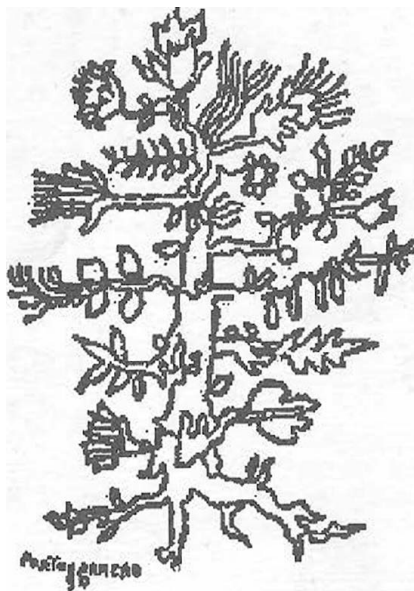
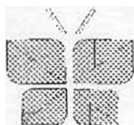


ACTA BOTANICA CUBANA



No. 133

30 de diciembre de 1999



INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y SISTEMÁTICA

Funcionamiento diferencial de varias cepas de *Glomus* spp. ante las variaciones del pH*

Margarita Ruiz, Ainel R. Valdés y Ricardo A. Herrera-Peraza**

ABSTRACT. pH effect on the behaviour of 10 strains of Glomales inoculated to tomato plants (cv Roma; VFP-93) was tested. Plants were fed with Long Ashton solution adjusted with NaOH in order to get the three pH levels used in the experiment (4.5; 6.5; 7.3). A marked effect on fungi growth was obtained by using these three pH levels which had a significant influence on biomass and mycorrhizal parameters. The hypothesis of Herrera *et al.* (1997) concerning the existence of strains having Austere or Exuberant behaviour was confirmed. Thus, the larger biomass yield in *Glomus aggregatum*, *G. caledonium* and *G. sp.* (Austere) were caused by the external mycelium whereas endophytes and mycorrhizal colonization rendered a biomass increase in the most Exuberant strains (*G. intraradices*, *G. mosseae* (IES-13) and *G. etunicatum*).

KEY WORDS. Vesicular arbuscular mycorrhizae, pH, glomales, tomato.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares (VA) se ha ampliado extraordinariamente durante los últimos años a numerosos cultivos debido a su importancia como microorganismos biofertilizadores con posibilidades de sustituir total o parcialmente la fertilización fosfórica. Además de constituir para el crecimiento vegetal un aporte importante en la adquisición de nutrientes, también representan una ganancia económica relevante en la obtención de plántulas más resistentes a la desecación y el ataque de enfermedades, y también una mayor supervivencia de las mismas después del trasplante al sitio definitivo.

El conocimiento de las habilidades funcionales de distintas especies de hongos micorrizógenos puede ser en extremo importante para el manejo de las micorrizas VA. Sobre esta temática existen trabajos aislados en la literatura, pero no se conoce ningún reporte integrador que señale cómo son las principales tendencias.

Existen muchos factores en el suelo que ejercen un efecto importante en el desarrollo y consecuentemente en la eficiencia de los hongos vesículo-arbusculares, uno de ellos es el pH (Smith y Rocardori, 1986). Es necesario estudiar cómo ciertas especies de hongos VA están adaptadas a las variaciones de pH ó si este pH tiene un efecto restrictivo en el desarrollo de ciertos hongos.

En el presente estudio se caracterizaron los cambios del funcionamiento micorrizico de los hongos VA de especies de *Glomales* asociados a plantas de tomate ante distintas variaciones de pH, con vistas a esclarecer su relación con la colonización intra y extraradical.

*Manuscrito aprobado el 15 de octubre de 1998.

**Instituto de Ecología y Sistemática, Apartado 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en casa de vegetación durante un período de tres meses. Se empleó un sustrato consistente en arena sílice molida, lavada, tamizada (con un tamaño de grano entre 0.5-2 mm) y esterilizada durante 3 días consecutivos a 120^o una hora cada vez. Se sembraron semillas de tomate cv. Roma (VFP- 93) en macetas de 500 ml de capacidad, las que habían sido esterilizadas superficialmente con hipoclorito de sodio. La inoculación se realizó en el momento de la siembra a razón de 10 g de inóculo por maceta, el que contenía micelio, esporas y raíces de sorgo colonizadas y se utilizaron 10 cepas de hongos que pertenecen al cepario del IES, las que se listan a continuación:

IES 3, 4 ,5 y 7 (*Glomus spurcum*, *aggregatum*, *mosseae* y *etunicatum*), aisladas de Topes de Collantes, Villa Clara, Cuba, con un pH de procedencia de 4.9-5.4; IES 6 (*G. etunicatum*), procedente de Taco-Taco, Pinar del Río (pH 5.8); IES 8 (*G. mosseae*), de Güira de Melena, La Habana, Cuba (pH 6.1) y las cepas IES-9, 12, 13 y 15 (*Glomus intraradices*, *caledonium*, *mosseae* y *G. spp.*), procedentes de México.

