

Agrupamiento del comportamiento en vivero del patrón de cítrico mandarino Cleopatra inoculado con MicoFert® Agrícola*

Ma. Julia GARCÍA y Jorge A. SÁNCHEZ**

ABSTRACT: The effect of the application of six types of Agricultural MicoFert®, AMF, on the growth of citric plants cultivated in nurseries condition was evaluated. The rootstock employed was mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan). The obtained results from the growth and mycorrhizal indicators were processed through principal components analysis. All the growth variables except rootlets dry weight and mycorrhizal colonization presented meaningful correlation within each group of variables but they are mutually independent. The plants inoculated with the types of AMF IES-2 (*Glomus manihotis*) and IES-4 (*G. aggregatum*) reached the maximum growth values and minimal of mycorrhizal colonization what demonstrated the efficiency of them.

KEY WORDS: Citrus, VAM, nurseries, principal components analysis, Agricultural MicoFert®.

INTRODUCCIÓN

Según Reed y Freemont (1935), la presencia de micorrizas vesículo-arbusculares en cítricos fue reportada por primera vez en 1933. Con la introducción de la fumigación del suelo, para la producción de cítricos en los Estados Unidos se observó clorosis en las plantas, lo que fue atribuido a la toxicidad del suelo, producto de la fumigación. Posteriormente, Kleinschmidt y Gerdemann (1972) encontraron evidencias que tales síntomas fueron producidos por la eliminación de las micorrizas provocadas por tal práctica.

Experimentos realizados en Estados Unidos por Newcomb (1975), Timmer y Leyden (1978), Ferguson y Menge (1981) y Nemeč y Patterson (1981), comprobaron que los cítricos son altamente dependientes de las asociaciones micorrízicas, presentando buenas respuestas a las inoculaciones. Antúnes y Cardoso (1991) plantearon que la factibilidad de la inoculación con MVA es mucho mayor para aquellas plantas de cítricos que crecen en viveros que las que se desarrollan en campo, debido a que la cantidad de inóculo necesario es mucho menor en vivero.

Por la importancia que tiene para el desarrollo de la citricultura en Cuba, por primera vez, se aplicaron seis variantes de MicoFert® Agrícola (MFA) en viveros, por García *et al.* (1998); lográndose incrementar significativamente, con relación al testigo de producción, el crecimiento y el desarrollo de las plántulas de mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan). Además en los indicadores de crecimiento y micorrízicos analizados individualmente, se observó cierta similitud en el comportamiento de las plantas.

*Manuscrito aprobado el 15 de diciembre de 1998.

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

El objetivo del presente trabajo fue determinar como se interrelacionan y agrupan el crecimiento y el comportamiento micorrizico de las plantas de cítricos mandarino Cleopatra inoculado con diferentes tipos de MicoFert® Agrícola mediante la aplicación de análisis multivariado.

MATERIALES Y MÉTODOS

En los tratamientos evaluados, se identifican las seis variantes de MicoFert® Agrícola (MFA); así como la procedencia de las cepas que les dió origen (Tabla 1). Se valoró además, el testigo de producción que contenía el inoculante nativo (NAT).

La fase experimental se desarrolló según lo descrito por García *et al.* (1998). El tipo de suelo empleado fue Ferralítico Rojo, Ferralsol, según FAO-UNESCO (Hernández *et al.*, 1996) sin ningún tipo de enmienda orgánica y sin previa esterilización. Se determinaron los siguientes indicadores de crecimiento: altura de la planta (ALT), diámetro del tallo (DIAM), número de hojas (HOJAS), biomasa aérea (BA); se cuantificó la biomasa seca de follaje (BF), de tallo (BT), de raíz total (BRT) y de raicillas (Br). La masa seca se determinó mediante el secado de las muestras en estufa a 70°C hasta peso constante. Las plantas procedentes de los diferentes tratamientos se les realizó la medición de fotosíntesis neta (FN), conductancia foliar (GS) y tasa de transpiración (E), mediante el empleo de un equipo portátil de intercambio gaseoso (LCA-2 The Analytical Development Co. Ltd. Hoddesdon Hertfordshire, England).

