

Evaluación del costo de producción de inoculantes ectomicorrízicos neotropicales a base de esporas

Violeta Carrasco Hernández¹
Dante Arturo Rodríguez Trejo¹
Jesús Pérez Moreno^{2§}
Víctor Manuel Duarte Zaragoza³
José Luis Navarros Sandoval¹
Roberto Quintero Lizaola²

¹División de Ciencias Forestales-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México. CP. 56230. Tel. 01(595) 9521500, ext. 5468. (etalovich@yahoo.com.mx; dantearturo@yahoo.com; navarro.jose@colpos.mx). ²Microbiología, Edafología-Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP. 56230. Tel. 01(595) 9520200, ext. 1280. (quintero@colpos.mx). ³Tecnológico de Estudios Superiores del Oriente del Estado de México. Paraje San Isidro s/n, Barrio de Tecamachalco, La Paz, Estado de México, México. CP. 56400, Tel. 5559863497. (vduarte896@gmail.com).

§Autor para correspondencia: jepemo@yahoo.com.mx.

Resumen

La diversidad biológica en cualquier ecosistema es fundamental para su existencia y equilibrio. La explotación forestal altera indudablemente esta diversidad. Un ejemplo son las modificaciones en las comunidades de hongos ectomicorrízicos, los cuales son fundamentales para las especies de importancia forestal. Debido a lo anterior es imprescindible para la reforestación llevar a cabo la micorrización en vivero y con ello favorecer el establecimiento de los árboles en campo sobre todo en áreas altamente perturbadas o erosionadas. Sin embargo, el reintroducir a las especies ectomicorrízicas es todo un reto por las implicaciones ecológicas, biotecnológicas y financieras. Particularmente, existe escasa información que analice el costo de producción de inoculantes ectomicorrízicos a base de esporas y de las especies o los criterios para elegir la especie de hongo ectomicorrízico adecuado para preparación de inoculantes. En el presente trabajo se realizó la evaluación del costo de producción de inoculantes Neotropicales a base de esporas de especies de hongos ectomicorrízicos comestibles nativos de México pertenecientes a *Laccaria* spp. y *Hebeloma* spp. Los costos de producción del inoculante ectomicorrízico a base de esporas evaluado en el presente trabajo fueron de \$2.00 por gramo para el inóculo en polvo y de \$0.05 por mL para el inóculo líquido. Ambos inoculantes son efectivos en la colonización micorrízica de pinos, se demuestra la factibilidad financiera de la producción de inoculantes ectomicorrízicos para inocular pinos de importancia forestal.

Palabras claves: *Hebeloma* spp., *Laccaria* spp. y *Suillus* spp.

Recibido: diciembre de 2017

Aceptado: febrero de 2018

Introducción

En un bosque la mayoría de las plantas se micorrizan de forma natural puesto que encuentran en el suelo propágulos para su micorrización, tales como esporas, esclerocios, micelio, raíces micorrizadas y rizomorfos. Uno de los propágulos más estudiado han sido las esporas, las cuales tienen una longevidad considerable ya que pueden permanecer en el suelo por varios años e incluso décadas antes de germinar (Bruns *et al.*, 2009; Nguyen *et al.*, 2012). En el caso de la producción de planta en vivero, la planta se encuentra fuera de su hábitat natural y entonces es incapaz de poder acceder a los propágulos fúngicos suficientes para su micorrización, por lo que es necesario llevar a cabo la inoculación en el vivero.

Por lo anterior, es fundamental conocer las técnicas de producción de inóculos con hongos ectomicorrízicos y los costos que implican. Existen tres técnicas de inoculación con hongos ectomicorrízicos en vivero que son: la inoculación con suelo de monte, la inoculación a base de esporas y la inoculación con micelio vegetativo (Landis *et al.*, 1989; Rossi *et al.*, 2007 y Duponnois *et al.*, 2011). En México la mayoría de viveros tradicionales utilizan el suelo de monte como sustrato para la producción de planta y aprovechan éste como la única fuente de propágulos fúngicos ectomicorrízicos. Sin embargo, este método presenta un conjunto de deficiencias, dentro de las que se incluyen: i) la posibilidad de introducción de patógenos; ii) la carencia de una micorrización controlada por la heterogeneidad de distribución de los propágulos ectomicorrízicos; y iii) la erosión y destrucción de las áreas forestales de las cuales se extrae el suelo.