Se ensayaron 3 niveles de pH (4.5, 6.5 y 7.3), los que se regularon mediante la adición diaria de 5 ml de solución Long Ashton ajustada con NaOH.

Se realizó un diseño completamente aleatorizado con tres réplicas por cada uno de los tratamientos, incluyendo un tratamiento control sin micorrizas para cada uno de los pH ensayados. Los parámetros de biomasa que se evaluaron fueron la altura, peso seco total, peso seco del tallo, raíces y raicillas. Para evaluar el desarrollo micorrizico se realizaron mediciones del micelio externo (ME), endófito (ED) y porcentaje de colonización micorrizica (%CM) de acuerdo con el método de Herrera-Peraza *et al.*, (1997). Además, se evaluó la dependencia micorrizica (DM) mediante la fórmula de Pérez-Maqueo (1995).

Procesamiento de los datos:

Las diferencias significativas entre las medias correspondientes a los distintos tratamientos fueron procesadas por ANOVA y en los casos necesarios por el Test de Rangos Múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La utilización de los tres niveles de pH ensayados tuvo un efecto marcado en el desarrollo de los hongos evaluados, influyendo de forma significativa en los parámetros de biomasa y micorrizicos medidos. Los parámetros que mostraron significación en el ANOVA fueron: peso seco de raíces y de raicillas, peso seco del tallo, peso seco total, micelio externo, endófito, colonización micorrizica, y dependencia micorrizica.

En general, las cepas inoculadas superaron al control no micorrizado en las biomásas secas de plantas (Fig. 1). EL peso seco de raíces, a excepción de la cepa IES-8, fue también superior en el caso de los tratamientos inoculados. Por otra parte, los mayores valores de biomasa de raicillas

se obtuvieron en presencia del pH intermedio ensayado (6.5), siendo las cepas IES-3, 4, 6, 7 y 8 las que produjeron resultados significativamente superiores con respecto al control. Las mayores dependencias micorrízicas estuvieron relacionadas con los máximos tenores de peso seco total (Fig. 2).

De todas las cepas ensayadas, IES-3 produjo los mayores valores de biomasa en el pH 4.5 (Fig. 1), a pesar de tener los más bajos valores de endófito y colonización micorrízica para este pH (Fig. 2). Esta cepa (*Glomus spurgum*), aislada de suelo ácido encalado con dolomita, tuvo sin embargo mejor desarrollo de endófito y colonización micorrízica a pH 7.3 donde no tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento, pues incrementa los parámetros micorrízicos y no así los de biomasa. Esta capacidad de variar la colonización micorrízica sobre la base del pH pudiera justificar la gran agresividad que hemos observado con esta cepa en trabajos realizados en nuestro grupo de investigación; así, en experimentos anteriores realizados con tomate, se obtuvieron plantas 15 cm más altas. Por otra parte, al inocularla en *Leucaena leucocephala* usando como substrato un suelo arenoso muy pobre, se obtuvieron los mayores valores de altura y peso seco de raicillas, a pesar de haber tenido una baja colonización micorrízica. En plátano ocurrió de forma similar, pues con sólo 6% de colonización micorrízica, se lograron los mayores valores de peso seco y longitud de raicillas (Herrera-Peraza, comun. pers.).

Con la inoculación de la cepa IES-4 en presencia del pH 6.5, se obtuvieron los mayores valores del experimento de peso seco de raicillas. Los resultados de peso seco total y del tallo también fueron elevados (Fig. 1). Al parecer, el parámetro micorrízico que influyó en el desarrollo de la biomasa en las plántulas ensayadas fue el micelio externo, el que tuvo los mayores valores en este pH. Esta cepa tuvo un comportamiento parasítico en pH básico para el cultivo ensayado, pues fue donde mayor desarrollo del hongo se obtuvo, coincidiendo con los menores tenores de biomasa vegetal.

