

Micorrizas vesículo arbusculares y su incidencia en el crecimiento de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh*

Vesicles arbuscles mycorrhiza and its incidence on the growth of
Eucalyptus camaldulensis Dehnh. seedlings

GUILLERMO PEREIRA¹, MANUEL SANCHEZ², DARCY RIOS², MIGUEL A. HERRERA³

¹Depto. Forestal, Campus Los Angeles, Universidad de Concepción, J. A. Coloma 0201, Los Angeles, Chile.

²Depto. Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. Victoria 631, Concepción, Chile.

³Depto. Ingeniería Forestal, E.T.S.I.A.M., Universidad de Córdoba, Apartado 3048, 14080 Córdoba, España.

SUMMARY

Several publications have shown beneficial effects of ectotrophic mycorrhizas on the growth of *Eucalyptus* species. However, this genus can establish symbiosis with endotrophic mycorrhizas and, in some cases, form ecto and endomycorrhizas. The effect on growth of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. by two mycorrhizal fungi *Glomus intraradices* (Schenck and Smith) and *Glomus mosseae* (Nicolson and Gerdemann; Gerdemann and Trappe) was assessed in this study. The results showed that *Glomus intraradices* had a higher incidence in variables such as plant height, nutrient uptake, aerial weight, leaf surface area and leaf chlorophyll content.

Key words: vesicles arbuscles mycorrhiza, *Eucalyptus*, plant growth.

RESUMEN

Numerosas publicaciones han reportado efectos benéficos de las micorrizas ectotróficas sobre el crecimiento en especies del género *Eucalyptus*. Sin embargo, esta especie también forma simbiosis con micorrizas endotróficas, o con los dos grupos a la vez. En el presente estudio se evalúa el efecto de dos especies de micorrizas vesículo arbusculares (*Glomus intraradices* Schenck & Smith y *Glomus mosseae* (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe) en el crecimiento de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., cultivadas a raíz cubierta a cuatro meses de su inoculación. Los resultados indican que *Glomus intraradices* tiene mayor incidencia en el crecimiento en altura, absorción de nutrientes, peso aéreo de las plantas, área foliar y contenido de clorofila en las hojas.

Palabras claves: micorrizas vesículo arbusculares, *Eucalyptus*, crecimiento.

INTRODUCCION

Las micorrizas se definen como asociaciones simbióticas mutualísticas entre raíces de plantas y determinados hongos del suelo (Azcón-Aguilar & Barea, 1980; Harley & Smith, 1983; Trofymow & Van Den Driessche, 1991; Pereira *et al.*, 1999). Esta relación hongo-planta ha sido objeto de in-

tenso estudios en el presente siglo, concentrándose especialmente en las últimas dos décadas, con lo que se ha podido determinar que las micorrizas son una parte integral de la planta con un importante papel en el crecimiento y desarrollo del vegetal (Linderman, 1988; Honrubia, *et al.*, 1992). La mayoría de las plantas que viven en la superficie terrestre presentan esta simbiosis (Harley &

* Los resultados de este estudio forman parte del proyecto DIUC 99.415.002-10, financiado por la Dirección de Investigación de la Universidad de Concepción.

Smith, 1983; Barea, 1991; Gianinazzi-Person & Azcón-Aguilar, 1991; Linderman, 1994; Brundrett *et al.*, 1996). Al respecto, las especies del género *Eucalyptus* no son la excepción.

En Chile, en décadas pasadas, varias son las especies de *Eucalyptus* que han sido introducidas, algunas de ellas exitosamente cultivadas en la actualidad en la zona centro sur. Sin embargo, amplias zonas de climas áridos y semiáridos de nuestro país demandan en la actualidad la forestación como vía de solución para evitar procesos adversos sobre el suelo. En este tipo de ambiente, donde las condiciones limitantes para la forestación se acentúan, escasas son las especies leñosas que pueden desarrollarse adecuadamente. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. y *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell., de acuerdo con Wrann *et al.*, (1993) y Delard, *et al.*, (2000), son dos especies potenciales a tener en consideración para este tipo de ambiente. Al respecto, la búsqueda de la simbiosis hongo-planta óptima es una herramienta que el silvicultor debe perseguir para potenciar a las plantas a producir y, de esta forma, contribuir al éxito en el establecimiento de ellas en ambientes adversos.

