

MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES EN PLANTAS ADVENTICIAS DESARROLLADAS SOBRE UN SUELO ANTROPICO DE BUENOS AIRES

Patricia M. C. Pacios

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Pabellón II,
Ciudad Universitaria (1428) Buenos Aires

RESUMEN

En el presente trabajo se estudiaron las micorrizas vesículo-arbusculares de plantas adventicias. Se analizaron 7 especies que exhiben micorrizas de este tipo: *Paspalum notatum* Flueg.; *Cynodon dactylon* (L) Pers.; *Wedelia glauca* (Ort) Hoffmann, ex Hicken; *Hydrocotyle leucocephala* Cham. et schlechtd.; *Bromus brevis* Nees, apud Steud.; *Nothoscordum* sp. Kunt y Labiatae no identificada.

Se ensayaron diferentes técnicas de tinción y de diafanización de raíces para poder poner en evidencia la presencia de micorrizas y se ensayaron distintas técnicas para la obtención de esporas del suelo.

Se encontró mayor incidencia de infección en las plantas colectadas en verano, así como que la intensidad de infección estuvo de acuerdo con el alto tenor de P asimilable del suelo.

El método de tamizado húmedo y decantado propuesto fue el que dio los mejores resultados.

Fueron observados distintos tipos de infecciones en algunas de las plantas estudiadas.

Palabras clave: Micorriza vesículo-arbuscular; intensidad e incidencia de infección; esporas; tamizado húmedo y decantado.

VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAE IN ADVENTITIOUS PLANTS GROWN ON AN ANTHROPIC SOIL OF BUENOS AIRES

ABSTRACT

The object of this paper is to carry out a preliminary study of herbaceous plant vesicular-arbuscular mycorrhizae. Seven species having this type of mycorrhizae were studied: *Paspalum notatum* Flueg.; *Cynodon dactylon* (L) Pers.; *Wedelia glauca* (Ort) Hoffmann, ex Hicken; *Hydrocotyle leucocephala* Cham. et Schlechtd.; *Bromus brevis* Nees, apud Steud.; *Nothoscordum* sp. Kunt and nonidentified Labiatae.

Trials of several staining and clearing techniques for roots were carried out to show presence of mycorrhizae.

Trials were also carried out for techniques for obtaining spores from soil.

Higher incidence of infection in summer plants was found. The intensity of infection was in accordance to the high value of available P.

The proposed wet sieving and decanting method gave the best results.

Different types of parallel infections also appeared in some of the studied plants.

Key words: Vesicular-arbuscular mycorrhizae; intensity and incidence on infection; spores; wet sieving and decanting.

INTRODUCCION

Más de cien años de observación y experimentación con sistemas radiculares de plantas mostraron que existe micelio asociado normalmente con las raíces

de plantas saludables. Las hifas y los tejidos celulares asociados forman órganos compuestos que se llaman micorrizas (Frank, 1885), las cuales varían en estructura y composición de acuerdo con el hospedante, el hongo de que se trate y las condiciones del hábitat.

Según Pyronnel *et al.* (1969) las micorrizas vesículo-arbusculares presentan hifas que penetran en la corteza, pueden ser enrolladas ("pelotons" Gallaud, 1908) o con ramas haustoriales ramificadas dicotómicamente (arbusculos).

Las micorrizas vesículo-arbusculares están enormemente difundidas aunque Janos (1980) reconoce que existen plantas no micorrícicas entre Phytolaccaceae, Caricaceae, Malvaceae y Solanaceae. Los hongos que producen esta asociación son Mucorales, de la familia Endogonaceae.

Algunas formas fúngicas no son selectivas en cuanto a requerimientos y otras son muy específicas con respecto a éstos. Garret dice que los hongos micorrícicos son el punto final de la especialización y evolución de los parásitos. Harley (1968) puntualiza que las VAM son las micorrizas más comunes del Reino Vegetal.

El hospedante no depende de la micorriza, pero, bajo ciertas condiciones (poca cantidad de nutrientes) actúa como un sistema auxiliar de absorción (Nicolson, 1967; Bertheau *et al.*, 1980 y Powell, 1980).