Los indicadores de micorrización se cuantificaron como densidad visual de la infección (DV) (Herrera *et al.*, 1984) y porcentajes de colonización micorrizica (CM) (Giovannetti y Mosse, 1980), a partir de las raicillas teñidas según la técnica de Phillips y Hayman (1970). Con los datos obtenidos de DV y de CM se procedió a calcular el endófito (ED) y la ocupación fúngica (OF), según las siguientes formulaciones (Herrera *et al.*, 1994).

$$ED = \frac{PSr \times DV}{100 \%} \quad OF = \frac{ED}{PSr \times \%CM}$$

donde:

PSr= peso seco de raicillas = biomasa de raicillas (Br).

La normalidad de los datos se verificó mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Bartlett. Los datos se procesaron mediante análisis de componentes principales (Pielou, 1984) para determinar las correlaciones que se establecen entre los indicadores de crecimiento y micorrizico, su contribución al ensayo, y la interrelación y agrupamiento que se existe entre las plantas. Para ello se utilizaron los valores individuales de cada muestra o réplica por tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Correlación y contribución de los indicadores de crecimiento y de micorrización en el experimento: Todas las variables de crecimiento y de micorrización analizadas, excepto la biomasa de las raicillas (Br), desempeñaron un papel significativo ($P < 0,05$), según el círculo de correlación propuesto por Fariñas (1996), en el espacio bidimensional definido por los primeros componentes principales (Fig.1), que explican entre los dos, más de 60% de variabilidad total de los datos (Tabla 2).

El resultado es sumamente interesante debido a que se aprecian dos grupos de vectores en cuadrantes diferentes, pero no opuestos. Las variables asociadas con el crecimiento de la planta ocupan en general, el segundo cuadrante y muestran una alta correlación entre sí y con el primer eje (F1); mientras que las variables micorrízicas ocupan el tercer cuadrante y están correlacionadas negativamente con el segundo eje (F2) y son independientes a los indicadores de crecimiento señalados anteriormente.

Al mismo tiempo se determinó (Tabla 2 y Fig.2) que las variables que más contribuyeron a la formación del primer componente fueron la BA y el BT y en el segundo componente la OF y la DV. Esto demuestra que dichos indicadores son los que mayor variabilidad o plasticidad fenotípica presentaron al ser inoculadas las plantas con diferentes variantes de MicoFert® Agrícola. Por consiguiente, serán estos los que definiran los grupos en el plano de ordenamiento bidimensional.

Ordenamiento de las variables y los tratamientos: La distancia geométrica entre los individuos puede considerarse como una medida de semejanza en el comportamiento de las plantas; cuatro tipos de configuraciones espaciales (Fig.2) parecen predominar en el análisis realizado.

Las plantas inoculadas con las variantes IES-2 y IES-4 tienden a segregarse en regiones muy cercanas del espacio de ordenamiento en el sentido que aumentan y se obtienen los valores máximos para las variables de crecimiento y disminuyen los indicadores de micorrización (Fig. 2 y Tabla 3). Esto evidencia la efectividad de dichas variantes, pues con bajos niveles de colonización micorrízica, las plantas pueden alcanzar los máximos valores de biomasa aérea y subterránea y coinciden con los resultados obtenidos por Rodríguez (1988) y Torres (1988) en mandarino Cleopatra al utilizar *Glomus manihotis*, que es la misma cepa empleada en la variante IES-2. En cambio el comportamiento de las plantas inoculadas con la variante IES-3, sugiere que esta cepa necesita una mayor cantidad de endófito dentro del sistema radical para poder absorber mayor cantidad de nutrientes y de esta forma incrementar el crecimiento.

Un tercer grupo está constituido por las plantas inoculadas con las variantes IES-1 e IES-9 que se ubican en regiones muy cercanas del espacio de ordenamiento donde aumentan las variables relacionadas con la micorrización, (Tabla 3), pero se obtienen valores intermedios o bajos con relación a los índices de crecimiento. Estas variantes son poco eficientes, pues el comportamiento descrito se corresponde con una fuerte colonización de las raíces sin un incremento proporcional

del crecimiento de las plantas. El elevado nivel de infección encontrado en éste caso constituye un gasto de fotosintatos sin una compensación en el mejoramiento de la nutrición mineral de la planta hospedera. Esto fue demostrado por Koide (1985) en girasol, (*Helianthus annuus*, L.) Clapperton y Reid (1992) en gramíneas y Lovato *et al.* (1992) con vitroplantas de uva (*Vitis vinifera*, L.) y piña (*Ananas comusus*, L.).