En el presente estudio se evalúa el efecto que pueden tener dos especies de micorrizas vesículo arbusculares sobre el crecimiento de la especie *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. en vivero.

MATERIAL Y METODOS

Dos especies de hongos micorrícicos vesículo arbusculares fueron utilizadas en este estudio, *Glomus intraradices* Schenck & Smith y *Glomus Mosseae* (Nicolson & Gerdeman) Gerdeman & Trappe. El primero proveniente de suelo muestreado en un rodal de *Eucalyptus* creciendo en la zona de Minas de Río Tinto, provincia de Huelva, España, y el segundo proveniente de la Estación Experimental del Zaidín (C.S.I.C., Granada, España). Como planta hospedadora se utilizó *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Las semillas de esta espe-

cie fueron germinadas en estufa a 24 °C y posteriormente llevadas a cámara de crecimiento (fotoperíodo 14 horas luz/10 horas oscuridad y temperaturas de 24 a 26 °C día y de 16 y 18 °C noche) durante 15 días, para su posterior trasplante.

El estudio se estableció utilizando un diseño completamente aleatorio, con tres tratamientos (plantas inoculadas con *G. intraradices*, plantas inoculadas con *G. mosseae* y plantas sin inoculo) y tres repeticiones; la unidad experimental estuvo constituida por quince plantas. La inoculación de las plántulas de *Eucalyptus* se realizó en contenedores de 220 ml, en una mezcla de sustrato (turba, vermiculita, perlita en proporción 4:2:1 v/v), previamente esterilizado a vapor fuente durante una hora por tres días consecutivos. A cada contenedor se le agregaron 3 gramos de inoculo de *G. mosseae* (con un potencial de micorrización de 75%), y en el caso de *G. intraradices* se realizó tamizado en húmedo y decantación (Gerdemann & Nicolson, 1963) de 100 g de suelo, agregando las esporas recolectadas en los tamices 200 y 50 micras de luz a cada contenedor. Posteriormente a la inoculación se realizó el trasplante de tres plántulas de *Eucalyptus* por receptáculo. Después de un mes de establecido el ensayo se aplicaron, a los tres tratamientos probados, cada dos semanas, 10 ml de solución nutritiva por receptáculo (Hoagland & Arnos, 1950).

La evaluación del ensayo se realizó después de cuatro meses de la inoculación de las plántulas de *Eucalyptus*, donde se determinó la incidencia de las micorrizas en el crecimiento de éstas, a través de variables morfológicas (altura, área foliar, peso seco aéreo y radicular) y variables fisiológicas (medidas de clorofila relativa (SPAD) y análisis foliares). La determinación de la presencia y grado de micorrización alcanzado por las plántulas se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Phillips & Hayman (1970) y Giovannetti & Mosse, (1980), respectivamente. Además de lo anterior se determinó la dependencia de las plántulas a la micorrización (DM) de acuerdo a la metodología descrita por Plenchette *et al.*, (1983).

$$DM = \frac{\text{Peso seco del tallo de planta micorrizada} - \text{Peso seco del tallo planta no micorrizada}}{\text{Peso seco del tallo planta micorrizada}} \times 100$$