Izquierdo *et al.*, (1998) encontraron que estas dos cepas (IES-3 y 4), ejercieron un marcado efecto en la absorción de macroelementos (N,P,K) en plántulas de mandarino Cleopatra (*Citrus resini* Hori. Ex Tan), así como en el balance adecuado N/K para la obtención de los mayores valores de biomasa en la fase de vivero.

En el caso de la inoculación de las tres cepas de *Glomus mosseae* ensayadas (IES-5, 8 y 13), el pH influyó sobre los parámetros micorrízicos evaluados y no así en los de biomasa. Por otra parte, el comportamiento entre cepas fue diferente, siendo la IES-5 quien mostró preferencia por el pH 6.5 en la producción de biomasa fúngica (Fig. 2). Esta cepa, a pesar de tener poco desarrollo del endófito y colonización micorrízica, produjo gran cantidad de raíces de sostén. Los resultados concuerdan con los de Hayman y Tavares (1985), quienes encontraron que el pH óptimo para el desarrollo de *Glomus mosseae* es de 6.0 a 7.0. La cepa IES-8, a pesar de no tener preferencia en la producción de las estructuras fúngicas para los 3 pH evaluados, produjo las mayores biomásas de raicillas en el pH 6.5 (Fig. 1). La cepa IES-13, por otra parte, desarrolló los máximos tenores de raíces de sostén en los pH 4.5 y 6.5, donde fueron menores los valores de endófito micorrízico. Sin embargo, los máximos tenores de este parámetro micorrízico y de colonización se alcanzaron en los pH más básicos ensayados, coincidiendo con Hayman y Tavares (1985). R.L. Ferrer

(comun. pers.), obtuvo que la cepa IES-13 no se destacó como infectiva, a pesar de haberse ensayado sobre un suelo con el pH apropiado para la misma (7.7). Al parecer esta cepa es poco agresiva o pobremente competitiva (Herrera-Peraza, comun. pers.), pues en resultados anteriores se ha obtenido poco desarrollo fúngico en los estadios iniciales de crecimiento vegetal, aunque al efectuarse la cosecha, los resultados de biomasa no han sido desalentadores.

A pesar de haberse utilizado dos cepas de *Glomus etunicatum* (IES 6 y 7), fue con la primera donde se obtuvieron los mayores valores del experimento de peso seco de raíces de sostén en el pH 4.5. En este pH también fueron superiores la colonización micorrízica y el endófito para ambas cepas, al parecer, estos parámetros fueron los responsables de una mayor producción de biomasa por parte del vegetal. Pensamos que IES-7, al provenir de un suelo más ácido que la 6, respondió con la producción de mayor cantidad de micelio externo cuando las condiciones le fueron favorables (pH 4.5), contrariamente a lo que sucedió con IES-6.

~~Con la inoculación de la cepa IES-9 (*Glomus intraradices*), se obtuvieron los mayores valores del experimento de colonización micorrízica y endófito en los pH 6.5 y 7.3 respectivamente. No obstante, los valores de peso seco del tallo y peso seco total no se diferenciaron significativamente del control no inoculado (Fig. 1). En este caso, al parecer el componente fúngico continuó consumiendo los fotosintatos de la planta en una forma unilateralmente desbalanceada (simbiosis parasítica), de modo que la planta no pudo contar con suficientes fotosintatos para satisfacer sus requerimientos energéticos.~~

Con la cepa IES-12 (*Glomus caledonium*), se obtuvo el mayor valor de micelio externo del experimento en pH 4.5, coincidiendo con el máximo valor de peso seco total para ese tratamiento. El endófito y colonización micorrízica, sin embargo, fueron superiores para los pH 6.5 y 7.3. En este último, la dependencia micorrízica se hace negativa (Fig. 2), lo que evidencia una posible simbiosis parasítica, pues es donde se hacen menores los valores de biomasa.

Al inocular IES-15, las mayores biomásas se obtuvieron en el pH intermedio ensayado (6.5), siendo también mayores el contenido de micelio externo y la colonización micorrízica. Este *Glomus*, a pesar de desconocerse el pH del suelo de procedencia, es cultivado en el laboratorio a pH 6.5, y responde mejor en su presencia en el desarrollo de las estructuras fúngicas.

De manera general, los cambios en el balance del crecimiento del hongo dentro y fuera de la raíz estuvieron afectados por el pH, lo que implicó una reacción específica de regulación de la simbiosis micorrízica que pudo involucrar mecanismos que limitaron o promovieron la infección del hongo de una manera específica.