Las micorrizas vesículo-arbusculares más comunes parecen ser causadas por *Glomus mosseae*, aunque también pueden existir otras especies como *Glomus tenuis*, *Glomus etunicatus*, *Gigaspora calospora*, *Gigaspora geospora*, *Gigaspora gigantea*, *Acaulospora spp.*, *Sclerocystis spp.* etc. (Tzen *et al.*, 1980; Sward, 1980 y Ocampo, 1980). La germinación de las esporas se produce aún en medios tan pobres como agar-agua 1,5-2 % (Gerdermann, 1955) o en agua estéril sobre soporte inerte (Barea, com. pers.). Los tubos de germinación se producen al azar y pueden tener gran desarrollo, aunque para dar esporas secundarias es necesaria la presencia de la raíz entera.

Los hospedantes suelen ser micotróficos porque su crecimiento se ve incrementado por la presencia de las micorrizas. Las plantas micorrizadas crecen más rápidamente que las no micorrizadas. Existe translocación de carbono del hospedante al hongo. Los hongos micorrícicos aportan ventajas para la planta en la absorción de minerales en algunos suelos, debido a que, en suelos pobres en P lábil, los pelos radiculares son ineficaces, dado que el P difunde muy pobremente; en cambio las hifas pueden extenderse mucho más lejos que los pelos radiculares (Janos, 1980; Stribley, 1980).

En el presente trabajo se estudiaron diversos métodos para la coloración de raíces y para determinar el grado de incidencia y de intensidad de infección de hongos micorrícicos. Adicionalmente se observó la relación de la infección en raíces según la temporada del año y la relación con el P presente en el suelo.

También se determinó la presencia de hongos patógenos en las raíces de algunas de las especies estudiadas.

MATERIALES Y METODOS

La recolección de especies y muestras del suelo se efectuó en el Campo Experimental de la Ciudad Universitaria, Nuñez, dado que en ella no existe aporte de materia orgánica extra para la actividad de los microorganismos. La zona era aledaña a un eucalipto, donde la vegetación tiene las mismas características de aquella que crece espontáneamente en la provincia de Buenos Aires. Las plantas analizadas fueron: *Paspalum notatum*, perenne; *Cynodon dactylon*, perenne; *Bromus brevis*, anual o bianual; *Wedelia glauca*, perenne; *Hydrocotyle leucocephala*, perenne; *Nothoscordum sp* muy joven; Labiatae no identificada (sólo poseía fruto). Las recolecciones se efectuaron durante varios meses a lo largo de 1980 y 1981.

El análisis de suelo dio los siguientes resultados: color grisáceo muy oscuro (10YR 3/2), textura franca (arcilla 22%, limo 45%, arena 33%) humedad equivalente 27,9%; pH hasta 6,8; conductividad eléctrica en extracto de saturación 0,57 dSm⁻¹; carbono orgánico 4,02% N total 0,12%; P (Bray) 23,3 ppm. Suelo antrópico. Se clasificó como un Arente (Soil Taxonomy).

Para coloración de raíces se usaron tanto raíces frescas como fijadas en FAA (formol-ácido acético-alcohol), en ambos casos las raíces podían ser pigmentadas o sin pigmentos, realizando en todos los casos la coloración de Phillips y Hayman (1970). Se ensayó también la colaboración utilizada por Cox y Sanders (1974) y Nicolson (1956) que agrega el azul de algodón al lactofenol Sudán IV, la cual resultó buena ya que tiñe lípidos. También se usó la técnica de diafanización de Strittmatter (1973). Esta técnica resultó muy drástica y fue descartada, eligiéndose para diafanizar la de Phillips y Hayman (1970) y para teñir la mencionada por Nicolson (1956), por ser las que dan mejores resultados, siendo necesario modificar la concentración de hidróxido de potasio en *Hydrocotyle leucocephala* bajándola a 2,5% para diafanizar, dadas las características del material.

Mediciones realizadas

a) Estimación de la infección por hongos micorrícicos:

1. Incidencia: Número de fragmentos infectados x 100/Número total de fragmentos.
2. Intensidad: Longitud de micelio de cada corte x 100/longitud máxima de micelio.

b) Detección de otras infecciones paralelas:

1. Traqueomicosis: se la determinó sólo por incidencia: Número de fragmentos infectados x 100/Número total de fragmentos.

2. Esporas de Engodonaceae (internas y superficiales):

- Incidencia: número de fragmentos infectados x 100/Número total de fragmentos.
- Intensidad: (Número de esporas/cm² raíz) x 100/(Número máximo de esporas/cm² raíz).

