma fila para el mismo parámetro, indican diferencias significativas ($p <= 0,05$)

Al hacer las pruebas de comparación múltiples para cada variable, se observa que hay diferencias significativas para la Altura y Dac, en aquellas plantas de raulí que fueron inoculadas con *Morchella sp.*, independiente si estas se encontraban en invernadero o vivero.

• Evaluación de la Interacción Tratamiento y Lugar

Cuadro 3. Resultados de Altura y Dac de Raulí en plantas con y sin *Morchella* en Invernadero y Vivero

Mes de Evaluación	Raulí Testigo invernadero		Raulí Testigo vivero		Raulí <i>Morchella</i> invernadero		Raulí <i>Morchella</i> vivero	
	Altura (cm)	Dac (mm)	Altura (cm)	Dac (mm)	Altura (cm)	Dac (mm)	Altura (cm)	Dac (mm)
dic-07	7,20 a	1,45 a	8,24 b	1,53 a	9,83 c	1,69 a	8,87 b	1,59 a
ene-08	13,40 a	1,98 a	15,09 a	2,10 a	15,73 a	2,15 a	16,89 a	2,38 b
feb-08	15,23 a	2,42 a	17,97 c	2,65 a	18,35 a	2,66 a	23,66 a	3,00 b
mar-08	17,70 a	2,75 a	22,18 c	3,32 b	20,66 b	2,95 a	23,66 a	3,61 b
abr-08	18,28 a	3,05 a	22,95 c	3,58 b	21,27 b	3,26 a	23,88 c	3,77 b

Letras distintas en una misma fila para el mismo parámetro, indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Al realizar las pruebas de comparación, a la interacción tratamiento y lugar, se observa que hay diferencias estadísticamente significativas para la variable altura y dac, observándose que la altura y dac fue menor en aquellas plantas de raulí sin inocular que estaban creciendo en invernadero. Por su parte, las plantas de raulí inoculadas con *Morchella sp.* que estaban creciendo en vivero, presentaron la mayor altura y dac.



Análisis Estadísticos Lineales Mixtos

En las Figuras 1 y 2 se presenta la evolución mensual del crecimiento en altura y Dac de las plantas de raulí ensayadas. Se observa que para ambas variables evaluadas la tendencia es la misma, es decir, las plantas de Raulí inoculadas con *Morchella* y ubicadas en el vivero, presentan los valores más altos de altura y dac en las cuatro mediciones. No obstante, las plantas ubicadas en el invernadero y sin inocular presentan los valores más bajos tanto para altura y dac en las cuatro evaluaciones. Se observa en el último periodo que las plantas testigos ubicadas a cielo abierto (vivero), presentan una altura y dac mayor que las plantas de invernadero inoculadas.

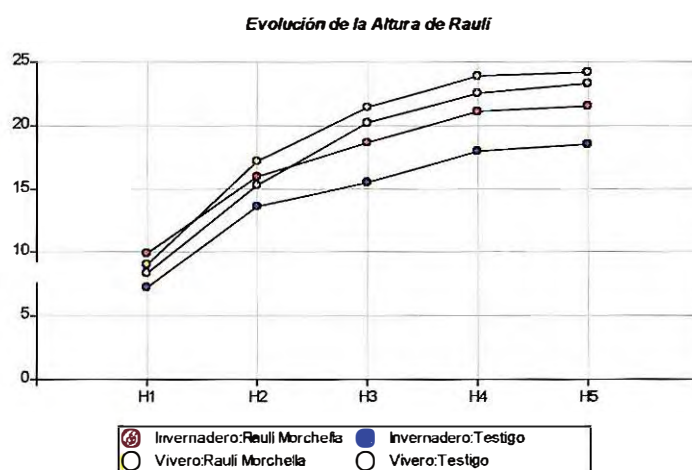


Figura 1. Perfiles temporales por tratamiento para la altura de Raulí.