Se conoce que la capacidad de diferentes cepas de hongos VA para incrementar el crecimiento de las plantas difiere y debe estar relacionada con las características de la colonización micorrízica y la extensión de las hifas a través del suelo (Bethlenfalvay *et al.*, 1982).

No necesariamente los mayores valores de endófito, colonización micorrízica o micelio externo estuvieron relacionados con las mayores producciones de biomasa vegetal. Así, en las cepas IES 3 y 13 (*Glomus spurcum* y *G. mosseae*), los pequeños valores en las variables de infección evaluadas, en combinación con los máximos tenores de biomasa, son indicativos de la mayor eficiencia reflejada por estas cepas. Se ha demostrado que no necesariamente una alta

colonización es la responsable de un máximo efecto de la simbiosis micorrizógena. Existen cepas de efectividad muy alta que con un mínimo de endófito rinden su mayor efecto sobre el crecimiento vegetal. Estos máximos de eficiencia pudieran estar relacionados con máximos trabajos de la simbiosis y mínimos consumos de fotosintatos, lo que redundaría en una mayor posibilidad para la formación de biomasa por parte de la planta (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi, 1986).

Por otra parte, en las cepas IES- 4, 12 y 15, donde hubo mayor desarrollo de micelio externo, fué donde también se obtuvieron las mayores biomásas. Sin embargo, el valor más elevado de micelio externo del experimento (cepa IES-12) no se relacionó con el máximo de biomasa para el cultivo ensayado.

Se conoce que las hifas son los órganos para la toma de nutrientes y la translocación de quienes depende el funcionamiento del sistema simbiótico (Abbott y Robson, 1985). De acuerdo con Sylvia (1990), poco se sabe acerca del efecto de varios factores bióticos o abióticos en la distribución de las hifas de los hongos arbusculares. Probablemente muchas propiedades químicas y bióticas del suelo influyen en la respuesta de la planta en la colonización micorrízica y actúan directamente en la fase externa de la simbiosis.

Se plantea que los hongos capaces de producir material fúngico fuera de las raíces del hospedero parecen tener mecanismos más estables de adaptación desde el punto de vista ecológico. En este sentido, Tisdall y Oades (1979) encontraron una buena correlación entre el contenido de hifas en el suelo y la producción de agregados de suelo estables.

Los estudios de Abbott y Robson (1985), mostraron que las especies de hongos VA diferían en la longitud de las hifas del micelio externo de las raíces colonizadas. En efecto, esta relación fue máxima para IES-12 a pH 4.5 (la mayor del experimento) y mínima para IES-5. A pH 6.5, las cepas IES-4,5,6,9, y 15 mostraron valores elevados para este parámetro, mientras que IES-6 produjo mayor micelio externo en el pH 7.3.

La efectividad de los hongos debe estar relacionada con las características de la colonización de raíces y de la extensión de hifas a través del suelo (Sylvia, 1990). La extensión de la colonización no debe relacionarse a la estimulación del crecimiento, pues deben de existir diferencias en la velocidad y persistencia de la colonización de acuerdo al hongo utilizado.

En las cepas 6 y 7, fueron el endófito y la colonización micorrízica los que favorecieron el incremento de la biomasa. Sin embargo, los mayores valores de biomasa del experimento no estuvieron relacionados con los máximos tenores de colonización micorrízica o de endófito (IES-9). Miller *et al.*, (1989) refieren que la extensión de la colonización no debe relacionarse con una estimulación del crecimiento. Todo parece indicar que en el caso de *G. intraradices* (IES-9), existió un mayor drenaje de carbono fotosintético hacia el hongo, que indujo el detenimiento del crecimiento de la planta ó su menor tamaño con respecto a otros tratamientos inoculados o no (Poole y Sylvia, 1987).

Herrera-Peraza *et al.* (1997 a y b) obtuvieron que en parcelas de bosques con tasas de renovación bajas (presencia de esteras radicales), había menores micomasas de endófito y mayores micomasas de micelio externo que en otras parcelas de bosques con tasas de

renovación mayores (sin esteras radicales). Estos autores sugirieron en el primer caso un comportamiento más austero (menos consumo de carbono fotosintético) y en el segundo un comportamiento más exuberante (mayor consumo de carbono fotosintético). Nuestros resultados concuerdan con los del referido autor, pues se observaron dos tendencias en el comportamiento de las cepas: una Austera, caracterizada por un mayor desarrollo de micelio externo, responsable de los mayores tenores de biomasa en el cultivo analizado (cepas 4, 12 y 15) y una tendencia Exuberante, caracterizada por un mayor desarrollo del endófito dentro de la raíz (IES-9, 13, 6 y 7), aunque también existieron cepas con comportamiento intermedio (3, 5 y 8).

