



**EVALUACION DEL CRECIMIENTO INICIAL DE ALISO (*Alnus acuminata*  
H.B.K.) BAJO EL EFECTO DE *Frankia alni*, HONGOS FORMADORES DE  
MICORRIZA ARBUSCULAR Y FERTILIZACION QUIMICA CON NITROGENO  
EN CONDICIONES DE INVERNADERO EN EL MUNICIPIO DE PASTO,  
DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**KATHERINE SHIRLEY IGUA BELTRAN  
TERESA VALENTINA LOMBANA ROSERO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROFORESTAL  
PASTO-COLOMBIA  
2008**

**EVALUACION DEL CRECIMIENTO INICIAL DE ALISO (*Alnus acuminata*  
H.B.K.) BAJO EL EFECTO DE *Frankia alni*, HONGOS FORMADORES DE  
MICORRIZA ARBUSCULAR Y FERTILIZACION QUIMICA CON NITROGENO  
EN CONDICIONES DE INVERNADERO EN EL MUNICIPIO DE PASTO,  
DEPARTAMENTO DE NARIÑO**

**KATHERINE SHIRLEY IGUA BELTRAN  
TERESA VALENTINA LOMBANA ROSERO**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar El Titulo de  
**INGENIERO AGROFORESTAL**

**Presidente de tesis  
MARCELA RUALES ALVAREZ Ing. Agr.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROFORESTAL  
PASTO - COLOMBIA  
2008**

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de las autoras”

Artículo Primero del Acuerdo Número 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

\_\_\_\_\_  
**Marcela Rúales Álvarez I.A.**  
**Presidente de tesis**

\_\_\_\_\_  
**Jorge Fernando Navia Estrada I.A. PhD.**  
**Jurado delegado**

\_\_\_\_\_  
**Jorge Vélez Lozano I.AF. M.Sc.**  
**Jurado**

\_\_\_\_\_  
**Germán Ernesto Chaves Jurado I.A. Esp.**  
**Jurado**

**San Juan de Pasto, Junio de 2008**

**DEDICO A:**

Dios por ser la luz que guía mi camino.

Mis padres, hermanos y sobrinos por su comprensión, paciencia y apoyo incondicional en cada una de las etapas de mi vida.

Mis familiares, compañeros y amigos por impulsarme a seguir adelante.

“A todos ellos les dedico este triunfo”

**KATHERINE IGUA**

### **DEDICO A:**

Mis padres Francisco y Teresa por su ejemplo y apoyo incondicional.

A mis hermanos Yadira, Francisco y Maritza por acompañarme en el transcurso de mi vida.

A Luz y a mis abuelitos Rubén y Consolación por su gran amor, entrega y dedicación.

A mis tíos y tías que de una u otra manera me impulsan a seguir adelante.

A mis compañeras Katherine Iguá y María Fernanda Vallejo por su amistad y compañerismo durante el proceso de formación en la universidad.

Y a Dios por haber sembrado en mi la perseverancia y la inquietud por conocer.

**VALENTINA LOMBANA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Las autoras expresan su agradecimiento:

A la CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA – CORPOICA, Unidad Local Pasto, por la financiación de la investigación y colaboración prestada durante el desarrollo de esta investigación.

A la FEDERACIÓN COLOMBIANA DE PRODUCTORES DE PAPA, Sede Pasto, por su colaboración prestada durante el desarrollo de esta investigación.

A Marcela Rúaless Álvarez. Ingeniera Agrónoma, por ser guía y un apoyo en el desarrollo de cada una de las actividades que se llevaron a cabo para el desarrollo de esta investigación.

Al docente Jorge Alberto Vélez Lozano. Ingeniero Agroforestal M.Sc. por su colaboración durante el proceso de asesoría para la realización de esta investigación.

Al docente Germán Chaves Jurado. Ingeniero Agrónomo. Esp. Por su colaboración para la realización de este proyecto.

Al docente Jorge Fernando Navia Estrada. Ingeniero Agrónomo. PhD. Por su colaboración en la asesoría de esta investigación.

A la Facultad de Ciencias Agrícolas, Programa de Ingeniería Agroforestal.

A Sandra Torres. Ingeniera Agroforestal. Por su amistad y colaboración para la culminación de este trabajo.

A todos nuestros amigos y compañeros del Programa de Ingeniería Agroforestal.

## CONTENIDO

	<b>pág.</b>
INTRODUCCION	24
1. MARCO TEORICO	26
1.1 EL ALISO	26
1.1.1 Generalidades	26
* Clasificación botánica	26
1.1.2 Descripción	26
* Distribución natural	27
* Ecología	27
* Suelos	27
* Raíces	28
* Semillas	28
* Reproducción	28
* Importancia y usos	29
1.2 EL NITROGENO	29
1.2.1 Simbiosis <i>Alnus</i> - <i>Frankia sp.</i> en la fijación de nitrógeno	30
1.3 <i>Frankia sp.</i>	30
1.3.1 Bacterias del género <i>Frankia sp.</i> , fijadoras de N <sub>2</sub>	30
1.3.2 Clasificación taxonómica	31
1.3.3 Morfología	31
1.3.4 Aislamiento	31
1.3.5 Nódulos, proceso de colonización y formación	32
1.3.6 Ecología y dispersión	33
1.4 HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA ARBUSCULAR (HMA)	33

1.4.1 Definición, funcionamiento e importancia de las micorrizas	34
1.4.2 Tipos de micorrizas	35
* Endomicorrizas arbusculares (HMA)	35
* Taxonomía de micorriza arbuscular	35
1.4.3 Interacción de microorganismos rizosféricos	35
1.5 INTERACCION <i>Frankia</i> – MICORRIZAS	36
2. DISEÑO METODOLOGICO	38
2.1 LOCALIZACION	38
2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	39
2.2.1 Distribución de los tratamientos	39
2.2.2 Tratamientos	39
2.3 FASE DE GERMINADOR	40
2.3.1 Preparación del sustrato	40
* Desinfección del suelo	40
* Limpieza y desinfección de la arena	40
2.3.2 Establecimiento del germinador	40
2.4 FASE DE ALMACIGO	41
2.4.1 Embolsado	41
2.4.2 Fertilización Nitrogenada	41
2.4.3 Inoculación con <i>Frankia alni</i> .	41
2.4.4 Inoculación con HMA (Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular).	42
2.4.5 Trasplante de las plántulas de aliso	42
2.4.6 Practicas Culturales	42

2.5 VARIABLES EVALUADAS	42
2.5.1 Variables	42
* Diámetro del tallo	42
* Longitud de la parte aérea de la planta	43
* Longitud de la raíz	43
* Materia seca de la parte aérea de las plantas	44
* Peso fresco de la raíz	44
* Número de hojas	44
2.5.2 Composición química de las plantas	44
* Determinación del contenido foliar de nitrógeno	44
2.5.3 <i>Frankia alni</i> .	45
* Número de nódulos	45
2.5.4 Micorriza Arbuscular	46
* Porcentaje de colonización por HMA	46
* Cuantificación de la colonización micorrícica	46
* Número de esporas (Nº/g suelo seco)	48
2.6 ANALISIS ESTADISTICO	50
3. RESULTADOS Y DISCUCION	51
3.1 EFECTO DE LA APLICACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN EL CRECIMIENTO DE ALISO.	51
3.1.1 Diámetro del tallo	51
3.1.2 Longitud de la parte aérea de la planta	52
3.1.3 Longitud de la raíz	54
3.1.4 Materia seca parte aérea de la planta	56
3.1.5 Peso fresco de la raíz	58
3.1.6 Número de hojas	59
3.1.7 Contenido foliar de nitrógeno	61

3.2 COMPORTAMIENTO DEL GENERO <i>Frankia alni</i> CON RELACION A LOS TRATAMIENTOS	61
3.2.1 Número de nódulos	61
3.3 COMPORTAMIENTO DE LA MICORRIZA ARBUSCULAR CON RELACION A LOS TRATAMIENTOS	64
3.3.1 Porcentaje de colonización por HMA.	64
3.3.2 Cuantificación de la colonización micorrícica.	66
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
BIBLIOGRAFIA	70
ANEXOS	75

## LISTA DE FIGURAS

	<b>pág.</b>
Figura 1. Plántula de aliso, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	26
Figura 2. Mapa ubicación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	38
Figura 3. Medición de longitud de la parte aérea de la planta, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	43
Figura 4. Medición de longitud de raíz de la planta, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	43
Figura 5. Evaluación porcentaje de colonización HMA con la técnica de tinción por azul de tripano planteada por Philips Y Hayman (1970), Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	47
Figura 6. Cuantificación de la colonización micorrícica con la metodología de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicolson (1963), Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	49
Figura 7. Comportamiento de tres tratamientos frente a la variable longitud de la parte aérea de la planta., Centro Experimental Obonuco – FEDEPAPA, 2007	52
Figura 8. Medición de la longitud de la raíz, Centro Experimental Obonuco – FEDEPAPA, 2007	54
Figura 9. Presencia de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno en raíces de <i>Alnus acuminata</i> como respuesta a la colonización por <i>Frankia alni</i> . Centro Experimental Obonuco – FEDEPAPA, 2007	62
Figura 10. Presencia de HMA en las raíces de <i>Alnus acuminata</i> , Centro Experimental Obonuco – FEDEPAPA, 2007.	64
Figura 11. Conteo del número de esporas, Centro Experimental Obonuco – FEDEPAPA, 2007.	66

## LISTA DE GRÁFICAS

	<b>pág.</b>
Gráfica 1. Comparación de Promedios de Tukey para diámetro del tallo (mm)	51
Gráfica 2. Comparación de Promedios de Tukey para Longitud de la parte aérea de la planta (cm).	53
Gráfica 3. Comparación de Promedios de Tukey para longitud de la raíz (cm).	55
Grafica 4. Comparación de Promedios de Tukey para materia seca (%).	56
Gráfica 5. Comparación de Promedios de Tukey para peso fresco de raíz (gr.)	58
Gráfica 6. Comparación de Promedios de Tukey para número de hojas.	59
Gráfica 7. Comparación de Promedios de Tukey para número de nódulos.	62
Gráfica 8. Comparación de Promedios de Tukey para porcentaje de colonización por HMA (%).	65
Gráfica 9. Comparación de Promedios de Tukey para cuantificación de la colonización micorrícica.	66

## LISTA DE CUADROS

	<b>pág.</b>
Cuadro 1. Distribución de los tratamientos, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	39
Cuadro 2. Tratamientos evaluados, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007	39

## LISTA DE ANEXOS

	<b>pág.</b>
ANEXO 1. Análisis químico - físico del suelo utilizado para esta Investigación. Universidad de Nariño, 2007.	76
ANEXO 2. Formato para la toma de datos de las variables evaluadas.	77
ANEXO 3. Formato para determinar los campos colonizados o no colonizados.	78
ANEXO 4. Análisis de Varianza para diámetro del tallo (mm).	79
ANEXO 5. Comparación de Promedios para diámetro del tallo (m) con Respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	80
ANEXO 6. Análisis de Varianza para longitud de la parte aérea de la planta (cm).	81
ANEXO 7. Comparación de Promedios para longitud de la parte aérea de la planta (cm) con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	82
ANEXO 8. Análisis de Varianza para longitud de raíz (cm).	83
ANEXO 9. Comparación de Promedios para longitud de raíz (cm) con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	84
ANEXO 10. Análisis de Varianza para materia seca de la parte aérea de la Planta.	85
ANEXO 11. Comparación de Promedios para materia seca de la parte aérea de la planta con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	86
ANEXO 12. Análisis de Varianza para peso fresco de raíz (gr.)	87
ANEXO 13. Comparación de Promedios para peso fresco de raíz (gr.) con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	88
ANEXO 14. Análisis de Varianza para número de hojas.	89
ANEXO 15. Comparación de Promedios para número de hojas con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	90

ANEXO 16. Análisis de Varianza para contenido foliar de nitrógeno.	91
ANEXO 17. Comparación de Promedios para contenido foliar de nitrógeno con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	92
ANEXO 18. Análisis de Varianza para número de nódulos.	93
ANEXO 19. Comparación de Promedios para número de nódulos con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	94
ANEXO 20. Análisis de Varianza para porcentaje de colonización por HMA.	95
ANEXO 21. Comparación de Promedios para porcentaje de colonización por HMA con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	96
ANEXO 22. Análisis de Varianza para cuantificación de la colonización micorrícica.	97
ANEXO 23. Comparación de Promedios para cuantificación de la colonización micorrícica con respecto a los tratamientos. Prueba de Tukey.	98

.

## GLOSARIO

**ACTINORRIZAS:** Simbiosis formada por la bacteria *Frankia* sp. y el nódulo radical de la planta.

**ANTAGONISMO:** Acción letal, perjudicial o inhibidora del crecimiento de una especie por otra especie.

**APRESORIO:** Apéndice especializado del micelio, el extremo de una hifa o tubo germinativo se hincha, fija el hongo al sustrato u hospedero e imitando una bomba neumática, ejerce presión sobre el tejido a colonizar y facilita la penetración del hongo.

**AUTOTROFO:** organismo capaz de elaborar su propia materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas; p. ej., las plantas clorofílicas.

**BIOTROFÍA:** Alimentación a partir de otro organismo vivo. La endomicorriza se diferencia del parasitismo en que es una relación mutualista, benéfica para la planta y el hongo asociado.

**EFFECTIVIDAD:** Fijación de nitrógeno o no.

**ENDOFITO:** Organismo vegetal o animal que vive dentro de otro.

**ESPORAS:** Célula reproductora asexual que forman numerosos hongos y plantas.

**ESPORANGIOS:** Cápsula o receptáculo que contiene las esporas.

**FLAVONOIDES:** Pigmentos hidrosolubles que se encuentran tanto en el citoplasma como en las vacuolas de las células vegetales.

**FRANKIA:** Actinomiceto fijador de nitrógeno atmosférico que cuando vive en asociación con ciertas plantas, induce en sus raíces la formación de nódulos en cuyo interior se fija este elemento.

**HETEROTROFO:** Organismo incapaz de elaborar su propia materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas, por lo que debe nutrirse de otros seres vivos.

**HIFAS:** Elemento uni o pluricelular, tubular o filamentoso, cuyo conjunto constituye el micelio de los hongos. Pueden ser septadas o aseptadas.

**INFECTIVIDAD:** Que causa infección (nodulación o no).

**MICELIO:** Conjunto de hifas que constituyen la parte vegetativa (talo) de un hongo filamentosos.

**MICORRIZAS:** Es una asociación mutualista entre un hongo (no patogénico) del suelo y las raíces de las plantas superiores.

**MICOSIMBIONTE:** Hongo asociado en simbiosis.

**MICOTROFIA:** Capacidad de la planta para adquirir nutrientes por medio de un hongo.

**NODULO:** Son estructuras que se forman en la raíz como respuestas a la colonización por la bacteria fijadora de nitrógeno.

**PROPAGULOS:** Partes del hongo capaces de infectar un hospedero, en el caso de HMA pueden ser esporas, hifas externas o internas y vesiculares fundamentalmente.

**RIZOSFERA:** Zona alrededor de la raíz de la planta en la cual la actividad microbiana es muy intensa. Normalmente alcanza unos pocos milímetros.

**SAPROFITO:** Organismo que se alimenta de material vegetal muerto.

**SIMBIOSIS MUTUALISTA:** Interacción que ocurre entre dos organismos vivos donde los implicados se benefician mutuamente.

**SIMBIONTE:** Individuo asociado a simbiosis.

**SINERGISMO:** Capacidad de dos o más especies de microorganismos de producir o magnificar un cambio que ninguna de ellas podría causar aisladamente.

**TALO:** Cuerpo de las talofitas, equivalente al conjunto de la raíz, tallo y hojas de otras plantas.

**VESICULA:** Estructura especializada en la fijación de  $N_2$  atmosférico y se desarrolla como un hinchamiento de las hifas ramificadas lateralmente, la función de la vesícula es proteger a la nitrogenasa del efecto negativo de  $O_2$ .

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Municipio de Pasto, Departamento de Nariño, en el invernadero y los laboratorios de FEDEPAPA, Granja Experimental OBONUCO, localizados a 77° 16' longitud oeste y 01° 13' latitud norte; a una altura de 2710msnm, Solarte (2000) citado por Meneses y Ortiz (2003), y con precipitación promedia anual de 1031mm/año y temperatura de 12°C, Jaramillo (2007), en donde se evaluó el crecimiento inicial de *Alnus acuminata* bajo el efecto de *Frankia alni*, hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) y fertilización química con nitrógeno en condiciones de invernadero. Las cepas de *Frankia alni* se denominaron F1 y F2, se midieron las variables diámetro del tallo, altura de la planta, longitud de la raíz, materia seca de la parte aérea de la planta, peso fresco de la raíz, número de hojas, determinación del contenido foliar de nitrógeno, número de nódulos, porcentaje de colonización por HMA y cuantificación de la colonización micorrícica.

Se trabajó un diseño completamente al azar (CCA) con 12 tratamientos y 6 repeticiones en 3 épocas de muestreo, con los resultados obtenidos se realizó un Análisis de Varianza y Pruebas de Significancia de Tukey para comparar los promedios de valores correspondientes a las variables e interacciones que registraron diferencias estadísticas, el modelo estadístico corresponde a un diseño de bloques completamente al azar en donde cada bloque representó una época de muestreo, la información recolectada se procesó en el programa SAS, 1997 (Statistical Analysis System).

Al realizar el Análisis de Varianza se encontró diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos, cuando se evaluó los efectos promedios mediante la Prueba de Tukey se encontró que para las variables diámetro del tallo, longitud de la parte aérea de la planta y peso fresco de la raíz, el tratamiento con mayor respuesta fue T3 (*Frankia alni* 2), para la variable número de nódulos el tratamiento T2 (*Frankia alni* 1) presentó mayor respuesta, para las variables materia seca de la parte aérea de la planta y porcentaje de colonización por HMA el tratamiento con mayor respuesta fue T10 (micorriza + nitrógeno) y para las variables número de hojas y cuantificación de la colonización micorrícica el tratamiento con mayor respuesta fue T5 (*Frankia alni* 1 + micorriza); para la variable longitud de la raíz al realizar el Análisis de Varianza y la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey se encontró diferencias estadísticas significativas en donde el tratamiento T3 (*Frankia alni* 2) presentó el mayor promedio y para la variable contenido foliar de nitrógeno al realizar el Análisis de Varianza fue no significativo.

El estudio permitió concluir que aliso – *Frankia alni* - micorriza es una relación simbiótica mutualista que contribuye al crecimiento del aliso y contenido foliar de

nitrógeno ya sea actuando en forma individual o en conjunto, factor importante que beneficia a esta especie para su incorporación sobretodo en aquellas áreas donde sobresalen los suelos degradados donde predomina el sobrepastoreo y el monocultivo.

Con respecto a los tratamientos aplicados con nitrógeno se encontró que la aplicación de este afecta el crecimiento de aliso al determinar que tuvo un comportamiento inferior en la mayoría de las variables evaluadas.

**Palabras clave:** Aliso, *Frankia alni*, Micorrizas, Nitrógeno, Simbiosis mutualista, Crecimiento, Contenido foliar de nitrógeno, Variable.

## ABSTRACT

This research was carried out in Municipality of Pasto, Department of Nariño, in the greenhouse and FEDEPAPA laboratories, experimental farm, situated in Obonuco, located to 77° 16' west longitude and 01° 13' north latitude, and 2710msnm high, Solarte (2000) mentioned by Meneses and Ortiz (2003), and with annual precipitation of 1031mm/year, and annual temperature of 12°C, Jaramillo (2007), were evaluated the initial growth of *Alnus acuminata* under the *Frankia alni* effect, fungus which create micorriza arbuscular and chemistry fertilization with nitrogen in the greenhouse conditions, was worked a CCA design with twelve treatments and six repetitions in three times of sample, the *Frankia alni* stems were called F1 and F2, measuring the stem variables diameter, plant height, root longitude, drought matter in the bottom up plant, fresh weight of the root, determination of the contents produced by nitrogen, numbers of nodule, porcentaje of the colonization for HMA and cuantification of the micorrizica colonization.

