

Infectividad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*)

J. Jesús Tapia-Goné¹; Ronald Ferrera-Cerrato²; Lucía Varela-Fregoso³; Juan Carlos Rodríguez-Ortiz¹, José Carmen Soria-Colunga¹, Miguel Ángel Tiscareño-Iracheta¹, Catarina Loredo-Osti¹, Jorge Alcalá-Jáuregui¹, Carlos Villar-Morales¹

¹Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. ²Área de microbiología de suelos, Instituto de Recursos Naturales Colegio de Postgraduados, Montecillo, 56230, Montecillo, Edo. de México. ³Laboratorio de Ecología Microbiana, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. Apartado Postal 63-389. México 02860. D. F.

Infectivity and effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi from saline soils on lettuce crop (*Lactuca sativa*)

Abstract. Forming Fungi inoculation of Arbuscular Mycorrhiza (HFMA) in horticultural, streamlines the development and growth of plants, but have not yet been evaluated sufficiently in some crops. Reason for which evaluated the efficiency of a consortium made up of four morphospecies HFMA, isolated and propagated from five sites of saline soils of San Luis Potosí state and then propagated and inoculated in lettuce plants, identifying the species *Glomus mosseae*, 1,2,3,4,5 sites, and species *Glomus* aff. *etunicatum*, was identified in the sites 1, 3 and 4, while the species *Glomus intraradices* and *Paraglomus* sp., at site 5. It demonstrates that the consortium of HFMA, retained their infectivity, as mycorrhizal colonization was greater than 80%, but no effect was observed for morphological variables assessed (root volume, leaf area and dry weight of foliage).

Key words: *Glomus* aff. *etunicatum*, *G. intraradices*, *G. mosseae*, Mexico, *Paraglomus* sp.

Resumen. La inoculación con Hongos Formadores de la Micorriza Arbuscular (HFMA) en especies hortícolas, hace más eficiente el desarrollo y crecimiento de las plantas, pero aún no se han evaluado lo suficiente en algunos cultivos. Razón por la cual se evaluó la eficiencia de un consorcio de HFMA conformado por cuatro morfoespecies, aisladas y propagadas de cinco sitios de suelos salinos del estado de San Luis Potosí y posteriormente propagadas e inoculadas en plantas de lechuga, identificándose a la especie *Glomus mosseae*, en los sitios 1,2,3,4,5, y a la especie *Glomus* aff. *etunicatum*, se identificó en los sitios 1,3 y 4, mientras que a las especies *Glomus intraradices* y *Paraglomus* sp., en el sitio 5. Se demuestra que el consorcio de HFMA, conservaron su capacidad infectiva, ya que la colonización micorrízica fue mayor de 80 %, sin embargo no se observó efectividad, para las variables morfológicas evaluadas (volumen radical, área foliar y peso seco del follaje).

Palabras clave: *Glomus* aff. *etunicatum*, *G. intraradices*, *G. mosseae*, México, *Paraglomus* sp.

Received 22 July 2009; accepted 16 May 2010.

Recibido 22 de julio 2009; aceptado 16 de mayo 2010.

Los Hongos Formadores de la Micorriza Arbuscular (HFMA), son microorganismos rizosféricos que pueden ser sujetos de manipulación para la producción de inoculantes (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2008). Establecen una simbiosis

Autor para correspondencia: J. Jesús Tapia-Goné
jtapia@uaslp.mx

mutualista con las raíces de la mayoría de las plantas (Morton y Benny, 1990); que ayuda a mejorar el crecimiento gracias al sistema de hifas que se desarrollan fuera de la raíz y que permiten una mayor exploración del suelo al incrementar la captación de nutrimentos poco móviles (Marschner y Dell, 1994) y la resistencia y/o tolerancia de la planta a la sequía y