De acuerdo con estos resultados, es necesario conocer el funcionamiento diferencial de cada cepa, en dependencia de las variaciones de los factores bióticos y abióticos que afectan su desarrollo, para una mejor manipulación de los sistemas de hongos con fines ecológicos y prácticos.

REFERENCIAS

- Abbott, L. K. y A. D. Robson. 1985: Formation of external hyphae in soil by four species of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 99, 257-265.
- Bethlenfalvay, G. J., M. S. Brown, y R. S. Pacovsky. 1982: Relationships between host and endophyte development in mycorrhizal soybeans. *New Phytologist* 90, 537-543.
- Gianinnazzi-Pearson, V. y S. Gianinnazzi. 1986: Progress and headaches in Endomycorrhiza Biotechnology. *Symbiosis* 2. EUA, 139-149.
- Hayman, D.S. y M. Tavares. 1985: Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XV. Influence of soil pH on the symbiotic efficiency of different endophytes. *New Phytol.* 100, 367-377.
- Herrera, R. A., E. Furrázola, A. R. Valdés, Y. Torres, R. L. Ferrer, y F. Fernández. 1997a: Estrategias de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. En: Biodiversidad en Iberoamérica: Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales (Ed. Maximina Monasterio), Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma XII. Diversidad Biológica, Mérida, Octubre de 1993. En imprenta.
- Herrera, R. A., D. Ulloa, O. Valdés-Lafont, A. G. Priego, y A. Valdés. 1997b: Ecotechnologies for the sustainable management of tropical forest diversity. *Nature & Resources* 33(1): 2-17.
- Izquierdo, I., M. J. García y J. Azcuy. 1998: Efecto de seis cepas de hongos micorrizógenos sobre la nutrición de plantas de cítrico en vivero. *Acta Botánica Cubana* No. 109, 1-8.
- Miller, D. D., M. Bodmer, y H. Schuepp. 1989: Spread of endomycorrhizal colonization and effects on growth of apple seedlings. *New Phytologist* 111, 51-59.
- Pérez-Maqueo, O. M. 1995: Análisis del efecto de los disturbios en la dinámica de la playa de la Mancha, Veracruz. Tesis de Maestro en Ciencias (Ecología y Ciencias Ambientales). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. División de estudios de Postgrado, 102 pp.
- Poole, B. C. y D. M. Sylvia. 1987: VA mycorrhizal status of *Myrica cerifera*. 7th North American Conference on Mycorrhiza, May 3-8, 1987. Programs and Abstracts, p.62.

Sylvia, D. M. 1990: Distribution, structure and function of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In *Rhizosphere Dynamics* (J.E. Box and L.C. Hammonds, Eds), pp. 144-167. Westview Press, Boulder.

Tissdal J. M. y J. M. Oades. 1979: Stabilization of soil aggregates by the root segments of ryegrass. *Australian Journal of Soil Research* 17, 429-441.

