

Comunicación corta

DIFERENCIAS EN LA RESPUESTA DEL MAÍZ (*Zea mays* L.) A LA INOCULACIÓN CON *Glomus cubense* (Y. Rodr. & Dalpé) Y CON UN CONGLOMERADO DE ESPECIES DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES (HMA)

Short communication

Maize (*Zea mays* L.) response differences to inoculation with *Glomus cubense* (Y. Rodr. & Dalpe) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species conglomerate

Aracely Mena Echevarría[✉], Víctor Olalde, Kalyanne Fernández y Rosalinda Serrato

ABSTRACT. The use of conglomerate for the development of mycorrhizal inoculants is very important to develop a variety of commercial products made from these microorganisms. According to this a experiment was conducted in order to compare the effect of two mycorrhizal inoculants on growth, development and gasses interchange of maize plants. The experiment was developed under a completely randomized design and the inoculants proved were the first constituted by *Glomus cubense* specie and the other one was a conglomerate of species (Consortio Selva). Different mycorrhizal (intensity and frequency), physiological (stomatal conductance, photosynthetic rate) and growth (height, stem diameter and dry mass) indicators were evaluated. Not differences were detected among the inoculants employed on growth indicators, but in mycorrhizal parameters the conglomerate (Consortio Selva) presented the highest values of the indicator; however, an interesting behavior was observed using *Glomus cubense* inoculants due to the values obtained for this inoculants were comparable to control, but the effect of this specie was the best obtained on gas exchange variable. These results point to the highest efficiency of this specie and to the functional differences between species on ecological point of view, and they open the possibility of using of cluster in field's condition.

RESUMEN. El uso de consorcios micorrízicos para la elaboración de inoculantes es de gran importancia para desarrollar una diversidad de productos comerciales elaborados a partir de estos microorganismos, teniendo en cuenta lo antes planteado se desarrolló un experimento en condiciones de invernadero con un diseño completamente aleatorizado en el que se utilizaron dos inoculantes micorrízicos formados por la especie *Glomus cubense* y el conglomerado de cepas Consortio Selva, con el objetivo de estudiar las potencialidades de dos inoculantes micorrízicos en el crecimiento de plantas de maíz. Se evaluaron indicadores de crecimiento, micorrízicos y fisiológicos, como la conductancia estomática, la tasa fotosintética, la altura de las plantas y el diámetro del tallo, los que fueron determinados en dos momentos, la masa seca y la frecuencia e intensidad micorrízica al finalizar el experimento. Los resultados muestran que en las variables de crecimiento no existieron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados. El Consortio Selva muestra los mayores valores en las variables micorrízicas; sin embargo, se puede observar un comportamiento muy interesante de la especie *Glomus cubense*, pues a pesar de mostrar valores de colonización mas bajos comparables con los controles, es la especie que mayores efectos mostró sobre las variables de intercambio gaseoso estudiados. Estos resultados corroboran la alta eficiencia de esta especie *Glomus cubense* y las diferencias funcionales existentes entre las especies de HMA desde un punto de vista ecológico y constituye un primer acercamiento a la posibilidad de emplear consorcios de cepas en el trabajo de extensionismo.

Key words: maize, vesicular arbuscular mycorrhizal, conglomerate, gas exchange, inoculation

Palabras clave: maíz, micorrizas arbusculares vesiculares, conglomerado, intercambio de gases, inoculación

M.Sc. Aracely Mena Echevarría, Especialista y Dra.C. Kalyanne Fernández, Investigadora Agregada del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque; Dr. Víctor Olalde, Investigador Titular, Jefe del laboratorio de Bioquímica Ecológica y M.Sc. Rosalinda Serrato, Asistente de laboratorio, departamento de Biotecnología y Bioquímica, Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados de IPN (CINVESTAV), México.