Was worked a design totally at random with (CCA) 12 treatments and 6 repetitions in 3 sampling times, with the obtained results was carried out an Analysis of Variance and Tests of Significance of Tukey to compare the averages of values corresponding to the variables and interactions that registered statistical differences, the statistical pattern it corresponds totally at random to a design of blocks where each block represented a sampling time, the gathered information it was processed in the program SAS, 1997 (Statistical Analysis System).

carrying out the Analysis of Variance was found significant differences among treatments when were evaluated the average effects through Tukey proof, in which for the diameter variables of the stem, longitude of the bottom up plant root longitude and fresh weight of the root, the treatment with main response is T3 (*Frankia alni* 2), for number of nodules variable the treatment T2 (*Frankia alni* 1) it had main response for the drought matter variables in the bottom up plant and porcentaje of colonization for HMA the treatment with main response is the T10 (Micorriza + Nitrogen) it presented main response and for the variables number of leafs of the micorrizica and colonization the treatment with main response is T5 (*Frankia* 1 + micorriza); for the variable longitude of the root when carrying out the Analysis of Variance and the test of comparison of averages of Tukey was statistical significant differences where the treatment T3 (*Frankia alni* 2) presented bigger average and for the contained variable to foliate from nitrogen when carrying out the Analysis of Variance was not significant.

This study helps to conclude that the *Aliso – Frankia alni*- micorriza relationship is a simbiotica mutualist relation that helps to *aliso* growth and foliar of nitrogen content acting in individual way or in group, important factor that helps for its

incorporation overall in those areas when stand out the degraded grounds where prevailing the overshepherd and monocultive.

With regard to the treatments applied with nitrogen it was found that the application of this it affects the growth of aliso when determining that he had an inferior behavior in most of the evaluated variables.

**Words key:** Aliso, *Frankia alni*, Micorrizas, Nitrogen, mutual Symbiosis, Growth, Content to foliate of nitrogen, Variable.

## INTRODUCCION

En el Departamento de Nariño, una de las actividades pecuarias es la producción de leche bajo el sistema rotacional papa - pastos. Estos sistemas intensivos de producción han surgido después de la tala y quema de bosques, lo cual ha generado disminución en la fertilidad, cobertura del suelo, erosión y compactación, que han conducido a que estos agroecosistemas tengan baja sostenibilidad y productividad.

*Frankia alni* es un género de microorganismos llamados actinomicetos capaces de inducir la formación de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno atmosférico en algunas angiospermas no leguminosas, denominadas plantas actinorrízicas como lo es la especie *Alnus acuminata* que ha demostrado que juega un importante papel en el incremento de los niveles de nitrógeno en los suelos tropicales a través de nódulos. Este género está igualmente asociado con micorrizas, esta interacción de organismos cumplen un importante papel en la absorción de nutrientes, fijación de nitrógeno y en la minimización de enfermedades radicales, esta simbiosis entre micorriza y nódulo es sinérgica promoviendo el crecimiento vegetal, Molina, Medina y Orozco (2006).<sup>1</sup>

En la actualidad se torna indispensable buscar alternativas de manejo para la recuperación de aquellos sistemas que han sido sometidos a procesos de degradación debido a la alta demanda de productos agrícolas sin la implementación de prácticas que ayuden a que dicho sistema se mantenga, es por esto que los sistemas silvopastoriles son una opción tecnológica donde el componente de especies leñosas perennes incluye fijadoras de nitrógeno como *Alnus acuminata*, que son estrategias planteadas con miras a lograr sistemas económicamente rentables, ambiental y socialmente sostenibles; sin embargo es escasa la investigación sobre esta especie en simbiosis con *Frankia alni*, HMA y fertilización química con N, es por esto que en esta investigación se trabajo como objetivos:

- Evaluar el efecto de la inoculación con *Frankia alni* en el crecimiento inicial y contenido foliar de nitrógeno de aliso.
- Evaluar el efecto de hongos formadores de micorriza arbuscular en el crecimiento inicial y contenido foliar de nitrógeno de aliso.
- Evaluar el efecto de la fertilización química con nitrógeno en el crecimiento inicial

---

<sup>1</sup> MOLINA L. Mauricio; MEDINA S. Marisol; OROZCO P., Hernando. El efecto de la interacción *Frankia* sp. - micorrizas - micronutrientes en el establecimiento de árboles de Aliso *Alnus acuminata* en sistemas silvopastoriles. Medellín, Colombia, 2006. p. 39 – 48. Maestría en Ciencias Animales Universidad de Antioquia, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Grupo GRICA. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias.

y contenido foliar de nitrógeno de aliso.

- Evaluar las interacciones de las simbiosis en presencia de fertilización química con nitrógeno en el crecimiento inicial y contenido foliar de nitrógeno de aliso.

El presente estudio es una etapa intermedia del macroproyecto: “Incorporación de la especie aliso, en Sistemas Silvopastoriles para la Producción Ganadera Sostenible del Trópico Alto Colombiano”; liderado por CORPOICA (CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA), cuyo objetivo general es desarrollar modelos tecnológicos basados en incorporación de esta especie arbórea en sistemas de pasturas, con el fin de optimizar la productividad y sostenibilidad de los sistemas de producción bovina de leche del Trópico alto, en los Departamentos de Nariño, Boyacá y Cundinamarca.

## 1. MARCO TEORICO

### 1.1 EL ALISO (*Alnus acuminata* H.B.K.)

Figura 1. Plántula de aliso



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

**1.1.1 Generalidades.** El nombre de aliso proviene del latín *al*: cerca, *lan*: río, que obedece a su hábitat de crecer cerca de los ríos y otras fuentes de agua.

El aliso es una especie nativa de las zonas tropicales, de gran importancia tanto en plantaciones agroforestales como en programas de reforestación y en la recuperación de suelos degradados.

#### \* Clasificación botánica

Orden: Fagales

Familia: *Betulaceae*

Género: *Alnus*

Especie: *Acuminata* Humboldt, Bonpland & Kunth

Sinónimos: "aliso", "chaquiro", "fresno", "cerezo", "abedul", "aile".

**1.1.2 Descripción.** El aliso es un árbol de tamaño mediano de 25 a 30m de altura, en condiciones favorables alcanza hasta 40m con DAP de 0,6m. Presenta un rápido crecimiento en altura durante los primeros años en zonas húmedas, posee poca ramificación lo que mejora la calidad de los fustes comerciales, mientras que en zonas semisecas es retorcido y arbustivo. Añazco (1999).<sup>2</sup>

<sup>2</sup> AÑAZCO R. Mario. El Aliso. *Alnus acuminata*. Proyecto desarrollo forestal campesino en los Andes de Ecuador (DFC). Quito, Ecuador, 1999. 166p.

\* **Distribución natural.** El género *Alnus*, con sus diversas especies, se encuentra ampliamente distribuido naturalmente e introducido en distintos países de los cinco continentes, esta especie es nativa de América Central y América del Sur encontrándose desde México hasta el norte de Argentina. Se encuentra entre los 850 - 3000msnm, con precipitación de 1000 a 3000mm por año. CATIE (1984); CATIE (1989); Lanzara y Pizzeti (1979) citados por la Universidad Nacional Experimental del Táchira (1995).<sup>3</sup>

\* **Ecología.** De acuerdo con Dawson (1990)<sup>4</sup> y Benson y Silvester (1993)<sup>5</sup>, la asociación simbiótica producida entre la planta y *Frankia* sp. tiene gran importancia ecológica, ya que las especies actinorrícicas se comportan como pioneras en el desarrollo sucesional de comunidades vegetales en suelos pobres en nitrógeno, siendo algunas de ellas de gran valor en la recuperación y protección de suelos degradados y erosionados.

CONIF (1996)<sup>6</sup> registra que “en las zonas de cordilleras de altura, las plantaciones de aliso crecen bien en potreros con pasto kikuyo sometidos a pastoreo”, al respecto Venegas (1965) citado por el mismo autor, en investigaciones conducidas en Manizales, Caldas, sobre el asocio de aliso con el pasto Kikuyo (*Penisetum clandestinum*) en terrenos pastoreados entre doce y dieciocho meses, menciona que el pasto bajo plantaciones de aliso de dos años y seis meses tenía niveles de proteína de 15% y que bajo plantaciones de doce años este contenido ascendía a más de 20%, por el contrario, cuando se encontraba a plena exposición la proteína del pasto tan solo llegaba a 10%.

\* **Suelos.** En general se considera no muy exigente aunque prefiere suelos de textura liviana y húmeda. Crece muy bien en zonas con subsuelos rocosos e incluso arenosos. En lugares donde disminuye la humedad del suelo los alisos disminuyen en cantidad y calidad, se desarrolla bien en suelos alterados (potreros), márgenes de ríos, pantanos y lugares erosionados. Se han reportado bosques de alisos sobre suelos de origen volcánico con pH 5 - 6. Análisis realizados indican que la especie no exige suelos fértiles mientras tenga

---

<sup>3</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL DEL TACHIRA. El aliso. Estado de Táchira, Venezuela. 1995. [en línea], [Citado el 20 de septiembre de 2007]. Disponible en internet. URL: <<http://www.futha.gov.ve/fundacite2005bdownloadaliso>>

<sup>4</sup> DAWSON J.O. Interactions among actinorhizal and associated plant species. In: Schwintzer, C.R. & J. D. Tjepkema (eds). The biology of *Frankia* sp and actinorhizal plants. San Diego, 1990. p. 299-316.

<sup>5</sup> BENSON, D. y SILVESTER, A.W. Biology of *Frankia* strains, actinomicete symbionts of actinorhizal plants. In: Microbiological Reviews. Vol. 57. 1993. p. 293 - 319.

<sup>6</sup> CONIF. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal. Latifoliadas zona alta: Aliso. Santa Fe de Bogotá D.C.: Departamento Nacional de Planeación, 1996. p. 23-36.

condiciones climatológicas favorables.<sup>7</sup>

\* **Raíces.** El sistema radical de aliso es poco profundo, amplio, extendido y es inducido a la formación de nódulos fijadores de nitrógeno por *Frankia alni*, García y Acosta (1989)<sup>8</sup>; Russo (1990)<sup>9</sup>. Holdridge (1951) citado por CATIE (1995)<sup>10</sup> mencionaba el excelente crecimiento del pasto bajo la sombra de alisos, debido a esta asociación. Según Niño *et al.* (1987),<sup>11</sup> la infectividad y el desarrollo inicial de los nódulos de *Frankia sp.* asociada con aliso, es similar a los procesos observados en algunas otras especies de *Alnus*.

\* **Semillas.** Son de tamaño pequeño, aladas, aplanadas y poseen una cubierta membranosa, en promedio un fruto puede contener entre 80 y 100 semillas. Los frutos del aliso se presentan en forma de estróbilo con semillas, las cuales se localizan en las axilas de las bracteadas leñosas, se pueden recolectar prácticamente en cualquier época del año.<sup>12</sup>

\***Reproducción.** La reproducción es sexual, para la cual se recomienda un sustrato compuesto por tierra negra, aserrín y gallinaza en relación 1: 1: 1; o arena, tierra y materia orgánica en relación 1: 1: 1, se distribuye la semilla al voleo utilizando alta densidad de siembra (150gr/m<sup>2</sup>) y cubriendo con una fina capa de aserrín. No se requiere uso de sombra en esta etapa pero se requiere no colocarlas a plena exposición. La germinación mejora si la semilla se somete a una estratificación en arena húmeda a 19°C durante 15 - 20 días. La germinación ocurre a los 6 - 10 días después de sembrada y de 20 a 25 días sin tratamiento pregerminativo. El trasplante se realiza a los 20 días después de la germinación en bolsas de 10 x 20cm, con tierra inoculada para favorecer la formación de nódulos clasificando las plantas por su tamaño y buena conformación, abriendo el hueco con una estaca de madera y colocando la planta en la bolsa con la raíz recta y cubriéndola con tierra cernida.<sup>13</sup>

---

<sup>7</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL DEL TACHIRA, Op. cit., p. 4.

<sup>8</sup> GARCÍA, R.M.; DE GUTIÉRREZ, C.B & ACOSTA, A.G. Daños causados por fitopatógenos y entomofauna asociada en *Alnus acuminata* H.B.K. En: Agronomía Colombiana. Vol. VI. 1989. p. 31-36.

<sup>9</sup> RUSSO, R. O. Evaluating *Alnus acuminata* as component in agroforestry systems. In: Agroforestry Systems. Vol. 10 (3). 1990. p. 241 - 252.

<sup>10</sup> CATIE. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Especie de árbol de uso múltiple en América Central. Serie Técnica. Costa Rica, 1995. Informe Técnico. No. 248. p. 3-16.

<sup>11</sup> NIÑO, L. M.; PÉREZ, O. M., & DE GRANADA, G. Procesos morfológicos en la iniciación y desarrollo de nódulos en aliso *Alnus acuminata* H.B.K. En: Agronomía Colombiana. Vol. 4 (1-2). 1987. p. 73-84.

<sup>12</sup> Ibid., p. 5.

<sup>13</sup> Ibid., p. 6.

\* **Importancia y usos.** El aliso es una especie arbórea promisorio para ser incorporada en los sistemas ganaderos conformando sistemas silvopastoriles, por su efecto restaurador en la recuperación de praderas degradadas, conservación de la biodiversidad y mejoramiento del suelo, factores asociados principalmente con el efecto de sombra, retención de humedad, ciclaje de nutrientes y alta capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico debido a que establece una asociación simbiótica con el actinomiceto *Frankia* sp. Además de los beneficios señalados, la incorporación de árboles en las praderas principalmente especies fijadoras de nitrógeno como aliso ofrecen ambiente de confort para animales, pueden ser utilizadas como barreras rompevientos, para control de erosión y mejorar la fertilidad de los suelos, expresados en ventajas productivas, ecológicas y económicas. Adicionalmente, brindan otros productos como leña, madera, frutos, productos medicinales e industriales, tutores de cultivos, división de lotes y demarcación de linderos en fincas, refugio de avifauna silvestre, proporcionándole otros ingresos al productor y ofreciendo mayor estabilidad económica a la empresa ganadera, Nickel *et al.* (2001)<sup>14</sup>; Muñoz (2003)<sup>15</sup> y Chamorro (2004).<sup>16</sup>

## 1.2 EL NITROGENO

El nitrógeno (N), junto con el agua es el nutriente mineral que más frecuentemente limita la producción de plantas. Aunque la atmósfera contiene casi el 80% de N, su fijación biológica representa la clave para incrementar las fuentes de N puesto que la mayoría de los seres vivos son incapaces de aprovecharlo en la forma en que se encuentra (N<sub>2</sub>), sólo algunos organismos procarióticos pueden reducirlo a amonio en un proceso conocido como fijación biológica de nitrógeno, Molina, Medina y Orozco (2006).<sup>17</sup>

*Frankia* sp. es un género de microorganismos llamados actinomicetos capaces de inducir la formación de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno atmosférico en algunas angiospermas no leguminosas, denominadas plantas actinorrízicas. El desarrollo de fijación de Nitrógeno simbiótico envuelve múltiples procesos que se llevan a cabo en compartimentos subcelulares endosimbióticos donde *Frankia* sp.

---

<sup>14</sup> NICKEL, A.; OLIVER, P.; HAHN, D.; SOURSER, M.; SIEGWOLF, R. y ZEYER, J. Effect of inoculation and leaf litter amendment on establishment of nodule-forming *Frankia* sp populations in soil. In: Applied and Environmental Microbiology. Vol. 64(6). 2001. p. 2603-2609.

<sup>15</sup> MUÑOZ, Jairo. Evaluación de la infectividad y efectividad en la fijación de Nitrógeno en la simbiosis de *Frankia brunchrostrii* con laurel de cera *Myrica pubescens* H&B ex WILLDENOW. Pasto, Colombia, 2003. 171p. Trabajo de grado (Ingeniero Agroforestal). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

<sup>16</sup> CHAMORRO, D. El componente arbóreo como dinamizador del sistema de producción de leche en el trópico alto Colombiano. En: Memorias del Seminario Internacional de Manejo sostenible de sistemas de producción de los Andes con énfasis en Ganadería. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, 2004. Mayo 25 al 28.

<sup>17</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 40.

produce los nódulos de la raíz que convierten el N<sub>2</sub> en forma combinada. La simbiosis micorriza y nódulo es generalmente sinérgica, promueve el crecimiento vegetal, la multiplicación de las micorrizas propicia un ambiente de mayor competencia, no favorable para los agentes patógenos, Molina, Medina y Orozco (2006).<sup>18</sup>

El nitrógeno es un elemento clave en la fertilidad de los suelos y en el desarrollo sostenible de los sistemas agropecuarios de producción de alimento. Junto con el fósforo (P), el potasio (K) y el magnesio (Mg), el N es una fuente esencial para el crecimiento de las plantas y en muchas situaciones puede limitar la producción de los cultivos. El nitrógeno en el suelo se incorpora a través de la fijación biológica, lluvias adicionales de materia orgánica y fertilizantes, Mafongoya *et al.* (2004) citado por Rey (2006)<sup>19</sup>.

**1.2.1 Simbiosis *Alnus* - *Frankia* sp. en la fijación de nitrógeno.** El aliso ha demostrado que juega un importante papel en el incremento de los niveles de nitrógeno en los suelos tropicales a través de nódulos. En plántulas de *Alnus acuminata* inoculadas con algunos nódulos macerados de esta misma especie aumentó su crecimiento aéreo y radical y su número de hojas en comparación con los testigos sin inocular; algunas plántulas germinadas en suelos estériles murieron diez días después de la germinación, esto demuestra que esta especie tiene necesidad del actinomiceto *Frankia alni*. Sin embargo, muchos suelos forestales y agroforestales parecen estar desprovistos del inóculo de *Frankia* sp., Restrepo (1997).<sup>20</sup>

### 1.3 *Frankia* sp.

**1.3.1 Bacterias del género *Frankia* sp., fijadoras de N<sub>2</sub>.** *Frankia* sp. es un actinomiceto fijador de nitrógeno atmosférico, que cuando vive en asociación con ciertas plantas, induce en sus raíces la formación de nódulos en cuyo interior se fija este elemento. La simbiosis formada entre *Frankia* sp. y el sistema radical de la planta que la alberga, se conoce con el término de actinorriza, Valdés, Pérez y Vásquez (2001).<sup>21</sup>

---

<sup>18</sup> Ibid., p. 40.

<sup>19</sup> REY OBANDO, Ana María. Estudio de la actividad de cepas nativas de *Frankia* sp. en *Alnus acuminata* H.B.K. Bogotá, Colombia, 2006. 126 p. Trabajo de posgrado (Magister Scientia en Microbiología). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias.

<sup>20</sup> RESTREPO URIBE, G. Infectividad y efectividad de los actinomicetos del género *Frankia* sp. asociados con *Alnus acuminata* sp. Acuminata en Colombia. Medellín, Colombia, 1997. [en línea], [Citado Febrero 17 de 2003]. Disponible en internet: URL <[www.icfes.gov.co/revistas/cronica/vol12/CAR\\_FRAN.html](http://www.icfes.gov.co/revistas/cronica/vol12/CAR_FRAN.html)>.

<sup>21</sup> VALDES, M.; PEREZ, N. y VASQUES, L. La bacteria filamentosa *Frankia* sp. Escuela nacional de ciencias biológicas del instituto politécnico nacional. Ciudad de México DF, México. 2001. [en línea], [Citado mayo 2002]. Disponible en internet: <URL:<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap13/>>.

### 1.3.2 Clasificación taxonómica

*Frankia* sp., llamado en honor al microbiólogo suizo A.B. Frank (1839-1900) que dio a conocer la palabra “simbiosis”.

Reino	Procariótica
Dominio	Bacteria
Phyllum BXIV	Actinobacteria <i>Phy. Nov.</i>
Clase I	Actinobacteria
Subclase V.	Actinobacteridae
Orden I.	Actinomycetales
Suborden XIII.	Frankineae
Familia I.	Frankiaceae
Género I.	Frankia
Especie	<i>Frankia alni</i> , Becking (1977). <sup>22</sup>

**1.3.3 Morfología.** Morfológicamente las bacterias que pertenecen al género *Frankia* presentan la forma de filamentos no aéreos con hifas septadas y ramificadas de 0.5 a 2.0µm de diámetro, las cuales se diferencian en esporangios con aspectos irregulares que se desarrollan de manera terminal, lateral o intercalada, los esporangios contienen en su interior gran cantidad de esporas en estado latente, que germinan para formar hifas cuando encuentran condiciones ambientales adecuadas. Las hifas también pueden diferenciarse para formar una estructura que constituye un rasgo sobresaliente del género *Frankia* sp. que son las vesículas; estas son estructuras redondas, de pared gruesa y su desarrollo ocurre a partir del hinchamiento de las hifas ramificadas lateralmente, su función es proteger a la nitrogenasa que se encuentra en su interior del efecto negativo del oxígeno. Lechevalier y Lechevalier (1990).<sup>23</sup>

Hasta la fecha la clasificación por especie se plantea de acuerdo al hospedero con el que se asocia y por los componentes de su pared celular. En *Frankia alni*, *Alnus acuminata* y probablemente en otras especies, *Frankia casuarinae* (*Casuarina*) y *Frankia brunchorstii* (*Myrica*), Becking (1977) citado por Rey (2006).<sup>24</sup>

**1.3.4 Aislamiento.** Rouvier *et al.* (1996) citado por Valdés, Pérez y Vásquez

---

<sup>22</sup> BECKING, J. Endophyte and associations establishment in non-leguminous nitrogen-fixing plants. En: Recent developments in nitrogen fixation. W. Newton, J. R. Postgate, C. Rodríguez-Barrueco. Academic press INC. London, 1977. 622p.

