



CARACTERIZACIÓN DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN MAÍZ (VAR.ICA-508) DE CAJICÁ (COLOMBIA)

Yennifer Rendón, Carolina Mancipe, Viviana Andrade, Gabriel Bello Jimena Sánchez¹ ✉, Sandra Campos, Hugo Rivera

Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Grupo de Investigación Ecología Microbiana. Ciudad Universitaria Cra. 30 calle 45. Departamento de Biología. Bogotá. Colombia. 57- 1- 3165000 - Ext: 11326 / 11305.

✉: jsanchezn@unal.edu.co,

Palabras clave:
Endomicorrizas; *Zea mays* L.; colonización; suelo rizosférico.

RESUMEN

*El maíz es una planta micótrufa facultativa y un cultivo de interés socioeconómico. El estudio de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) contribuye en la búsqueda de alternativas sostenibles que minimicen el impacto derivado del uso de agroquímicos. Se caracterizó la asociación entre HFMA y maíz (*Zea mays* L. var.ICA- 508), en estado de madurez fisiológica, establecido en la huerta del Hogar Clarita Santos. Se realizó un diseño completamente al azar, con cuatro muestras y tres réplicas de suelo rizosférico y raíces. Se evaluó el porcentaje de colonización de raíces (%CR), número de esporas*100g⁻¹ de suelo seco (100g⁻¹ ss) y se caracterizaron los morfotipos presentes. El %CR total, presentó un valor promedio de 98% con diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras. En promedio se cuantificaron 205 esporas*100g⁻¹ ss, sin diferencias significativas ($p > 0.05$). Se observó, en promedio 68 morfotipos de HFMA, pertenecientes a los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Entrophospora*. Se verificó una alta colonización de los HFMA de la zona de estudio en las plantas de maíz var. ICA-508.*

CHARACTERIZATION OF FUNGI FORMERS ARBUSCULAR MYCORRHIZAE IN CORN (VAR.ICA-508) OF CAJICA (COLOMBIA).

Key words:
Endomycorrhizae; *Zea mays* L.; colonization; rhizosphere soil.

**SUELOS
ECUATORIALES**
43 (1): 29-34

ISSN 0562-5351

ABSTRACT

*Maize is a socioeconomic interest crop and a mycotrophic plant. Knowledge of arbuscular mycorrhizal fungi (AM fungi) helps in the searching of sustainable alternatives to minimize agrochemical impact. We characterized mycorrhizal association between AM fungi and physiologically mature maize (*Zea mays* L. var. ICA- 508), in orchard of Hogar Clarita Santos. We made a completely randomized design (4 sampling points, 3 replications). We sampled rizospheric soil and roots. The mycorrhizal colonization was evaluated using percent root colonization (%RC), spores number per 100 g of dry soil and characterization of spores. Mean %RC was 98%; there was significant difference between samples ($p < 0.05$). Mean spore number was 205 spores*100g⁻¹ of dry soil; there was not significant difference between samples ($p > 0.05$). We found a mean of 68 AM fungi belonging to three genera *Glomus*, *Acaulospora* and *Entrophospora*. We found high AM fungal colonization in var. ICA-508 maize.*

INTRODUCCIÓN

Los HFMA pertenecen al phylum Glomeromycota; establecen asociación simbiótica micorrícica de tipo mutualista con las raíces y se estima que el 95% de las plantas pertenecen a familias que son característicamente micorrícicas (Smith y Read, 2008). Gracias a esta relación, el *fitness* de las plantas mejora frente a condiciones de estrés biótico o abiótico e incrementa la oferta de nutrientes minerales como fosfatos, amonio, zinc y cobre (Rodríguez *et al.*, 2004; Barea *et al.*, 2005; Smith y Smith, 2011).

El maíz es un cultivo de gran importancia en el mundo, por su creciente demanda para consumo humano y animal (FAO, 2013). En Colombia, el 85% es producido por pequeños agricultores (terrenos <5 ha) para autoconsumo, abastecimiento del mercado local y hace parte de la seguridad alimentaria nacional, aun cuando en gran medida es importado (SIC, 2013; Fenalce, 2010; Acción social, 2010). Existen múltiples evidencias de la simbiosis de HFMA con maíz (Evans y Miller, 1988; Carrenho *et al.*, 2001; Fogar, 2002; Serralde y Ramírez, 2004).

La aplicación de HFMA puede generar respuestas diferentes incluso en cultivares de la misma especie (Tawarayama, 2003; Yao *et al.*, 2001), por ello se hace indispensable la selección, identificación y obtención constante de cepas promisorias para la formulación de potenciales inóculos de HFMA (Rodríguez *et al.*, 2004; Tovar, 2006; Smith y Smith, 2011).