Por último, se aprecia que el testigo de producción (NAT) y las plantas inoculadas con la variante IES-5 forman un cuarto grupo que ocupan regiones muy cercanas del espacio donde se obtienen los valores mínimos de crecimiento e intermedio de micorrización. Sin embargo, las plantas procedentes de la variante IES-5 tienden a separarse ligeramente del testigo en el sentido que aumentan los valores de crecimiento; lo cuál indica, la efectividad de la inoculación con esta variante con relación al testigo de producción.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos con la aplicación del análisis multivariado se concluye que:

- Todos los indicadores de crecimiento, excepto la Br, y micorrízicos presentan un papel preponderante, en el agrupamiento de los tratamientos. Se establece una alta correlación dentro de cada grupo de indicadores, pero no entre ellos.

- Las variantes de MicoFert® Agrícola IES-4 y IES-2 (*G. aggregatum* y *G. manihotis*) están más asociadas a la producción de biomasa aérea; en tanto, IES-3 (*G. spurcum*) se relaciona más a los indicadores de micorrización y difieren del comportamiento del resto de las variantes y el testigo.

REFERENCIAS

- Clapperton, M. J., y D. M. Reid (1992): A relationship between plant growth and increasing VA mycorrhizal inoculum density. *New Phytol.*, 120 227-234.
- Fariñas, M. R. (1996): Análisis de vegetación y sus relaciones con el ambiente mediante métodos de ordenamiento. Trabajo de Ascenso, Fac. de Ciencias, U.L.A, pp.256.
- Ferguson, J. J., y J. A. Menge (1981) Inoculum production and field application of endomycorrhizal fungi. *Phytopathology*, St. Paul, MN, pp. 873.
- García, M.J., E. Pouyú, J. Azcuy, I. Izquierdo, A. Valdés, *et al.* (1998): Valoración biológica del uso del inoculante micorrizógenos VA cubano MicoFert® en viveros de cítricos. *Acta Botánica Cubana*. No.111.
- Giovannetti, M., y B. Mosse (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84 489-500.
- Hernández, A., J. M. Pérez, O. Ascanio, *et al.* (1996): Correlación de la Clasificación Genética de los Suelos de Cuba, con la Clasificación FAO-UNESCO y otras Clasificaciones Internacionales. [inédito]. *Documento interno del Instituto de Suelos*. MINAG. La Habana, Cuba.

- Herrera, R.A., E. Furrázola, A.R. Valdés, Y. Torres, R.L. Ferrer y F. Fernández, (en prensa): Estrategias de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. En: *Biodiversidad en Iberoamérica: Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales* (Maximina Monasterio ed.), Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma XII, Diversidad Biológica, Mérida, Venezuela.
- Kleinschmidt, G. D., y J. W. Gerdemann. (1972): Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soil related to the absence of endomycorrhizae. *Phytopath.*, 62:1447-1453.
- Koide, R. (1985) The nature of growth depression in sun flower caused by vesicular arbuscular mycorrhizal infection. *New Phytol.*, 99:449-462.
- Lovato, P.E.; H. Schuepp; A. Trouvelot y S. Gianinazzi (1995): Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in Orchard and Ornamental Plants. En *Mycorrhiza structure, Function, Molecular, Biology and Biotechnology*. (A. Varma y B. Hock eds.). Springer-Verlag. Berlin - Heidelberg.
- Nemec, S. y M. Patterson. (1981): Comparison of techniques to inoculate citrus with mycorrhizal fungi in the field in Florida. En: *Fifth N. Am. Conf. on Mycorrhizae*. Québec. Canadá, pp. 24
- Newcomb, D.A. (1975): Mycorrhiza effect following soil fumigation. *Inst. Plant. Propagat. Soc.*, 25:102-104.
- Pielou, E. (1984) *The Interpretation of Ecological Data: A Primer in Classification and Ordenation*. Wiley. N Y., 122 pp.
- Phillips, J.M., y D.S. Hayman (1970): Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesiculo-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. British. Mycol. Soc.*, 55 158-161.
- Reed, H.S. and T. Fremont (1935): Factors that influence the formation and development of mycorrhizal association in citrus roots. *Phytopathol.*, 25:645-647.
- Rodríguez, J. (1988): Interacción de la mandarina Cleopatra (*Citrus reshni*) con tres cepas de MVA en cuatro suelos. En *I Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Micorizólogos, Resúmenes*. IES, ACC., La Habana, Cuba, 25 p.
- Timmer, L. W., y R. F. Leyden. (1978): Stunting of citrus seedling in fumigated soils in Texas and its correction by phosphorus fertilization and inoculation with mycorrhizal fungi. *J. Am. Hort. Sci.*, 103:533-537.
- Torres, N. R. (1988): Efecto de la inoculación con micorrizas VA en plántulas de cítricos, guanábano y guayabo. En *I Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Micorizólogos, Resúmenes*, IES, ACC, La Habana, Cuba, 24p.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Dr. Fermin Rada, de la Universidad de los Andes (ULA), Mérida, Venezuela, por la colaboración brindada en las mediciones de fotosíntesis con un equipo de elevada tecnología, sin el cual no hubiera sido posible obtener los resultados para este indicador, así como a todos aquellos especialistas y técnicos que apoyaron este trabajo.