El segundo método es la inoculación a base de esporas que consiste en la aplicación del inoculante ectomicorrízico en el agua de riego o también puede ser mezclado en el sustrato. Para la preparación de dicho inoculante el hongo ectomicorrízico se deshidrata o se muele en fresco y se aplica al sustrato. Es importante seleccionar una especie ectomicorrízica que se encuentre en abundancia para la preparación de dicho inoculante, dado que se requieren grandes cantidades de hongos frescos, por su alto contenido de humedad. El tercer método de inoculación es por medio de micelio fúngico, éste se basa en la selección, aislamiento, purificación y posterior propagación del hongo ectomicorrízico en un acarreador por ejemplo en una mezcla de turba-vermiculita; el cual se aplica directamente al sustrato que será utilizado en el vivero.

El micelio fúngico también se puede incluir en alginato sódico, con la finalidad de evitar que se deshidrate y pueda conservar en buen estado hasta su aplicación; esta técnica de preparación de inoculantes también ha dado muy buenos resultados (Pera *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 2006). Diversos factores deben de ser tomados en cuenta para la selección de la especie de hongo ectomicorrízico para ser utilizado como inoculante ectomicorrízico a base de esporas o micelio, como son: i) la compatibilidad del hongo con la planta huésped; ii) la eficiencia del micobionte para promover una rápida micorrización, mayor crecimiento y supervivencia de la planta; iii) la vida de anaquel del micobionte; iv) el control de calidad en el proceso de producción de inoculantes; y v) la factibilidad metodológica y financiera de producción de los inoculantes (Brundrett *et al.*, 1996a).

Particularmente, este último aspecto ha recibido escasa atención, principalmente en la producción de inoculantes ectomicorrízicos neotropicales. En el presente estudio se describe y se realiza un análisis de los costos de inoculantes a base de esporas en polvo y en líquido. La eficiencia de los

inoculantes analizados se evaluaron en *Pinus patula*. Se eligieron especies de los géneros *Laccaria* y *Hebeloma* que de acuerdo a estudios previos los cuales han demostrado su abundancia e importancia biocultural en el centro de México (Pérez-Moreno *et al.*, 2008).

Materiales y métodos

Preparación de inoculantes ectomicorrízicos a base de esporas en polvo. Los esporomas de especies de los hongos ectomicorrízicos comestibles pertenecientes a los géneros *Hebeloma* y *Laccaria* (Figura 1a y 2a), fueron adquiridos en el mercado de Ozumba, Estado de México localizado a 19° 02' 11' latitud norte y 98° 47' 48' longitud oeste, durante los meses de agosto y septiembre de 2016. Una vez adquiridos los esporomas se procedió a su clasificación por especie, de acuerdo con las características diagnósticas especificadas por Carrasco-Hernández *et al.* (2010, 2015).



Figura 1. a) señora recolectora de hongos comestibles silvestres en el mercado de Ozumba, Estado de México; b) hongos en fresco de *Hebeloma* spp. en el deshidratador; c) hongos del género *Hebeloma* spp. deshidratados; d) molino utilizado para el deshidratado de hongos; e) inoculante deshidratado de *Hebeloma* spp.; f. Inoculación de *Pinus greggii* con *Hebeloma* sp.

Se cortó el estúpido y solo se deshidrató el púleo en un deshidratador tipo charolas con vapor (marca JERSA) a una temperatura de 33 ± 2 °C por un período de 16 horas (Figuras 1b y 1c). El inóculo ya deshidratado se molió en un molino industrial (Figura 1d), con una lámina de apertura de 1 mm en la salida, para permitir la homogenización del inóculo así producido. El inóculo obtenido se colocó en bolsas de plástico de capacidad de 500 g y en tubos Eppendorf de 1.5 mL (Figuras 1e y 1f). El inoculante se almacenó a 3 °C hasta su uso. El peso en fresco y seco se registraron, y dichos datos se utilizaron para el análisis de costos.

Análisis de costos

Para el análisis financiero de la preparación del inóculo en polvo se tomaron en cuenta los siguientes costos: precio del hongo, transporte, mano de obra de la separación por especie, uso de la deshidratadora, de la molienda y de almacenamiento. Todos los costos fueron expresados en pesos mexicanos.