Los resultados obtenidos fueron evaluados a través de análisis de varianza y cuando hubo diferencias significativas entre tratamientos, éstas fueron identificadas a través del test Tukey para comparaciones múltiples (Steel & Torrie, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del estudio muestran que la micorrización de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* con micorrizas vesículo arbusculares, a cuatro meses de la inoculación, tiene efectos positivos en el crecimiento en altura en plántulas cultivadas a raíz cubierta (tabla 1). Sin embargo, estas diferencias en crecimiento sólo alcanzan significancia estadística en aquellas plantas de *E. camaldulensis* que fueron inoculadas con la especie *G. intraradices*. Las diferencias en crecimiento en altura de las planta inoculadas con *G. intraradices* respecto al tratamiento control y a las plantas inoculadas con *Glomus mosseae* llegan a un 33,3% y un 21,9%, respectivamente. Resultados que concuerdan con los obtenidos por Godoy *et al.* (1991), en el sentido de la buena respuesta en crecimiento que experimentan las plantas de *E. camaldulensis* al ser inoculadas con *G. intraradices*.

Las diferencias en crecimientos se explicarían por el mayor grado de micorrización que alcanzaron las plantas inoculadas con *G. intraradices* (86,7%), lo que de acuerdo con HacsKaylo (1967), Harley & Smith (1983), Honrubia *et al* (1992) y

Brundrett *et al.* (1996) produciría un aumento en la absorción de agua y nutrientes para la planta. Al respecto, se debe hacer notar la mayor absorción de N, P y Mg que experimentan estas plantas a cuatro meses de su inoculación (figura 1).

Si se analiza el grado de dependencia de la especie leñosa estudiada a la micorrización, se observa, en la tabla 1, que las plantas tienen una baja dependencia a *G. mosseae* (3,1%), mientras que esta dependencia aumenta a un 22,5% para las plantas micorrizadas con *G. intraradices*, valores que se consideran bajos al compararlos con estudios realizados con especies agronómicas (Plenchette *et al.*, 1983). Sin embargo, la dependencia de *E. camaldulensis* a la micorrización con *G. intraradices* se considera alta al compararla con las once especies de *Eucalyptus* estudiadas por Adjout *et al.* (1996).

En la figura 1 se observa que existe mayor concentración de nitrógeno, magnesio y fósforo en las plantas inoculadas con *G. intraradices*. Por otra parte, se observa, en esta figura, que las plántulas inoculadas con *G. mosseae* tienen mayor concentración de nitrógeno (0,84%) respecto al tratamiento control (0,76%). Sin embargo, la concentración de fósforo del tratamiento plantas inoculadas con *G. mosseae* es levemente inferior al tratamiento control (0,13% y 0,14%, respectivamente). Lo anterior podría ser explicado por un efecto dilución que genera el aumento de la biomasa aérea (figura 3), resultado del efecto positivo de las micorrizas en el crecimiento de las plántulas.

TABLA 1

Altura media de las plántulas de *E. camaldulensis* a cuatro meses de la inoculación, grado de micorrización alcanzado y dependencia de las plántulas a la micorrización.

Average height of *Eucalyptus camaldulensis* seedlings after four months of inoculation, level of mycorrhization and plant dependency degree of seedlings on mycorrhization.

Tratamiento	Altura (cm)	Desviación estándar	Porcentaje de micorrización	Desviación estándar	Grado de dependencia (%)
Control	14,07 a	1,71	0	0	0
<i>G. mosseae</i>	15,40 a	1,35	49,33 a	5,13	3,1
<i>G. intraradices</i>	18,77 b	1,34	86,67 b	2,52	22,5

En las columnas, valores con igual letra no difieren significativamente (P = 0,05).

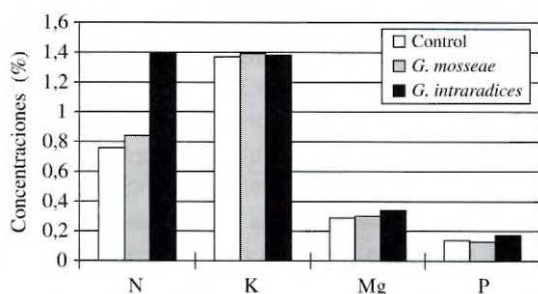


Figura 1. Contenido de N, K, Mg y P en hojas (% en materia seca) de plántulas de *E. camaldulensis*, cuatro meses después de realizada la inoculación.

