

Ocurrencia y variación anual de la comunidad microbiana en la rizosfera de cafeto III

Esporas de hongos micorrícicos vesículo-arbusculares (MVA) y por ciento de infección micorrícica

MARIA TERESA GARCIA-CASTAÑEDA*, SILVIA REYNA-TELLEZ*
y EMILIA PATRICIA HUERTA-HERNANDEZ

Laboratorio de Fisiología Vegetal
Departamento de Botánica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN
Prol. de Carpio y Plan de Ayala
Col. Santo Tomás Apartado Postal 42-186
11340 México, D.F.

GARCÍA-CASTAÑEDA, M.T.; S. REYNA-T. y E.P. HUERTA-HERNÁNDEZ, 1993. Ocurrencia y variación anual de la comunidad microbiana en la rizosfera de cafeto III. Esporas de hongos micorrícicos vesículo-arbusculares (MVA) y por ciento de infección micorrícica. *An. Esc. nac. Cienc. biol., Méx.*, 38: 49-58.

RESUMEN: Se estudió la variación de la comunidad de hongos endomicorrícicos vesículo-arbusculares a lo largo de un ciclo anual en la rizosfera de cafetos y se correlacionó con las variaciones de las condiciones edáficas registradas a lo largo del mismo año. El suelo, un vitrandept, resultó medianamente retenedor de fósforo. La población *sensu lato* de esporas de hongos MVA osciló entre 30 y 540 esporas en las muestras parciales obtenidas de cada árbol y entre 87 y 390 esporas por fechas de muestreo, con un promedio total anual de 184 esporas. Sin embargo, los análisis de varianza no mostraron correlación alguna entre la oscilación del número de esporas, o el por ciento de infección micorrícica y los factores edáficos determinados. Pudo observarse desplazamiento de esporas de unas especies por otras y algunos de los cambios poblacionales pueden atribuirse a factores fenológicos.

* Becarias de la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas. Proyecto subsidiado por DEPI 831034.

INTRODUCCIÓN

Las endomicorrizas de tipo vesículo-arbuscular o MVA, están formadas por hongos zigomicetos de la familia Endogonaceae que se caracterizan por el desarrollo de dos estructuras formadas a partir de las hifas que penetran en células corticales profundas de las raíces, las vesículas y los arbusculos. Las vesículas son engrosamientos terminales o laterales, y los arbusculos, finas ramificaciones dicotómicas repetidas de las hifas. Los géneros de endogonáceas que forman micorrizas se caracterizan además, por la producción de esporas y en algunos casos de esporocarpos, que constituyen parte de la comunidad rizosférica.

Según Jackson y Mason (1984) hay numerosos estudios que muestran una fluctuación estacional en el número de raíces micorrizadas y de esporas que pueden recuperarse de un suelo rizosférico. Este trabajo forma parte de los estudios que se realizan en nuestro laboratorio sobre ecofisiología de la rizosfera; se pretende medir la oscilación anual de las esporas de hongos MVA en suelo rizosférico y el por ciento de infección micorrícica en raíces de café; y establecer relaciones entre la oscilación poblacional y algunos factores edáficos o fenológicos. Todo ello como una medida de la participación de los hongos MVA en la comunidad microbiana rizosférica.

MATERIAL Y MÉTODOS

I) Sitio de muestreo y toma de muestras:

A) Se eligió un huerto cafetalero ubicado en Pacho Viejo, Veracruz, localizado a 1,500 m de la ciudad de Coatepec y a 200 m del entronque de la vía rápida Xalapa-Coatepec y la antigua carretera a Coatepec. Se eligieron 3,000 m² planos donde se numeraron 100 cafetos colocados en hileras de 10. Utilizando las tablas de números aleatorios se seleccionaron cinco cafetos.

B) Las muestras de suelo rizosférico se tomaron quincenal o mensualmente durante un año alrededor de una corona de 20 cm localizada a 80 cm del tronco de cada árbol. Después de quitar la basura y la hojarasca superficiales, se introdujo un cilindro de acero hecho ex profeso con cantos cortantes y dos soportes; con él se tomó un cilindro de suelo de 10 cm de diámetro por 10 de profundidad. En cada muestreo se tomaron tres muestras de suelo de cada árbol para conformar una muestra compuesta que después de mezclada se dividió en dos. Una fracción se utilizó para determinar las poblaciones de la rizosfera y la otra para las determinaciones físico-químicas del suelo.

C) De toda la muestra compuesta se aislaron las raíces de café, para determinar en ellas el por ciento de infección micorrícica.

II) Determinación cuantitativa de la población (*sensu lato*) de esporas de hongos endomicorrícicos vesículo-arbusculares:

Se hizo por la técnica del número más probable (NMP), modificada de Smith y Skipper (1979), 10 g de suelo rizosférico se disuelven en agua y se afora a 100 ml en una probeta. Se agita cubriendo herméticamente la probeta, se toman cinco muestras de 10 ml cada una y se depositan individualmente en cajas de petri. Una sexta muestra de 10 ml se vacía en una probeta limpia y se afora nuevamente a 100 ml con agua. Se repite el procedimiento

to de tomar cinco muestras de 10 ml para cajas de petri y una para otra probeta, para realizar el procedimiento de dilución una vez más. Todas las cajas de petri se rotulan adecuadamente.

Las 15 cajas de petri con las diluciones de muestra se observan al microscopio de disección con aumento 10x. Las muestras que contienen esporas se consideran positivas. Se forma un número con el resultado de las cajas y las diluciones, y se consulta en la tabla de número más probable de McGrady.