<sup>23</sup> LECHEVALIER, M. y LECHEVALIER, H. The Biology of *Frankia* sp and actinorhizal plants. New Jersey, USA, 1990. p. 35-60.

<sup>24</sup> REY. Op. cit., p. 12 -13.

(2001)<sup>25</sup> describen que para aislar *Frankia* sp. de los nódulos, los lóbulos de los mismos después de desinfectarse cuidadosamente, se colocan en medio líquido o en medio sólido. En ocasiones, después de un mes de incubación se logra tener una colonia de unos milímetros; a veces el periodo de incubación puede ser de 6 meses. Muy pocas cepas de *Frankia* sp. son cultivables, aquellas que pueden cultivarse son las más saprofiticas o con requerimientos nutricionales más estrictos, como son las cepas de las Betuláceas (*Alnus*).

**1.3.5 Nódulos, proceso de colonización y formación.** Acero y Rodríguez (1987)<sup>26</sup> anotan que “Los nódulos son estructuras que se forman en la raíz como respuesta a la colonización por la bacteria fijadora de nitrógeno...”

“El proceso comienza en el área de la rizósfera; mediante quimiotaxis, *Frankia* sp. detecta flavonoides secretados por la raíz del hospedero, como parte de un sistema de defensa para eliminar o limitar el crecimiento de los microorganismos patógenos que se encuentran alrededor”. Algunos estudios mencionan que la señal producida por *Frankia* sp. podría imitar una molécula implicada en la división y crecimiento celular de la planta hospedera; la cual produce un hinchamiento, ramificación y encrespamiento de los pelos radicales y divisiones celulares dentro de las raíces, subsecuentemente con la adhesión de la célula bacteriana sobre la superficie de la planta, *Frankia* sp. continúa su separación a través de las células, dentro de estas zonas más profundas, donde continúa dividiéndose y creciendo hasta la formación de una cubierta u órgano llamado nódulo, Shobbrook (1997) citado por Muñoz (2003).<sup>27</sup>

“Los nódulos tienen internamente color rojo a rosado intenso, este pigmento se debe a la presencia de hemoglobina, la cual se asocia con la fijación de nitrógeno y actividad de los nódulos. No es una parte de la nitrogenasa, pero controla el oxígeno necesario para activar esta enzima”, Burton (1983).<sup>28</sup>

Los nódulos actinorrízicos son perennes y tienen forma de estructuras coraloides con muchos lóbulos; cada lóbulo es una raíz lateral modificada. Carlson y Dawson (1985)<sup>29</sup>.

---

<sup>25</sup> VALDES; PEREZ Y VASQUEZ. Op. cit., p. 5.

<sup>26</sup> ACERO, L.E. y RODRÍGUEZ, M.L. Algunas leguminosas de utilidad potencial en el sector agropecuario en tres regiones de Colombia. Serie Documentación 11. Convenio CONIF - Holanda. Bogotá, 1987. 90p.

<sup>27</sup> MUÑOZ, Op. cit., p. 35.

<sup>28</sup> BURTON, J. Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation Legume/*Rizobium*. FAO Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia, 1983. p. 1 - 43.

<sup>29</sup> CARLSON, P.J. y DAWSON, J.O. Soil nitrogen changes, early growth, and response to soil internal drainage of plantation of *Alnus jorullensis* in the Colombian highlands. En: Turrialba, 1985. Vol. 35(2): p. 141-150.

El tamaño de los nódulos varía con la planta de la que se trate y es muy común encontrar en el campo nódulos de 3 a 5cm de diámetro. En aliso los nódulos están concentrados en los primeros 5 cm del perfil del suelo, pueden medir hasta 6 cm de diámetro, Valdés; Pérez y Vásquez (2001)<sup>30</sup> encontraron uno de 15cm en la misma especie.

**1.3.6 Ecología y dispersión.** Se considera que el significado de la simbiosis actinorrízica es su valor ecológico, principalmente por su papel en el balance global de nitrógeno (las tasas de fijación por hectárea y por año de nitrógeno van de 60 a 320kg en plantaciones de aliso) y por incrementar la productividad de muchas comunidades vegetales vecinas, este último aspecto explicado principalmente porque: "...se incorpora nitrógeno al suelo a través de hojarasca que cae al mismo, se transfiere parte del nitrógeno que ellas fijan hacia las plantas vecinas a través de la red subterránea de hifas, Domenach y Moirud (1998) citados por Valdés; Pérez y Vásquez (2001).<sup>31</sup>

Por otro lado, Van Dijk (1984)<sup>32</sup> menciona que los nódulos al igual que las raíces individuales tienen un tiempo de vida definido y que bajo condiciones del suelo los nódulos en aliso raramente sobreviven más de 10 años y casi continuamente durante la vida de la planta actinorriza, se forman nuevas raíces y nódulos y que en promedio la frecuencia para volver a formar un nódulo de una especie arbórea semejante a *Alnus glutinosa* es aproximadamente de 3 años.

Cuando los nódulos radicales mueren, las partículas de *Frankia* sp. se liberan en el suelo y de éste modo la senescencia y degeneración de los nódulos puede ser un factor importante en el desprendimiento y mantenimiento de grandes poblaciones de *Frankia* sp en los ecosistemas del suelo y la rizósfera.

En cuanto a los mecanismos de dispersión de *Frankia* sp. estos pueden ser variados, por el movimiento de agua en sedimentos húmedos ó después de una lluvia, el cual transporta las esporas ya que son pequeñas y abundantes, también la fauna del suelo contribuye a su dispersión, Reddell y Spain (1991)<sup>33</sup> "...mientras que la dispersión por el viento no es posible...", Arveby y Huss-Danell (1988)

---

<sup>30</sup> VALDES; PEREZ Y VASQUEZ. Op. cit., p. 3.

<sup>31</sup> Ibid., p. 31.

<sup>32</sup> VAN DIJK, C. Endophyte distribution in the soil. En: MAUNUKSELA, Liisa. Molecular and physiological characterization of rhizosphere bacteria and *Frankia* sp in forest soils devoid of actinorrizal plants. Helsinki, 1984. Facultad de Ciencias, Departamento de Biociencias, División General de Microbiología.

<sup>33</sup> REDDELL, P. y SPAIN, A 1991. Transmission of ineffective *Frankia* sp (Actinomycetales) propagules in cast of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta: Glossoscoleidae). En: WOLTERS, Diederick Johannes, Ineffective *Frankia* sp in wet alder soils. Wageningen. 1998,153p. Doctor en Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Agrícola de Wageningen (Holanda), Departamento de Ciencias Biomoleculares.

citado por Muñoz (2003).<sup>34</sup>

## **1.4 HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA ARBUSCULAR (HMA)**

**1.4.1 Definición, funcionamiento e importancia de las micorrizas.** Bolan (1991); Maldonado y Ramírez (1995) y Miyasaka y Habte (2003) Citados por Molina; Mahecha y Medina (2005)<sup>35</sup> coinciden en definir a las micorrizas (mikes=hongo, rhiza=raíz) como asociaciones mutualistas entre un hongo y las raíces de la planta, en la que ambos miembros de la asociación se benefician y participan activamente en el transporte y absorción de nutrientes, influyendo tanto en la estructura como en la estabilidad de las comunidades vegetales. En la asociación mutualista que se establece con la micorriza, el hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz, sin causar daño a la planta, llegando a ser, fisiológica y morfológicamente, parte integrante de dicho órgano. A su vez, la planta hospedera proporciona al hongo simbiote (heterótrofo), compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis y un hábitat ecológico protegido.

Los beneficios que se encuentra en la relación hongo - planta de forma general son los siguientes: En el caso del hongo, este mejora su nutrición ya que la planta le aporta carbohidratos (sacarosa) y además encuentra un nicho ecológico idóneo para completar su ciclo vital. En el caso de la planta se destacan tres aspectos en los que ésta ve mejorada sus condiciones: se facilita su nutrición, se mejora su resistencia frente a patógenos y también frente al estrés hídrico, Begón (1995).<sup>36</sup>

Estas formas simbióticas se inician con la activación del micelio del hongo procedente de la germinación de las esporas, dando comienzo a la formación de la micorriza, lo que genera los propágulos para lograr en forma natural perpetuar y propagar la especie. Cuando las esporas germinan, desarrollan unos filamentos conocidos como hifas, que por proliferación dan lugar al micelio del hongo que se extiende en el suelo según su potencial saprofítico; el micelio es el encargado de llevar a cabo la infección de la raíz, que se produce por una identificación mutua, en primera instancia, entre la planta y el hongo en la rizósfera en regiones próximas a las raíces; este reconocimiento es mediado por sustancias exudadas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz. Luego se produce el contacto intercelular al formarse una estructura llamada apresorio; posteriormente se producen cambios morfológicos y estructurales, tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la

---

<sup>34</sup> MUÑOZ. Op. cit., p. 40.

<sup>35</sup> MOLINA L., Mauricio; MAHECHA L., Liliana y MEDINA S. Marisol. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia, 2005. p. 162 – 175.

<sup>36</sup> BEGON. M. Microbiología. 2ed. Barcelona: Omega SA. 1995. 98p.

organización de la pared celular del simbiote fúngico. El proceso continúa con la integración fisiológica de ambos simbioses, y por último, se presenta una alteración de las actividades enzimáticas, para integrar los procesos metabólicos, Barea (2003) y Miyasaka y Habte (2003) citados por Molina, Mahecha y Medina (2005).<sup>37</sup>

**1.4.2 Tipos de micorrizas.** Según Azcón y Barea, (1980) y Harley y Smith, (1983). Citados por Sánchez (1999)<sup>38</sup>, las micorrizas han sido agrupadas con base en la anatomía de las plantas colonizadas, en: ectomicorrizas, endomicorrizas y un grupo intermedio denominado ectendomicorrizas.

Respecto a las **endomicorrizas**, Jaramillo (2002)<sup>39</sup> afirma que los hongos penetran los espacios inter e intracelulares de la raíz y no forman el manto hifal sobre ella. Según Sánchez (1999), citada por el mismo autor, “este grupo de micorrizas pertenecen a las micorrizas arbusculares, las de las orquídeas y las de las ericáceas”.

\* **Endomicorrizas arbusculares (HMA).** Toro y Sieverding (1988) citados por Jaramillo (2002)<sup>40</sup> sostienen que “...las hifas intracelulares forman estructuras especializadas de almacenamiento de lípidos (vesículas) o de intercambio de nutrimentos y carbohidratos con la planta (arbusculos)”.

\***Taxonomía de micorriza arbuscular.** Morton y Benny (1990) citados por Sánchez (1999)<sup>41</sup> ubican estos hongos dentro de “la clase Zigomycetes, orden Glomales, el cual solo contiene estos endosimbiontes, con dos subórdenes: Glominae, Gigasporinae, tres familias: Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae, y seis géneros: Glomus, Sclerocystis, Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora y Scutellospora.”

**1.4.3 Interacción de microorganismos rizosféricos.** Dentro de los grupos de organismos implicados en procesos ecológicos importantes para las plantas cultivadas se encuentran los hongos micorrizógenos y bacterias: estos hongos juegan un papel importante en el ciclaje de nutrimentos especialmente en aquellos ambientes difíciles para el crecimiento de las plantas abriendo la posibilidad de

---

<sup>37</sup> MOLINA; MAHECHA Y MEDINA. Op. cit., p. 164.

<sup>38</sup> SÁNCHEZ de PRAGER, Marina. Endomicorrizas en Agroecosistemas Colombianos. Universidad Nacional. Palmira, 1999. 227p.

<sup>39</sup> JARAMILLO, D. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias. 1ed. Medellín, 2002. 613 p.

<sup>40</sup> Ibid., p. 432.

<sup>41</sup> SANCHEZ. Op. cit., p. 44.

emplear inóculos de hongos y bacterias en sistemas compatibles con el medio ambiente, Meyer y Linderman (1986) y Budi *et al.* (1999) citados por Medina(2001).<sup>42</sup>

Con respecto a la interacción entre organismos del suelo Azcón y Barea (2001)<sup>43</sup> mencionan la existencia de un efecto positivo de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) sobre el proceso de nodulación y fijación de nitrógeno explicado porque la micorriza puede satisfacer la alta demanda de fósforo requerida para la fijación de Nitrógeno y que al final resulta beneficioso para la nutrición y salud de la planta. Los mismos autores adicionan que la simbiosis hongo-bacteria-planta puede permitir el mantenimiento de las plantas en condiciones de estrés hídrico, salinidad, toxicidad por metales pesados, infección por patógenos y ausencia de microflora benéfica en suelos erosionados y desertificados.

El objetivo para mejorar el desarrollo de las plantas, consiste en aumentar las relaciones benéficas y minimizar las interacciones negativas. Es preferible aquella biota benéfica que se encuentra presente en el suelo de forma natural, sin embargo, la introducción de un microorganismo con la semilla y subsiguiente exposición a los compuestos liberados inicialmente por esta, le dan una ventaja competitiva para su establecimiento y crecimiento. Estos microorganismos deben presentar habilidad para la colonización y competencia y sobrevivencia tanto en la rizósfera como en el suelo, Kennedy (1999) citado por Medina (2001).<sup>44</sup>

### **1.5 INTERACCION *Frankia* sp. - MICORRIZAS**

Burns *et al.* (2000); Chavarriaga (2003) y Hodge (2000) citados por Molina; Medina y Orozco (2006)<sup>45</sup> coinciden al afirmar que de la simbiosis micorriza y nódulo se obtiene fosforo para la planta por parte del hongo micorrizógeno, además de beneficios para el sistema nitrogenasa en la fijación de nitrógeno del otro simbionte, dando por resultado niveles altos de fijación y por lo tanto un aumento de nitrógeno en la planta, promoviendo así, el crecimiento vegetal, el desarrollo micorrizal y un ambiente más competitivo para los patógenos.

---

<sup>42</sup> MEDINA, M. Importancia de la rizósfera para el manejo ecológico de los cultivos. En: Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. (2001: Medellín). Memorias del X Congreso de la Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Medellín, Colombia, 2001: SCCS. p. 90 - 98.

<sup>43</sup> AZCON, A. y BAREA J. Micorrizas. En: Biología Vegetal. Libro de Investigación y Ciencia. España, 1988: Prensa científica. p.83-89.

<sup>44</sup> MEDINA. Op. cit., p. 172.

<sup>45</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 43.

Al respecto Orozco; Medina y Sarria (2004)<sup>46</sup> en su estudio aislamiento y evaluación de microorganismos endófitos de *alnus acuminata*, al realizar análisis mediante la prueba de Tukey para la comparación de promedios se encontró que para las variables biomasa seca de la parte aérea y acumulación de nitrógeno, el tratamiento micorriza - *Frankia* sp. obtuvo el más alto promedio presentando diferencias estadísticas significativas con respecto a todos los demás tratamientos.

Oliveira *et al.* (2005) citado Molina; Medina y Orozco (2006),<sup>47</sup> encontró en *Alnus* negro (*Alnus glutinosa*) un efecto superior en desarrollo de los árboles por la inoculación conjunta de *Glomus intrarradices* con *Frankia* sp. que cuando se emplearon cada uno de los microorganismos por separado e igualmente esta doble inoculación favoreció el contenido de nitrógeno y fósforo en las hojas en suelos degradados con pH alto. Resultados similares presentó Orozco *et al.* (2005)<sup>48</sup> citado por los mismos autores en *Alnus acuminata*, al emplear conjuntamente el actinomiceto *Frankia* sp. y hongos micorrizógenos.

Al respecto Rivera, Fernández y Hernández (2003)<sup>49</sup> aseguran que dentro de la relación *Frankia* sp. - micorriza además de efecto directo sobre el crecimiento de las plantas, el favorecimiento en la absorción del fósforo aumenta el crecimiento de las raíces y la fijación biológica de nitrógeno, factor importante para mejorar las condiciones en la mayoría de los suelos tropicales deficientes en nitrógeno.

---

<sup>46</sup> OROZCO, F.H.; MEDINA, Marisol y SARRIA, P. Aislamiento y evaluación de microorganismos endófitos de aliso (*Alnus acuminata*) var. *Acuminata*. Medellín, Antioquia, 2004. [en línea], [Citado 17 de enero de 2005]. Disponible en internet: URL <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/1/oroz17010.htm>>.

<sup>47</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 46.

<sup>48</sup> Ibid., p. 46.

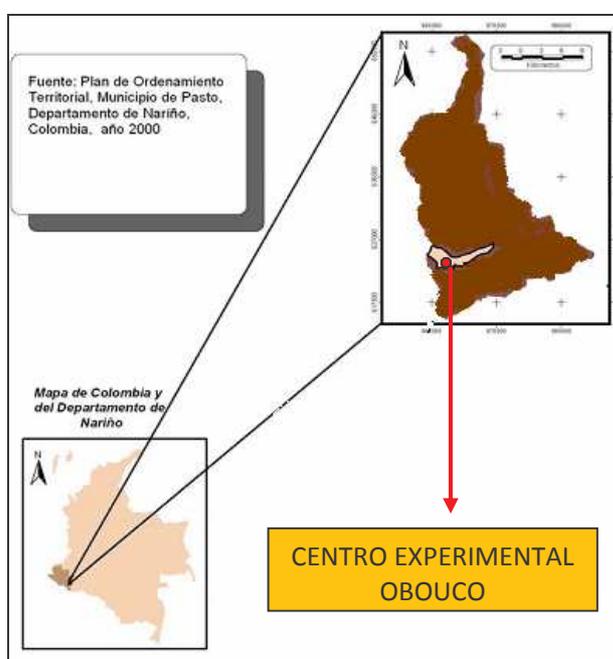
<sup>49</sup> RIVERA ESPINOSA, Ramón; FERNANDEZ MARTINEZ, Félix; HERNANDEZ JIMENEZ, Alberto. *et al.* El manejo efectivo de la simbiosis micorrícica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudios de caso: El Caribe. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. INCA, 2003. 166p.

## 2. DISEÑO METODOLOGICO

### 2.1 LOCALIZACION

El ensayo se llevó a cabo en el Municipio de Pasto en el Departamento de Nariño, en el invernadero y los laboratorios de FEDEPAPA, Centro Experimental OBOUCO, localizados a 77° 16' longitud oeste y 01° 13' latitud norte (Figura 2); a una altura de 2710msnm, Solarte (2000), citado por Meneses y Ortiz (2003),<sup>50</sup> con precipitación promedio anual de 1031mm/año y una temperatura de 12°C, Jaramillo (2007).<sup>51</sup>

**Figura 2. Mapa ubicación Centro Experimental Obonuco**



Fuente: Madroño (2006).<sup>52</sup>

<sup>50</sup> MENESES, C. A. y ORTIZ, B. J. Comparación de valores de pH ruminal obtenidos mediante intubación esofágica y ruminosíntesis de vacas lecheras en el Centro de investigación CORPOICA, Corregimiento de Obonuco, Municipio de Pasto Colombia. San Juan de Pasto. 2003. 118p. Tesis de grado (Médicos Veterinarios). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Medicina Veterinaria.

<sup>51</sup> JARAMILLO GUERRERO, Sandra Milena. Estimación de la captura de carbono en biomasa radicular en aliso *Alnus acuminata* H.B.K. en dos sistemas agroforestales en la Granja Experimental Botana, Municipio de Pasto, Departamento de Nariño. Pasto Colombia, 2007. 69p. Tesis de grado (Ingeniero Agroforestal). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas. Programa de Ingeniería Agroforestal.

<sup>52</sup> MADROÑERO PALACIOS, Sandra Milena. Manejo del recurso hídrico y estrategias para su gestión integral en la microcuenca Mijitayo, Pasto Colombia. Turrialba, Costa Rica, 2006. 197 p.

## 2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

**2.2.1 Distribución de los tratamientos.** Se trabajó un diseño CCA con 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento en 3 épocas de muestreo a los 40, 80 y 120 días después del trasplante para un total de 216 unidades experimentales. El modelo estadístico corresponde a un diseño de bloques completamente al azar tomando las épocas de muestreo como bloques.