Medición del número de esporas presentes en el suelo: Se probó la técnica de líneas paralelas en papel de filtro, en la que 10 g suelo + 10 ml agua, se agita, se deja decantar. Se toma 1 ml con pipeta, se hacen líneas paralelas en papel de filtro. Los papeles de filtro usados fueron: Whatman N° 1, 5, 40, 41, 42 y 91. Se probó también una pequeña modificación del método de líneas paralelas en papel de filtro que consiste en: 10 g suelo + 9 ml agua + 1 ml azul de algodón al lactofenol, luego se sigue como el anterior. En ambos casos se cuenta bajo lupa el número de esporas presentes en cada línea.

Para medir el número de esporas presentes en el suelo también se probó la técnica de tamizado húmedo y decantado (Gerdermann y Nicolson, 1963); se la probó de dos maneras diferentes, siendo una de ellas la tradicional, mientras que la otra puede verse en la Figura 1. Siendo la desventaja de ésta última que sólo sirve para hacer recuento del número de esporas, mientras que la utilizada por González (1980) sirve también para la recolección y posterior aislamiento de las especies.

Los datos de incidencia de la infección pueden ob-

servarse en la Tabla 1. Se puede ver en ella que todas las plantas analizadas presentan infección micorrícica, tanto en forma de micelio como de esporas. Con respecto a los micelios superficiales, el castaño se encuentra en todas las plantas analizadas mientras que el hialino sólo falta en Labiatae. Traqueomicosis presentan únicamente *Hydrocotyle leucocephala*, *Wedelia glauca*, y Labiatae; mientras que *Bromus brevis* sólo exhibe esporas de *Rhizoctonia sp.*

Los datos de intensidad de infección se consignan en los histogramas (Figura 2). En ellos, la gran mayoría de los cortes de todas las plantas analizadas presentan una intensidad de la infección que oscila entre 0,1-10,0%, siendo pocos o ninguno los casos en que se supera dicho valor.

DISCUSION

Se observa que para plantas colectadas en verano (*Hydrocotyle leucocephala* y *Paspalum notatum*) la incidencia de la infección es mayor que para aquellas colectadas en invierno (las restantes).

Aunque no se descarta la característica individual de cada especie, en cuanto a incidencia de infección, esto coincide con el hecho de que la planta en invierno permanece con un bajo crecimiento, registrándose en este caso, en cuanto a esporas maduras presentes en el suelo una cantidad pobre. Según la literatura, en cuanto a micelio micorrícico, raíces jóvenes presentan una infección prácticamente nula, raíces de edad intermedia del orden del 50% y raíces senescentes aproximadamente del orden del 90% (Mosse, 1959 b). Al comenzar la primavera la planta presenta un importante crecimiento vegetativo, las esporas del suelo se encuentran en aproximadamente la misma cantidad que en invierno; en cuanto a infección micorrícica, en raíces jóvenes es de aproximadamente 20%, en las de edad intermedia es de 60-65% y en las raíces senescentes es del orden del 70%. En verano, el número de esporas presentes en el suelo aumenta notoriamente con respecto a las temporadas anteriores, 200% aproximadamente y para infección micorrícica en raíces jóvenes es del 25%, en raíces de edad intermedia es del 90% y en raíces senescentes oscila entre 75-80%, mientras que los puntos de entrada (que podrían ser en realidad puntos de salida) son del orden 4.6 p.e./mm longitud de raíz (Mosse, 1959 b). En otoño, el número de esporas presentes en el suelo decrece, y la infección micorrícica de raíces jóvenes es de 90%, del 100% para raíces de edad intermedia y 80% para raíces senescentes, mientras que los puntos de entrada aumentan considerablemente, pasando de 4,6 en la temporada anterior a 9.7-10.7 p.e./mm longitud de raíz en ésta.

TABLA 1: Incidencia de infección.

	1	2	3	4	5	6
A	56,66	83,34	73,34	60,00	86,00	00,00
B	20,00	50,00	33,34	26,66	00,00	13,34
C	37,03	77,77	92,60	74,07	23,34	00,00
D	70,00	80,00	100,00	76,66	00,00	00,00
E	26,66	6,00	46,66	36,66	00,00	00,00
F	70,00	20,00	70,00	76,34	00,00	00,00
G	71,42	00,00	57,14	100,00	85,71	00,00

A: *H. leucocephala*; B: *B. brevis*; C: *W. glauca*; D: *P. notatum*; E: *C. dactylon*; F: *Nothoscordum sp.*; G: *Labiatae*.