Para analizar la variable Altura en el tiempo se probaron los modelos de Simetría compuesta (CS), Simetría Compuesta heterocedástico (CSH), Autoregresivo de orden 1 (AR1) y Autoregresivo heterocedástico de orden 1 (ARH1), solo los modelos CS y AR(1) alcanzaron los criterios de convergencia requeridos por SAS.

Como muestra la Tabla 1, el modelo que mejor se ajusta corresponde al Modelo AR(1), que presenta los menores valores en ambos índices.

Tabla 1. Resultados del Modelo de efecto Fijo AR(1)

Efecto	GL	DF	Valor F	Pr > F
Tratamiento	1	1	6,90	0,2316
Tiempo	4	1.308	124,00	<0,0001
Lugar	1	1	10,06	0,1945
Tratamiento*Tiempo	4	1.308	0,04	0,9968

Como se observa en la Figura 1 y en la Tabla 1, no existen diferencias estadísticas significativas para la altura entre las plantas raulíes inoculados y aquellas no inoculadas durante todo el periodo de evaluación. No obstante, los mayores valores lo

obtuvieron las plantas de raulí inoculadas con *Morchella sp.* y ubicadas a cielo abierto (vivero) y los menores valores de altura lo obtuvieron las plantas de raulí sin inocular con *Morchella sp.* y ubicadas a cielo cubierto (invernadero).

Evolución del Dac de plantas de Raulí

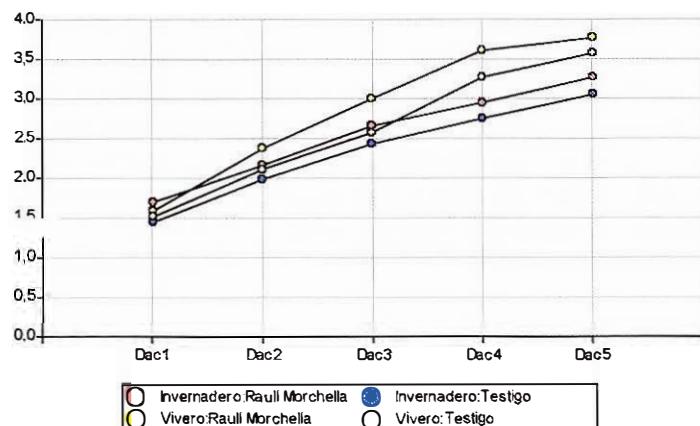


Figura 2. Perfiles temporales por tratamiento para el Dac de Raulí.

Para analizar la variable Dac en el tiempo se probaron los modelos de Simetría compuesta (CS), Simetría Compuesta heterocedástico (CSH), Autoregresivo de orden 1 (AR1) y Autoregresivo heterocedástico de orden 1 (ARH1), solo los modelos CS y AR (1) alcanzaron los criterios de convergencia requeridos por SAS.

Como muestra la Tabla 2, el modelo que mejor se ajusta corresponde al Modelo AR(1), que presenta los menores valores en ambos índices.

Tabla 2. Resultados del Modelo de efecto Fijo AR (1)

Efecto	GL	DF	Valor F	Pr > F
Tratamiento	1	1	22,09	0,1335
Tiempo	4	1.308	144,35	<0,0001
Lugar	1	1	60,14	0,0816
Tratamiento*Tiempo	4	1.308	0,50	0,7363

Como se observa en la Figura 2 y en la Tabla 2, no existen diferencias estadísticas significativas para el Dac entre las plantas raulíes inoculados y aquellas no inoculadas durante todo el periodo de evaluación. No obstante, los mayores valores lo obtuvieron las plantas de raulí inoculadas con *Morchella sp.* y ubicadas a cielo abierto (vivero) y los menores valores de dac lo obtuvieron las plantas de raulí sin inocular con *Morchella sp.* y ubicadas a cielo cubierto (invernadero).