Costo del hongo (Ch): el costo del hongo en fresco de *Laccaria* y *Hebeloma* fue de 60 pesos por kilo. Sin embargo, debido a su elevado contenido de agua, se calculó el costo de un gramo de hongo deshidratado el cual fue calculado a partir de la cantidad de hongo fresco adquirido en kilos (Hr), el precio por kilogramo de hongo (P) y la cantidad de inóculo deshidratado obtenido en kilos (Ci). Con la finalidad de obtener el precio en gramos se dividió entre 1000. Para ello se empleó el siguiente modelo:

$$Ch = \left(\frac{(Hr)(P)}{Ci} \right) / 1000$$

Costo de separación por especie (Cse): en función de evaluaciones previas se determinó que se requiere una persona para separar 5 kg de hongos en 6 horas y se consideró un pago de \$ 80.04 por persona, tomando en cuenta el salario mínimo general de México para el año 2017 (DOF, 2016). El costo de separación por especie (Cse), fue calculado con la siguiente fórmula:

$$Cse = \left[\left(\frac{Hr}{5} \right) \times 100 \right]$$

Costo de transporte para la adquisición del hongo (Ct): en éste caso se consideró el costo del pago del personal (Cp) para la adquisición del hongo y chofer a quienes se les pagó \$80.04 por persona. También se consideró el costo de gasolina (Cg) para el traslado al área de adquisición del hongo, considerando el litro de gasolina magna a \$16.5.

$$Ct = Cp + Cg$$

Costo por deshidratado (Cdh): los costos por el uso del deshidratador fueron los siguientes: 1 a 5 kg se pagaron \$500, 5 a 30 kg se pagaron \$1 000 y 31 a 60 kg se pagaron \$1 500. Los costos se incrementaron porque a mayor cantidad se requirió mayor tiempo del uso del deshidratador.

Costo de molienda (Cmo): 1 a 5 kg se pagaron \$50; 6 a 30 kg se pagaron \$100 y de 31 a 60 kg se pagaron \$150. A mayor cantidad de hongo mayor fue el costo de electricidad que requiere el molino.

Costo de almacenamiento (Cre): este costo fue de \$50 por mes de almacenamiento y se consideró un almacenamiento máximo de un año, puesto que la viabilidad de las esporas se mantiene durante este tiempo (Brundrett *et al.*, 1996b).

Costo de inoculante por gramo (CI): El costo se calculó a partir de la suma del costo del hongo y los costos de la preparación del inoculante entre la cantidad de píleo deshidratado obtenido.

$$CI = \frac{Chp1 + \sum Cpi}{Ps}$$

Donde: Chp1= promedio de los costos promedios de las cuatro especies de *Laccaria* y de las tres especies de *Hebeloma*, en las cuatro recolectas efectuadas. $\sum Cpi$ = suma de costos de transporte (Ct), separación (Cse), deshidratado (Cdh), molienda (Cmo) y almacenamiento (Cre). Ps= cantidad de píleos secos obtenidos en g.

Preparación de inoculante ectomicorrízico a base de esporas en líquido. La adquisición del hongo para preparación de inoculante ectomicorrízico a base de esporas en líquido también se realizó en el mercado de Ozumba. Los esporomas adquiridos del género *Laccaria* se separaron por especie. Se identificaron tres especies: *L. laccata*, *L. bicolor* y *L. proxima*. Para el caso de *Hebeloma* se identificaron tres especies *H. leucosarx*, *H. mesophaeum* y *H. alpinum*. También se adquirieron especímenes de *Suillus* spp. y se identificaron las siguientes especies: *S. pseudobrevipes*, *S. granulatus* y *S. brevipes*.

La preparación del inoculante a base de esporas en líquido consistió en moler el píleo de cada especie por separado en una licuadora casera a una dosis de 30 g de píleo fresco por cada 100 mL de agua purificada (Figura 2b). Una vez molido, el inóculo así obtenido se almacenó en envases de plástico de cinco litros (Figura 2c) y se refrigeró a 3 °C, hasta su uso. Para conocer la concentración de esporas del inoculante en líquido de cada especie se realizó el conteo de esporas con la cámara de Neubauer. La cámara está dividida en nueve cuadrantes principales. Para calcular la concentración de esporas (CE), por cm³ o mL se contaron las esporas de los cinco cuadrantes principales: A, B, C, D y E (Figura 2e) y se utilizó la siguiente fórmula:

$$CE = (\sum A, B, C, D, E) \cdot 2000$$

Análisis de costos. Para el análisis financiero de la preparación de inoculante ectomicorrízico en líquido se tomaron en cuenta los siguientes costos: hongos, transporte, agua, envases, uso de licuadora, energía eléctrica, separación de hongo por especie y almacenamiento. Al igual que para la preparación de inoculante ectomicorrízico en polvo se consideró el precio del kilo de hongo a \$60 pesos y se tomaron las mismas variables para el análisis de costo de transporte y de separación por especie. Para el cálculo del costo del inoculante final se sumaron todos los costos y se dividieron entre la cantidad de inóculo obtenido en mililitros.