✉ amena@inca.edu.cu

INTRODUCCIÓN

El maíz es una gramínea originaria del continente americano, de gran importancia para el consumo humano y animal (1). Este cultivo se caracteriza por tener una gran adaptabilidad a las condiciones climáticas, un ciclo fenológico relativamente corto y propiedades esquilmanes, por lo que se ha empleado como modelo en diferentes investigaciones y como cultivo sucesor en los sistemas de rotaciones de cultivo (1). El empleo de biofertilizantes elaborados con hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en este cultivo es de gran importancia para su nutrición y desarrollo.

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son simbioses obligados que se asocian con alrededor del 90 % de las familias de plantas, las mismas dependen de esta simbiosis para su crecimiento y desarrollo normal, ya que estos hongos le proporcionan nutrientes, agua y una resistencia contra patógenos a cambio de fotosintatos (2).

Es reconocido que la gran mayoría de las plantas capta los nutrientes por medio de interacciones que establecen con los microorganismos que viven en la rizosfera, especialmente con aquellos que se han denominado simbioses, tales como los HMA (3).

Se ha demostrado que el uso de productos a base de HMA desempeña un papel muy importante en la agricultura por su efecto sobre las plantas y los ecosistemas. Estos microorganismos participan en la traslocación de nutrientes presentes en el suelo fundamentalmente el fósforo y en la capacidad de aumentar la tolerancia de las plantas a los diferentes estreses tanto bióticos como abióticos. Existe una gran diversidad de especies de hongos HMA en el suelo y su comportamiento estará condicionado a las características del suelo o sustratos en que se encuentre y al cultivo que se emplee (4). Numerosos estudios de campo han demostrado los beneficios de la asociación micorrízica en los cultivos. El aumento de los niveles de colonización de las raíces y la densidad de hifas en el suelo en etapas tempranas del crecimiento puede aumentar la absorción de P y el rendimiento en el maíz (*Zea mays* L.), cuando el suelo es deficiente en P (5).

Los hongos micorrízicos arbusculares constituyen un insumo microbiológico promisorio para el desarrollo de una agricultura sostenible; su papel en el funcionamiento de los ecosistemas y su potencial como fertilizantes biológicos, son quizás motivos suficientes para considerarlos como uno de los componentes importantes en la agroecología moderna (3). El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar las potencialidades de dos inoculantes micorrízicos en el crecimiento de plantas de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó entre los meses de abril y junio del 2008 en el Laboratorio de Bioquímica Ecológica del Departamento de Biotecnología y Bioquímica en áreas

del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) Campus Irapuato, México. Se empleó como material vegetal plantas de maíz (*Zea mays*) cultivar 1851W.Nk. y como sustrato una mezcla de suelo franco y arena relación 3:1, el que fue previamente esterilizado con formol. Las características químicas del sustrato se muestran en la Tabla I. Se utilizaron dos inóculos micorrízicos, uno compuesto por la especie *Glomus cubense* (Y.Rodr. & Dalpé) (6) perteneciente al cepario del INCA, La Habana, Cuba y un conglomerado de especies (Consortio Selva), perteneciente al CINVESTAV, Irapuato, México. El conglomerado está integrado por las siguientes especies: *Glomus constrictum* (Trappe); *Glomus geosporum* (Nicol. & Gerd.) Walker; *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske, *Glomus tortuosum* Schenck & Smith y *Acaulospora scrobiculata* Trappe.

Tabla I. Características químicas del sustrato empleado

pH (agua)	MO (%)	N (kg/ha)	P ₂ O ₅ (mg.kg ⁻¹)	K	Ca (cmol/kg)	Mg	Na
7.82	0.75	29.68	4.36	0.31	4.7	0.86	0.28

Determinaciones químicas: pH H₂O (potenciómetro)
Materia orgánica M.O. (Walkley Black), P (Olsen), Cationes (NH₄Ac a pH 7)

El experimento se desarrolló en invernadero con condiciones semicontroladas. Para ello se utilizaron macetas de plástico de 2.3 kg de capacidad, a las que se le añadieron 10 g de inóculo (11 esporas.g⁻¹). Se colocaron dos semillas por maceta hasta la fase de germinación y luego se efectuó un raleo dejando una planta por maceta y diez plantas por tratamiento. Las plantas fueron regadas con agua destilada y fertilizadas semanalmente con solución nutritiva Long Ashton (LANS). En algunos tratamientos se realizaron modificaciones en la concentración de fósforo, añadiéndose 22 y 44 mg.kg⁻¹ de este elemento, respectivamente. Se empleó un diseño completamente aleatorizado y los tratamientos se muestran en la Tabla II.