El presente estudio exploratorio buscó caracterizar morfotipos y determinar el estado de la asociación de HFMA presentes en un cultivo de maíz var. ICA- 508 (bajo producción limpia) ubicado en Cajicá (Colombia), debido a que los reportes en este tema, en particular para dicha zona, no son muy frecuentes (Bello, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el municipio de Cajicá, Vereda Río Grande (Cundinamarca, Colombia) se realizó un muestreo de suelo y raíces en la huerta Hogar Clarita Santos localizada a 2258 msnm y sobre los 4°55'51.2" N y 74°00'54.4" W, en un cultivo de maíz (*Zea mays* L. var. ICA-508) durante el periodo de cosecha bajo un sistema de agricultura limpia, tomando cuatro muestras (M1, M2, M3, M4), cada una con tres réplicas.

Para la determinación del nivel de colonización por HFMA, se realizó clareo de raíces según metodología de Phillips y Hayman (1970) modificada por Sieverding (1983) y tinción según Allen y Allen (1980) y Vierheilig *et al.* (1998). Adicionalmente, para la obtención de esporas 20 g de suelo/muestra se secaron al ambiente, se tamizó en húmedo y se centrifugó en gradiente de sacarosa según metodología de Gerdeman y Nicolson (1963) modificada por Sieverding (1983). Dichas esporas se fijaron en láminas portaobjetos con polivinil lactoglicerol (PVLG) y reactivo Meltzer y se evaluaron rasgos morfo taxonómicos mediante uso de claves (Schenck y Pérez, 1990; INVAM, 1992). Los datos se procesaron con ANOVA en una vía y prueba post-hoc de comparación múltiple HSD usando Statistix 9.0 (<http://www.statistix.com/>) a un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los HFMA caracterizados son del tipo morfológico Arum, debido a la presencia de micelio intra y extraradical abundante, vesículas y arbusculos intracelulares (Fig. 1) (Sánchez, 2007). Este tipo de micorriza está determinada por aspectos como la anatomía de la raíz y las especies de HFMA involucradas en la simbiosis, las cuales se han asociado comúnmente a plantas de maíz y otras angiospermas de crecimiento rápido (Cavagnaro *et al.*, 2001; Smith y Smith, 1997).

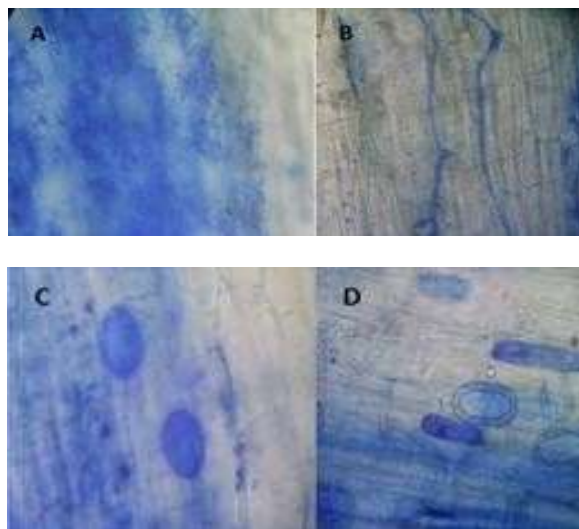


Figura 1. Tinción de raíces de maíz (*Zea mays* L. var. ICA 508). A. Arbusculos; B. Hifas intraradicales; C. Vesículas; D. Esporas intraradicales.

Así mismo, la presencia de estructuras características de HFMA (Fig. 1) indica que hubo colonización durante el estadio de madurez del maíz, alcanzado aproximadamente 210 días después de la siembra (dds) (fenología según codificación BBCH de Weber y Bleiholder, 1990 y Lancashire *et al.*, (1991). En esa etapa fenológica, el micelio extraradical incrementa el volumen total de suelo explorado (García *et al.*, 2005; Ballesteros *et al.*, 2004; Ramírez *et al.*, 2009; Zulueta, 2003; Tovar, 2006). Así mismo, la presencia de HFMA puede incidir en la disponibilidad de nutrientes, estructura del suelo, adquisición de agua, tolerancia a condiciones de estrés para la planta (Tidjane *et al.*, 2001; Qiang y Ren, 2006), lo que repercute o no en el crecimiento de la misma (Smith y Read, 2008; Smith y Smith, 2011).