Evaluación del inoculante ectomicorrízico líquido: las semillas de *P. patula* se pusieron a germinar en un sustrato de corteza de pino, arena de río y suelo de monte en una proporción de 2:2:1, previamente esterilizado y dentro de un tubete de plástico con capacidad de 350 mL. Al mes de

haber germinado, las plántulas se les aplicó la primera inoculación con 5 mL del inóculo (Figura 1d) y a las dos semanas se les aplicó otra dosis de 5 mL del inoculantes a base de esporas en líquido de *L. proxima*, *H. mesophaeum* y *S. pseudobrevipes* por separado en 20 pinos por especie de hongo.

Adicionalmente se mantuvieron 20 pinos sin inocular que correspondieron a los controles. Estas especies de hongos se eligieron por ser las que se colectaron en mayor cantidad en el año 2016. Al año de mantenerse las plantas en invernadero se evaluó el porcentaje de micelio externo (Figura 2f) y se registró en que intervalo se encontraban: de 0 a 25%, de 25 a 50%, de 50 a 75% y de 75 a 100%. (Cuadro 4), como un indicador del porcentaje de colonización ectomicorrízica. Durante este período se regaron cada tercer día y no se aplicaron fertilizantes ni funguicidas.



Figura 2. a) recolectoras de hongos comestibles silvestres en el mercado de Ozumba, Estado de México, denominadas también “hongueras”; b) molienda de *L. proxima* para preparación de inoculante ectomicorrízico en líquido; c) inoculante en líquido de *Laccaria proxima*. d) aplicación de inoculante líquido de *L. proxima*; e) cuadrantes de la cámara Neubauer; f) micelio externo de *L. proxima* en *Pinus patula*.

Resultados y discusión

Uno de los mayores impactos de la explotación forestal es el cambio en la composición de la comunidad de hongos ectomicorrízicos, ya que estos se ven alterados por los cambios químicos y biológicos que acontecen en el suelo después de la deforestación (Bradley, 2001; Jones *et al.*, 2003). Cabe señalar que la asociación micorrízica de acuerdo a Dupponnois *et al.* (2011), se encuentra presente 95% de áreas de vegetación nativa que no han sido perturbadas, mientras que esta se encuentra en menos de 1% en sitios perturbados.

Por lo anterior es fundamental que en vivero se introduzcan las ectomicorrizas adecuadas que se adapten a la especie vegetal y también a las nuevas condiciones del área que se pretende regenerar sobre todo en áreas altamente degradadas. En este sentido es de suma importancia conocer las tecnologías de preparación de inoculantes ectomicorrízicos y los costos que implicarían para su aplicación en vivero a gran escala.

En las especies estudiadas el porcentaje de humedad en promedio varió de 89 a 91% para el caso de *Laccaria* y de 91.6 a 94.4% para las especies de *Hebeloma*. El porcentaje restante corresponde a materia seca. En el caso de *Laccaria* se obtuvo en promedio de 4.8 a 5.5% para el píceo y 2.6 a 5.3% para el estípite de materia seca. En cuanto a las especies de *Hebeloma* el porcentaje de píceo de materia seca fue de 4.3 a 5% y de 1.2 a 2.7% para el estípite. En ambos casos el mayor porcentaje de materia seca se registró en el píceo.

Cabe señalar que solo se aprovecha el píceo para preparación de inoculante ectomicorrízico de *Laccaria* spp. y *Hebeloma* spp. debido a que en las láminas es donde se encuentran las esporas, las cuales son las estructuras reproductoras a partir de las cuales se produce el micelio con capacidad de colonización ectomicorrízica. Los datos del Cuadro 1 y 2 muestran la cantidad de hongos en fresco recolectados para *Laccaria* spp. y *Hebeloma* spp. respectivamente, así como las cantidades de píceo seco (inóculo) utilizados para el análisis de costos. El costo final de la producción del inoculante ectomicorrízico en polvo para las especies evaluadas fue de \$2 pesos por gramo de inoculante ectomicorrízico.