N, K, Mg and P contents in leaves (% dry matter) of *E. camaldulensis* seedlings four months after inoculation.

En cuanto a la concentración de potasio, la figura 1 muestra que no existe diferencia entre tratamientos, pero que éstas se manifiestan al comparar la concentración total de este elemento en las hojas, como se observa en los resultados de la tabla 2. Respecto al magnesio, los resultados indican que existe una mayor concentración de este elemento en las plantas micorrizadas y que entre estos dos tratamientos *G. intraradices* es más eficiente en la entrega de este elemento a la planta que *G. mosseae* (0,30 y 0,34 %, respectivamente), tendencias que coinciden con las concentraciones totales de este elemento en las plantas (tabla 2).

Los resultados de la figura 2 muestran que existe un mayor incremento promedio del peso aéreo de las plantas de *E. camaldulensis* inoculadas, respecto al tratamiento control, y que estas diferencias se incrementan a medida que aumenta el grado de micorrización (tabla 1). Por otra parte, se observa que el peso radicular disminuye a medida que aumenta el grado de micorrización de las plántulas, lo que se debería a que las plántulas de

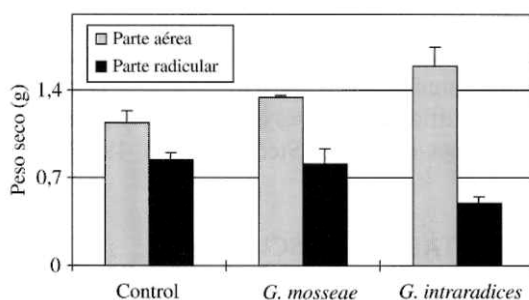


Figura 2. Pesos secos (g) de partes aéreas y radiculares de los diferentes tratamientos estudiados en plántulas de *E. camaldulensis*.

Dry weight (g) from shoot and root portions for the different treatments on *E. camaldulensis* seedlings.

E. camaldulensis al estar micorrizadas y éstas ser eficientes, tanto en la absorción de agua como nutrientes, permite destinar menor cantidad de carbohidratos, producto de la fotosíntesis, a la elaboración y mantenimiento del sistema radicular, con el consiguiente beneficio para el crecimiento aéreo de las plántulas. Esto se ve reflejado al relacionar Peso seco de la parte aérea (g) / Peso seco parte radicular (g), siendo esta relación más alta en las plántulas de *E. camaldulensis* micorrizadas (*G. intraradices* 3,18; *G. mosseae* 1,65 y Control 1,36), resultados que concuerdan con la literatura consultada, en el sentido de que las micorrizas vesículo arbusculares, además de incrementar la biomasa vegetal de las plántulas, influyen en la proporción en la cual ésta se distribuye en ellas (Smith, 1980; Kormanik, 1985; Roldan, 1985; Barea, 1991).

En la figura 3 se observa que existe mayor área foliar en las plantas micorrizadas respecto al tratamiento control (52,3; 33,5 y 28,9 cm², respectivamente); sin embargo, estas diferencias se hacen

TABLA 2

Contenidos totales de N, K, Mg y P en las hojas (g/planta), en los diferentes tratamientos estudiados.
Total contents of N, K, Mg and P on leaves (g/seedling) for the different treatments.