La presencia de estructuras micorrícicas registró un alto porcentaje (Fig. 2) y no se encontraron diferencias significativas intermuestrales ($p > 0.05$), resultados similares se han atribuido a una alta producción de exudados radiculares (Nasrullah *et al.*, 2010). En suelos tropicales, el maíz muestra una alta dependencia a la asociación (Serralde y Ramírez, 2004; Carrenho *et al.*, 2001), debido a que en ausencia de HFMA, el desarrollo vegetativo puede limitarse por la baja capacidad de exploración de las raíces (Ochoa *et al.*, 2009; Smith y Smith, 2011).

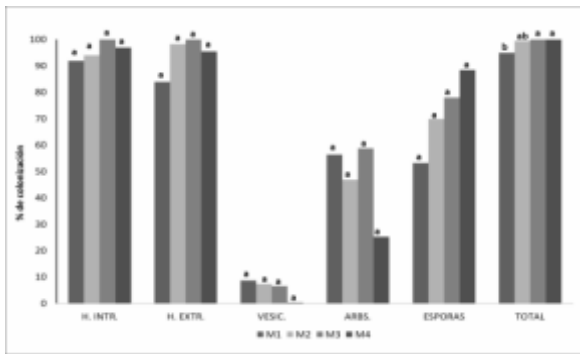


Figura 2. Porcentaje de colonización en raíces de plantas de maíz (*Zea mays* L. var. ICA 508). M1: muestra 1, M2: muestra, M3: muestra 3, M4: muestra 4. Letras diferentes indican diferencias obtenidas por prueba HSD (0.05)

Se encontró un promedio de 5,69% de colonización por vesículas (Figura. 2), siendo bajo comparado con lo obtenido por Tian *et al.* (2013) para maíz en monocultivo; al respecto Pérez y Fuentes (2009) sugieren que la escasez de vesículas y esporas, puede deberse a que no todos los HFMA son vesículo-

arbusculares y/o esporulantes, además, la formación de estas estructuras depende de las condiciones climáticas, físico-químicas del suelo y de las prácticas agronómicas (Peña *et al.*, 2007; Bever, 2001). En contraste, el porcentaje de arbusculos fue moderadamente alto frente a los estudios de Tian *et al.*, (2013) y Bello (2011), quienes evidenciaron una reducción de la cantidad de arbusculos durante la maduración del cultivo.

La cantidad de esporas en promedio fue de 205 esporas*100g⁻¹ ss (Fig. 3), la cual es escasa respecto a estudios previos efectuados en maíz según Bello (2011) y lo encontrado por González *et al.*, (2009) en suelo de Cajicá. Smith y Read (2008) señalan que valores reducidos de esporas obedecen a la interacción de factores como condiciones ambientales, edáficas locales, planta hospedera y a posibles interacciones de competencia interespecíficas entre los HFMA.

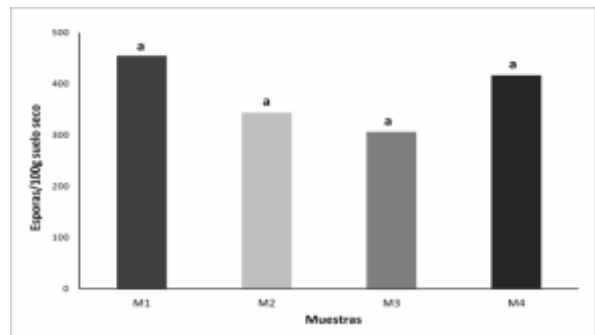


Figura 3. Cuantificación de esporas*100g⁻¹ ss de cultivos de maíz (*Zea mays* L. var. ICA 508).

Se registraron 18 morfotipos para M1, 19 para M2, 49 para M3 y 19 para M4 con un total de 68 morfotipos diferentes de esporas para la zona de estudio, los cuales según características descritas aparentemente corresponden a los géneros *Glomus*, *Acaulospora* y *Entrophospora* (Fig. 4).