En previos trabajos se ha aplicado este tipo de inoculante (3 g plántula⁻¹), en *P. greggii*, *P. patula* y *P. pseudostrobus* a una concentración de esporas de 10⁶ a 10⁸ por cada gramo y se han obtenido resultados de alta eficiencia con porcentajes altos de micorrización que han variado de 70 a 90% (Carrasco-Hernández, 2011; Méndez-Neri *et al.*, 2011; Martínez-Reyes, 2012). Si se aplican 3 g de inoculante a base de esporas en polvo por planta el costo de inoculación por planta es de \$6 El costo de producción de un kilo de inoculante ectomicorrízico en polvo es de \$2 000, si se considera aplicar 3 g por planta este alcanzaría para inocular 333 plantas. Sin embargo, si se reduce la dosis a la mitad 1.5 g por plántula el costo del inoculante sería de \$3, lo cual también ha demostrado su efectividad (Rendón *et al.*, 2014). El costo de producción de *P. greggii* y *P. pseudostrobus* es de \$2.72 y de \$2.98 pesos respectivamente en el vivero de la Universidad Autónoma Chapingo.

La planta que se ofrece a este precio es una planta de 10 meses para *P. greggii* y de 12 meses para *P. pseudostrobus* y se producen en tubetes de plástico (envases de polipropileno virgen negro con capacidad de 140 mL) en un sustrato de turba-vermiculita-perlita en una proporción de 50, 30 y 20

respectivamente. A dichas plantas se les aplicaron ocho fertilizaciones y cuatro fumigaciones por mes. Los fertilizantes utilizados y las dosis de N variaron en función de la etapa del pino y fueron los siguientes: como iniciador: 9-45-15 a 50 ppm de N, en su etapa de crecimiento: nitrato de calcio combinado con 20-20-20 a 200 ppm de N y como finalizador: 4-25-35 a 50 ppm de N.

Cuadro 1. Peso en fresco y seco (kg) de *Laccaria* spp. en las cinco colectas realizadas en el mercado de Ozumba, Estado de México.

Características		<i>L. proxima</i>	<i>L. laccata</i>	<i>L. proximella</i>	<i>L. bicolor</i>
A 1					
Peso fresco	Píleo	39	0.789	2.8	0.643
	Estúpite	13.6	0.424	2.2	0.302
	Total	52.6	1.2	5	0.945
Peso seco	Píleo	2.5	0.071	0.283	0.085
	Estúpite	1.3	0.064	0.167	0.054
	Total	3.8	0.135	0.45	0.139
A 2					
Peso fresco	Píleo	5.9	4.4	0.45	0.43
	Estúpite	2.7	2.5	0.17	0.42
	Total	8.6	6.9	0.62	0.85
Peso seco	Píleo	0.473	0.323	0.038	0.035
	Estúpite	0.289	0.202	0.018	0.04
	Total	0.762	0.525	0.056	0.075
A 3					
Peso fresco	Píleo	29.8	0.101	3.5	0.069
	Estúpite	11.5	0.074	2.8	0.089
	Total	41.3	0.175	6.3	0.158
Peso seco	Píleo	2.2	0.01	0.369	0.005
	Estúpite	0.704	0.008	0.201	0.007
	Total	2.9	0.017	0.57	0.012
A 4					
Peso fresco	Píleo	1.4	1	0.068	0.026
	Estúpite	0.689	0.66	0.079	0.039
	Total	2	1.66	0.147	0.065
Peso seco	Píleo	0.106	0.075	0.005	0.002
	Estúpite	0.056	0.058	0.007	0.004
	Total	0.162	0.133	0.012	0.006

A1= adquisición de hongos en la fecha 23 de agosto de 2016; A2= adquisición de hongos en la fecha 30 de agosto de 2016; A3= adquisición de hongos en la fecha 06 de septiembre de 2016; A4= adquisición de hongos en la fecha 13 de septiembre de 2016.

Cuadro 2. Peso en fresco y seco (g) de *Hebeloma* spp. en las cinco colectas realizadas en el mercado de Ozumba, Estado de México.

Características		<i>H. leucosarx</i>	<i>H. mesophaeum</i>	<i>H. aff. alpinum</i>
A 1				
Peso fresco	Píleo	669	439.5	287.3
	Estípites	223	133.3	108.6
	Total	892	572.8	395.9
Peso seco	Píleo	54.2	28.5	20.5
	Estípites	24.5	9.8	9.1
	Total	78.7	38.3	29.6
A 2				
Peso fresco	Píleo	435	60	440
	Estípites	200	20	190
	Total	635	80	630
Peso seco	Píleo	35.7	3	33
	Estípites	18	1	18
	Total	53.7	4	51
A 3				
Peso fresco	Píleo	182.2	205.8	335
	Estípites	70.8	67.1	98.1
	Total	253	272.9	433.1
Peso seco	Píleo	14.4	11.3	19.3
	Estípites	6.7	2.7	5
	Total	21.1	14	24.3
A 4				
Peso fresco	Píleo	40	775	67.5
	Estípites	15	250	33
	Total	55	1025	100.5
Peso seco	Píleo	3	45.7	5
	Estípites	1.5	10.3	3
	Total	4.5	56	8

A1= adquisición de hongos en la fecha 23 de agosto de 2016; A2= adquisición de hongos en la fecha 30 de agosto de 2016; A3= adquisición de hongos en la fecha 06 de septiembre de 2016; A4= adquisición de hongos en la fecha 13 de septiembre de 2016.