Tratamientos	N	K	Mg	P
Control	0,63	1,14	0,24	0,12
<i>G. mosseae</i>	0,86	1,42	0,31	0,13
<i>G. intraradices</i>	1,67	1,64	0,41	0,20

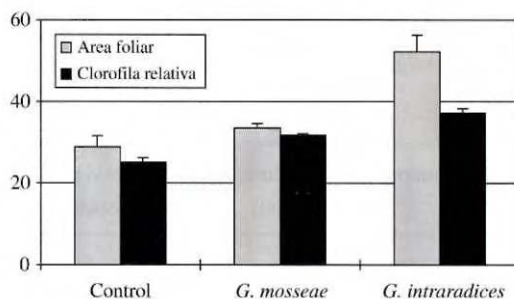


Figura 3. Promedios de área foliar (cm²) y clorofila relativa (unidades SPAD) por plantas en los diferentes tratamientos estudiados.

Average leaf area (cm²) and relative chlorophyll content (SPAD units) for plants in the different treatments.

significativas sólo para las plantas inoculadas con *G. intraradices* (52,3 cm²). Resultados que concuerdan con el mayor grado de micorrización alcanzado por este tratamiento (tabla1). Por otra parte, los resultados de la figura 3 muestran que el mayor contenido de clorofila relativa lo alcanzan las plantas de *E. camaldulensis* inoculadas con micorrizas VA, existiendo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos estudiados. Esta variable evaluada incide en la eficiencia de la absorción de la luz por las hojas de las plantas (Lorenzo, 1994; Gil, 1995) y, por ende, en forma indirecta en la fotosíntesis de ella. Mayor contenido de clorofila en la hoja implica mayor proporción de luz incidente absorbida por las hojas de las plantas; sin embargo, esta relación no mantiene proporcionalidad.

Relaciones lineales entre concentración de clorofila y nutrientes (N, Mg y Fe) han sido reportadas por la literatura (Van Den Driessche, 1991). Los dos primeros elementos forman parte de la molécula de clorofila, y están directamente relacionados en la síntesis de ella, al igual que el hierro. La deficiencia de cualquiera de éstos puede afectar la síntesis de clorofila (Guardiola y García, 1991). Al respecto, de acuerdo a los resultados que presenta la figura 1, la mayor concentración de nitrógeno y magnesio la alcanzan las plantas micorrizadas con *G. intraradices*, disminuyendo la concentración de estos dos elementos, tanto para las plantas micorrizadas con *G. mosseae* como para el tratamiento control, tendencia que se relaciona directamente con los contenidos de clorofila encontrado en las plántulas.

CONCLUSIONES

La inoculación de *Eucalyptus camaldulensis* en vivero con especies de micorrizas vesículo arbusculares tiene efectos positivos sobre el crecimiento de plántulas.

La inoculación en vivero de *Eucalyptus camaldulensis* con la especie *Glomus intraradices* tiene efectos significativos sobre el crecimiento de plántulas a cuatro meses de su evaluación.

La micorrización de *Eucalyptus camaldulensis* con *Glomus intraradices*, además de favorecer el crecimiento de las plántulas, tiene incidencia directa sobre la distribución interna de los carbohidratos.

Los mayores contenidos de clorofila relativa (unidades SPAD) obtenidos en este estudio están directamente relacionados con el grado de micorrización alcanzado por las plántulas.