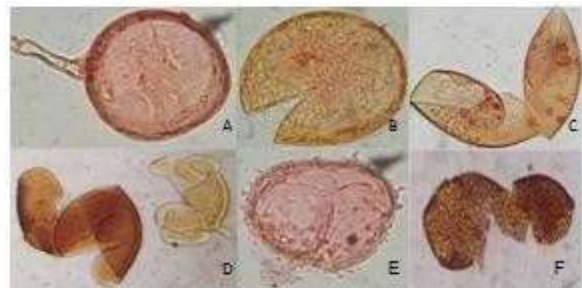


Figura 4. Esporas de HFMA en suelos con maíz (*Zea mays* L. Var ICA 508) A-D: morfotipos afines a *Glomus*; E: morfotipo afín a *Entrophospora* (1000x); F: morfotipo afín a *Acaulospora* (400X)

Esta investigación es una evidencia de la asociación simbiótica entre el cultivo de maíz y HFMA en la localidad de estudio, con la presencia de estructuras características de la simbiosis como arbuscúlos, vesículas y micelio intra y extraradical y esporas en suelo. El porcentaje de colonización total es un indicio de la asociación HFMA-planta, además la alta presencia de arbuscúlos en la etapa fenológica del cultivo es un buen indicador de la simbiosis.

BIBLIOGRAFÍA

- ACCIÓN SOCIAL (2010) Red de Seguridad Alimentaria – ReSA
En:<http://www.fiducoldex.com.co/recursos/cn/20100609061245Anexo10.pdf>
Consulta: Julio de 2013.
- ALLEN EB, ALLEN MF (1980) Natural re-establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizae following strip-mine reclamation in Wyoming. *J Appl Ecol.* 17:139-147.
- BALLESTEROS W, UNIGARRO A, CADENA C, CADENA J (2004) Evaluación de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (HFMA) en la etapa de almácigo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tumaco Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas.* 21:1-2 p 108-130.
- BAREA J, POZO MJ, AZCÓN R, AZCÓN-AGUILAR C (2005) Microbial Cooperation in the Rhizosphere. *Journal of Exp Bot.* 56 (417): 1761–1778
- BELLO G (2011) Obtención y caracterización de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (HFMA) nativos asociados al cultivo de maíz (*Zea mays* L. v. porva) en el municipio de Saboyá (Boyacá, Colombia). Tesis Trabajo de grado. UNAL- Sede Bogotá.
- BEVER J, SCHULTZ P, PRINGLE A, MORTON J (2001) Arbuscular Mycorrhizal Fungi: More Diverse than Meets the Eye, and the Ecological Tale of Why. *J. BioScience.* 51 (11), 923-932.
- CARENHO R, SCHUNK H, BOTELHO S, RAMOS V (2001) Successive Cultivation of Maize and Agricultural Practices on Root Colonization, Number of Spores and Species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Braz Jou of Microb.* 32:262-270
- CAVAGNARO TR, GAO LL, SMITH FA, SMITH SE (2001) Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytol.* 151: 469–475
- EVANS D, MILLER M (1988) Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas and the Soil-Disturbance-Induced Reduction of Nutrient Absorption in Maize. *New Phytol.* 110 (1): 67-74
- FENALCE (2010) El cultivo del maíz, historia e importancia. En: http://www.fenalce.org/arch_public/maiz93.pdf. Consulta: Julio de 2013
- FOGAR M, IGLESIAS M, CRACOGNA M (2002) Potencial Eficacia de la Inoculación con Endomicorrizas del Género *Glomus* en Maíz (*Zea mays*) y su Impacto Sobre la Actividad Biológica del Suelo. *Boletín Micológico.* 17: 63 - 67
- GARCÍA J, GARCÍA D, CORREA M (2005) Incidencia de micorrizas arbusculares como estrategia adaptativa de plantas del páramo y del bosque altoandino. 53-79. En: Bonilla, A. (Ed). 2005. Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. ISBN: 958-701-481-2. 356 p.
- GERDEMAN J y NICHOLSON T (1963) Spores of Micorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235 – 244.
- GONZÁLEZ E, PEDRAZA A y PÉREZ M (2009) Caracterización agrológica del suelo y diagnóstico de su fertilidad en la estación experimental del campus Nueva Granada, Cajicá (Cundinamarca, Colombia). *Revista Facultad de Ciencias Básicas Universidad Nueva Granada.* 4, 1:82-104.
- INVAM (1992) INVAM Color Chart. INVAM Newsletter. Vol. 2 N° 2. En: <http://invam.caf.wvu.edu/otherinfo/articles/colorchart.htm>.
- LANCASHIRE P, BLEIHOLDER H, LANGELUDDECKE P, STAUSS R, VAN DEN BOOM T, WEBER E y WITZEN-BERGER A (1991) An uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann. Appl. Biol.* 119 (3), 561–601.
- NASRULLAH, SHARIF M, RUBINA K, BURNI T (2010) Occurrence and distribution of arbuscular Mycorrhizal fungi in wheat and maize Crops of malakand division of north West frontier province. *Pak. J. Bot.* 42:2, 1301-1312.