De lo anterior se deduce que el costo de una planta micorrizada con el inóculo en polvo, tendría un precio de \$5.72 para *P. greggii* y de \$5.98 para *P. pseudostrobis* a una dosis de 1.5 g de inóculo por planta. Es importante mencionar que hacen falta estudios relacionados con las dosis mínimas de inoculante ectomicorrízico en polvo, los cuales puedan alcanzar niveles de micorrización

abundantes (superiores de 70%) y reducir costos. Cabe señalar, que la CONAFOR (2010) toma en cuenta la micorriza como un índice de calidad importante y esta debe de cubrir al menos 40% de cobertura del cepellón para que se considere una planta de calidad óptima para llevarse a campo.

Una forma alternativa de preparación de inoculante ectomicorrízico es tomar el píceo en fresco y molerlo para su aplicación como inoculante líquido. El costo por ml de inoculante ectomicorrízico líquido fue de \$ 0.05 por mL y de \$50 por litro. Las concentraciones de esporas variaron de acuerdo a la especie (Cuadro 3). El inoculante ectomicorrízico a base de esporas en líquido preparado en el presente estudio se inoculó en *Pinus patula* para probar su efectividad. Los hongos inoculados fueron: *L. proxima*, *H. mesophaeum* y *S. pseudobrevipes* y la mayoría de pinos presentaron altos porcentajes de micorrización (75% al 100%), lo que demuestra su efectividad (Cuadro 4).

Cuadro 3. Concentración de esporas por cm³ o mL del inoculante en líquido preparado.

Esporas	Núm. de esporas cm ⁻³
<i>L. laccata</i>	7.9 x 10 ⁵
<i>L. próxima</i>	8.7 x 10 ⁵
<i>L. bicolor</i>	4.66 x 10 ⁵
<i>H. mesophaeum</i>	5.5 x 10 ⁶
<i>H. leucosarx</i>	7.2 x 10 ⁶
<i>H. alpinum</i>	3.5 x 10 ⁶

Cuadro 4. Porcentaje de micelio externo en *Pinus patula* inoculado con tres especies de hongos ectomicorrízicos comestibles al año de la aplicación del inoculante ectomicorrízico en líquido.

Porcentaje	Testigo	<i>L. proxima</i>	<i>H. mesophaeum</i>	<i>S. pseudobrevipes</i>
0 a 25	20	1	0	0
25 a 50		7	5	2
50 a 75		5	2	2
75 a 100		7	13	16

De acuerdo a evaluaciones desarrolladas en el presente trabajo con 10 mL de inóculo líquido por planta se obtienen valores óptimos de micorrización y el precio sería de un \$0.50 por planta, lo que reduce substancialmente el costo comparado con el inoculante ectomicorrízico en polvo.

El costo del inoculante ectomicorrízico en polvo evaluado en el presente trabajo fue de \$2 000 kg⁻¹, el cual es menor comparado con el producto Ecto-Rhyza de la empresa PHC, aunque si se considera la cantidad de inóculo necesario por planta, el producto es más costoso con respecto a los que maneja esta empresa (Cuadro 5). Cabe señalar, que el inóculo evaluado en el presente trabajo no se ha probado en cantidades menores lo cual reduciría substancialmente el costo por planta. Aunado a esto la empresa PHC, no muestra en la etiqueta de sus productos bioensayos en invernadero donde se pueda corroborar que a las concentraciones que manejan puedan alcanzar porcentajes de micorrización altos (superiores a 70%).

El costo de producción del inóculo en líquido evaluado fue de \$0.05 mL⁻¹ y de \$50 pesos por litro, que alcanzaría para 100 plantas en una dosis de 10 mL por planta. Este precio fue similar al producto Mycogrow soluble y PHC Ectorhyza y menor en costo al producto Ectoplant riego (Cuadro 5).