**Cuadro 1. Distribución de los tratamientos**

T7	T6	T1	T11	T4	T5	T9	T12	T10	T3	T8	T2
T9	T5	T3	T11	T1	T12	T10	T4	T6	T8	T7	T2
T1	T6	T9	T4	T11	T10	T3	T8	T2	T5	T7	T12
T3	T2	T12	T10	T8	T11	T7	T6	T4	T9	T5	T1
T8	T3	T11	T10	T1	T5	T7	T2	T4	T12	T6	T9
T6	T1	T7	T12	T11	T4	T3	T5	T9	T10	T2	T8

**2.2.2 Tratamientos.** Se trabajo 12 tratamientos con 6 repeticiones por tratamiento para cada época de muestreo para un total de 216 plantas en las tres épocas de muestreo, representando estas la parcela útil. Sin embargo se tuvo en cuenta las plantas que se afectaron por efecto de borde, raleo o muerte por eso se trabajó con 12 repeticiones por cada tratamiento de los cuales 6 fueron utilizadas para la evaluación. A continuación se describen los tratamientos evaluados.

**Cuadro 2. Tratamientos evaluados.**

TRATAMIENTO		SIGLA	Nº PLANTAS/ TRATAMIENT O/ COSECHA	Nº DE PLANTAS EN LAS 3 EPOCAS
T1	Testigo absoluto	T	6	18
T2	Cepa de <i>Frankia alni</i> 1	F1	6	18
T3	Cepa de <i>Frankia alni</i> 2	F2	6	18
T4	Micorriza	M	6	18
T5	Cepa de <i>Frankia alni</i> 1+ Micorriza	F1+M	6	18
T6	Cepa de <i>Frankia alni</i> 2+ Micorriza	F2+M	6	18
T7	Fertilización con Nitrógeno	N	6	18
T8	Cepa de <i>Frankia alni</i> 1+ N	F1+N	6	18

<b>T9</b>	Cepa de <i>Frankia alni</i> 2 + N	F2+N	6	18
<b>T10</b>	Micorriza + N	M+N	6	18
<b>T11</b>	Cepa de <i>Frankia alni</i> 1+ Micorriza + N	F1+M+N	6	18
<b>T12</b>	Cepa de <i>Frankia alni</i> 2+ Micorriza + N	F2+M+N	6	18
<b>TOTAL</b>			72 Plantas/época	216 Plantas

Donde:

**N:** corresponde a fertilización con nitrógeno

## 2.3 FASE DE GERMINADOR

### 2.3.1 Preparación del sustrato

\* **Desinfección del suelo.** El suelo se desinfectó con Basamid (Dazomet 98%) en dosis de 70gr por cada 200kg de suelo, se distribuyó el producto uniformemente en el suelo y se cubrió con plástico durante 15 días, luego de los cuales se destapó, movió y se dejó airear por 15 días más.

\* **Limpieza y desinfección de la arena.** Primero se lavó con agua corriente, luego con una solución de hipoclorito de sodio al 7%, posteriormente se lavó con agua hirviendo y finalmente se secó mediante solarización bajo invernadero sobre planchas de cemento.

Se preparó el sustrato para el germinador utilizando el suelo y la arena desinfectados; se realizó una mezcla en proporción 4:1 suelo - arena v/v (volumen/volumen).

**2.3.2 Establecimiento del germinador.** El germinador se realizó sobre 2 mesas de cemento con dimensiones de 1.20m de largo, por 0.6m de ancho, por 0.15m de altura. Los primeros 3cm se llenaron con una capa de grava mediana, los siguientes 2cm con arena gruesa y posteriormente encima, se colocó una capa de 10cm de la mezcla del suelo y la arena.

Se regaron aproximadamente veinticuatro mil (24.000) semillas, uniformemente distribuidas en el área de los germinadores, la semilla se cubrió con una delgada capa de sustrato y posteriormente con una capa delgada de aserrín.

Los semilleros una vez establecidos, se los cubrió con polisombra del 50%. Finalmente el transplante se realizó a los dos meses y medio de sembradas en el germinador.

## 2.4 FASE DE ALMACIGO

**2.4.1 Embolsado.** El suelo empleado como soporte, es un suelo con bajos contenidos de Nitrógeno, se colectó en el corregimiento de Buesaquillo. Los suelos de este corregimiento pertenecen a la asociación Vitrandic Dystrustepts, al subgrupo Typic Haplustalfs, cuyas características principales son: relieve fuertemente inclinado y ligeramente escarpado, con pendientes entre 12 y 50%, clima frío seco, con alturas entre los 2500 y 3000msnm, temperaturas entre 12 y 18°C, precipitación entre 500 – 1000mm anuales, suelos muy profundos, bien drenados, pertenecen al grupo textural franco fino, ligeramente ácidos de mediana capacidad de intercambio catiónico, alta saturación de bases y alta fertilidad, IGAC (2004).<sup>53</sup> El suelo se tomó de un solo sitio y a una misma profundidad, buscando igualdad de características, se utilizó suelo en condiciones naturales con previo análisis físico y químico realizado en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño, 2007 (Anexo 1). Para el embolsado, se utilizaron bolsas de un (1) kilogramo de capacidad.

**2.4.2 Fertilización Nitrogenada.** Según Orozco (1999).<sup>54</sup> Se ha creído que el nitrógeno mineral del suelo cuando es extremadamente bajo, puede influir también en el grado de la respuesta a la inoculación (que es lo que sucede en el suelo original, tiene muy poco nitrógeno), este puede ser tan bajo que supone que puede limitar el desarrollo normal de las plantas en las primeras etapas, abortando la posibilidad de formar la simbiosis, en cuyo caso sería recomendable aplicar una pequeña cantidad llamada por algunos autores de “arranque” entre 10 y 30kg de nitrógeno por hectárea por esto para este estudio se determinó 25kg/ha.

La fertilización Nitrogenada se realizó en los tratamientos especificados utilizando así la dosis de 25kg de N/ha cuya fuente fue urea. Para las 108 bolsas de 1 kilogramo de suelo húmedo a las que les correspondió el tratamiento de fertilización nitrogenada se aplicó 6.52 gramos de urea que es lo que correspondió a cada unidad experimental después de la conversión y se llevó a volumen de 10.8 litros pues como 6.52 gramos es muy difícil dividirlo por peso en 108 partes iguales, se decidió diluirlo totalmente en un volumen de agua y se aplicó 50cc. de la solución por unidad experimental según los tratamientos correspondientes.

**2.4.3 Inoculación con *Frankia alni*.** Para la inoculación de los tratamientos se utilizó dos cepas de *Frankia alni*, aisladas e identificadas en CORPOICA C.I. TIBAITATÁ.

Se sacaron las plántulas de los germinadores estériles y se sumergieron en la

---

<sup>53</sup> INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. Estudio general de suelos y zonificación de tierras - Departamento de Nariño. Bogotá, 2004: IGAC. 1017 p.

<sup>54</sup> OROZCO, F. Biología del Nitrógeno: conceptos básicos sobre sus transformaciones biológicas. Medellín: Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, 1999. p. 16-28. Tomo 1.

suspensión de las cepas respectivas dependiendo del tratamiento, durante tres horas; a la vez en cada una de las bolsas con suelo natural se le colocó 1cc de la suspensión de cada cepa de *Frankia alni* respectivamente dependiendo del tratamiento. El inóculo se distribuyó cerca al sistema radical de las plantas. Luego se procedió a sembrar las plántulas en las bolsas con suelo correspondiente<sup>55</sup>.

**2.4.4 Inoculación de HMA (Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular).** El inóculo lo constituyó la mezcla de cuatro géneros de HMA, son *Entrophospora colombiana*, *Glomus* sp., *Acaulosphora mellea* y *Gigaspora*; este material se trabajó en sustrato, es decir, que el inoculante lo constituyo una mezcla de suelo, hifas y esporas, proveniente del Banco de Germoplasma del Programa Nacional de Recursos Biofísicos de Corpoica, Tibaitatá.

En cada una de las unidades experimentales correspondientes a la inoculación con HMA, se le incorporó 1.3gr de inóculo con una concentración de 153 esporas por gramo de suelo seco para obtener un promedio de 200 esporas por unidad experimental el cual se dispuso de manera localizada en la zona donde se encuentra el sistema radical de la planta, Sánchez (1999).<sup>56</sup>

**2.4.5 Transplante de las plántulas de aliso.** Las plántulas se transplantaron a bolsas, cuando el segundo par de hojas verdaderas estuvieron desarrolladas, cada una con su respectivo tratamiento.

**2.4.6 Practicas culturales.** Para el mantenimiento de las plantas se tuvo en cuenta la aplicación de riego, raleo, deshierbe, prevención del ataque de plagas.

## 2.5 VARIABLES EVALUADAS

**2.5.1 Variables.** El formato para la toma de datos de cada una de las variables se presenta en el Anexo 2. En cada una de las unidades experimentales se tomo datos de diámetro del tallo, longitud de la parte aérea de la planta, longitud de la raíz, materia seca de la parte aérea de la planta, peso fresco de la raíz, número de hojas, número de nódulos, porcentaje de colonización por HMA y cuantificación de la colonización micorrícica.

\* **Diámetro del tallo.** La medición del diámetro del tallo se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se midió el tallo de 216 plantas con ayuda de un calibrador pie de rey.

---

<sup>55</sup> Comunicación personal de Ana María Rey Obando. Investigadora de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria- CORPOICA. Santa Fe de Bogotá, agosto del 2006.

<sup>56</sup> SANCHEZ. Op. cit., p. 99.

\* **Longitud de la parte aérea de la planta.** Al momento de evaluar se separó la parte aérea de la raíz, la medición se realizó con ayuda de una cinta métrica tomando la planta desde la base del tallo hasta el ápice (Figura 3). La medición de esta variable se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se midió la longitud de la parte aérea de 216 plantas.

**Figura 3. Medición de longitud de la parte aérea la planta**



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

\* **Longitud de la raíz.** La medición de esta variable se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se midió la longitud de la raíz de 216 plantas. Después de separada la raíz de la parte aérea de la planta esta se extendió al máximo y con ayuda de una cinta métrica se procedió a medir. (Figura 4)

**Figura 4. Medición de la longitud de raíz de la planta**



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

\* **Materia seca de la parte aérea de las plantas.** Esta determinación se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se determinó la materia seca de la parte aérea de 216 plantas.

La materia seca se determinó pesando cada muestra fresca en una balanza y se depositaron en bolsas de papel con su respectiva identificación y peso y se sometieron a un secado a 70°C durante 72 horas, Posteriormente se estimó el porcentaje de materia seca de las muestras mediante la siguiente ecuación:

**MS%** = (PSM/PFM)\*100 donde:

**MS** = Materia Seca

**PSM** = Peso seco de la muestra (gr.)

**PFM** = Peso fresco de la muestra (gr.), Delgado y Martínez (2006).<sup>57</sup>

\* **Peso fresco de la raíz.** Se lavaron las raíces para eliminar el suelo adherido, se secaron utilizando toallas y se pesaron en una balanza digital, este proceso se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se tomó peso fresco de la raíz en 216 plantas.

\* **Número de hojas.** El conteo se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se contabilizó el número de hojas desarrolladas de 216 plantas.

## 2.5.2 Composición química de las plantas

\* **Determinación del contenido foliar de nitrógeno.** Este proceso se realizó en dos épocas de muestreo (80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 1 repetición por tratamiento para un total de 12 plantas, en total en las 2 épocas se determinó el contenido foliar de nitrógeno de 24 plantas.

---

<sup>57</sup> DELGADO PORTILLA, Ana Marcela y MARTINEZ MELO, Yuri Viviana. Estimación y Evaluación de la biomasa y captura de carbono de Laurel de Cera (*Morella pubescens* Humb. & Bompl.ex Willd. Wilbur) en dos Sistemas agroforestales en los municipios de Pasto y San Pablo, Departamento de Nariño, Tesis de grado I. AF. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Ingeniería Agroforestal, Pasto, 2006. p. 31.

El contenido foliar de nitrógeno se determinó por el método de Kjeldahl, descrito por Luque (1994)<sup>58</sup> el cual consiste en determinar el nitrógeno presente en los compuestos orgánicos cuando estos se digieren con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de un catalizador y con calentamiento fuerte:



Después de completar la digestión, el sulfato ácido de amonio formado libera amoniaco, mediante la adición de un álcali fuerte:



El amoniaco liberado se puede titular con ácido clorhídrico diluido con ó sin otro ácido exactamente titulado:



Para hallar el porcentaje de nitrógeno presente en la muestra se puede utilizar la siguiente fórmula:

$$\%N = \frac{1400 (V_m - V_b)}{P_m}$$

**Donde:**

V<sub>m</sub>: volumen de ácido clorhídrico en milímetros, gastado en la titulación de la muestra

V<sub>b</sub>: volumen de ácido clorhídrico en milímetros, gastado en la titulación del blanco

N: normalidad del ácido clorhídrico

P<sub>m</sub>: Peso de la muestra en miligramos

### **2.5.3 *Frankia alni*.**

\* **Número de nódulos.** El conteo se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se contabilizó el número de nódulos de 216 plantas. Una vez separada la raíz de la parte aérea de la planta, se realizó el conteo de los nódulos presentes en toda la raíz. (Figura 8).

---

<sup>58</sup> LUQUE, Ernesto. Prácticas de Bioquímica. Pasto: Universidad de Nariño, 1994. 211p.

#### 2.5.4 Micorriza Arbuscular

\* **Porcentaje de colonización por HMA.** La determinación se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se determinó el porcentaje de colonización por HMA de 216 plantas.

Se evaluó el porcentaje de colonización (%) con la técnica de tinción por azul de tripano planteada por Philips y Hayman (1970)<sup>59</sup> y adaptada para *Alnus* el cual se describe a continuación:

Se lavó las raíces con abundante agua corriente colocándolas en tubos de ensayo (a) y agregando KOH al 10% hasta cubrir las raíces totalmente (b), se colocó los tubos en un beaker de 500ml que fueron llevados al baño María (previamente calentado a 90°C) durante 15 minutos (c), posteriormente se lavaron las raíces con agua corriente utilizando un tamiz adecuado para evitar pérdidas durante el enjuague (d), en seguida fueron puestas a inmersión en solución fresca de KOH al 10% y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10% mezclados 1:1 (V/V) por 10 minutos (e), después de lavar las raíces en agua corriente se acidificaron durante 10 minutos con una solución de HCl 1N que luego fue decantado (f), sin lavar las raíces se adicionó Azul de Tripano al 0.05% en lactoglicerina llevándolas al baño María por 10 minutos (g). Finalmente las raíces fueron lavadas en agua destilada dejándolas en reposo por 12 horas (h) para preparar las placas (i) y observar al microscopio (i). (Figura 5).

#### \* **Cuantificación de la colonización micorrícica**

**Método de los campos colonizados o no colonizados.** La cuantificación se realizó en tres épocas de muestreo (40, 80 y 120 días después del transplante), cada época representada por los 12 tratamientos y 6 repeticiones por tratamiento para un total de 72 plantas, en total en las 3 épocas se cuantificó la colonización micorrícica a 216 plantas.

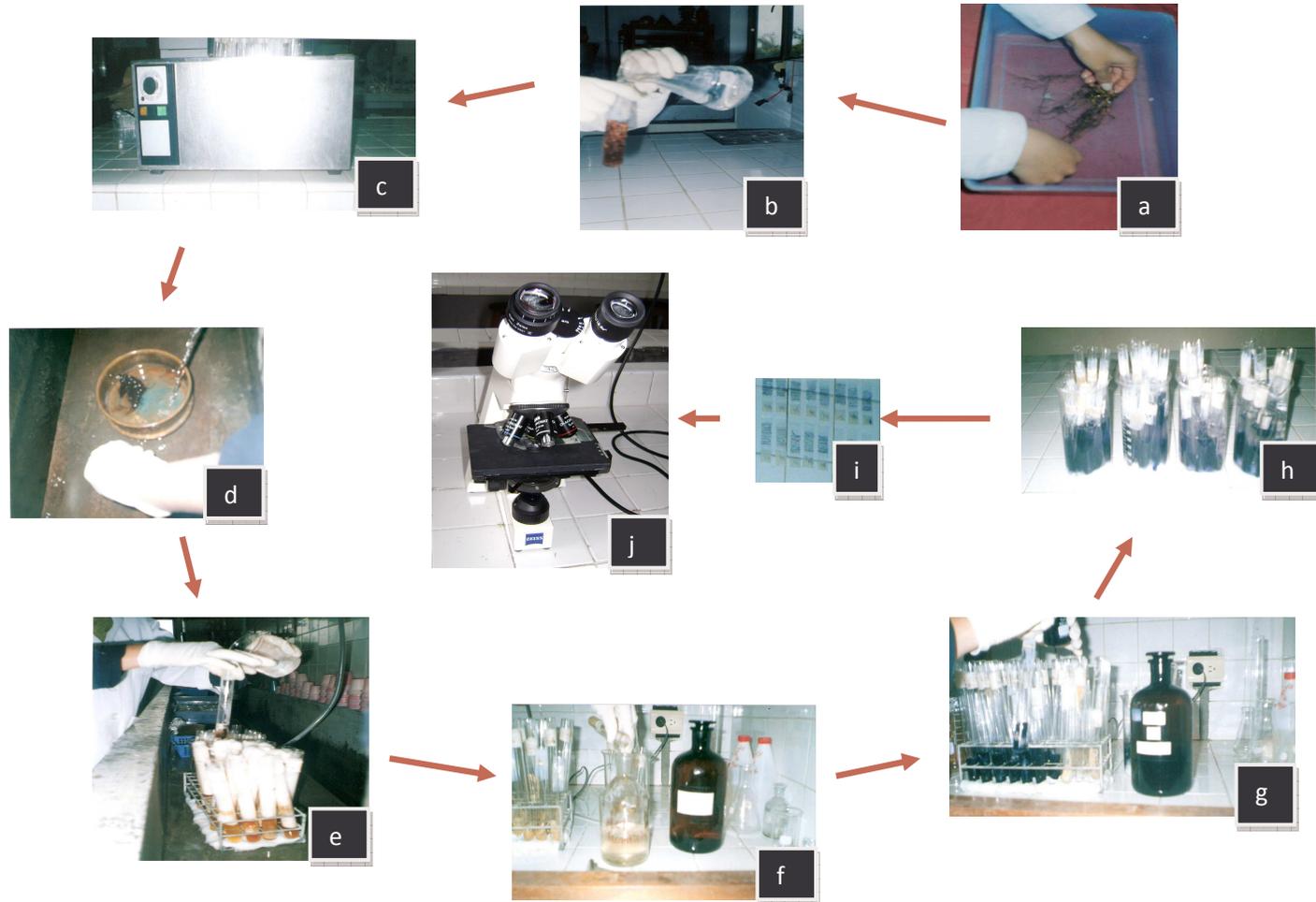
Se colocaron las raíces en un portaobjetos y se observaron en el microscopio. Se recorrió todo el portaobjetos a distintas alturas y se contaron los campos colonizados y los campos totales observados los cuales fueron 100 (Anexo 3). El porcentaje de colonización se determinó con la siguiente fórmula:

$$\%MIC = (N^{\circ} \text{ campos micorrizados} / N^{\circ} \text{ total de campos observados}) \times 100$$

---

<sup>59</sup> PHILLIPS, J. y HAYMAN, D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of The British Mycological Society. 1970. p. 158-161.