- OCHOA A, MARTÍN E, FERNÁNDEZ R, HERRERA R (2009) Variación estacional de hongos micorrízicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la sierra sonorense, México. Rev. Fitotec. Mex. 32:3,189 – 199.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO) (2013) Perspectivas de cosechas y situación alimentaria. Sistema mundial de información y alerta sobre la alimentación y la agricultura (SMIA). N° 1. Marzo 2013. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/017/al998s/al998s.pdf> Consulta: Julio de 2013.
- PEÑA C, CARDONA G, ARGUELLES J, ARCOS A (2007) Micorrizas Arbusculares del Sur de la Amazonia Colombiana y su Relación con Algunos Factores Físicoquímicos y Biológicos del Suelo. 37:3, 327 – 326.
- PÉREZ A, FUENTES J (2009) Regresión logística en la evaluación de la esporulación de micorrizas en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. Esp. Rev. Colombiana cienc. Anim. 1:1.
- PHILLIPS J, HAYMAN D (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular – arbuscular micorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158 – 161.
- QIANG W, REN X (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Physiol. Plant.163, 417-425.
- RAMÍREZ R, MENDOZA B, LIZASO J (2009) Mycorrhiza Effect on Maize P Uptake from Phosphate Rock and Superphosphate. Comm Soil Sci Plant Anal. 40, 2058–2071.
- RODRÍGUEZ Y, DE LA NOVAL B, FERNÁNDEZ F, RODRÍGUEZ P (2004) Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrízicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum* M. var “Amalia”). Ecol. Apl. 3:1, 2, 162-171.
- SÁNCHEZ M (2007) Las endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. UNAL-Sede Palmira.
- SCHENCK N y PÉREZ Y (1990) Manual for the identification of VA Mycorrhizal Fungi. Editorial Synergistic Publications, Gainesville, Florida. 241 p.
- SERRALDE A y RAMÍREZ M. (2004) Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácido bajo diferentes tratamientos agronómicos. Corpoica.5:1, 31- 40.
- SIC (SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO) (2013) Cadena productiva del maíz. 43p. En:<http://www.sic.gov.co/documents/10157/34b1525a-c12b-4edd-a162-8505212f7bff>. Consulta: Julio 13 de 2013.
- SIEVERDING E (1983) Manual de métodos de investigaciones en micorrizas vesículo – arbusculares en el laboratorio. Palmira, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) 108.
- SMITH A y SMITH S (1997) Structural Diversity in (Vesicular)-Arbuscular Mycorrhizal New Phytol. 137 (3): 373-388
- SMITH S y READ D (2008) Mycorrhizal Symbiosis. 3a ed. Editorial Academic Press, Gran Bretaña.769 p.
- SMITH S y SMITH A (2011) Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. Annu. Rev. Plant Biol. 62, 227-250.
- TAWARAYA K (2003) Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. Soil Sci Plant Nutr. 49:655–668.
- TIAN H, DRIJBERG R, ZHANG J, LI X-L (2013). Impact of long-term nitrogen fertilization and rotation with soybean on the diversity and phosphorus metabolism of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi within the roots of maize (*Zea mays* L.). Agr, Ecos and Env. 164:53– 61
- TIDJANE A, IBRA SAMB P, ROY-MACAULEY H (2001) Water status and stomatal behaviour of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, plants inoculated with two *Glomus* species at low soil moisture levels. Eur. J. Soil Biol. 37, 187–196.
- TOVAR, J (2006) Selección en invernadero de inóculos de micorriza arbuscular (MA) para el establecimiento de la alfalfa en un andisol de la sabana de Bogotá. Univ. Sci. 11, 87-103.
- VIERHEILIG H, COUGHLAN A, WYSS U, PICHE Y (1998) Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi.

- Applied and Environmental Microbiology.
64(12): 5004–5007.
- WEBER E, BLEIHOLDER H (1990) Erläuterungen zu den BBCH-Dezimal-Codes für die Entwicklungsstadien von Mais, Raps, Faba-Bohne, Sonnenblume und Erbse - mit Abbildungen. *Gesunde Pflanzen*. 42, 308–321.
- YAO Q, LI XL, FENG G, CHRISTIE P (2001) Influence of extramatrical hyphae on mycorrhizal dependency of wheat genotypes. *Commun Soil Sci Plant Anal*. 32:3307–3317.
- ZULUETA R (2003) Eficiencia de morfoespecies de hongos formadores de micorriza arbuscular aislados en la rizosfera de *Jacaratia* A.DC para promover la absorción de fósforo. Tesis de doctorado. Biotecnología, Universidad de Colima, Tecomán, México.