Tabla II. Tratamientos estudiados con diferentes dosis de fósforo

Tratamientos		
T1	Sin inocular	22 (mg.kg ⁻¹)
T2	Sin inocular	44 (mg.kg ⁻¹)
T3	<i>Glomus cubense</i>	22 (mg.kg ⁻¹)
T4	<i>Glomus cubense</i>	44 (mg.kg ⁻¹)
T5	Consortio	22 (mg.kg ⁻¹)
T6	Consortio	44 (mg.kg ⁻¹)

Las variables de crecimiento fueron determinadas en dos momentos, a los 50 días se midió la altura y el diámetro de las plantas y a los 61 días se determinó además la masa seca. Las variables fisiológicas, conductancia estomática y tasa fotosintética se

determinaron en plantas de 56 días de edad mediante un equipo portátil, modelo Li- 6200 (Licor, Nebraska, USA) en hojas jóvenes de las plantas. Las variables fúngicas, frecuencia e intensidad micorrízica se determinaron al finalizar el experimento, mediante tinción con Azul de tripano (7) utilizando la metodología descrita por Trouvelot *et al.* (8).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos fueron analizados mediante el *software* SPSS para *Windows* (SPSS 11.5). Se verificó el cumplimiento de las premisas del ANOVA, normalidad y homogeneidad de varianza. Los valores de porcentaje de colonización micorrízica (% col) fueron transformados por la función $\arcsen\sqrt{x}$. En los casos en que existía significación, para la discriminación de las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar las variables altura de las plantas y diámetro del tallo se observó, de forma integral, que los mejores tratamientos resultaron el T3 (*Glomus cubense*, 22 mg.kg⁻¹) y T6 (Consortio Selva 44 mg.kg⁻¹). Estos resultados corroboran la eficiencia de la especie *Glomus cubense* y su efectividad en el cultivo del maíz, ya que no difirió del Consortio Selva, aun con los valores más bajos de fósforo. De forma general, no se observaron diferencias entre los tratamientos controles para las dos variables evaluadas y entre estos tratamientos y los T4. *Glomus cubense* (44 mg.kg⁻¹) y T5. Consortio Selva (22 mg.kg⁻¹) para el diámetro del tallo.

Los resultados del segundo muestreo evidencian que el T4. Consortio Selva (44 mg.kg⁻¹) mantiene los mayores valores en estas variables incluida la masa seca; el resto de los tratamientos no mostró diferencias significativas entre sí a excepción del T1. Sin inoculación (22 mg.kg⁻¹) que presenta los menores valores de estas variables. El comportamiento positivo del tratamiento T4. Consortio Selva (44 mg.kg⁻¹) podría estar relacionado con las características del sustrato en el que se desarrolló el experimento, ya que el mismo se utiliza usualmente para la reproducción y el mantenimiento de este conglomerado de especies de HMA. En este ensayo también se pudo apreciar una respuesta positiva de la especie *Glomus cubense*, que mostró valores en la estimulación del crecimiento similares a los obtenidos con el conglomerado.

El suelo empleado en este estudio tiene muy baja fertilidad, lo que al parecer no influyó de forma negativa en la respuesta de la especie *Glomus cubense* sobre el crecimiento de las plantas. Diferentes estudios realizados con esta especie han mostrado su alta eficiencia en suelos de media a alta fertilidad. Sin embargo, estos resultados están en correspondencia con estudios realizados que permiten ampliar este rango de eficiencia micorrízica, en algunas cepas muy específicas, a condiciones de baja y muy baja fertilidad de suelo (9).