**FIGURA 5. Evaluación porcentaje de colonización HMA con la técnica de tinción por azul de tripano planteada por Philips y Hayman (1970).**



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

\* **Número de esporas (Nº/g suelo seco).** Para lo cual se utilizó la metodología de Tamizado Húmedo y Decantación de Gerdemann y Nicolson (1963)<sup>60</sup> la cual se realizó de la siguiente manera:

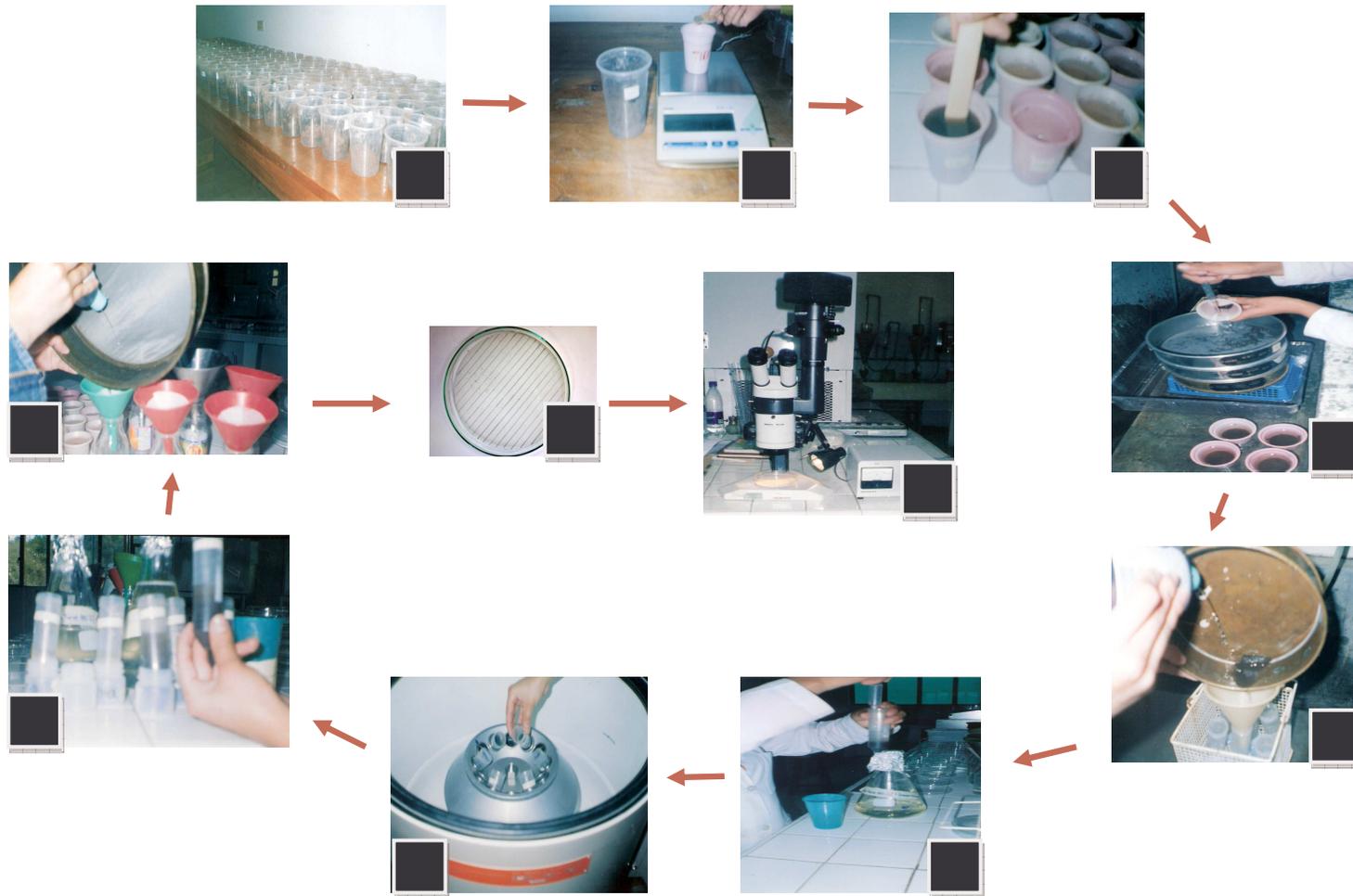
Se tomó 10gr de suelo en un beaker de 250ml al cual se adicionó 100ml de agua agitándolo por 15 minutos (a,b,c), se tamizó con tamices de diferentes diámetros, lavando con agua de llave y finalizándolo con un tamiz de 100 $\mu$ m (d), se recogió la muestra vertiéndola en un tubo de centrifuga de 50ml con 25ml de agua (d), se suministró con una jeringa de 50ml con manguera acoplada 15ml de solución de sacarosa al 72% con Tween 80 al 2% (e,f), equilibrando los tubos y centrifugando en una centrifuga de vasos colgantes a 2000rpm. durante 5 minutos (g), transcurrido este tiempo se saco los tubos de la centrifuga y con la ayuda de una jeringa se recogió toda la solución de la interfase y un poco por encima de esta para recoger las esporas que no atravesaron la solución (h). El contenido de la jeringa se pasó al tamiz más pequeño y se lavaron para eliminar la sacarosa (i). Finalmente se llevó el contenido del tamiz a un papel filtro que fue colocado en una caja Petri (j) para su observación al estereoscopio y realizar el conteo de esporas (k). (Figura 6).

Al suelo natural empleado para los tratamientos se aplicó esta metodología, para determinar la presencia o no de HMA, encontrando como resultado que en 5 evaluaciones el promedio de esporas presentes fue de 3 sobresaliendo el género *Glomus* sp., indicando que no hay mayor incidencia de HMA sobre los tratamientos.

---

<sup>60</sup> GERDEMANN, J. y NICOLSON, T. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone species* extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of The British Mycological Society. p. 235-244.

Figura 6. Cuantificación de la colonización micorrícica con la metodología de tamizado húmedo y decantación de Gerdemann y Nicolson (1963).



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

## **2.6 ANALISIS ESTADÍSTICO**

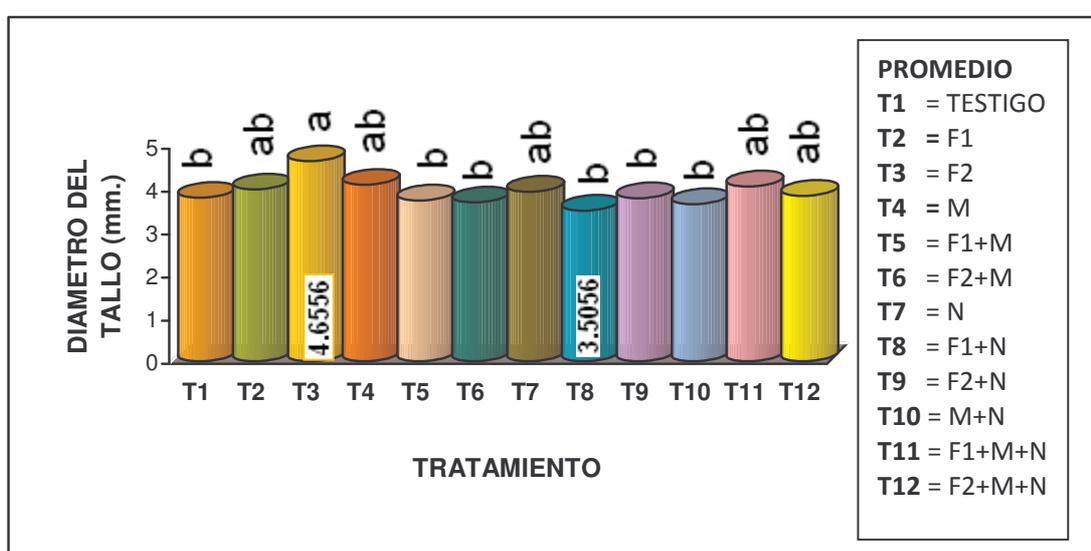
Con los resultados obtenidos se realizó un Análisis de Varianza y Pruebas de Significancia de Tukey para comparar los promedios de valores correspondientes a las variables e interacciones, que registraron diferencias significativas. El modelo estadístico correspondió a un diseño de bloques completamente al azar con 12 tratamientos y 6 repeticiones en tres épocas de muestreo para un total de 216 unidades experimentales correspondiendo cada época a un bloque. La información recolectada se procesó en el programa SAS, 1997 (Statistical Analysis System), y la comparación de medidas se realizó según la prueba de Tukey.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1 EFECTO DE LA APLICACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN EL CRECIMIENTO DE ALISO.

**3.1.1 Diámetro del tallo.** El Análisis de Varianza para diámetro de tallo arrojó diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 4).

**Gráfica 1. Comparación de Promedios de Tukey para diámetro del tallo (mm).**



En la grafica 1 y anexo 5 se observa que al efectuar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey para la variable diámetro del tallo el tratamiento T3 (F2) obtuvo el mayor valor promedio con un valor de 4.6556mm superando estadísticamente a los tratamientos T1 (T), T5 (F1+M), T6 (F2+M), T8 (F1+N), T9 (F2+N), T10 (M+N), cuyos promedios fueron menores de 3.85mm; esto se explica porque *Frankia alni* a través de la formación de nódulos aumenta la dinámica de nutrientes principalmente la de nitrógeno, lo cual refleja un mayor desarrollo de los tejidos, principalmente en el tallo, manifestándose en mayores diámetros, Sylvia *et al.* (2005) citado por Rey (2006).<sup>61</sup>

Al respecto Rey (2006)<sup>62</sup> al evaluar la actividad de cepas nativas de *Frankia alni* en *Alnus acuminata* aisladas en los departamentos de Nariño y Cundinamarca encontró que los tratamientos de mejor comportamiento durante 3 muestreos a los

<sup>61</sup> REY, Op. cit., p. 78.

<sup>62</sup> Ibid., p. 76- 78.

45, 90 y 125 días con relación al diámetro del tallo fueron los de cepas de *Frankia alni* en relación a los demás tratamientos.

Oliveira *et al.* (2005) citado por Rey (2006)<sup>63</sup> reporta diámetros del tallo a los 6 meses en *Alnus glutinosa* de 5mm en plantas sin inocular y de 7.3mm al inocularlas con *Frankia sp.* Ensayos en los que se encontró ciertas similitudes con el presente estudio.

La inoculación con F2 superó a los tratamientos en donde se aplicó Micorriza + Nitrógeno (T10) y al testigo (T1) es decir donde hubo ausencia de *Frankia alni*, mientras que en los tratamientos T9, T5, T6, y T8 en los cuales se inoculó *Frankia alni* en interacción con nitrógeno y micorriza la respuesta se deprimió mostrando la no conveniencia para esta variable, sobresaliendo el tratamiento T8 el cual obtuvo el menor valor promedio (3.5056mm) a diferencia de los demás tratamientos, esto posiblemente porque la adición de N inhibió la actividad de *Frankia alni*.

### 3.1.2 Longitud de la parte aérea de la planta.

**Figura 7. Comportamiento de tres tratamientos frente a la variable longitud de la parte aérea de la planta.**



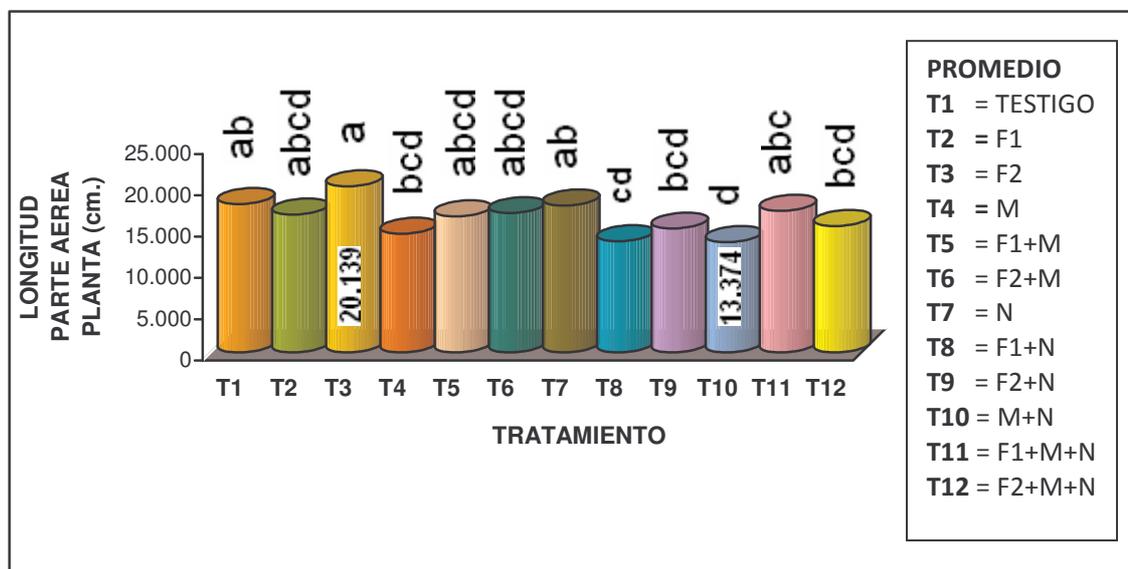
Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

Al realizar el Análisis de Varianza para longitud de la parte aérea de la planta se presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 6).

---

<sup>63</sup> Ibid., p. 77.

**Grafica 2. Comparación de Promedios de Tukey para longitud de la parte aérea de la planta (cm).**



Al realizar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey (Gráfica 2 y Anexo 7) el tratamiento T3 (F2) presentó el mayor valor promedio con 20.139cm, superando estadísticamente a los tratamientos T12, T9, T4, T8, y T10 cuyos promedios fueron menores de 16.472cm; esto se debe probablemente a los beneficios que obtienen los hospederos al presentar este tipo de simbiosis mutualista, reflejada no solo en una mayor longitud de la parte aérea de la planta si no también en su longitud radical.

Al respecto Brunck *et al.* (1990) citado por Restrepo (1997),<sup>64</sup> menciona una experiencia en Burundi con plántulas de *Alnus acuminata* de 2 meses de edad e inoculadas con 2 cepas de *Frankia* sp. las cuales alcanzaron una altura de 2 a 4 veces superior a la registrada en los demás tratamientos evaluados.

Castro (1995)<sup>65</sup> en un ensayo de la Inoculación del actinomiceto *Frankia alni* en estacas enraizadas de aliso, al inocular las plántulas con extracto nodular y suelo rizosférico de la misma especie encontró un promedio de longitud de la rama principal de 16.56cm superando al cultivo puro (aislado de *Frankia alni*) con un promedio de 14.3cm y al testigo sin inocular con un promedio de 9.13cm. Ensayos

<sup>64</sup> RESTREPO. Op. cit., p. 4.

<sup>65</sup> CASTRO PEREZ, Marilú. Inoculación del actinomiceto *Frankia alni* en estacas enraizadas de aliso *Alnus acuminata* H.B.K. subespecie acuminata. Cusco, Perú, 1995. [en línea], [Citado 26 de agosto de 2007]. Disponible en internet: URL<[http://www.cepes.org.pe/pdf/UCR/Partidos/manejo\\_ecologico\\_d\\_suelos/manejo\\_ecologico\\_d\\_suelos\\_8.pdf](http://www.cepes.org.pe/pdf/UCR/Partidos/manejo_ecologico_d_suelos/manejo_ecologico_d_suelos_8.pdf)>.

en los cuales encontramos ciertas similitudes con el presente estudio.

En cuanto a la inoculación con F2 esta superó a los tratamientos en donde se aplicó Micorriza (T4) y Micorriza + Nitrógeno (T10) es decir donde hubo ausencia de *Frankia alni*, no obstante en los tratamientos T12 (F2+M+N) T9 (F2+N) y T8 (F1+N) en los cuales se inoculó *Frankia alni* en interacción con nitrógeno, micorriza o ambos la respuesta se deprimió mostrando la no conveniencia para este estudio y para esta variable. El tratamiento T10 (M+N) presentó un comportamiento inferior con respecto a los demás tratamientos con un valor promedio de 13.374cm, según Slankis (1973) citado por García (2003)<sup>66</sup> las micorrizas presentan un estado metabólico que es reducido y mantenido por auxinas fúngicas y ese estado es un prerrequisito para el establecimiento y función de la asociación simbiótica y que elevadas concentraciones de nitrógeno disminuye la formación de auxinas por los hongos afectando la simbiosis.

### 3.1.3 Longitud de la raíz.

**Figura 8. Medición de la longitud de la raíz**

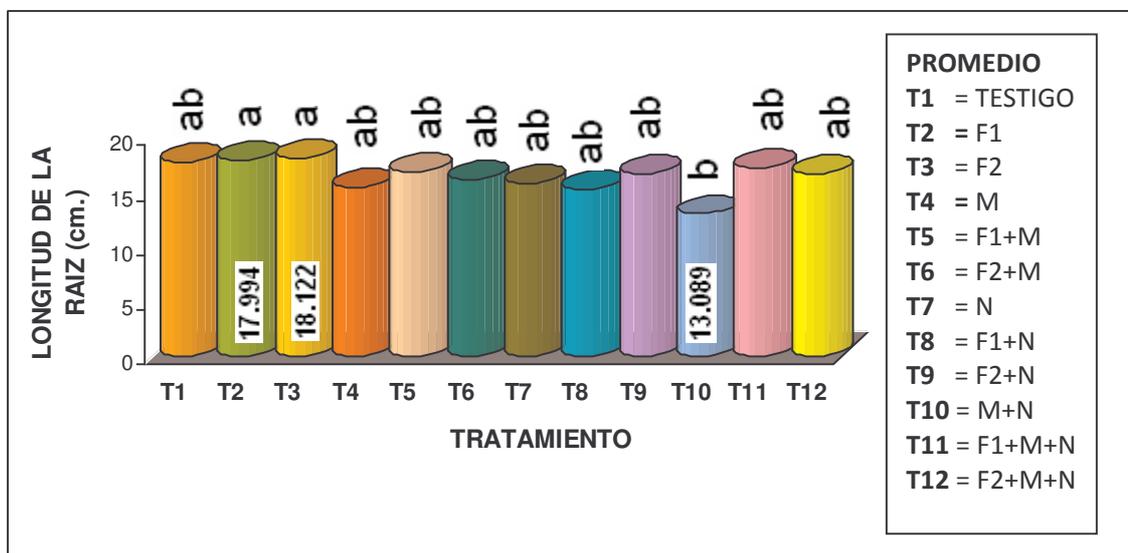


Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

---

<sup>66</sup> GARCIA, Francisco. Concentración de reguladores de desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrizicos en dos cultivares de Chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Doctorado en Ciencias – Biotecnología. Universidad de Colima, 2003. México. 121 p.

**Grafica 3. Comparación de Promedios de Tukey para longitud de la raíz (cm).**



El Análisis de Varianza (Anexo 8) para longitud de la raíz presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey (Gráfica 3 y Anexo 9) arrojó que los tratamientos inoculados con las cepas de *Frankia alni* presentaron los valores más significativos, T3 (F2) con un promedio de 18.122cm seguido por el tratamiento T2 (F1) con un promedio de 17.994cm superando estadísticamente al tratamiento T10 (M+N), esto se debe probablemente a que *Frankia alni* provee beneficios a la raíz por medio de los nódulos fijadores de nitrógeno, estimulando un mejor crecimiento de la raíz.

McEwan (1997), Restrepo (1997), Sellstedt (2003) citados por Molina *et al.* (2006)<sup>67</sup> mencionan que en plántulas de *Alnus acuminata* inoculadas con algunos nódulos macerados de esta misma especie aumento su crecimiento aéreo y radical y su número de hojas en comparación con los demás tratamientos evaluados; algunas plántulas germinadas en suelos estériles murieron 10 días después de la germinación, esto demuestra que esta especie tiene necesidad del actinomiceto *Frankia alni*.

Castro (1995)<sup>68</sup> en un ensayo de la inoculación del actinomiceto *Frankia alni* en estacas enraizadas de aliso, al inocular las plántulas con extracto nodular y suelo rizosférico de la misma especie encontrando un promedio de longitud de la raíz en extracto nodular de 21.58cm superando al cultivo puro (aislado de *Frankia*) que tuvo un promedio de 19.84cm y al testigo sin inocular el cual tuvo un promedio de

<sup>67</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op cit., p. 46.

<sup>68</sup> CASTRO. Op. cit., p. 92.

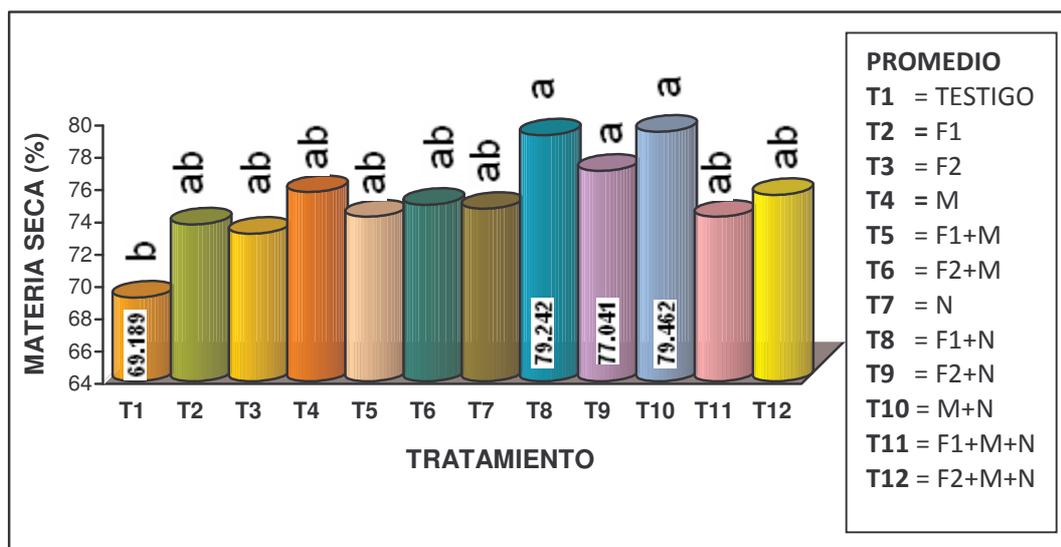
9.14cm. Ensayos en los cuales encontramos ciertas similitudes con el presente estudio.