- 1: Micelio hongo micorrícico, endocortical, inter y/o intracelular.
- 2: Micelio superficial hialino sobre el rizoplaneo.
- 3: Micelio superficial castaño sobre el rizoplaneo.
- 4: Esporas hongo micorrícico, superficiales o endocorticales, pudiendo ser en este último caso inter o intracelulares.
- 5: Traqueomicosis.
- 6: Esporas de *Rhizoctonia sp.* siempre endocorticales e intracelulares.

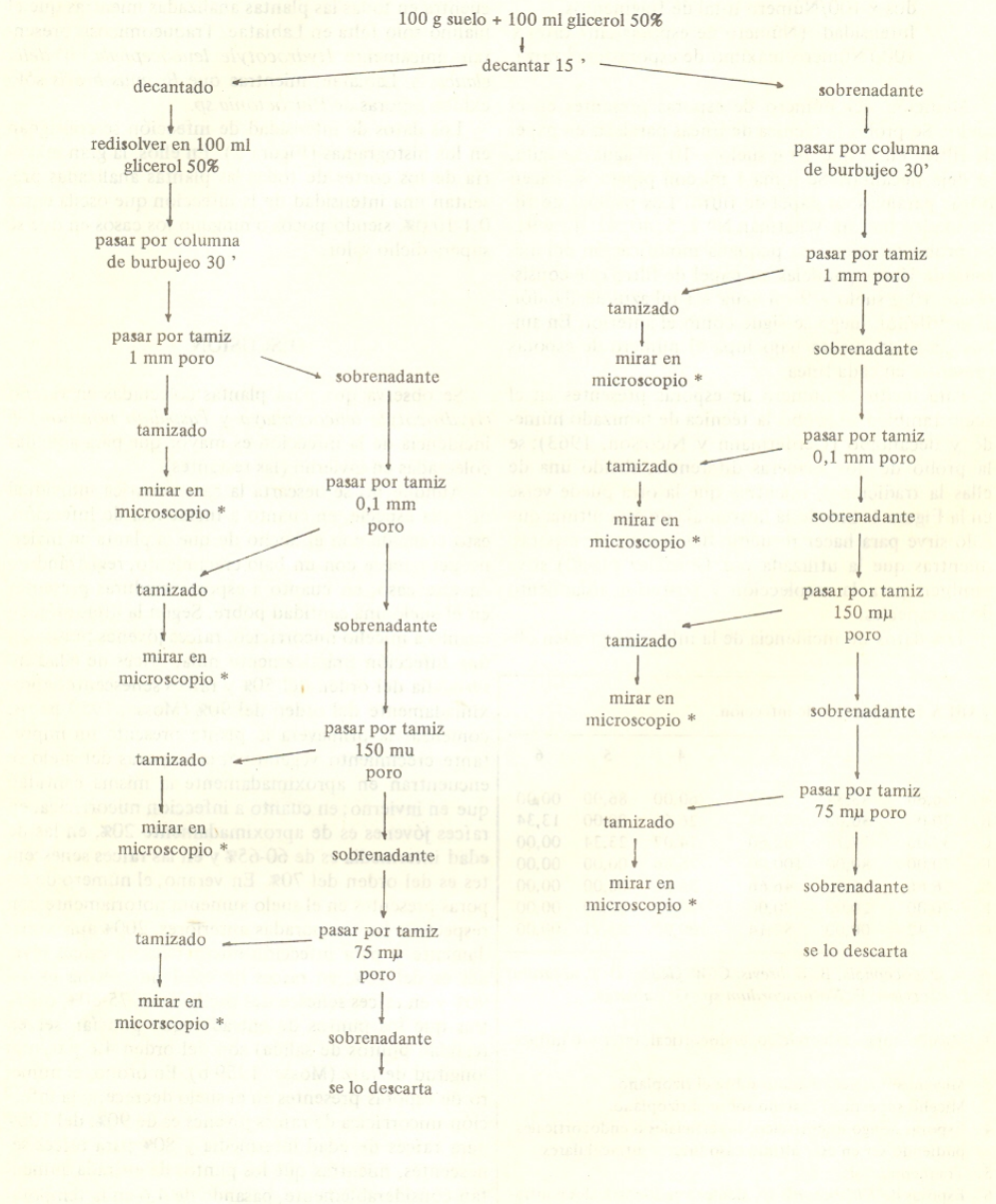
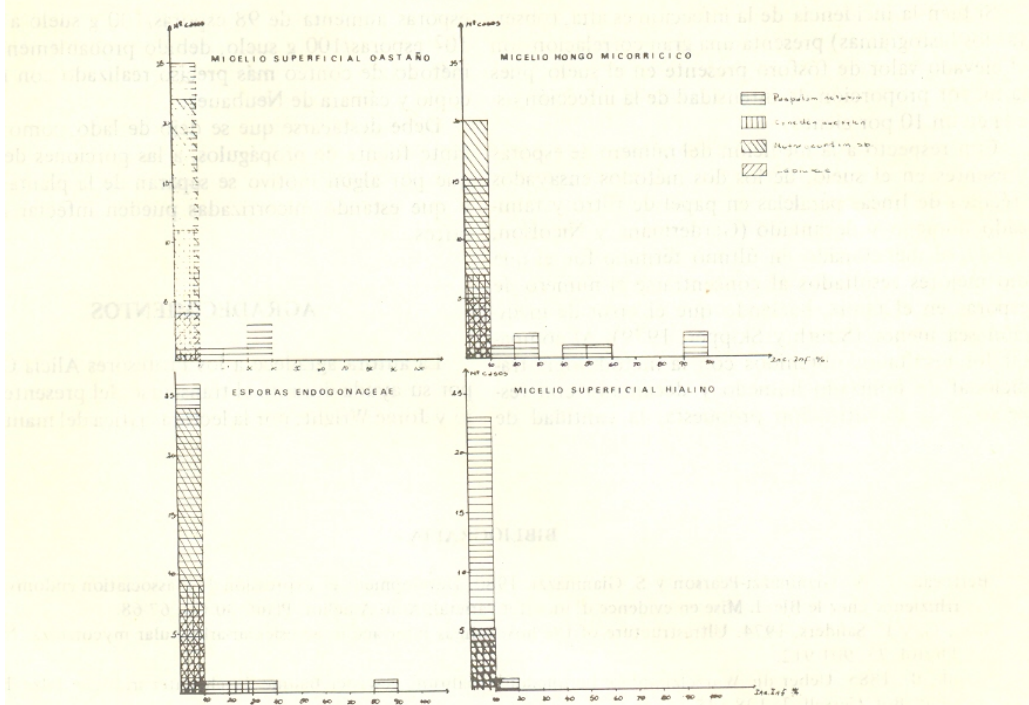