Los hongos micorrízicos arbusculares se comportan de manera diferente con respecto a la función que realizan, al igual que las plantas difieren en su respuesta según sea la especie micorrízica que la colonice (3), por lo que un conglomerado de especies de HMA le brindará a las plantas un mayor desarrollo vegetal y mayores relaciones benéficas. Sin embargo, no todas las especies micorrízicas tienen el mismo efecto sobre las plantas que colonizan o simplemente estos no se manifiestan con la misma intensidad. La eficiencia en la simbiosis micorrízica arbuscular depende de las especies asociadas, de manera que los beneficios que obtenga una especie vegetal dependerán de la especie de HMA a que esté asociada (10).

En los resultados de las variables fúngicas, frecuencia e intensidad de la colonización, se aprecia que los mayores valores para ambas variables correspondieron a los tratamientos donde se empleó el Consortio Selva. La especie *Glomus cubense* presentó valores muy bajos, similares a los controles.

La mayor presencia de estructuras fúngicas en los tratamientos donde se empleó el consorcio pudo estar dado por la diversidad de las especies que lo conforman.

A pesar de las pocas estructuras fúngicas encontradas para la asociación con *Glomus cubense*, se apreció la eficiencia de esta especie ya que no se encontraron diferencias significativas en las variables de crecimiento analizadas entre esta especie y el consorcio fúngico, aun cuando este mostró los mayores valores de estructuras fúngicas.

El estudio de los efectos fisiológicos que desencadenan la presencia eficiente de la asociación micorrízica aún no están totalmente dilucidados y la estrecha relación existente entre el comportamiento de las numerosas especies de HMA y los sustratos en los cuales se desarrollan, es un aspecto poco abordado por la comunidad científica internacional. Por tanto, son pocos los trabajos en los que se incluyen mediciones de tasa fotosintética y otras variables fisiológicas para evaluar la respuesta de las plantas a la micorrización. En este cultivo en particular, no se han informado estudios previos que empleen cepas, concentrados de especies y diferentes sustratos con este enfoque integral (11).

Los resultados en estas variables muestran los valores más altos en los tratamientos en que se empleó la especie *Glomus cubense*, no coincidiendo con los resultados de las variables fúngicas, cuyos valores más altos se obtuvieron en el Consortio Selva. Esta respuesta pudo haber estado condicionada por la edad fisiológica del cultivo, el que solo contaba 56 días de edad cuando se realizaron los análisis. Otros estudios realizados en plantas de café inoculadas con siete consorcios aislados de diferentes agroecosistemas encontraron que los efectos benéficos de los consorcios micorrízicos se observaban a partir de los 90 días después de la inoculación (12).

Los HMA mejoran el estado hídrico del hospedero y las plantas micorrizadas incrementan su tasa de

intercambio gaseoso, presumiblemente para reponer el carbono utilizado en la manutención del hongo; por lo que los valores de conductancia estomática y de tasa fotosintética serán superiores en las plantas micorrizadas en relación con las no micorrizadas, lo que se traduce en mayores tasas de crecimiento (13). El maíz, es un cultivo que se coloniza eficientemente por los HMA y como ocurre en otras especies, esta interacción simbiótica aumenta significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas, el contenido de fósforo, la acumulación de masa seca y la tasa fotosintética bajo condiciones de fósforo limitadas (14).

En estudios realizados en plántulas de mandarina se obtuvo valores superiores de conductancia estomática, tasa fotosintética y transpiración en las plantas micorrizadas (15). La fotosíntesis, al igual que otros procesos biológicos, está determinada por diferentes factores y su incremento puede estar condicionado por una mayor concentración de CO₂ en el interior de las células, a ello contribuye la apertura y cierre de los estomas que permiten el intercambio de gases con el medio que rodea a las plantas (16).

Los resultados de este trabajo muestran de manera general, los beneficios que brindan el empleo de inoculantes micorrízicos en el crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz, de la misma forma que la respuesta diferenciada de estos está en función de una sola especie o un conglomerado de especies. La diversidad de estos hongos es muy amplia y es una temática muy estudiada en el mundo. De igual manera, el comportamiento de estos microorganismos variará en función de las condiciones edáficas y del cultivo en que se desarrollen, aspectos de vital importancia para la obtención de una respuesta eficiente de los hongos micorrízicos arbusculares. El ensayo realizado demuestra la versatilidad de estos microorganismos, su poder de adaptación a las diferentes condiciones que se presentan y sus potencialidades en el cultivo del maíz.