salinidad (Bago *et al.*, 2000). Además, el uso de HFMA como bioinoculantes contribuye a reducir la aplicación de fertilizantes químicos y otros insumos evitando así mayor contaminación ambiental (Janerete, 1991). Los HFMA se encuentran en todos los ecosistemas terrestres y en muchos de ellos pueden representar el segundo componente más grande en biomasa del suelo. La obtención de cepas altamente eficientes adaptadas a diversas condiciones, sería una opción para reducir el uso y abuso de los fertilizantes para la explotación agrícola de nuestro país. Se han realizado numerosos estudios en los que se demuestra que la inoculación con HFMA en especies de interés agrícola, hace más eficiente el desarrollo y crecimiento de la planta, y le permite a su vez superar situaciones de estrés biótico y abiótico (Calvet *et al.*, 1992).

La capacidad de las micorrizas para promover el desarrollo de los cultivos depende de dos factores: infectividad y efectividad. La infectividad se refiere a la capacidad del hongo para penetrar e invadir la raíz intensamente y explorar el suelo, así como su habilidad de persistir en el sistema productivo. Mientras que la efectividad del hongo se demuestra cuando mejora el desarrollo del hospedante ya sea en forma directa o indirecta.

Indirectamente al proteger contra patógenos del suelo y condiciones de estrés, así como incrementar la agregación del suelo y la estabilidad del mismo, cualidades en las que el desarrollo hifal es fundamental (Abbott *et al.*, 1992). Mientras que la forma directa es mejorando la absorción de fósforo, cuando éste es limitante y de algunos otros nutrientes como el zinc, cobre y amoníaco anhidro (Stribley, 1990; Marschner y Dell, 1994).

Aunque se conoce poco cuánto fósforo llega hasta el hospedante y la capacidad del hongo para transferirlo (Abbott *et al.*, 1992). Por otra parte, es indudable que el crecimiento de las hifas asegura el funcionamiento de la simbiosis por lo que su papel debe considerarse al hacer la selección de las cepas (Abbott *et al.*, 1992; Bagyaraj, 1992). Asimismo, las

condiciones de infectividad y efectividad de los HFMA, dependen no solo de los simbiontes, sino también de las condiciones ambientales, lo que aumenta la importancia de los estudios ecológicos realizados con propósito de seleccionar cepas eficientes (Haas y Krikum, 1985).

Para Marschner y Dell (1994), la colonización micorrizica aumenta el desarrollo de las plantas al incrementar la asimilación de nutrientes vía incremento en la absorción del área superficial radical, o por la movilización de las fuentes de nutrientes aprovechables (por la excreción de compuestos quelatantes) lo que contribuye a una mejor utilización de ciertas fuentes de fósforo orgánico por la planta micorrizada y una mayor tasa de flujo (dos a seis veces más) debido a la longitud de las hifas externas (Jakobsen *et al.*, 1992).

La lechuga es la planta más importante del grupo de las hortalizas de hoja, se cultiva en casi todos los países del mundo. Es muy apreciada por su alto contenido en vitaminas, indispensable en la dieta moderna. En México se puede cultivar durante todo el año bajo riego; se reporta una superficie sembrada de 4,000 has., con rendimientos que pueden variar desde 7 a 23 ton/ha. Los principales estados productores son Guanajuato, Sonora, Puebla, Baja California, Jalisco y San Luis Potosí (INIFAP, 2001).

Después de reconocer que los HFMA mejoran el desarrollo y nutrición de las plantas, el siguiente paso es establecer la posibilidad de su explotación en especies hortícolas. La investigación sobre el uso de los HFMA, está siendo enfocada hacia el desarrollo y definición de tecnologías necesarias para la producción de planta de calidad en diferentes sistemas y especialmente en aquellos de valor hortícola (Ruiz-Lozano *et al.*, 1996). El mismo autor señala que específicamente para la producción de plantas de calidad de lechuga se ha establecido que los HFMA, tienen la capacidad de conferir mayor vigor a las plantas con las que se establece simbiosis micorrizica, misma que se ha manifestado en cada uno de los componentes de desarrollo de la planta,

influyendo de este modo en el peso fresco de follaje (Gianinazzi *et al.*, 1990).