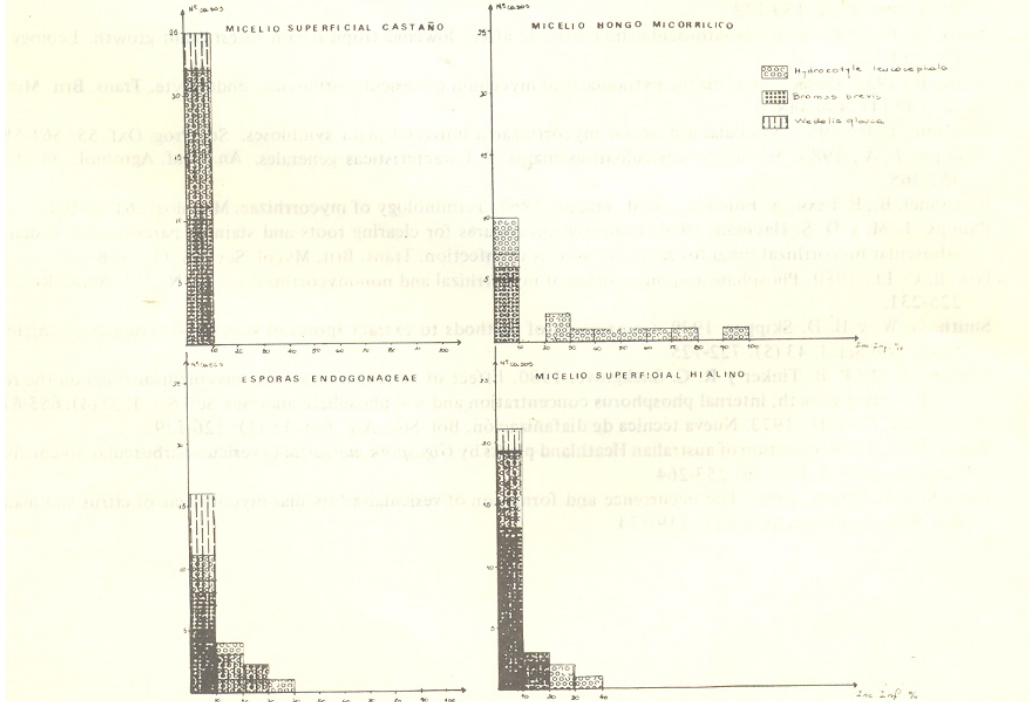
Figura 1: Esquema de tamizado húmedo y decantado modificado.