El tratamiento T3 (F2) superó al T10 (M+N) en donde hubo ausencia de *Frankia alni*, el cual presentó el promedio más bajo con un valor de 13.089cm debido posiblemente a que la presencia de nitrógeno inhibió la acción de la micorriza.

Al respecto Azcón y Barea (1992)<sup>69</sup> mencionan que la fertilización nitrogenada afecta el establecimiento del hongo, debido a que incrementan la síntesis de proteínas disminuyendo el aporte de azúcares afectando la colonización endomicorrizica.

**3.1.4 Materia seca parte aérea de la planta.** Al realizar el Análisis de Varianza para materia seca de la parte aérea de la planta (Anexo 10) se encontró diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos.

**Grafica 4. Comparación de promedios de Tukey para materia seca (%).**



Al realizar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey (Gráfica 4 y Anexo 11) se observa que el tratamiento T10 (M + N) con un valor de 79.462% alcanza un mayor valor promedio, superando estadísticamente al tratamiento T3 (F2), este resultado se debe posiblemente a que la interacción entre micorriza y nitrógeno permitió una mayor eficiencia en la absorción de otros minerales como el fósforo, elemento que interviene en la fijación de nitrógeno contribuyendo al aumento de

<sup>69</sup> AZCON, A. y BAREA J. Interactions between Mycorrhizal Fungi and other rhizosphere Microorganisms, en: Mycorrhizal Functioning, an Integrative Plant Fungal Process, M.F. Allen (ed), Chapman y Hall, New York: 1992. p. 163 -168.

los niveles de materia seca en la planta.

Rojas *et al.* (2002) citados por Molina; Medina y Orozco (2006)<sup>70</sup> Describen un estudio que examina el efecto de *Frankia* sp, macronutrientes, micronutrientes, hongos micorrizógenos, y *Pseudomonas* sp. fluorescentes, durante el sembrado-crecimiento - germinación, en la biomasa total, y fijación de N<sub>2</sub> del aliso rojo (*Alnus rubra*) y el laurel pegajoso (*Ceanothus velutinus*) bajo condiciones de invernadero. Las semillas de aliso rojo que tuvieron macronutrientes y hongos micorrizógenos juntos incrementaron los valores de las variables evaluadas en un 136% por encima del control.

Sánchez (1997) citada por Forero; Unigarro y Chaves (1999)<sup>71</sup> manifiesta que, las MVA no solo incrementan la biomasa vegetal sino que también influyen en la proporción en la cual ésta se distribuye entre las partes aéreas y la raíz. La estimulación de la captación de nutrientes y la subsiguiente traslocación de estos a la parte aérea, ocasiona que se transfieran a la raíz relativamente menos productos de la fotosíntesis y una mayor proporción de estos sea retenida en la parte aérea y utilizada en la producción de materia verde.

El tratamiento T10 está seguido por los tratamientos T8 (F1+N) con un promedio de 79.242% y T9 (F2+N) con un promedio de 77.041%, los cuales han alcanzado promedios significativos en la cantidad de materia seca de la parte aérea de la planta, Gentili y Huss – Danell (2005) citados por Molina; Medina y Orozco (2006)<sup>72</sup> estudiaron los efectos del nitrato de amonio y de sus interacciones en la nodulación y biomasa de actinorrizas infectadas intercelularmente en plantas de la familia Rhamnaceae, se aplicaron diferentes concentraciones de N en las plantas, de 6 a 10 semanas después de la inoculación con *Frankia* sp. los resultados mostraron que un buen nivel de N tenía un estímulo sistémico en el número de nódulos y su biomasa. Se concluyó que la biomasa y la nodulación es regulada por nutrientes como nitrógeno.

El tratamiento que tuvo un menor promedio fue T1 (Testigo) con un valor de 69.189%, Chaves (1975) citado por Forero; Unigarro y Chaves (1999)<sup>73</sup> menciona que la distribución de la materia seca es el resultado de procesos complejos de desarrollo, los cuales dependen entre otras cosas, de la superficie de asimilación y la distribución de las hormonas activas de crecimiento, así como de factores

---

<sup>70</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 43.

<sup>71</sup> FORERO, Luz Amalia; UNIGARRO, Alberto y CHAVES, Germán. Evaluación cuantitativa de hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular MVA en malezas de clima medio. 1ed. San Juan de Pasto, Colombia: Unariño, 1999. 111p.

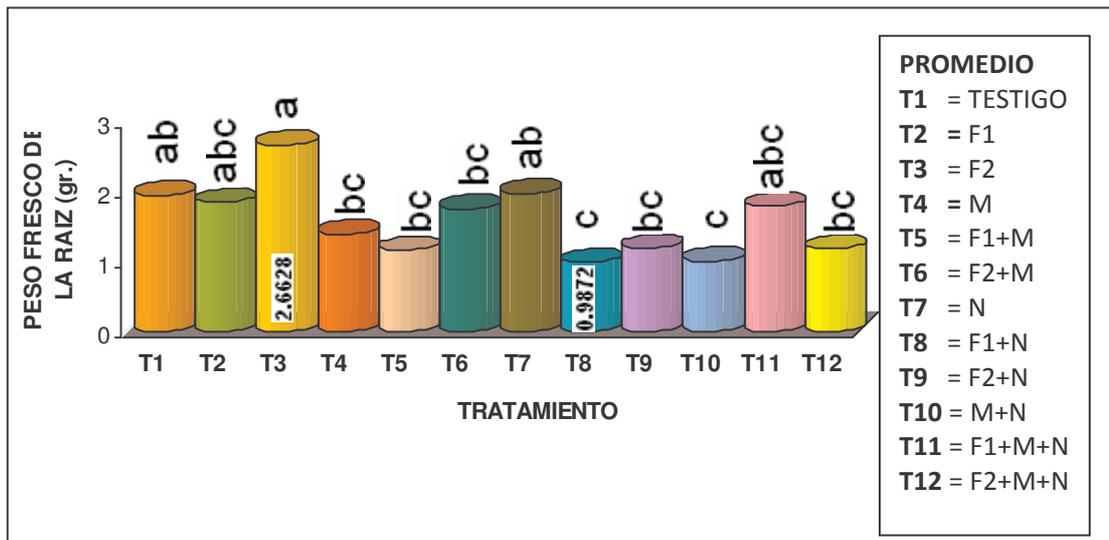
<sup>72</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 42.

<sup>73</sup> FORERO; UNIGARRO y CHAVES Op. cit., p. 51.

ambientales, tales como la radiación, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes en el suelo, lo que pudo haber ocurrido en este ensayo ya que el testigo no tuvo ningún inoculante o fertilización.

**3.1.5 Peso fresco de la raíz.** Al realizar el Análisis de Varianza para peso fresco de la raíz (gr.) se encontró diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 12).

**Grafica 5. Comparación de promedios de Tukey para peso fresco de la raíz (gr.).**



Al efectuar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey para la variable peso fresco de la raíz se encontró que el tratamiento T3 (*Frankia* 2) con un valor de 2.6628gr. alcanza el mayor promedio (Gráfica 5 y Anexo 13) superando estadísticamente a los tratamientos T6, T4, T9, T12, T5, T10 y T8 cuyos promedios fueron menores de 1.7883gr.; esto debido probablemente a que la asociación con la cepas de *Frankia alni* incrementan el desarrollo y peso radicular de los hospederos favoreciendo a los suelos asociados a estas.

Al respecto Rey (2006)<sup>74</sup> en su ensayo sobre la actividad de cepas nativas de *Frankia* sp. en *Alnus acuminata* aisladas en los departamentos de Nariño y Cundinamarca encontró que los tratamientos con mayores pesos radiculares durante 3 muestreos a los 45, 90 y 125 días con relación al peso seco radical fueron los de cepas nativas de *Frankia alni* en Nariño con incremento del 265% en relación al testigo.

Las plantas actinorrizas pueden incrementar la materia orgánica del suelo mediante la acumulación de nitrógeno, esto hace que incremente la formación de

<sup>74</sup> REY. Op. cit., p. 86 - 87.

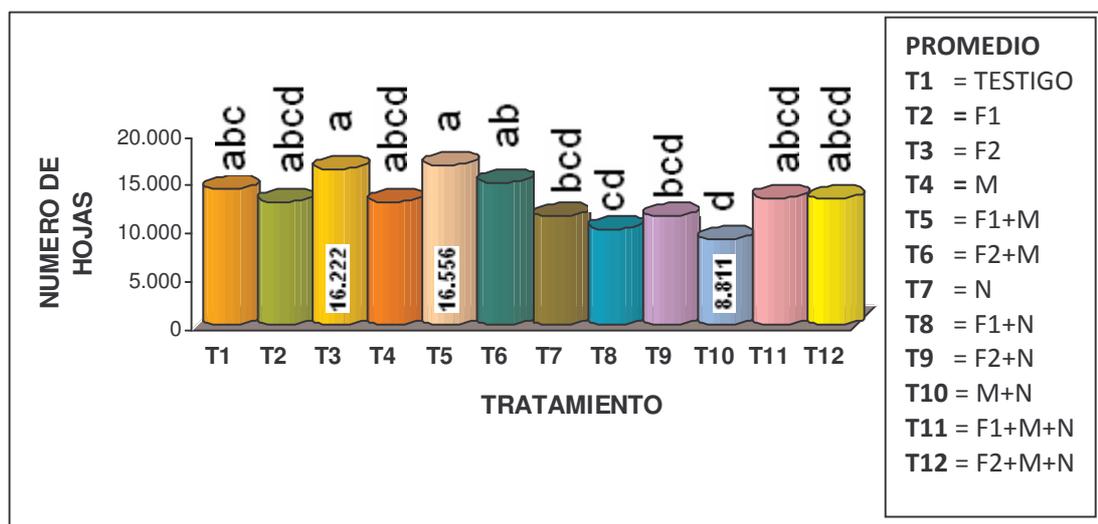
agregados y mejore la porosidad del suelo estimulando el crecimiento y peso radical, Wild (1988) citado por Muñoz (2003).<sup>75</sup>

Garcés *et al.* (1986) citado por Restrepo (1997)<sup>76</sup> en plántulas de *Alnus acuminata* inoculadas con algunos macerados de esta misma especie aumentaron su crecimiento aéreo y radical y su número de hojas en comparación con el testigo sin inocular. Ensayos en los cuales encontramos ciertas similitudes con el presente estudio.

La inoculación con F2 superó a los tratamientos en donde se aplicó Micorriza (T4) y Micorriza + Nitrógeno (T10) es decir donde hubo ausencia de *Frankia alni*, y en los tratamientos T6 (F2+M), T9 (F2+N), T12 (F2+M+N), T5 (F1+M), T10 (M+N) y T8 (F1+N) en los cuales se inoculó *Frankia alni* en interacción con nitrógeno, micorriza o ambos la respuesta inferior al T3, mostrando la no conveniencia para este estudio y para esta variable la interacción con la fertilización nitrógenada, esto posiblemente porque la adición de N inhibió la actividad de *Frankia alni*, el tratamiento T8 (F1+N) presentó el promedio más bajo con un valor de 0.9872gr. debido posiblemente a que la presencia de nitrógeno inhibió la acción de *Frankia alni* como sucedió en la variable diámetro del tallo.

**3.1.6 Número de hojas.** El Análisis de Varianza para número de hojas presento diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 14).

**Grafica 6. Comparación de promedios de Tukey para número de hojas.**



<sup>75</sup> MUÑOZ. Op. cit., p. 50.

<sup>76</sup> RESTREPO. Op. cit., p. 3.

Al efectuar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey para el número de hojas (Gráfica 6 y Anexo 15) se encuentra que el tratamiento T5 (F1+M) con un valor de 16.556 hojas alcanza el mayor valor promedio superando estadísticamente a los tratamientos T7 (N), T9 (F2+N), T8 (F1+N) y T10 (M+N) cuyos promedios fueron menores de 12.722 hojas, esto debido a que la asociación simbiótica entre el actinomiceto *Frankia alni* y la micorriza ayuda a formar una mayor cantidad de biomasa en las plantas por la estimulación en la toma y transporte de nutrientes a la parte aérea lo cual incentiva a que se tenga un mayor número de hojas.

Por otro lado Romero (1999) citado por Rey (2006)<sup>77</sup> manifiesta que la variable número de hojas es importante, debido a que el efecto de la inoculación sobre el aumento en su número afecta directamente la producción de una mayor cantidad de clorofila, y como resultado se obtiene una mayor fijación de carbono del aire por fotosíntesis.

De igual manera el T3 (F2) presentó un promedio significativo (16.222 hojas) para número de hojas. Castro (1995)<sup>78</sup> en un ensayo de la Inoculación del actinomiceto *Frankia alni* en estacas enraizadas de *Alnus acuminata*, al inocular las plántulas con extracto nodular y suelo rizosférico de la misma especie encontró un promedio de hojas de 14.5 hojas superando al cultivo puro (aislado de *Frankia*) con un promedio de 13.2 hojas y al testigo sin inocular con un promedio de 8.8 hojas.

Rey (2006)<sup>79</sup> en su ensayo sobre la actividad de cepas nativas de *Frankia alni* en *Alnus acuminata* aisladas en los departamentos de Nariño y Cundinamarca encontró que los tratamientos de mejor comportamiento durante 3 muestreos a los 45, 90 y 125 días con relación al número de hojas fueron los de cepas de *Frankia alni* en comparación al testigo. Los tratamientos aplicados con *Frankia alni* provenientes de Cundinamarca superan al testigo a los 45 días en el número de hojas en un 79.2% resultados que permiten una mayor capacidad fotosintética que se refleja en mejores indicadores dasométricos y de composición química.

Ensayos en los cuales encontramos ciertas similitudes con el presente estudio, por cuanto la inoculación con *Frankia alni* 2 + Micorriza (T5) superó a los tratamientos en donde se aplicó Nitrógeno (T7) y Micorriza + Nitrógeno (T10) es decir donde hubo ausencia de *Frankia alni*, de igual manera en los tratamientos T9 (F2+N) y T8 (F1+N) en los cuales se inoculó *Frankia alni* en interacción con nitrógeno se inhibió la acción de *Frankia alni* mostrando la no conveniencia para esta variable, esto posiblemente porque la adición de N restringió la actividad de *Frankia alni*.

---

<sup>77</sup> REY. Op. cit., p. 75.

<sup>78</sup> CASTRO. Op. cit., p. 91.

<sup>79</sup> REY. Op. cit., p. 75 - 76.

Al igual que en longitud de la parte aérea de la planta y longitud de la raíz el tratamiento T10 (M+N) presento los valores promedios mas bajos en este caso el promedio fue de 8.811 hojas con respecto a los demás tratamientos aplicados, esto puede afectar posiblemente a la planta por la reducción de la tasa fotosintética.

**3.1.7 Contenido foliar de nitrógeno.** Con respecto a la variable contenido foliar de nitrógeno en relación a los tratamientos aplicados con fertilización de nitrógeno y la inoculación con *Frankia alni* y Micorriza tuvieron un comportamiento inferior en relación al efecto en las demás variables ya sea de forma individual o en interacción, dando como resultado en el Análisis de Varianza (NS) no significativo (Anexo 16 y 17).

Franklin *et al.* (1968) citado por Molina *et al.* (2006),<sup>80</sup> al evaluar el desarrollo de nódulos y la fijación de N<sub>2</sub> en *Alnus glutinosa* con diferentes aplicaciones de nitrógeno, concluyó que la eficiencia en la fijación en *Alnus glutinosa* se puede afectar por alta presencia de materia orgánica y/o la aplicación de nitrógeno.

Además se ha demostrado que la efectividad de las poblaciones de MA en cuanto a esporas y fragmentos de raíz micorrizada se reduce cuando se aplica fertilizantes fosforados y nitrogenados CORPOICA (1999).<sup>81</sup> Ensayo que tiene cierta similitud al determinar que la fijación de nitrógeno puede ser afectado por la adición de un fertilizante nitrogenado como ocurrió en esta investigación.

## **3.2 COMPORTAMIENTO DEL GENERO *Frankia alni* CON RELACIÓN A LOS TRATAMIENTOS.**

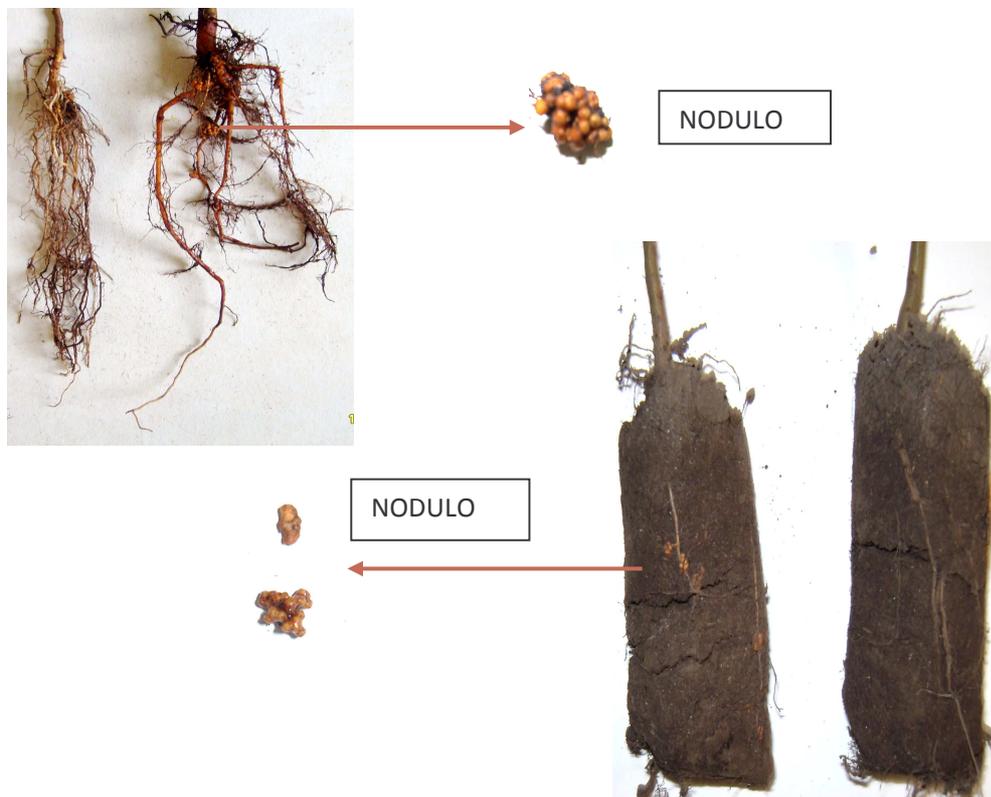
### **3.2.1 Número de nódulos.**

---

<sup>80</sup> MOLINA; MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 42.

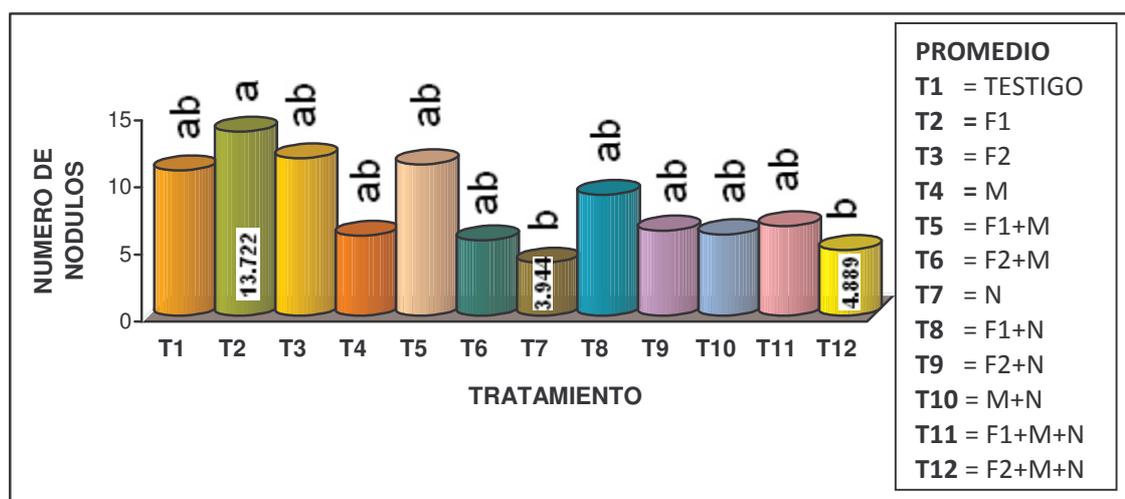
<sup>81</sup> CORPOICA. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional N° 5, Obonuco. Las micorrizas vesículo arbusculares (MA), una alternativa sostenible para los sistemas de producción de la zona andina de Nariño. San Juan de Pasto, septiembre de 1999. Boletín Técnico. No. 9. p.12.