Por otra parte, la inoculación en semilleros de plantas de lechuga puede originar plantas desarrolladas vigorosamente a pesar de que no se cuente con un sustrato o contenedores tal que asegure el óptimo desarrollo de la micorriza arbuscular, de esta manera el argumento más fuerte para usar HFMA en las especies la lechuga, es la producción de plantas vigorosas mejorando su establecimiento y respuesta al desarrollo en el sitio definitivo (Ruiz-Lozano *et al.*, 1996).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar si los HFMA aislados y propagados de suelos salinos e inoculados en el cultivo de lechuga bajo condiciones normales incrementarían su infectividad y efectividad.

Se recorrieron siete municipios del estado de San Luis Potosí, donde se reportaban suelos afectados por salinidad, identificándose manchas de sales en el suelo, en forma de costras de colores blancos, así como escaso

desarrollo de los cultivos establecidos. Posteriormente se realizaron tres muestreos de suelo de parcelas agrícolas a una profundidad de 0 a 30 cm, para el análisis físico y químico del suelo. Con base al valor reportado de la conductividad eléctrica igual o mayor a 8 dSm⁻¹ y clasificados como altamente salinos, basándose en los criterios establecidos por el Servicio de Conservación de Suelos del departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Richards, 1954), se seleccionaron 5 sitios ubicados en los ejidos: “La Matanza” (sitio 1), municipio de Moctezuma; “Norias del Refugio” (sitios 2 y 3), municipio de Matehuala; “El Sabinito” (sitio 4) municipio de Río Verde y “González” (sitio 5) municipio de Villa de Arista, clasificándose como suelos fuertemente salinos (Tabla 1).

Las muestras representativas de suelos salinos de los 5 sitios seleccionados se llevaron al laboratorio para la propagación de esporas de los HFMA, utilizándose como cultivo trampa al sorgo, llevando a cabo tres repeticiones por sitio. Se aplicó el riego a base de solución nutritiva

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los sitios agrícolas representativos de los suelos salinos en el estado de San Luis Potosí, México. Enero de 2001

Determinaciones	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
Profundidad (cm)	0-30/40	0-30/40	0-30/40	0-30/40	0-30/40
Arena (%)	42.0	46.0	38.0	30.0	42.0
Arcilla (%)	28.0	24.0	26.0	36.0	38.0
Limo (%)	30.0	30.0	36.0	20.0	20.0
Clasificación de Textura	franco arcillosa	franco arcillosa	franco arcillosa	franco arcillosa	franca
pH en H ₂ O (1:2)	8.0	8.0	8.3	8.3	8.5
Materia orgánica (%)	2.8	2.6	2.0	2.1	4.8
Carbonato de calcio (%)	10.0	6.0	14.0	12.0	17.0
Sodio intercambiable (meq/100g)	1.2518	1.6952	1.8256	1.7734	2.5558
C.I.C (meq/100g)	28.0	32.0	30.0	28.0	34.0
P.S.I. (%)	4.47	4.45	6.07	6.15	7.51
C.E (dS m ⁻¹)	10.00	8.0	8.50	8.70	10.80
Fósforo aprovechable (ppm)	14.0	17.0	11.0	12.0	17.0

(Hoagland) cada 10 días durante cuatro meses. Posteriormente a los HFMA propagados en cultivo trampa, se procedió a su identificación, encontrándose cuatro morfoespecies, tres de ellas pertenecientes al género *Glomus mosseae*, *G. aff. etunicatum* y *G. intraradices* y uno al género *Paraglomus*.