REFERENCIAS

- Verissimo, L. A. Enciclopedia práctica de la agricultura y la ganadería. Cereales. Maíz. Editorial Oceano. Barcelona. 2003, p. 309-318. ISBN 84-494-1411-3.
- Smith, S. y Read, D. Colonization of roots and anatomy of arbuscular mycorrhiza, en Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press : London, 2008, p. 42-90.
- Guerra-Sierra, B. E. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, 2008, vol. 21, no. 1, p. 191-201.
- Herrera-Pereza, R.A.; Hamel, C.; Fernández, F.; Ferrer, R. L. y Furrázola, E. Soil -Strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants. *Mycorrhiza*, 2011, vol. 21, no. 3, p. 183-193.
- Deguchi, S.; Shimazaki, Y.; Uozumi, S.; Tawarayama, K.; Kawamoto, H. y Tanaka, O. White clover living mulch increases the yield of silage corn via arbuscular mycorrhizal fungus colonization. *Plant Soil*, 2007, vol. 291, no. 1-2, p. 291-299. DOI: 10.1007/s11104-007-9194-8.
- Rodríguez, Y.; Dalpé, Y.; Siguen, S.; Fernández, K.; Fernández, F. y Rivera, R. A. *Glomus cubense* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *MYCOTAXON*, 2011, vol. 118 (octubre-septiembre), p. 337-347.
- Giovanetti, M. y Mosse, B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist*, 1980, vol. 84, p. 489-500.
- Trouvelot, A.; Kough, J. y Gianinazzi, V. Pearson. Mesure du Taux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de Methodes d' Estimation ayant une Signification Fonctionnelle. Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. INRA, 1986, p. 217-222.
- Rivera-Espinosa, R. A.; Fernández-Martín, F. y Hernández-Jiménez, A. La simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. El manejo eficiente. Estudio de caso : El Caribe. La Habana : Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). 171 p. ISBN: 959-7023-24-5.
- Harris-Valle, Citlalli; Esqueda, Martín; Valenzuela-Soto, Elisa, M. y Castellanos, Alejandro E. Tolerancia al estrés hídrico en la interacción planta-hongo micorrízico arbuscular: Metabolismo energético y fisiología. *Revista Fitotecnia Mexicana* [en línea]. ISSN 0187-7380. 2009, vol. 32. [Citado 2012-06-21]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/artpdfred.jsp?icve=61011789002>.
- Mena Echevarria, Aracely /et al./ Influencia de la inoculación con *Glomus hoi-* like y un conglomerado de especies de HMA en el crecimiento de plantas de sorgo sometidas o no a estrés hídrico. *Cultivos Tropicales* [online]. 2011, vol. 32, no. 1, ISSN 1819-4087 [consultado: 2012-06-13]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362011000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es>.
- Trejo, Dora; Ferrera-Cerrato, R.; García, R.; Varela, Lucía.; Lara, L. y Alarcón, A. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista chilena de historia natural*, 2011, vol. 84, p. 23-31.
- Augé, R. M.; Toler, H. D.; Sams C. E. y Nasim, G. Hydraulic conductance and water potential gradients in squash leaves showing mycorrhiza-induced increases in stomatal conductance. *Mycorrhiza*, 2008, vol. 18, p. 115-121.
- Parniske, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2008. no. 6, p. 763-775.
- Qiang Sheng, W.; Ying Ning Z. y Ren Xue, X. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. *European Journal of Soil Biology*, 2006, vol. 42, p. 166-172.
- Taiz, L. y Zeiger, E. *Plant Physiology*. 4. ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2006. 700 p. ISBN-10: 0878938567

Recibido: 8 de noviembre de 2011

Aceptado: 13 de septiembre de 2012