Tabla 1. Nomenclatura de las cepas de hongos MVA procedentes del IES-CITMA, utilizadas para la producción de MicoFert®Agrícola (MFA).

Cepa	Nombre Científico y Procedencia de la cepa
IES 1	<i>Glomus fasciculatum</i> Thaxter Gerdemann & Trappe emend Walker & Koske. Cepa LPA-7. Station J'Amelioration des Plantes, INRA, Dijon, Francia.
IES 2	<i>Glomus manihotis</i> Howeler, Sieverding & Schenck. Colección de E. Sieverding, CIAT, Colombia.
IES 3	<i>Glomus spurgum</i> Pfeiffer, Walker & Bloss. Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. Colección Cubana de Micorrizas Arbusculares (CCUMA).
IES 4	<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith emend Koske. Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. CCUMA.
IES 5	<i>Glomus mosseae</i> (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe. Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. CCUMA.
IES 9	<i>Glomus intraradices</i> Schenck & Smith. Colección de S. Palacios, UNAM, México.

Tabla 2. Valores y vectores propios de los tres primeros componentes para los indicadores de crecimiento y de micorrización analizados. Los valores subrayados representan las variables más importantes en el componente 1 y 2.

COMPONENTES PRINCIPALES			
	C1	C2	C3
Valor Propio	2.5	3.15	1.47
Varianza explicada (%)	43.4	21.0	9.8
Varianza acumulada (%)	43.4	64.4	74.2
ALTURA	0.3507	-0.0685	-0.1315
DIÁMETRO	0.3357	-0.1294	0.0221
HOJAS	0.3115	-0.0265	-0.2972
BIOMASA DE FOLLAJE	0.3535	-0.0765	-0.0644
BIOMASA TALLO	0.3730	-0.0851	-0.0340
BIOMASA RAIZ TOTAL	0.2798	-0.0457	0.1484
BIOMASA raicillas	0.0315	-0.0616	-0.6883
BIOMASA AÉREA	0.3783	-0.0524	0.0256
DENSIDAD VISUAL	-0.0438	-0.5333	0.0807
COLONIZACIÓN MICORRÍZICA	-0.0189	-0.3906	0.2342
ENDÓFITO	-0.0243	-0.4424	-0.2308
OCUPACIÓN FUNGICA	-0.0729	-0.4993	0.0938
FOTOSÍNTESIS NETA	0.2911	0.0775	0.3106
CONDUCTANCIA FOLIAR	0.2827	0.1841	0.2916
TASA TRANSPIRACIÓN	0.0895	0.1850	0.2954

Tabla 3. Valores medios de los indicadores de crecimiento y micorrizicos evaluados en plantas de mandarina Cleopatra inoculadas con seis tipos de MicoFert® Agrícola en vivero. (García *et al.*,1998)