Análisis Micológico

Se observó un buen porcentaje de micelio de color cremacastaño formando un manto fúngico alrededor de las raíces primarias, secundarias y terciarias. Los resultados indican

porcentajes de micorrización que varían desde 5 al 33%, lo cual permite asegurar que el proceso de infección con *Morchella sp.* fue efectiva.

No se observa la presencia de especies infecciosas agresivas que desplacen el micelio de *Morchella sp.*, salvo la especie *Descolea sp.* que sí presenta abundantes porcentajes de infección (40 al 80% de micorrización), pero que al parecer no ocasiona problemas con el inoculo utilizado, ya que el micelio de *Morchella sp.* se observa en todas las plantas ensayadas.

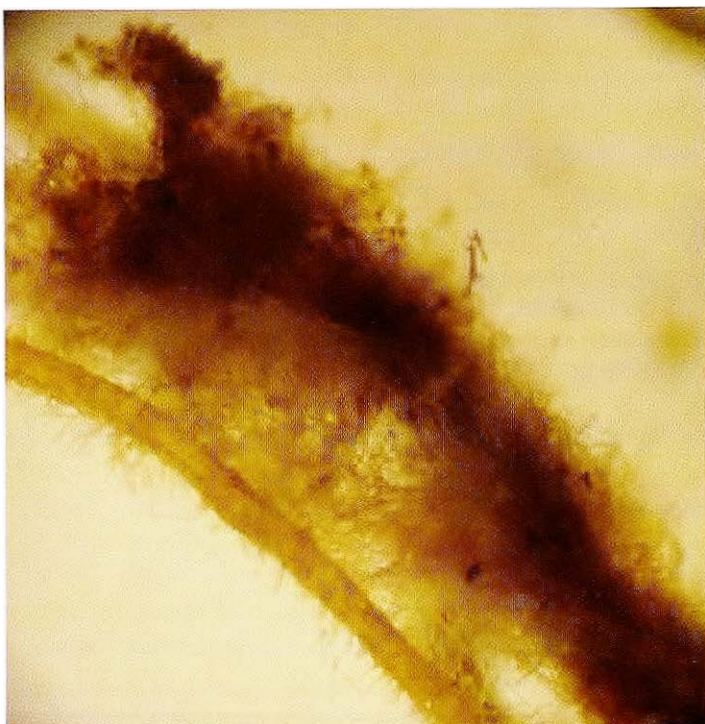
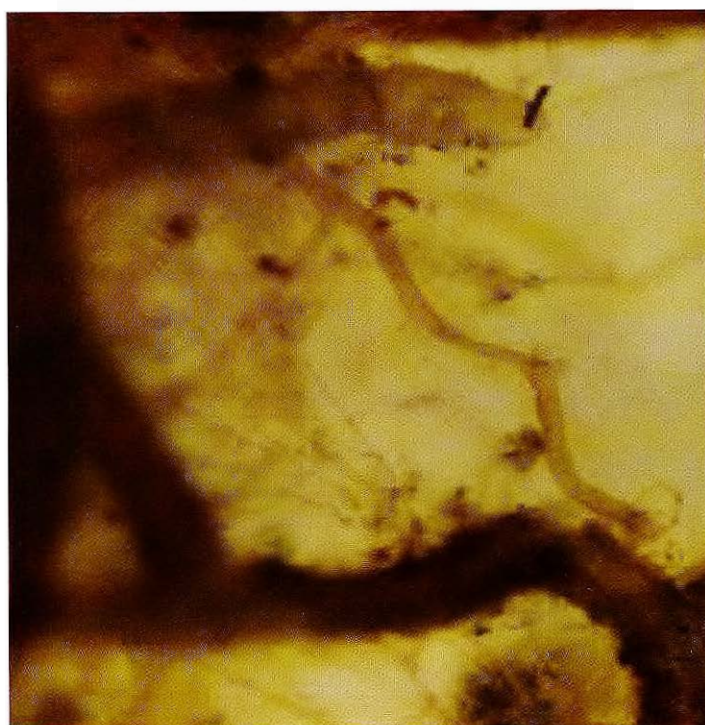