Para llevar a cabo la inoculación de los hongos, se utilizó como sustrato arena de río lavada esterilizada con vapor de agua durante tres horas en autoclave a 18 lb de presión. Las macetas se desinfectaron con agua y jabón, secándose cuidadosamente para posteriormente llenar la maceta con tres cuartas partes de arena, para enseguida depositar una cama de 20 g del inoculo obtenido en forma directa, colocando de 5 a 10 semillas de lechuga de la variedad tipo orejona Parris Island Coos, previamente desinfectadas, cubriéndolas con arena para asegurar su germinación, de manera que al emerger las primeras raicillas de inmediato estuvieran en contacto con el inoculo. Después de la siembra cada una de las macetas se cubrió con papel aluminio para favorecer la germinación, una vez que ocurrió la germinación, se retiró el papel y se cubrió la superficie con tezontle estéril para evitar contaminación.

El ensayo experimental de lechuga se llevó a cabo en los invernaderos del área de microbiología, localizado en el predio de "Montecillos", en los terrenos del ex-Lago de Texcoco, situado en la cuenca del Valle de México; sus coordenadas son Latitud Norte 19° 22', Longitud Oeste 98° 54', con una altitud media de 2,200 m. Se realizó bajo condiciones de invernadero entre los meses de febrero a julio de 2001. Las condiciones ambientales fueron las siguientes: Una temperatura promedio de 20°C, con una máxima de 23.1°C y una mínima de 16.5°C, la humedad relativa fue de 52.9%.

A los 66 días después de la siembra, se realizaron muestreos destructivos y se midieron las variables siguientes: 1.- Para el clareo y tinción de raíces se utilizó el método de Phillips y Hayman (1970) y para determinar el porcentaje de

colonización micorrízica, fue por el método de Mc. Gonigle *et al.*, (1990).

2.- El Volumen Radical se midió por la técnica de desplazado (VR cm³).

3.- El Área Foliar (AF, cm²) se midió mediante un integrador marca LI-COR modelo LI-3000A.

4.- El Peso Seco del follaje se determinó por el método de secado en estufa.

El diseño experimental utilizado fue un análisis completamente al azar con tres repeticiones por sitio y un testigo, realizando seis tratamientos, con un total de 18 unidades experimentales. Los datos obtenidos se analizaron mediante el paquete estadístico SAS y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Al realizar la prueba de hipótesis a través del análisis de varianza, para la variable infectividad (5.1427), se encontró diferencia significativa entre tratamientos, por lo que se aplicó la prueba de Tukey para encontrar las diferencias significativas entre los inoculantes de los diferentes sitios, de los suelos salinos. El porcentaje de colonización micorrízica que produjeron los inóculos 1, 2, 3, 4 y 5, aislados y propagados de los suelos salinos, en plantas de lechuga varío de 68.23 a 89.05 %, probando que los HFMA conservaron su capacidad infectiva, además de incrementar el porcentaje de colonización micorrízica (Tabla 2).

Por lo que se refiere al número de arbusculos y el número de vesículas, los valores identificados fueron variables y no representativos del porcentaje de colonización identificada. Así mismo, se ha establecido que de los HMA que colonizan la raíz, más del 50 % se consideran altamente infectivos (Bago *et al.*, 2000).

Por lo que se refiere a la efectividad de los hongos inoculados y después de haber realizado la prueba de hipótesis del análisis de varianza para el volumen radical (0.80869) y el área foliar (0.7650), la colonización micorrízica de los sitios 1, 2, 3, 4, y 5 citadas, no estimularon de manera significativa el crecimiento del volumen radical y

Tabla 2. Infectividad de los HMA aislados de suelos salinos en lechuga

Descripción	Colonización total (%)	Arbusculos (Núm.)	Vesículas (Núm.)
Sitio 1	68.233 b	54.967 c	0.000 d
Sitio 2	85.133 a	73.367 ba	17.100 a
Sitio 3	87.400 a	79.833 a	15.367 a
Sitio 4	89.067 a	68.533 b	18.567 a
Sitio 5	83.000 a	53.433 c	21.167 a
Testigo	0.000 d	0.000 d	0.000 d