CARACTERES	TRATAMIENTOS						
	IES-1	IES-2	IES-3	IES-4	IES-5	IES-9	NAT
ALTURA	113.6	154.0	143.6	149.4	100.6	113.8	90.2
DIÁMETRO	1.7	2.0	2.0	2.3	1.6	1.8	1.3
HOJAS	193.8	636.0	400.8	371.8	302.8	271.8	105.4
BIOMASA AÉREA	139.6	355.8	308.4	375.1	148.6	173.7	82.45
BIOMASA FOLLAJE	55.2	135.0	131.9	141.9	59.78	53.01	39.93
BIOMASA TALLO	84.3	218.9	176.4	213.2	88.8	120.6	42.4
BIOMASA RAIZ TOTAL	72.8	95.9	80.9	96.9	54.7	66.9	67.2
BIOMASA raicillas	11.8	15.9	18.4	8.4	10.1	15.8	6.7
DENSIDAD VISUAL	20.7	13.5	23.5	14.9	16.3	18.6	14.7
COLONIZACIÓN MICORRÍZICA	60.4	49.0	62.2	56.4	53.6	58.6	48.2
ENDÓFITO	1669.0	764.06	1869.0	573.84	777.0	1613.9	505.5
OCUPACIÓN FUNGICA	0.17	0.096	0.18	0.094	0.12	0.14	0.12
FOTOSÍNTESIS NETA	6.12	7.24	6.31	8.14	4.88	5.03	6.39
CONDUCTANCIA FOLIAR	88.44	111.78	95.67	140.89	101.3	80.78	99.33
TASA TRANSPIRACIÓN	2.65	3.17	3.32	4.11	3.34	2.72	3.12

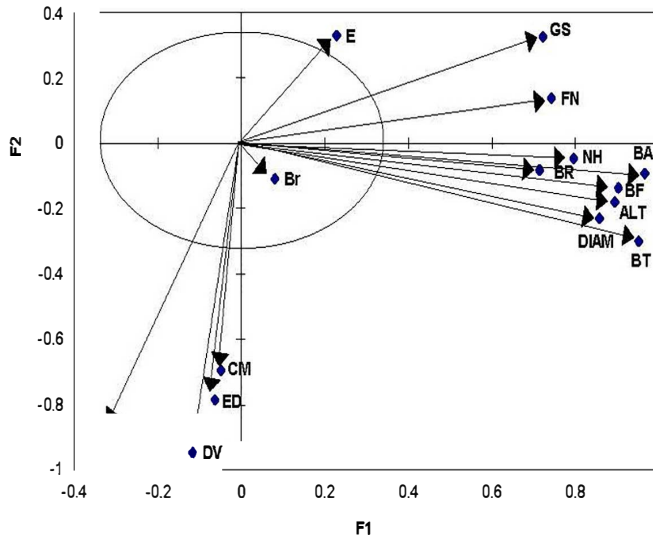


Fig. 1. Disposición de las variables en el primer plano de ordenamiento. Los vectores correspondiente a las variables indican la dirección en que éstas aumentan y el círculo de correlación señala los vectores que tienen correlaciones significativas. El significado de las variables aparece en el texto.

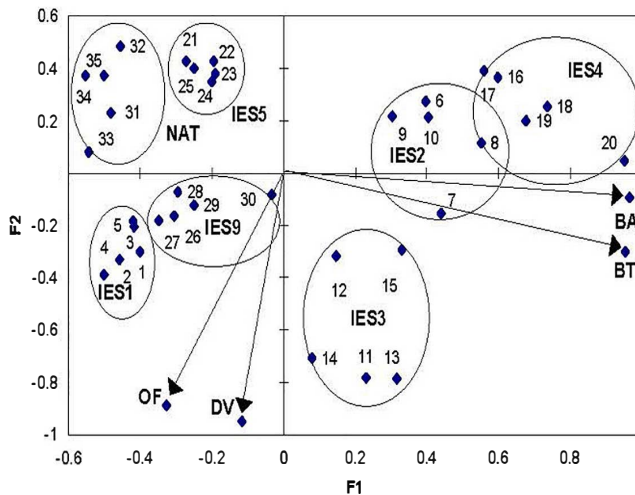


Fig. 2. Gráfico dual de los individuos y las variables. Los vectores correspondientes a las variables indican la dirección en que éstas aumentan. El número correspondiente con la procedencia de los tratamientos. El significado de las variables aparece en el texto.