Figura 3. Micelio de Morchella cubriendo las raíces de Raulí



Conclusiones y consideraciones generales

De los resultados obtenidos durante el periodo de evaluación se puede concluir que:

- Las plantas de Raulí inoculadas con *Morchella* y producidas en un contenedor de 140 cc de volumen, alcanzan una altura media mayor a 21 cm al final del periodo de viverización de una temporada. Las plantas de Raulí no inoculadas y producidas en un contenedor de 140 cc de volumen, alcanzan una altura media mayor a 18 cm al final del periodo de viverización de una temporada.
- Las plantas de Raulí inoculadas con *Morchella* y producidas en un contenedor de 140 cc de volumen, alcanzan un Dac media mayor a 3,5 mm al final del periodo de viverización de una temporada. Las plantas Raulí no inoculadas y producidas en un contenedor de 140 cc de volumen, alcanzan un Dac medio mayor a 3,3 mm al final del periodo de viverización de una temporada.
- Existen diferencias significativas en las plantas de raulí establecidas a cielo abierto (vivero) y cubierto (invernadero), presentando los mayores valores en altura y Dac las plantas ubicadas a cielo abierto.
- La interacción de los factores lugar - tratamiento, señala diferencias estadísticamente significativas en aquellas plantas de raulí inoculadas con *morchella* y ubicadas a cielo abierto o vivero, las que presentan los mayores valores de altura y Dac.
- Las plantas de raulí que fueron inoculadas con *Morchella*, independiente si estas se encontraban en invernadero o vivero, presentaron los mayores valores de altura y dac, no obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas durante el periodo de evaluación completo.
- La incorporación de inóculos de *Morchella* en plantas de Raulí permitirá ir reestableciendo ecosistemas que por diversas razones (económicas, ecológicas y/o sociales) ya no existen.
- La *Morchella* es un hongo nativo de alto valor, que permitiría incrementar los ingresos de una parte importante de la población rural del país que vive en las cercanías de bosques nativos de algunos tipos forestales (Roble-Raulí-Coigüe, Coigüe-Raulí-Tepa y Ciprés de la Cordillera) o en lugares donde antes existían estas especies.
- La aplicación de inóculos de *Morchella* es una técnica factible de realizar en viveros forestales.
- El uso de micorrizas es beneficioso para las plantas.

Dada la alta presión que existe hoy en día por el recurso *Morchella*, es clave que se generen líneas y fondos de investigación técnica y aplicada de modo de implementar un programa que se aplique y transfiera a la comunidad, y a la vez, genere información acerca de un recurso altamente demandado.■

BIBLIOGRAFÍA

- Scott, A. J.; Knott, M.** 1974. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.
- Fischer, C.; Colinas, C.** 1996. Puesta a punto de un método de control de planta de *Quercus ilex* inoculada con *Tuber melanosporum*. Informe final. Centro de Investigación Forestal de Valonsadero. Junta de Castilla y León. Soria.
- Infostat**, 2008. InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Ipinza, R. y M. Serrano.** 1982. Micorrización artificial sobre pino insigne en la Estación Experimental Pantanillo - Las Brisas (VII Región). Universidad de Chile, Escuela de Cs. Forestales, Cs. Forestales v. 2. n. 2 pp: 77-93.
- Molina, M.P.; Gutiérrez, B.; Ortiz, O.; Bello, A.; Navarrete, M.** 2006. Diagnóstico de existencia, estado actual y final de áreas productoras de semillas establecidas con especies prioritarias para la diversificación forestal. PROYECTO INFOR-SAG. "Fuentes de Semilla Mejorada para las Especies Prioritarias en la Estrategia de Diversificación Forestal Nacional". INFOR. 32 p.
- Sempere, F. y P. Santamarina.** 2001. La aplicación de las micorrizas. *Revista Agrícola Vergel*. N°232. Abril 2001. Pp: 198-201.