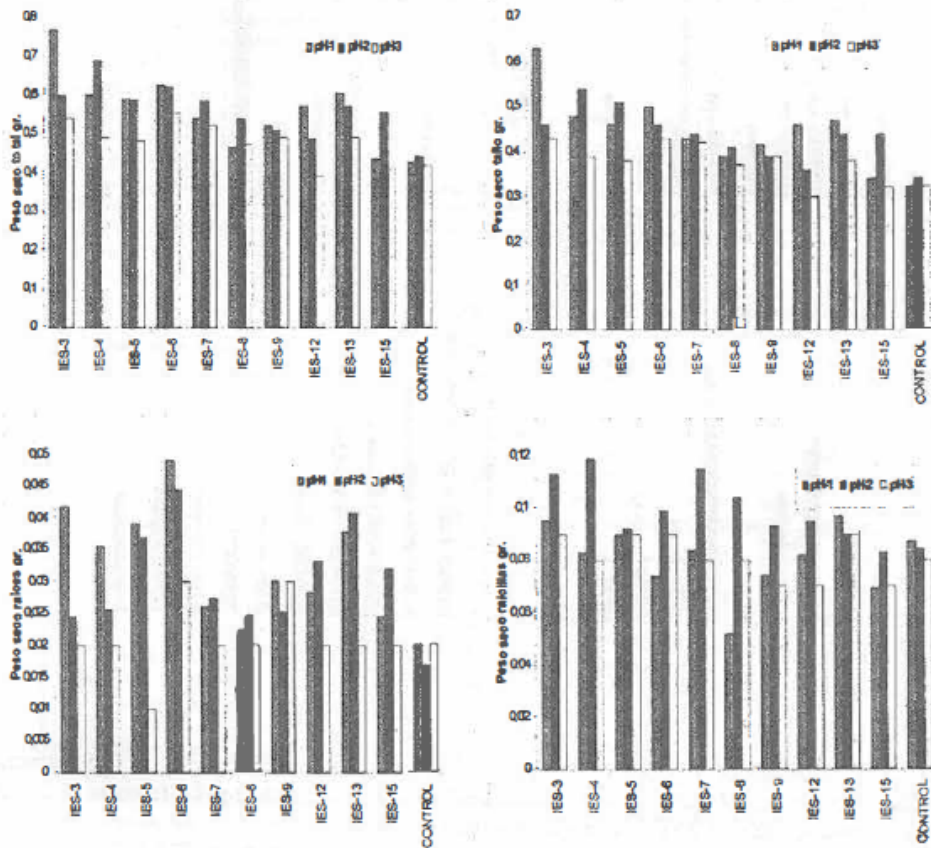


Fig. 1. Variaciones de peso seco total, peso seco del tallo, peso seco de raíces y raicillas de las plántulas de tomate de acuerdo con la adición de 3 pH diferentes (4.5; 6.5 y 7.3). ESX= 0.08; 0.04; 0.004 y 0.01 respectivamente.

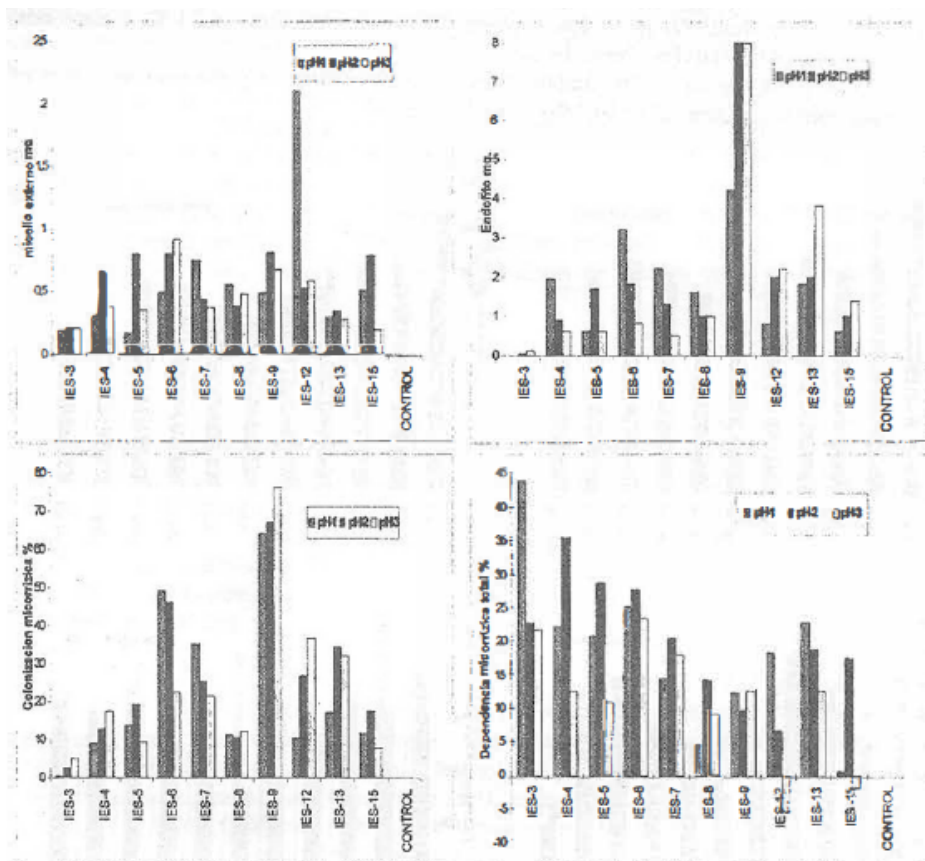


Fig. 2. Variaciones de micelio externo, endófito, colonización micorrizica y dependencia micorrizica total de las plántulas de tomate de acuerdo con la adición de 3 pH diferentes (4.5; 6.5 y 7.3). ESX= 0.08; 0.001; 4.26 y 8.26 respectivamente.