* Se resuspende a razón de 2,5 ml de glicerol 50% por cada 0,1 gramo de suelo tamizado, luego se observa en microscopio en cámara de Neubauer.

INTENSIDAD DE INFECCIÓN



INTENSIDAD DE INFECCIÓN



Si bien la incidencia de la infección es alta, (observar los histogramas) presenta una gran correlación con el elevado valor de fósforo presente en el suelo, pues la mayor proporción de intensidad de la infección oscila en un 10 por ciento.

Con respecto a la medición del número de esporas presentes en el suelo, de los dos métodos ensayados (técnica de líneas paralelas en papel de filtro y tamizado húmedo y decantado (Gerdermann y Nicolson, 1963), el mencionado en último término fue el que dio mejores resultados al concentrarse el número de esporas en el tamiz, haciendo que el error de medición sea menor (Smith y Skipper, 1979). Al comparar los resultados obtenidos con la metodología tradicional de tamizado húmedo y decantado con respecto a la modificación propuesta, la cantidad de

esporas aumenta de 98 esporas/100 g suelo a 75.8 x 10² esporas/100 g suelo, debido probablemente a un método de conteo más preciso realizado con microscopio y cámara de Neubauer.

Debe destacarse que se dejó de lado, como importante fuente de propágulos, a las porciones de raíces que por algún motivo se separan de la planta madre y que estando micorrizadas pueden infectar a otras raíces.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a los Profesores Alicia Godeas, por su ayuda durante el transcurso del presente trabajo y Jorge Wright, por la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

- Bertheau, Y.; V. Gianinazzi-Pearson y S. Gianinazzi, 1980. Développement et expression de l'association endomycorrhizienne chez le Blé. I. Mise en évidence d'un effet variétal. Ann. Amélior. Plant. 30 (1): 67-68.
- Cox, G. y F. Sanders, 1974. Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol. 73: 901-912.
- Frank, B., 1885. Ueber die Wurzelzymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unter irdische Pilze. Ber. Deut. Bot. Gesell. 3: 128-145.
- Gerdermann, J. W. y T. H. Nicolson, 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46 (2): 235-244.
- Gonzales, S., 1980. Combinación de Técnicas para recolección de esporas arbusculares. Actas 9º R.A.C.S., I: 341-346.
- Harley, J. L., 1968. Mycorrhizae. En: The Fungi. An advanced treatise. Vol. III The fungal population. Academic Press, New York. 139-178.
- Janos, D. P., 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth. Ecology 61 (1): 151-162.
- Mosse, B., 1959. Observations on the extra-matrical mycelium of vesicular-arbuscular endophyte. Trans. Brit. Mycol. Soc. 42 (4): 439-448.
- Nicolson, T. H., 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhizae a universal plant symbioses. Sci. Prog. Oxf. 55: 561-581.
- Ocampo, J. A., 1980. Micorizas vesículoarbusculares. I. Características generales. An. Edaf. Agrobiol. 39 (1-2): 351-365.
- Peyronnel, B.; B. Fassi; A. Fontana y J. M. Trappe, 1969. Terminology of mycorrhizae. Mycologia 61: 410-411.
- Phillips, J. M. y D. S. Hayman, 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. 55. (1): 158-161.
- Powell, C. L., 1980. Phosphate response curves of mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. N. Z. J. Agric. Res. 23: 225-231.
- Smith, G. W. y H. D. Skipper, 1979. Comparison of methods to extract spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. J. 43 (5): 722-725.
- Stribley, P. D.; P. B. Tinker y R. C. Snellgrove, 1980. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the relations of plant growth, internal phosphorus concentration and soil phosphate analyses. Soil Sci. J. 31(4): 655-672.
- Strittmatter, C. G. D., 1973. Nueva técnica de diafanización. Bol. Soc. Arg. Bot. 15 (1): 126-129.
- Sward, R. J., 1978. Infection of australian Heathland plants by *Gigaspora margarita* (a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus). Austr. J. Bot. 26: 253-264.
- Tzen, S. y Y. Huang, 1980. The occurrence and formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae of citrus and maize. Bot. Bull. Academia Sinica 21: 119-134.