Figura 9. Presencia de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno en raíces de *Alnus acuminata* como respuesta a la colonización por *Frankia alni*.



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

Grafica 7. Comparación de promedios de Tukey para número de nódulos.



Al realizar el Análisis de Varianza para número de nódulos se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 18), la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey (Gráfica 7 y Anexo 19) presentó que la inoculación con la cepa *Frankia alni* 1 (T2) presentó mayor promedio (13.722 nódulos) con respecto a los tratamientos T7 (N) y T12 (F1+M+N) los cuales tuvieron un promedio inferior a 5.611 nódulos, lo cual se debe probablemente a que *Frankia alni* al estar presente en la raíz de *Alnus* ejerce una relación mutualista en donde la presencia de los nódulos evidencia la simbiosis; proporcionando nitrógeno a la planta y recibiendo de ella fuentes de carbono.

Al respecto Restrepo (1997),<sup>82</sup> en su análisis de la infectividad y efectividad del actinomiceto *Frankia alni* en simbiosis con *Alnus acuminata* al verificar la presencia de nodulación en 90 plántulas tratadas con suelo rizosférico de esta misma especie y al realizar la evaluación a los 60 días después de la inoculación se encontró que las plántulas que nodularon tuvieron hojas más verdes y los sistemas aéreos y radicales más desarrollados.

Según Wall, Valverde y Huss – Danell (2003)<sup>83</sup> la nodulación de la raíz en plantas actinorrízicas como *Discaria* y *Alnus* esta sujeta a la regulación de mecanismos que controlan la infección de *Frankia* sp. y el desarrollo del nódulo, de igual manera la nodulación en el sistema radical se controla por un proceso autorregulatorio que es inducido poco después de la inoculación con *Frankia* sp., el número total de nódulos así como la biomasa del nódulo respecto a la biomasa de la planta es modulado por un mecanismo relacionado con el estado de nitrógeno de la planta.

Al igual que en la variable contenido foliar de nitrógeno el tratamiento T7 (N) presentó menor promedio (3.944 nódulos) con respecto al número de nódulos, esto puede deberse a que tanto la composición mineral del suelo y su disponibilidad para las plantas y microorganismos, pueden ser limitantes para la nodulación o el funcionamiento de la enzima nitrogenasa, al adicionar urea al suelo natural las plantas pudieron verse afectadas por los niveles de nitrógeno ya que esta especie no requiere de fertilización con fuentes nitrogenadas para su funcionamiento.

Al respecto Wall (2000) citado por Rey (2006)<sup>84</sup> menciona que los altos niveles de nitrógeno pueden inhibir en diferente estado de crecimiento de las plantas, los procesos de nodulación y en el caso del número de nódulos son más frecuentes

---

<sup>82</sup> RESTREPO. Op. cit., p. 6.

<sup>83</sup> WALL, Luis Gabriel; VALVERDE, Claudio y HUSS – DANELL, Kerstin. La regulación de la nodulación en ausencia de N<sub>2</sub> en plantas actinorrízicas con diferentes estrategias de infección. Departamento de Ciencia y Tecnología. Buenos Aires, 2003. 10p.

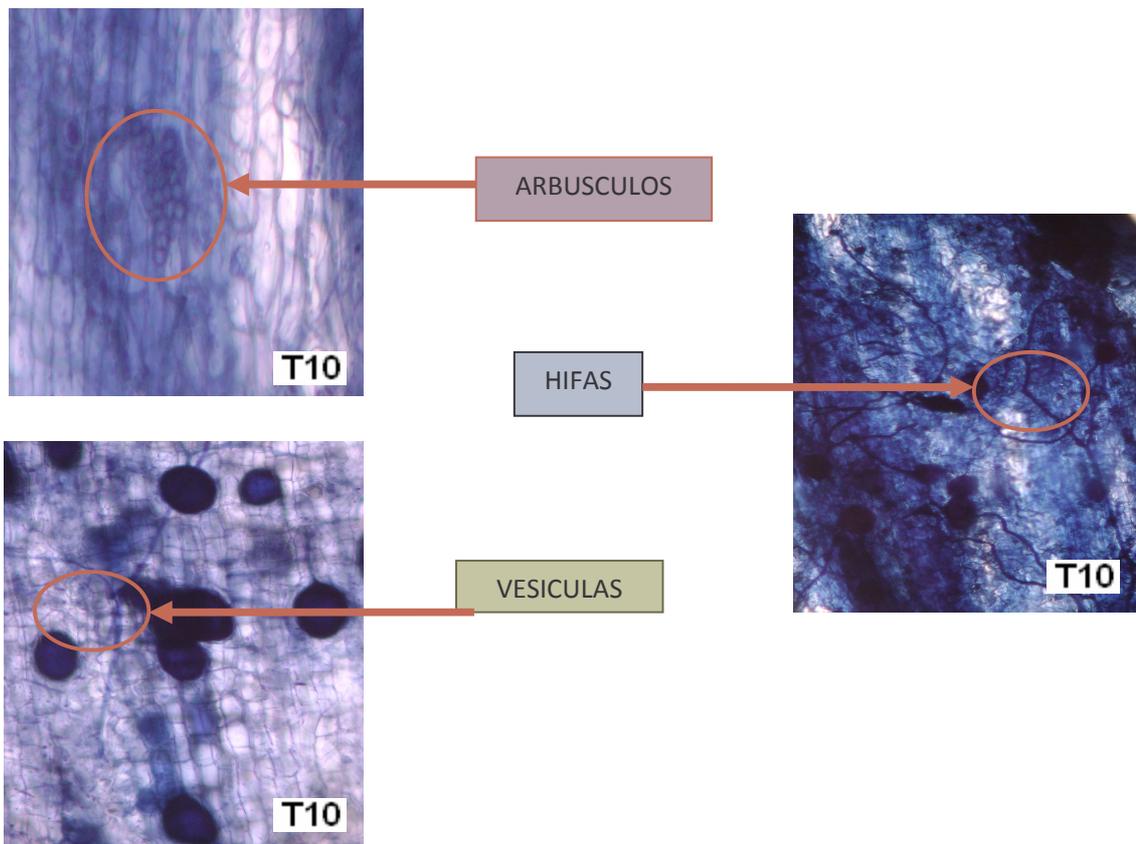
<sup>84</sup> REY. Op. cit., p. 90.

en estados iniciales de la nodulación, reflejándose en un menor desarrollo de la planta, tamaño y número de nódulos.

### 3.3 COMPORTAMIENTO DE LA MICORRIZA ARBUSCULAR CON RELACIÓN A LOS TRATAMIENTOS.

#### 3.3.1 Porcentaje de colonización por HMA.

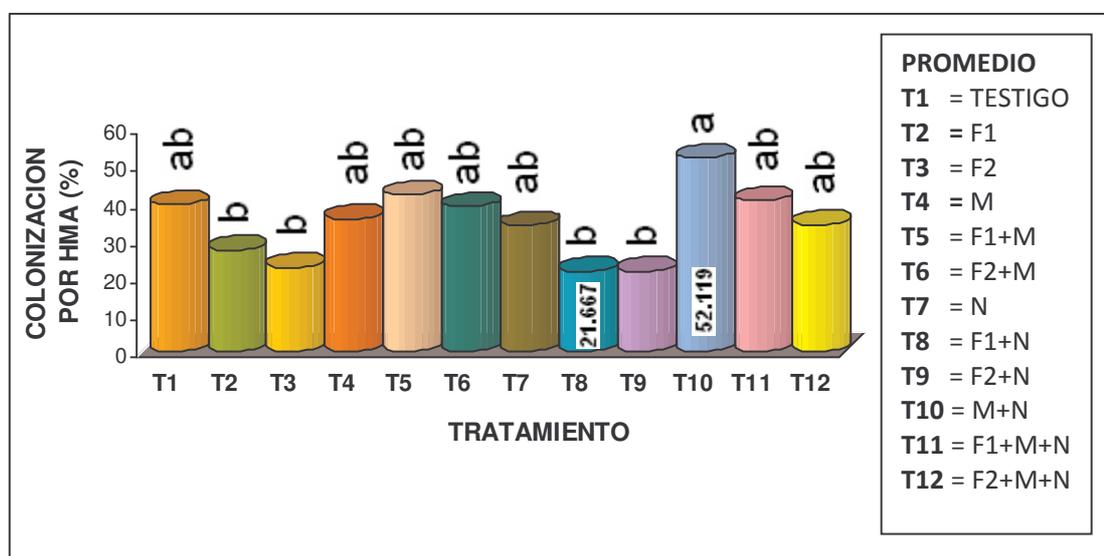
Figura 10. Presencia de HMA en las raíces de *Alnus acuminata*.



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

En la figura 10 se observan 3 fotografías microscópicas (objetivo 10X) de la presencia de HMA en la raíz de las plántulas de *Alnus acuminata*.

**Grafica 8. Comparación de promedios de Tukey para porcentaje de colonización por HMA (%).**



Al realizar el Análisis de Varianza para porcentaje de colonización por HMA se presento diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 20), al realizar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey el tratamiento T10 (Micorriza + N) con un valor de 52.119% alcanza estadísticamente un mayor valor promedio (Gráfica 8 y Anexo 21) que los tratamiento T2 (F1), T3 (F2), T9 (F2 + N) y T8 (F1 + N) cuyos promedios fueron menores de 34%.

Al respecto Rivera *et al.* (2003)<sup>85</sup> en un ensayo para evaluar la influencia de la fertilización mineral sobre la efectividad de la simbiosis micorrícica en cultivos de yuca encontró una respuesta positiva a la inoculación de estas cepas eficientes de HMA, expresadas en incremento en el porcentaje de colonización micorrícica y en el rendimiento en comparación con los tratamientos que no tuvieron inoculación, además la aplicación conjunta de la inoculación y de las dosis de fertilizantes minerales incrementaron la efectividad de la simbiosis lo cual se expreso en incrementos en la colonización micorrícica y el rendimiento.

De igual manera en un estudio realizado por Sánchez (1999)<sup>86</sup> para evaluar la respuesta de la cebolla con respecto a la efectividad de cepas MA dominantes en el campo y el comportamiento de la simbiosis ante diferentes dosis de fertilización con 15-15-15, los resultados obtenidos a los 55 días mostraron que esta interacción promovió el más alto peso seco en las plantas y porcentaje de

<sup>85</sup> RIVERA; FERNANDEZ; HERNANDEZ *et al.* Op. cit., p.70.

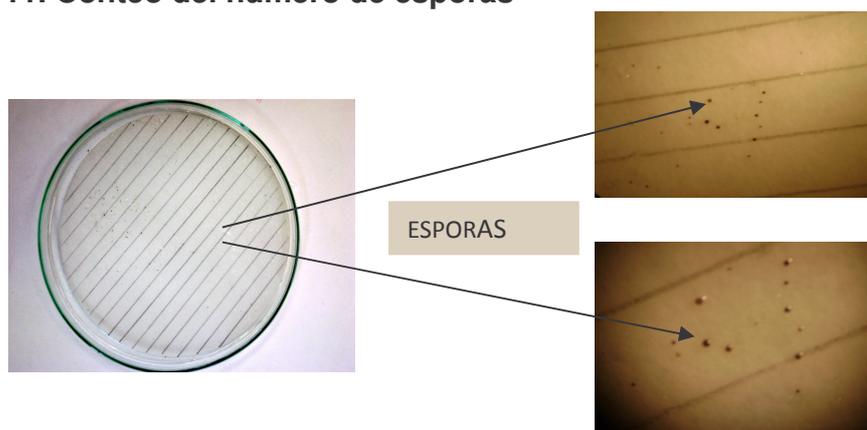
<sup>86</sup> SANCHEZ. Op. cit., p.127.

infección, mostrando así una mayor eficiencia de los MA.

El tratamiento T8 (F1+N) presentó el promedio más bajo con un valor de 21.667% debido posiblemente a que la presencia de nitrógeno inhibió la acción de *Frankia alni* como sucedió en las variables diámetro del tallo y peso fresco de la raíz.

### 3.3.2 Cuantificación de la colonización micorrícica.

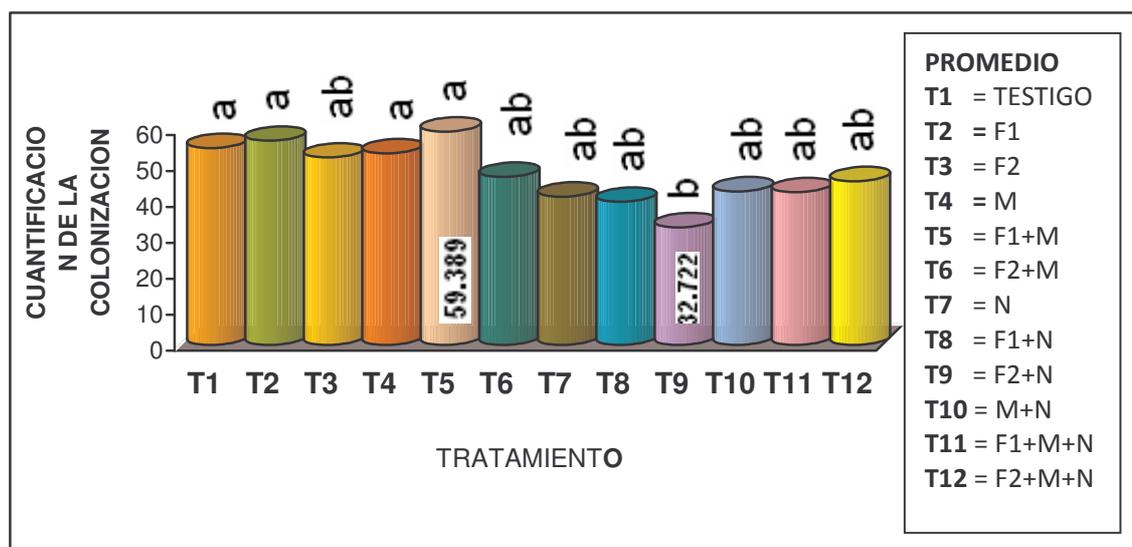
**Figura 11. Conteo del número de esporas**



Fuente: Esta investigación, Centro Experimental Obonuco - FEDEPAPA, 2007.

En la figura 11 se observan 2 fotografías tomadas en estereoscopio (objetivo 10X) de las esporas que verifican la presencia de HMA en el suelo.

**Grafica 9. Comparación de promedios de Tukey para cuantificación de la colonización micorrícica (número de esporas).**



Al realizar el Análisis de Varianza para cuantificación de la colonización micorrícica se presento diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos (Anexo 22). Al efectuar la Prueba de Comparación de Promedios de Tukey se encontró que el tratamiento T5 (F1 + Micorriza) con un valor 59.389 esporas, alcanza un mayor valor promedio (Grafica 10 y Anexo 23), con respecto a esta relación sinérgica (*Frankia alni* + Micorriza) ha causado estímulos en la planta manifestándose beneficios mutuos entre estos microorganismos promoviendo el crecimiento en este caso de *Alnus*, el desarrollo micorrizal y un ambiente más competitivo frente a condiciones desfavorables para la planta. Molina, Medina y Orozco (2006).<sup>87</sup>

El tratamiento T9 (F1+N) presento el promedio mas bajo (32.722 esporas) con respecto a los demás tratamientos, lo que puede deberse a que la especie *Alnus acuminata* al estar asociado con *Frankia alni* y al aplicar nitrógeno puede ocurrir un antagonismo entre estos inhibiendo su actividad.

---

<sup>87</sup> MOLINA, MEDINA Y OROZCO. Op. cit., p. 42

## CONCLUSIONES

La inoculación de cepas de *Frankia alni* favorece el crecimiento inicial de aliso presentando mayor respuesta en las variables diámetro del tallo, longitud de la parte aérea de la planta, longitud de la raíz, peso fresco de la raíz y número de nódulos.

La interacción de la simbiosis de los hongos formadores de micorriza arbuscular en presencia de fertilización química con nitrógeno favorece el crecimiento inicial de aliso factor que se ve reflejada en una mayor cantidad de materia seca de la parte aérea de la planta y además genera un mayor porcentaje de colonización por HMA.

La interacción de la simbiosis de hongos formadores de micorriza arbuscular con *Frankia alni* favorece el crecimiento inicial de aliso presentando mayor respuesta en el número de hojas, como también en las variables contenido foliar de nitrógeno y cuantificación de la colonización micorrícica.

Con respecto a los tratamientos aplicados con nitrógeno se concluye que la aplicación de este afecta el crecimiento de aliso al determinar que tuvo un comportamiento inferior en la mayoría de los tratamientos.

*Alnus* – *Frankia alni* - micorriza es una relación simbiótica mutualista que contribuye al crecimiento inicial de *Alnus* y contenido foliar de nitrógeno ya sea actuando en forma individual o en conjunto, factor importante que beneficia al aliso para su incorporación sobretodo en aquellas áreas donde sobresalen los suelos degradados donde predomina el sobrepastoreo y el monocultivo.

## RECOMENDACIONES

Dar importancia a la utilización de plantas actinorrízicas no solo por su capacidad de adaptación a suelos empobrecidos y ambientes extremos o porque sean especies pioneras, sino porque además tiene un papel ecológico en el balance global del nitrógeno. Como también continuar las investigaciones en el campo para estudiar las contribuciones de estas especies fijadoras de nitrógeno en los sistemas agroforestales.

Se recomienda realizar investigaciones del efecto de la incorporación de especies fijadoras de nitrógeno con la asociación de *Frankia*, micorrizas y la fertilización química con nitrógeno en los sistemas de producción para establecer aún más los múltiples beneficios y así contribuir con la sostenibilidad como también a la divulgación de esta asociación.

En la implementación de arreglos silvopastoriles es importante tener en cuenta el factor suelo como componente esencial para el crecimiento de los árboles y los pastos; donde los hongos micorrizógenos y *Frankia* juegan un papel fundamental en este proceso, sin embargo se conoce poco su papel en estos sistemas, por lo tanto se requiere mas investigación sobre sus posibilidades de uso.

## BIBLIOGRAFIA

- ACERO, L. y RODRÍGUEZ, M. Algunas leguminosas de utilidad potencial en el sector agropecuario en tres regiones de Colombia. Serie Documentación 11. Convenio CONIF-Holanda. Bogotá, 1987. 90p.
- AZCON, A. y BAREA J. Interactions between Mycorrhizal Fungi and other rhizosphere Microorganisms, en: Mycorrhizal Functioning, an Integrative Plant Fungal Process, M.F. Allen (ed), Chapman y Hall, New York: 1992. p. 163 -168.
- \_\_\_\_\_. Micorrizas. En: Biología Vegetal. Libro de Investigación y Ciencia. España, 1988: Prensa científica. p. 83 - 89.
- AÑAZCO R. Mario. El Aliso. *Alnus acuminata*. Proyecto desarrollo forestal campesino en los Andes de Ecuador (DFC). Quito, Ecuador, 1999. 166p.
- BECKING, J. Endophyte and associations establishment in non-leguminous nitrogen-fixing plants. En: Recent developments in nitrogen fixation. W. Newton, J. R. Postgate, C. Rodríguez-Barrueco. Academic press INC. London, 1977. 622p.
- BEGON. M. Microbiología. 2ed. Barcelona: Omega SA. 1995. 98p.
- BENSON, D. y SILVESTER, A. Biology of *Frankia* sp. strains, actinomicete symbionts of actinorhizal plants. In: Microbiological Reviews. Vol. 57. 1993. p. 293 - 319.
- BURTON, J. Technical handbook on simbiotic nitrogen fixation Legume/*Rizobium*. FAO Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia, 1983. p. 1 - 43.
- CARLSON, P. y DAWSON, J.O. Soil nitrogen changes, early growth, and response to soil internal drainage of plantation of *Alnus jorullensis* in the Colombian highlands. En: Turrialba, 1985. Vol. 35(2): p. 141 - 150.
- CASTRO PEREZ, Marilú. Inoculacion del actinomiceto *Frankia alni* en estacas enraizadas de aliso *Alnus acuminata* H.B.K. subespecie acuminata. Cusco, Perú, 1995. [en línea], [Citado 26 de agosto de 2007]. Disponible en internet: URL<[http://www.cepes.org.pe/pdf/UCR/Partidos/manejo\\_ecologico\\_d\\_suelos/manejo\\_ecologico\\_d\\_suelos\\_8.pdf](http://www.cepes.org.pe/pdf/UCR/Partidos/manejo_ecologico_d_suelos/manejo_ecologico_d_suelos_8.pdf)>.
- CATIE. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Especie de árbol de uso múltiple en América Central. Serie Técnica. Costa Rica, 1995. Informe Técnico. No. 248. p. 3-16.