*Medias con misma letra en columnas son estadísticamente iguales p = 0.05

área foliar (Tabla 3). Lo anterior difiere con lo señalado por Cuenca *et al.* (2007) quienes consideran que las plantas de lechuga micorrizadas presentaron mayor peso seco que el control; generalmente este aumento está asociado a un incremento en el área de exploración del sistema radical y por tanto mayor disponibilidad de nutrimentos (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988). Sin embargo, la no respuesta encontrada en este estudio coincide con lo señalado por Ferrera-Cerrato y Alarcón (2008) y Sylvia (1993) en el sentido de que la respuesta de la planta puede variar en función del grado de dependencia entre los endófitos y la planta hospedante, así como al grado de colonización. Así mismo, ellos señalan que la actividad fúngica representa un costo para la planta, la cual aporta fuentes energéticas carbonadas para el metabolismo del hongo, de aquí la generación de un sistema de beneficio mutuo.

El inóculo del sitio 1, incrementó el peso seco del follaje en comparación con el resto de los inóculos en las plantas de lechuga, a pesar de que presentó menor porcentaje de colonización micorrízica. Lo anterior no demuestra que la HFMA aislada de los suelos salinos no sea eficiente, pero si confirma que existen diferencias en la relación costo/beneficio cuando se emplean cepas de diferentes

Tabla 3. Efectividad de los HMA aislados de los suelos salinos en lechuga

Sitio	Área foliar (cm ²)	Volumen radical (cm ³)	Peso seco del Follaje (g)
1	1275.7 a	16.167 a	9.537 a
2	1063.3 a	14.000 a	7.107 a
3	1088.2 a	13.667 a	7.650 a
4	1093.5 a	15.000 a	9.397 a
5	1087.6 a	15.000 a	8.420 a
Testigo	987.6 a	14.667 a	8.467 a

*Medias con misma letra en columnas son estadísticamente iguales p = 0.05

ambientes, por lo que es necesario probar con otra planta huésped y medir la cantidad de fósforo y otros nutrientes en la región área.

Se ha comprobado que los conceptos de infectividad y efectividad no están relacionados y se dice que los hongos micorrizicos arbusculares que establecen abundantemente colonización micorrízica (80-90 %) no necesariamente inducirán mayores efectos, ya que se pueden encontrar hongos micorrizicos que colonicen la raíz en menor proporción (15-40%) y muestren excelentes efectos en la nutrición y crecimiento de la planta (Bago *et al.*, 2000). Por otra parte se indica que la variación de las condiciones ambientales influye en la fisiología de las plantas y por lo tanto en la colonización micorrízica, por lo que es probable que aunque se observe la colonización micorrízica, no todas las estructuras fúngicas estén activas (Varela y Estrada-Torres, 1997). Así mismo, los factores que deben considerarse en la eficiencia de los HMA son la agresividad, infectividad y capacidad de dispersión por lo que algunas veces las condiciones de infectividad y efectividad del hongo micorrizico dependen no solo del simbiote, sino también de las condiciones ambientales, lo que aumenta la importancia de seguir realizando estudios con propósito de seleccionar

cepas eficientes (Haas y Krikum, 1985). Finalmente se concluye que los consorcios de HFMA aislados de suelos salinos, mantuvieron su capacidad infectiva al ser inoculados en plantas de lechuga e incrementaron la colonización micorrízica, en condiciones no salinas. Su efecto en el desarrollo de la planta no fue evidente al considerar volumen radical, área foliar y peso seco de follaje. Se acepta que los HFMA conservaron su capacidad infectiva al propagarlos en condiciones no salinas e inoculados en plantas de lechuga, pero no aumentaron su capacidad efectiva. Se recomienda seguir experimentando con otra planta hospedera y medir otras variables fisiológicas específicas, para poder evaluar en forma más directa la eficiencia de los HFMA aislados y propagados de suelos salinos.