Cuadro 5. Costo de inoculantes ectomicorrízicos

Nombre de la empresa y ubicación	Producto	Contenido	Costo en pesos mexicanos	Costo de inóculo por planta	Fuente
Micología forestal y aplicada	Ectoplant Riego	Esporas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , <i>Scleroderma</i> spp., <i>Rhizopogon</i> spp.,	\$23 423.85 L ⁻¹ alcanza para 25 000 plantas	\$0.93	1
España	Ectoplant comprimidos	<i>Rhizopogon</i> spp., <i>Pisolithus tinctorius</i> , <i>Scleroderma verrucosum</i> y <i>Suillus</i> spp.	500 comprimidos por \$1247.64 alcanza para 500 plantas	\$2.4	
MycoGrow® Estados Unidos	MycoGrow™ Micronized Endo/Ecto	Mezcla de esporas de 4 especies diferentes de hongos endomicorrízicos y 7 hongos ectomicorrízicos.	28 g por \$ 88.15 suficiente para 453.592 g de semilla	El costo es variable ya que dependerá del tamaño de semilla	2
	MycoGrow™ Soluble	Mezcla de esporas de 9 especies diferentes de hongos endomicorrízicos y 10 ectomicorrízicos así como de dos especies inhibidoras de enfermedades y 12 bacterias benéficas.	453.592 g por \$1 423.73 puede alcanzar de 2 000 a 4 000 plantas lo que estará en función del tamaño de la planta y método de aplicación.	De \$0.3 a \$ 0.7 si se considera para 2 000 y 4 000 plantas respectivamente	
	Plant Success™	Tabletas comprimidas con concentrado de 7 esporas de hongos endomicorrízicos y 5 esporas de hongos ectomicorrízicos.	150 tabletas por \$444.02 alcanza para 150 plántulas	\$2.9	
Planth Health Care de México	PHC® Ecto-Rhyza®	250 millones de ufc g ⁻¹ de esporas de <i>Pisolithus tinctorius</i> y 4 cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> (5x10) ufc g ⁻¹ .	\$ 5300 kg ⁻¹ alcanza para 100 000 plantas	\$0.05	3
México	MycorTree® Ecto-Inyectable®	Esporas de <i>Pisolithus tinctorius</i> , <i>Scleroderma citrinum</i> , rizobacterias y extractos de yuca.	\$1 400 por 226 g alcanza para 15 000 plantas	\$0.09	

1= <http://micofora.com>; 2= <http://www.fungi.com/shop/fungi-for-healthy-gardens.html>; 3= <http://www.phcmexico.com.mx/phcmicorrizas.html>.

Conclusiones

El inoculante ectomicorrízico a base de esporas líquido tiene un costo menor al compararse con el inoculante ecomicorrízico a base de esporas en polvo.

El inoculante ectomicorrízico a base de esporas en líquido es efectivo y también tiene el potencial de originar porcentajes altos de micorrización al igual que con el inoculante ectomicorrízico a base de esporas en polvo.

Se demuestra la viabilidad económica, comparable con los precios actuales de inoculantes comerciales existentes en el mercado internacional, de la producción de inoculantes a base de esporas en polvo o en líquido producidos para especies de árboles neotropicales.

Es necesario fomentar la creación de empresas nacionales que produzcan inoculantes ectomicorrízicos basados en hongos nativos de México, ya que el adquirir e introducir especies de otros países conlleva el riesgo de serias consecuencias ecológicas, como el posible desplazamiento de especies nativas del país y beneficios económicos y sociales como la creación de empleos locales y regionales.

Agradecimientos

La primera autora agradece el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), para la realización de una estancia posdoctoral. Asimismo, agradecen el apoyo del Proyecto CONACYT 246674.

Literatura citada

- Bradley, R. L. 2001. An alternative explanation for the post-disturbance NO₃- flush in some forest ecosystems. *Ecology Letter*. 4(5):412-416.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T. and Malajczuk, N. 1996b. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph*. 374 p.
- Brundrett, M. C.; Ashwath, N; and Jasper, D. A. 1996a. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia. II. Propagules of mycorrhizal fungi in disturbed habitats. *Plant and Soil*, 184(1):173-184.
- Bruns T. D.; Peay, K. G.; Boynton, P. J.; Grubisha, L. C.; Hynson, N. A.; Nguyen N. H. and Rosenstock. N. P. 2009. Inoculum potential of *Rhizopogon* spores increases with time over the first 4 yr of a 99-yr spore burial experiment. *New Phytol*. 181(2):463-470.
- Carrasco, H. V.; Pérez, M. J; Espinosa, H. V; Almaraz, S. J. J.; Quintero, L. R y Torres, A. M. 2010. Caracterización de micorrizas establecidas entre dos hongos comestibles silvestres y pinos nativos de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc*. 1(4):567-577.
- Carrasco, H. V.; Pérez, M. J; Espinosa, H. V; Almaraz, S. J. J.; Quintero, L. R. y Torres, A. M. 2011. Contenido de nutrientes e inoculación con hongos ectomicorrízicos comestibles en dos pinos neotropicales. *Rev. Chilena de Historia Natural*. 84(1):83-96.
- Carrasco, H. V.; Pérez, M. J.; Quintero, L. R.; Espinosa, S. T.; Lorenzana, F. A. and Espinosa, H. V. 2015. Edible species of the fungal genus *Hebeloma* and two neotropical pines. *Pak. J. Bot.* 43(1):319-326.