BIBLIOGRAFIA

- ADJOUD, D., C. PLENCHETTE, R. HALLI-HARGAS. 1996. "Response of 11 *Eucalyptus* species to inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi". *Mycorrhiza* 6: 129-135.
- AZCON-AGUILAR, C., J. M. BAREA. 1980. "Micorrizas". *Investigación y Ciencia*. 47: 8-16.
- BAREA, J. M. 1991. "Vesicular-Arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility". *Advances in Soil Science* 15: 1-40.
- BRUNDRETT, M., N. BOUGHER, T. GROVE, N. MALAJCZUK. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR. Canberra. 374 p.
- DELARD, C, E. URQUIETA, M. GONZALEZ. 2000. *Eucalyptus camaldulensis* en Chile: Silvicultura, manejo, productividad y rentabilidad. Antecedentes generales. Instituto Forestal-Chile. Pp: 11-25.
- GERDEMANN, J. W., T. H. NICOLSON. 1963. "Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting". *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-44.
- GIANINAZZI-PERSON, V., C. AZCON-AGUILAR. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares. En: Olivares, J. y Barea, J. M: Fijación y movilización biológica de nutrientes. C.S.I.C. II: 175-201.
- GIL, M. F. 1995. *Elementos de fisiología vegetal*. Ed. Mundiprensa. Madrid. 1047 pp.
- GIOVANNETTI, M., B. MOSSE. 1980. "An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots". *New Phytol.* 84: 489-500.
- GODOY, R., C. RIQUELME, H. PEREDO, R. CARRILLO. 1991. Compatibilidad y eficiencia de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares en *Eucalyptus camaldulensis* y *Quillaja saponaria*. *Ciencia e Investigación Forestal.* 5: 237-250.
- GUARDIOLA B. J., A. GARCIA. 1991. *Fisiología vegetal I: Nutrición y transporte*. Madrid. 440 p.
- HACKAYLO, E. 1967. "Mycorrhizae: Indispensable invasions by fungi". *Agricultural science review* 5: 13-20.
- HARLEY, J. L., S. E. SMITH. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. Londres. 483 pp.
- HOAGLAND, D. R., D. I. ARNOS. 1950. The water culture method of grow plants without soil. Calif. Agric. Exp. Stn. Circ. 347 pp.
- HONRUBIA, M., P. TORRES, G. DIAZ, A. CANO. 1992. Manual para micorrizar plantas en viveros forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. ICONA. Madrid. 47 pp.
- KORMANIK, P. P. 1985. "Development of vesicular arbuscular mycorrhizae in a young sweetgum plantation". *Can. J. Forest Res.* 15: 1061-1064.
- LINDERMAN, R. G. 1988. "Mycorrhizal interaction with the rhizosphere microflora. The mycorrhizosphere effect". *Phytopathology.* 78: 366-371.
- LINDERMAN, R. G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. En: *Mycorrhizae and Plant Health*. Edit.: L. Pflieger and R. G. Linderman. APS Press. Minnesota, pp: 2-25.
- LORENZO, M. P. 1994. Intercepción de luz, bioproductividad e intercambio gaseoso durante la ortogenia de un cultivo invernal de *Cucumis sativus*, en Almería. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 220 pp.

- PEREIRA, G., I. ROLDAN, M. A. HERRERA. 1999. Micorrizas en especies leñosas. Consejería de Agricultura y Pesca. Dirección General de Investigación y Formación Agraria. Junta de Andalucía. España. 40 pp.
- 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", *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-61.
- PLENCHETTE C., J. A. FORTIN, V. FURLAN. 1983. "Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions", *Plant. Soil.* 70:199-209.
- ROLDAN, B. E. 1985. Micorrizas VA en cultivos arbóreos: Almendro, Naranja y Olivo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencia, Universidad de Granada 258. pp.
- SMITH, S. E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants". *Biol. Rev.* 55: 475-510.
- STEEL, R., J. H. TORRIE. 1989. *Bioestadística Principios y procedimientos*. 2ª edic. McGraw Hill, eds. México. 662 pp.
- TROFYMOW, J. A. R. VAN DEN DRIESSCHE. 1991. Mycorrhizas. En: *Mineral Nutrition of conifer seedlings*. CRC Press. Florida United States. pp: 183-227.
- VAN DEN DRIESSCHE, R. 1991. Effects of nutrients on stock performance in the forest. En: *Mineral nutrition of conifer seedlings*. CRC Press. Florida. United States. pp: 229-260.
- WRANN, J., F. ANDRADE, C. ALVEAR. 1993 Técnicas de establecimiento para *Eucalyptus cladocalyx* y *Eucalyptus camaldulensis* en la zona árida y semiárida de Chile. En actas del Simposio Los Eucaliptos en el desarrollo forestal de Chile. Pucón-Chile. pp: 417-438.