Literatura citada

- Abbott, L.K., A.D. Robson, C. Gazey, 1992. Selection of inoculants vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Norris, V.R., D.J. Read, A.K. Varma (eds.), *Methods in microbiology*. Vol. 23. Techniques for the Study of Mycorrhiza. Academic Press, London, pp.25-73.
- Bago, B., P.E. Pfeiffer, Y. Schachar-Hill, 2000. Carbon metabolism and transport in Arbuscular mycorrhizal. *Plant Physiology* 124: 949-58.
- Bagyaraj, D.J. 1992. Vesicular-arbuscular-mycorrhizal: Application in agriculture. *Methods in Microbiology*, 24: 360-373.
- Bago, B. C. Azcón-Aguilar, Y. Piché, 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 150: 543-554.
- Calvet, C., V. Estaun., A. Camprubi, 1992. Germination, early mycelial growth and infectivity of a vesicular- arbuscular mycorrhizal fungus in organic substrates. *Symbioses* 14: 405-411.
- Cuenca, G., A. Cáceres, G. Oirdobreo, Z. Hasmy, C. Urdaneta, 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia* 32: 23-29.
- Ferrera-Cerrato, R., A. Alarcón, 2008. Biotecnología de los hongos micorrizicos arbusculares. In: A. Diaz, N. Mayek (eds.), *Biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdéz / CONACYT, pp.25-38.
- Gianinazzi S., A. Trouvelot, V. Gianinazzi-Pearson, 1990. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. XXIII International Horticultural Congress, ISHS, International Society for Horticultural Science, Plenary Lectures, Firenze, 25-30.
- Haas, J.H., J. Krikum, 1985. Efficacy of endomycorrhizal fungus isolates and inoculum quantities required for growth response. *New Phytology* 100: 613-621.
- INIFAP, 2001. Problemas de suelos irrigados de las zonas media y altiplano de San Luis Potosí. Folleto No. 11. SAGARPA, S.L.P.
- Jakobsen, I., L.K., Abbott, A.D. Robson, 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. Spread of hyphae and phosphorus in flow into roots. *New Phytology* 120:371-380.
- Janerete, C.A. 1991. An introduction to mycorrhizal. *The American Biology Teacher* 53: 13-19.
- Marschner, H., B. Dell, 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. In: A.D. Robson, L.K. Abbott, N. Malujezuk (eds.), *Management of mycorrhizal in agriculture, horticulture and forestry*. Kluwer. Academic Publisher. Netherlands, pp 89-102.
- McGonigle, T.P. A.H. Fitter, 1990. Ecological specificity of vesicular-arbuscular associations. *Mycorrhizal Research* 94: 120-122.
- Morton, J.B., G.L. Benny, 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, Two new suborders, Glominae and Gigasporinae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with amendment of Glomaceae. *Micotaxon* 37: 471-491.
- Phillips J. M, D.S. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-160.
- Richards, L.A. 1954. *Diagnosis and Improvement of Sline and Sodio soil*, USDA, Agric. Handb. No. 60 USDA, Washington, D.C.
- Ruiz-Lozano, J.M., R. Azcón, M. Gomez, 1996. Alleviation of salt stress by arbuscular-mycorrhizal *Glomus species* in *Lactuca sativa* plants. *Physiology Plantarum* 98: 767-772.
- Stribley, D.P. 1990. Mycorrhizal associations and their significance. In: Ravinovich, H.D., J.L. Brewster (eds.), *Onions and allied crops*. II. Agronomy, biotic interactions, pathology and crops protections. C.R.C Boca Raton, Florida, USDA, pp 85-101.
- Sylvia, D.M., D.O. Wilson, J.H. Graham, J.J. Madox, P. Millner, J.B. Morton, H.D. Skipper, S.F. Wright, A.G. Jarstfer, 1993. Evaluation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in diverse plants and soils. *Soil Biology & Biochemistry* 25: 705-713.
- Smith, S.E., V. Gianinazzi-Pearson, 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39: 221-224.
- Varela, L.A., Estrada-Torres, 1997. El papel de los microorganismos de la rizosfera y de la micorriza en la absorción de nutrientes minerales y agua. In: Orellana, R. J.A. Escamilla, A. Larque-Saavedra, (eds.), *Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY). México.