- CONAFOR. 2010. Comisión Nacional Forestal Forestal. Prácticas de reforestación. Manual básico. CONAFOR- SEMARNAP. Jalisco, México. 64 p.
- DOF. 2016. Diario Oficial de la Federación. De la comisión nacional de los salarios mínimos que fija los salarios mínimos general y profesionales vigentes a partir del 01 enero, 2017. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5283125&fecha=21/12/2012.
- Duponnois R.; Bâ, A.; Mousain, D.; Galiana, A; Baudoin, E.; Dreyfus, B. and Prin, Y. 2011. Biotechnological processes used in controlled ectomycorrhizal practices. *In: Ray, M. and Varma, A. (Eds.). Diversity and biotechnology of ectomycorrhizae. Soil Biol. 25. Springer, Berlin Heidelberg. 143-155 pp.*
- Jones, M. D.; Durall, D. M. and Cairney, J. W. G. 2003. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytol. 157(3):399-422.*
- Landis, T. D.; Tinus, R. W.; McDonald, S. E. and Barnett, J. P. 1989. The biological component: nursery pest and mycorrhizae. *The container tree nursery manual. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: US. Department of Agriculture, Forest Service. Vol 5. 159 p.*
- Martínez, R. M.; Pérez, M. J.; Villareal, R. L.; Ferrera, C. R.; Xoconostle, C. B.; Vargas, H. J. J. y Honrubia, G. M. 2012. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* Engelm. Inoculado con el hongo comestible ectomicorrízico *Hebeloma mesophaeum* (Pers.) Qué. *Rev. Chapingo Ser. Cienc. Fores. Amb. 18(2):183-192.*
- Méndez, N. M.; Pérez, M. J.; Quintero, L. R; Herández, A. E. y Lara, H. A. 2011. Crecimiento y contenido nutrimental de *Pinus greggii* inoculados con tres hongos comestibles ectomicorrízicos. *Terra Latinoam. 29(1):73-81.*
- Nguyen, N. H.; Hynson, N. A. and Bruns, T. D. 2012. Stayin' alive: survival of mycorrhizal fungal propagules from 6-yr-old forest soil. *Fungal Ecol. 5(6):741-746.*
- Oliveira L. P; Rossi, M. J.; Furigo J. A.; Silva F.; Germano, N. and Oliveira V. L. 2006. Viability and infectivity of an ectomycorrhizal inoculum produced in an airlift bioreactor and immobilized in calcium alginate. *Braz. J. Microbiol. 37(3):251-255.*
- Pera, J.; Álvarez, I. F. y Parlade, J. 1998. Eficacia del inóculo miceliar de 17 especies de hongos ectomicorrízicos para la micorrización controlada de: *Pinus pinaster*, *Pinus radiata* y *Pseudotsuga menziesii* en contenedor. *Invest. Agr. Sist. Recur. For. 7(1 y 2):140-153.*
- Pérez, M. J.; Martínez, R. M; Yesca, P. A.; Delgado, A. A. and Xoconostle, C. B. 2008. Wild mushroom market in central Mexico and a case study at Ozumba. *Econ. Bot. 62(3):425-436.*
- Rendón, P. A.; López, R. L.; Portillo, M. E.; Tapia, H. A.; Sánchez, A. M.; Pérez, M. J.; y Carcaño, M. M. 2014. Evaluación del crecimiento en invernadero de *Pinus Montezumae* Lamb. al tratamiento con bacterias y hongos benéficos. *In: XXXVIII. Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. 326-332 pp.*
- Rossi, M. J.; Furigo, J. R. and Oliveira V. L. 2007. Inoculant production of ectomycorrhizal fungi by solid and submerged fermentations. *Food Technol. Biotechnol. 45(3):275-284.*