CHAMORRO, D. El componente arbóreo como dinamizador del sistema de producción de leche en el trópico alto Colombiano. En: Memorias del Seminario Internacional de Manejo sostenible de sistemas de producción de los Andes con énfasis en Ganadería. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, 2004. Mayo 25 al 28.

CONIF. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal. Latifoliadas zona alta: Aliso. Santa Fe de Bogotá D.C.: Departamento Nacional de Planeación, 1996. p. 23-36.

CORPOICA. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional N° 5, Obonuco. Las micorrizas vesículo arbusculares (MA), una alternativa sostenible para los sistemas de producción de la Zona Andina de Nariño. San Juan de Pasto, septiembre de 1999. Boletín Técnico. No. 9. p.12.

DAWSON J. Interactions among actinorhizal and associated plant species. In: Schwintzer, C.R. & J. D. Tjepkema (eds). The biology of *Frankia* sp and actinorhizal plants. San Diego, 1990. p. 299-316.

DELGADO PORTILLA, Ana Marcela y MARTINEZ MELO, Yuri Viviana. Estimación y Evaluación de la biomasa y captura de carbono de Laurel de Cera (*Morella pubescens* Humb. & Bompl.ex Willd. Wilbur) en dos Sistemas agroforestales en los municipios de Pasto y San Pablo, Departamento de Nariño, Tesis de grado (Ingeniero Agroforestal). Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Ingeniería Agroforestal, Pasto, 2006. p. 31.

FORERO, Luz Amalia; UNIGARRO, Alberto y CHAVES, Germán. Evaluación cuantitativa de hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular MVA en malezas de clima medio. 1ed. San Juan de Pasto, Colombia: Unariño, 1999. 111p.

GARCIA, Francisco. Concentración de reguladores de desarrollo vegetal inducida por hongos endomirricicos en dos cultivares de chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de Doctorado en Ciencias - Biotecnología. Universidad de Colima. México. 121 p.

GARCIA, R. M.; DE GUTIERREZ, C. y ACOSTA, A. Daños causados por fitopatógenos y entomofauna asociada en *Alnus acuminata* H.B.K. En: Agronomía Colombiana. Vol. VI. 1989. p. 31 - 36.

GERDEMANN, J. y NICOLSON, T. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of The British Mycological Society. p. 235-244.

INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. Estudio general de suelos y zonificación de tierras - Departamento de Nariño. Bogotá, 2004: IGAC. 1017 p.

JARAMILLO, D. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias. 1ed. Medellín, 2002. 613 p.

JARAMILLO GUERRERO, Sandra Milena. Estimación de la captura de carbono en biomasa radicular en aliso *Alnus acuminata* H.B.K. en dos sistemas agroforestales en la Granja Experimental Botana, Municipio de Pasto, Departamento de Nariño. Pasto Colombia, 2007. 69p. Tesis de grado (Ingeniero Agroforestal). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas. Programa de Ingeniería Agroforestal.

LECHEVALIER, M. y LECHEVALIER, H. The Biology of *Frankia* sp. and actinorhizal plants. New Jersey, USA, 1990. p. 35-60.

LUQUE, Ernesto. Prácticas de Bioquímica. Pasto: Universidad de Nariño, 1994. 211p.

MADROÑERO PALACIOS, Sandra Milena. Manejo del recurso hídrico y estrategias para su gestión integral en la microcuenca Mijitayo, Pasto Colombia. Turrialba, Costa Rica, 2006. 197 p.

MEDINA, M. Importancia de la rizósfera para el manejo ecológico de los cultivos. En: Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. (100: 2001: Medellín). Memorias del X Congreso de la Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Medellín, Colombia, 2001: SCCS. p. 90 - 98.

MENESES, C. y ORTIZ, B. Comparación de valores de pH ruminal obtenidos mediante intubación esofágica y ruminosíntesis de vacas lecheras en el Centro de investigación CORPOICA, Corregimiento de Obonuco, Municipio de Pasto Colombia. San Juan de Pasto. 2003. 118p. Tesis de grado (Médicos Veterinarios). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Medicina Veterinaria.

MOLINA L. Mauricio; MEDINA S. Marisol; OROZCO P., Hernando. El efecto de la interacción *Frankia* - micorrizas - micronutrientes en el establecimiento de árboles de Aliso (*Alnus acuminata*) en sistemas silvopastoriles. Medellín, Colombia, 2006. p. 39 – 48. Maestría en Ciencias Animales Universidad de Antioquia, Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Grupo GRICA. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias.

MOLINA L., Mauricio; MAHECHA L., Liliana y MEDINA S. Marisol. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia, 2005. p. 162 – 175.

MUÑOZ, Jairo. Evaluación de la infectividad y efectividad en la fijación de Nitrógeno en la simbiosis de *Frankia brunchrostrii* con laurel de cera (*Myrica pubescens* H&B ex WILLDENOW). Pasto, Colombia, 2003. 171 p. Trabajo de Grado (Ingeniero Agroforestal). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

NICKEL, A.; OLIVER, P.; HAHN, D.; SOURSER, M.; SIEGWOLF, R. y ZEYER, J. Effect of inoculation and leaf litter amendment on establishment of nodule-forming *Frankia* sp populations in soil. In: Applied and Environmental Microbiology. Vol. 64(6). 2001. p. 2603 - 2609.

NIÑO, L. M.; PÉREZ, O. M., & DE GRANADA, G. Procesos morfológicos en la iniciación y desarrollo de nódulos en aliso (*Alnus acuminata* H.B.K). En: Agronomía Colombiana. Vol. 4 (1-2). 1987. p. 73 - 84.

OROZCO, F. Biología del Nitrógeno: Conceptos básicos sobre sus transformaciones biológicas. Medellín: Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, 1999. p. 16 - 28. Tomo 1.

OROZCO, F.; MEDINA, Marisol y SARRIA, P. Aislamiento y evaluación de microorganismos endófitos de aliso (*Alnus acuminata* var. *Acuminata*). Medellín, Antioquia, 2004. [en línea], [Citado 17 de enero de 2005]. Disponible en internet: URL <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/1/oroz17010.htm>>.

PHILLIPS, J. y HAYMAN, D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of The British Mycological Society, 1970. p. 158-161.

REDDELL, P. y SPAIN, A 1991. Transmission of ineffective *Frankia* sp (Actinomycetales) propagules in cast of the endogeic earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta: Glossoscoleidae). En: WOLTERS, Diederick Johannes, Ineffective *Frankia* sp in wet alder soils. Wageningen. 1998,153p. Doctor en Ciencias Naturales y Matemáticas. Universidad Agrícola de Wageningen (Holanda), Departamento de Ciencias Biomoleculares.

RESTREPO URIBE, G. Infectividad y efectividad de los actinomicetos del género *Frankia* sp asociados con *Alnus acuminata* ssp. *Acuminata* en Colombia. Medellín, Colombia, 1997. [en línea], [Citado Febrero 17 de 2003]. Disponible en internet: URL <[www.icfes.gov.co/revistas/cronica/vol12/CAR\\_FRAN.html](http://www.icfes.gov.co/revistas/cronica/vol12/CAR_FRAN.html)>.

REY OBANDO, Ana María. Estudio de la actividad de cepas nativas de *Frankia* sp. en *Alnus acuminata* H.B.K. Bogotá, Colombia, 2006. 126 p. Trabajo de posgrado (Magister Scientia en Microbiología). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias.

RIVERA ESPINOSA, Ramón; FERNANDEZ MARTINEZ, Félix; HERNANDEZ JIMENEZ, Alberto. *et al.* El manejo efectivo de la simbiosis micorrícica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudios de caso: El Caribe. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. INCA, 2003. 166p.

ROMERO, M. El Aliso. *Alnus acuminata*. Proyecto desarrollo forestal campesino en los Andes de Ecuador (DFC). Quito, Ecuador, 1999. 166p.

RUSSO, R. O. Evaluating *Alnus acuminata* as component in agroforestry systems. In: Agroforestry Systems. Vol. 10 (3). 1990. p. 241 - 252.

SAS, Statistical Analysis System 1997

SANCHEZ de PRAGER, Marina. Endomicorrizas en Agroecosistemas Colombianos. Universidad Nacional. Palmira, 1999. 227p.

UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL DEL TACHIRA. El aliso. Estado de Táchira, Venezuela. 1995. [en línea], [Citado el 20 de septiembre de 2007]. Disponible en internet. URL: <<http://www.futha.gov.ve/fundacite2005bdownloadaliso>>

VALDES, M.; PEREZ, N. y VASQUES, L. La bacteria filamentosa *Frankia* sp Escuela nacional de ciencias biológicas del instituto politécnico nacional. Ciudad de México DF, México. 2001. [en línea], [Citado mayo 2002]. Disponible en internet: <URL:<http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap13/>>.

VAN DIJK, C. Endophyte distribution in the soil. En: MAUNUKSELA, Liisa. Molecular and physiological characterization of rhizosphere bacteria and *Frankia* sp in forest soils devoid of actinorrizal plants. Helsinki, 1984. Facultad de Ciencias, Departamento de Biociencias, División General de Microbiología.

WALL, Luis Gabriel; VALVERDE, Claudio y HUSS – DANELL, Kerstin. La regulación de la nodulación en ausencia de N<sub>2</sub> en plantas actinorrízicas con diferentes estrategias de infección. Departamento de Ciencia y Tecnología. Buenos Aires, 2003. 10p.

# ANEXOS

**ANEXO 1. ANALISIS QUÍMICO - FÍSICO DEL SUELO UTILIZADO PARA ESTA INVESTIGACIÓN.**

**Procedencia:** Departamento de Nariño

**Municipio:** Pasto

**Vereda:** Buesaquillo

**Propietario:** Carlos Santa Cruz

MUESTRA		UNIDAD	Nº
pH, Potenciómetro Suelo: Agua (1:1)			4.8
Materia Orgánica Walkley – Black (Colorimétrico)		%	7.3
Densidad Aparente		g/cc	0.9
Fósforo (P) Bray II		ppm	16
Capacidad Intercambio Catiónico (CIC)			19.8
Calcio de Cambio	CH <sub>3</sub> COOHNH <sub>4</sub> 1NpH7	meq/100g	8.30
Magnesio de cambio			2.24
Potasio de Cambio			0.31
Aluminio de Cambio	Extracción KCl 1N		0.10
F=Franco Ar=Arcilloso A=Arenoso	Grado textural		Ar-A
Nitrógeno total %			0.31
Carbono Orgánico %			4.21

Laboratorios Especializados de Suelos, Universidad de Nariño, 2007

**ANEXO 2. FORMATO PARA LA TOMA DE DATOS DE LAS VARIABLES EVALUADAS.**

FECHA: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE COSECHA: \_\_\_\_\_

**TOMA DE DATOS DE LAS VARIABLES:**

Blo	Tr	Rp	l. p	l. raíz	n. hojas	p. raíz	p.éreo	diam	nod	mseca	colon	esp	%N

**Donde:**

**Blo** = Bloque

**Rp** = Repetición

**l. p** = Longitud de la parte aérea de la planta (cm).

**mseca** = Materia seca (%).

**p.éreo** = Peso aéreo

**%N** = Contenido foliar de nitrógeno (%).

**colon** = Porcentaje de colonización por HMA (%).

**Tr** = Tratamiento

**diam** = Diámetro del tallo (mm)

**l. raíz** = Longitud de la raíz (cm).

**p. raíz** = Peso fresco de raíz (gr.)

**n. hojas** = Número de hojas.

**nod** = Número de nódulos.

**esp** = Cuantificación de la colonización micorrícica.

**ANEXO 3. FORMATO PARA DETERMINAR LOS CAMPOS COLONIZADOS O NO COLONIZADOS.**

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**NÚMERO DE COSECHA:** \_\_\_\_\_

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

Muestra No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										

**OBERVACIONES:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### ANEXO 4. ANALISIS DE VARIANZA PARA DIAMETRO DEL TALLO (mm).

**Dependent Variable:** Diámetro del tallo

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	160.2436949	12.3264381	23.05	<.0001
Error	202	108.0074380	0.5346903		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	diam Mean
0.597364	18.74158	0.731225	3.901620

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	142.9985676	71.4992838	133.72	<.0001
trat	11	17.2451273	1.5677388	2.93	0.0013**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 5. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA DIÁMETRO DEL TALLO (mm) CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
3	4.6556	A
4	4.1056	A B
11	4.0667	A B
2	4.0000	A B
7	3.9444	A B
12	3.8500	A B
1	3.8056	B
9	3.7944	B
5	3.7417	B
6	3.6944	B
10	3.6556	B
8	3.5056	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>0.806</b>	

Fuente: Esta investigación

**ANEXO 6. ANALISIS DE VARIANZA PARA LONGITUD DE LA PARTE AEREA DE LA PLANTA (cm).**

**Dependent variable:** Longitud de la parte aérea de la planta

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	6336.988574	487.460660	41.73	<.0001
Error	202	2359.786974	11.682114		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	alt Mean
0.728660	21.06907	3.417911	16.22241

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	5549.275381	2774.637691	237.51	<.0001
trat	11	787.713193	71.610290	6.13	<.0001**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 7. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA LONGITUD DE LA PARTE AEREA DE LA PLANTA (cm) CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

TRATAMIENTO	PROMEDIO	TEST DE TUKEY
3	20.139	A
1	17.983	A B
7	17.783	A B
11	17.161	A B C
6	16.878	A B C D
2	16.694	A B C D
5	16.472	A B C D
12	15.306	B C D
9	15.000	B C D
4	14.394	B C D
8	13.483	C D
10	13.374	D
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>3.7675</b>	

Fuente: Esta investigación

## ANEXO 8. ANALISIS DE VARIANZA PARA LONGITUD DE RAIZ (cm).

**Dependent Variable:** Longitud de raíz

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	3653.691044	281.053157	14.99	<.0001
Error	202	3787.781156	18.751392		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	Iraiz Mean
0.490990	26.31061	4.330288	16.45833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	3262.069378	1631.034689	86.98	<.0001
trat	11	391.621667	35.601970	1.90	0.0413*

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 9. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA LONGITUD DE RAIZ (cm)  
CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
3	18.122	A
2	17.994	A
1	17.767	A B
11	17.244	A B
5	16.872	A B
12	16.800	A B
9	16.706	A B
6	16.217	A B
7	15.839	A B
4	15.522	A B
8	15.328	A B
10	13.089	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>4.7732</b>	

Fuente: Esta investigación

**ANEXO 10. ANALISIS DE VARIANZA PARA MATERIA SECA DE LA PARTE AEREA DE LA PLANTA.**

**Dependent Variable:** Materia seca parte aérea de la planta

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>Model</b>	13	17532.28406	1348.63724	35.05	<.0001
<b>Error</b>	202	7772.34189	38.47694		

R-Square    Coeff Var    Root MSE    mseca Mean  
 0.692849    8.260333    6.202978    75.09356

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>bloque</b>	2	16038.55626	8019.27813	208.42	<.0001
<b>trat</b>	11	1493.72781	135.79344	3.53	0.0002**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 11. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA MATERIA SECA DE LA PARTE AEREA DE LA PLANTA (%) CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
10	79.462	A
8	79.242	A
9	77.041	A
4	75.731	A B
12	75.545	A B
6	74.939	A B
7	74.695	A B
5	74.208	A B
11	74.198	A B
2	73.724	A B
3	73.149	A B
1	69.189	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>6.8375</b>	

Fuente: Esta investigación

## ANEXO 12. ANALISIS DE VARIANZA PARA PESO FRESCO DE RAIZ (gr.)

**Dependent Variable:** Peso fresco de la raíz

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	206.3504375	15.8731106	24.70	<.0001
Error	202	129.7967583	0.6425582		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pesoraiz Mean
0.613869	51.00752	0.801597	1.571528

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	156.1455361	78.0727681	121.50	<.0001
trat	11	50.2049014	4.5640819	7.10	<.0001**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 13. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA PESO FRESCO DE RAIZ (gr.) CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
3	2.6628	A
7	1.9617	A B
1	1.9356	A B
2	1.8439	A B C
11	1.7883	A B C
6	1.7483	B C
4	1.3989	B C
9	1.1833	B C
12	1.1817	B C
5	1.1561	B C
10	1.0106	C
8	0.9872	C
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>0.8836</b>	

Fuente: Esta investigación

#### ANEXO 14. ANALISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE HOJAS.

**Dependent Variable:** Número de hojas

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	3633.919444	279.532265	15.16	<.0001
Error	202	3724.545556	18.438344		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	hojas Mean
0.493842	33.30826	4.293989	12.89167

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	2545.723333	1272.861667	69.03	<.0001
trat	11	1088.196111	98.926919	5.37	<.0001**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 15. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA NUMERO DE HOJAS CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>			
5	16.556	A			
3	16.222	A			
6	14.778	A	B		
1	14.111	A	B	C	
11	13.167	A	B	C	D
12	13.111	A	B	C	D
2	12.778	A	B	C	D
4	12.722	A	B	C	D
7	11.278		B	C	D
9	11.222		B	C	D
8	9.944			C	D
10	8.811				D
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>4.7332</b>				

Fuente: Esta investigación

**ANEXO 16. ANALISIS DE VARIANZA PARA CONTENIDO FOLIAR DE NITROGENO.**

**Dependent Variable:** Contenido foliar de nitrógeno

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>Model</b>	12	585.9356167	48.8279681	41.40	<.0001
<b>Error</b>	11	12.9748333	1.1795303		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	nitrogeno Mean
0.978336	13.34638	1.086062	8.137500

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
<b>bloques</b>	1	573.4992667	573.4992667	486.21	<.0001
<b>tratamiento</b>	11	12.4363500	1.1305773	0.96	0.5274NS

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 17. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA CONTENIDO FOLIAR DE NITROGENO CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
5	9.175	A
4	9.035	A
6	8.970	A
11	8.620	A
8	8.520	A
1	8.295	A
3	8.120	A
9	7.855	A
12	7.555	A
2	7.205	A
10	7.150	A
7	7.150	A
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>4.3873</b>	

Fuente: Esta investigación

## ANEXO 18. ANALISIS DE VARIANZA PARA NUMERO DE NODULOS.

**Dependent Variable:** Número de nódulos

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	6180.11111	475.39316	7.63	<.0001
Error	202	12583.88889	62.29648		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	nod Mean
0.329360	98.66015	7.892812	8.000000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	4186.333333	2093.166667	33.60	<.0001
trat	11	1993.777778	181.252525	2.91	0.0014**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 19. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA NÚMERO DE NODULOS CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
2	13.722	A
3	11.722	A B
5	11.278	A B
1	10.833	A B
8	9.000	A B
11	6.667	A B
9	6.333	A B
10	6.056	A B
4	5.944	A B
6	5.611	A B
12	4.889	B
7	3.944	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>8.7001</b>	

Fuente: Esta investigación

**ANEXO 20. ANALISIS DE VARIANZA PARA PORCENTAJE DE COLONIZACION POR HMA.**

**Dependent Variable:** Porcentaje de colonización por HMA

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	34974.9088	2690.3776	7.29	<.0001
Error	202	74519.9955	368.9109		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	coloniz Mean
0.319420	56.06269	19.20705	34.25995

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	17417.92363	8708.96182	23.61	<.0001
trat	11	17556.98515	1596.08956	4.33	<.0001**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 21. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA PORCENTAJE DE COLONIZACION POR HMA CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
10	52.119	A
5	42.152	A B
11	40.652	A B
1	39.667	A B
6	39.111	A B
4	35.778	A B
12	34.278	A B
7	34.000	A B
2	27.278	B
3	22.667	B
9	21.753	B
8	21.667	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>21.172</b>	

Fuente: Esta investigación

**ANEXO 22. ANALISIS DE VARIANZA PARA CUANTIFICACION DE LA COLONIZACION MICORRICICA.**

**Dependent Variable:** Cuantificación de la colonización micorrícica

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	13	18180.72352	1398.51719	4.17	<.0001
Error	202	67786.96074	335.57901		

R-Square	Coeff Var	Root MSE	esporas Mean
0.211483	38.70702	18.31882	47.32685

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
bloque	2	5474.53481	2737.26741	8.16	0.0004
trat	11	12706.18870	1155.10806	3.44	0.0002**

\* Significativo

\*\* Altamente Significativo

NS No Significativo

**ANEXO 23. COMPARACION DE PROMEDIOS PARA CUANTIFICACION DE LA COLONIZACION MICORRIZICA CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS. PRUEBA DE TUKEY.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PROMEDIO</b>	<b>TEST DE TUKEY</b>
5	59.389	A
2	56.833	A
1	54.833	A
4	53.333	A
3	52.167	A B
6	46.778	A B
12	45.556	A B
10	42.700	A B
11	42.500	A B
7	41.278	A B
8	39.833	A B
9	32.722	B
<b>Mínima Diferencial</b>	<b>20.193</b>	

Fuente: Esta investigación