III) Por ciento de infección micorrícica:

Técnica de tinción de Phillips y Hayman (1970) y cuenta por microscopía óptica (Giovannetti y Mosse 1980).

IV) Factores físico-químicos del suelo:

Téxtura, humedad, pH, CIC, materia orgánica, Ca y Mg intercambiables, P y N. Los métodos y resultados de estos análisis se comunican en el cuadro 1.

V) Análisis estadístico:

Los resultados obtenidos a lo largo del año de las diferentes muestras, se contrastan a través de análisis de varianza y pruebas de correlación.

RESULTADOS-DISCUSIÓN

En el cuadro 2 se resume la variación de la población de esporas en suelo rizosférico de café por la técnica del NMP a lo largo del año, y en el cuadro 3 la variación anual del porcentaje de infección micorrícica en raíces de café.

En la gráfica 1 se presenta la variación anual de la humedad y se contrasta con la variación anual del NMP de esporas y el por ciento de infección micorrícica. La gráfica 2 representa la variación anual cuantitativa de esporas y el por ciento de infección micorrícica, contrastada con el calendario fenológico del café.

La población total de esporas de hongos endomicorrícicos se mantuvo sin oscilaciones significativas a lo largo del año; pudo observarse variación entre especies, determinada por la morfología de las esporas recuperadas; algo similar sucede en la rizosfera del arrozal (Reyna, comunicación personal). El por ciento de micorrización también se mantuvo estable, en valores promedio del 40 por ciento.

Los valores obtenidos no son comparables a los comunicados por otros autores, que hicieron sus determinaciones en fechas semejantes en cafetales de la misma zona (Riess y Sanvito, 1985; Riess, 1984) ya que en este trabajo, tanto el por ciento de infección micorrícica, como el número promedio de esporas recuperadas por mes y año fueron más altas; 184 esporas de promedio anual con valores mensuales promedios que oscilaron entre 30 y 540 esporas. Aunque no es recomendable utilizar promedios por no ser representativos de la situación real. El número de muestras analizadas y la duración del muestreo aportan un número elevado de datos que pueden promediarse y este promedio refleja una condición más cercana a la realidad que un muestreo esporádico en sitios diferentes, como los hechos por los autores mencionados.

CUADRO 1. Características físico-químicas del suelo.
Promedio de los resultados obtenidos en cinco muestras de suelo rizoférico de café

No. de Colecta	K (ppm)	P (ppm)	M.O. %	N. TOTAL %	pH real dil. 1:5	Humedad cm ³	Ca ²⁺ interc. meq/100g suelo	Mg ²⁺ interc. meq/100g suelo	CIC meq/100g suelo
ENERO			5.42	0.465	6.6	0.36	0.617	0.8236	13.33
FEBRERO	59.1	182.19	4.8		6.9	0.41	0.664	0.8280	11.51
FEBRERO			4.32	0.423		0.29	0.629	0.8723	18.02
MARZO	77.48	212.4	4.72		6.9	0.38	0.631	0.8925	15.28
MARZO			5.7	0.547	6.5	0.32	0.576	0.8845	12.42
ABRIL	81.62	178.86	4.42		6.5		0.641	0.8236	14.66
ABRIL			4.72	0.506	7.0	0.40	0.536	0.7915	13.97
MAYO	70.6	172.42	4.32		6.0	0.56	0.597	0.7591	14.98
MAYO			5.3	0.335	6.3	0.44	0.709	0.8205	14.52
JUNIO	77.06	144.4	5.94		5.8	0.38	0.621	0.8075	12.88
JUNIO			4.42	0.326	6.0	0.36	0.507	0.7107	13.93
JULIO	93.73	147.98	4.22		6.0	0.46	0.531	0.7471	13.61
JULIO			7.0	0.311	6.1	0.46	0.575	0.7056	14.70
AGOSTO	82.9	150.64	6.24		6.3	0.52	0.757	0.9126	12.56
AGOSTO			7.14	0.172	6.2	0.43	0.688	0.6625	12.28
SEPTIEMBRE	76.2	133.76	8.86		5.9	0.48	0.673	0.9168	12.72
SEPTIEMBRE			7.00	0.19	6.1	0.34	0.753	0.6420	12.84
OCTUBRE	83.3	137.20	9.4		5.9	0.34	0.749	0.7550	12.64
OCTUBRE			8.2	0.165	6.0	0.39	0.637	0.8803	11.95
NOVIEMBRE	98.3	118.87	10.74		6.0	0.44	0.805	1.0418	14.46
NOVIEMBRE			8.04	0.196	6.0	0.43	0.757	0.9208	14.46
DICIEMBRE	69.98	124.28	6.84		5.8	0.41	0.697	0.8157	12.40

CUADRO 2. Variación del número de esporas de hongos VAM por gramo de suelo en rizosfera de café

MES DE MUESTREO	M U E S T R A				
	I	II	III	IV	V
ABRIL	130	79	221	75	113
ABRIL	185	160	350	125	161
MAYO	110	110	240	130	110
MAYO	130	189	318	133	183
JUNIO	195	150	339	70	282
JUNIO	175	127	231	190	308
JULIO	213	224	581	239	439
JULIO	213	120	264	381	170
AGOSTO	437	322	92	51	274
SEPTIEMBRE	260	492	262	537	403
OCTUBRE	91	93	154	103	107
OCTUBRE	72	172	74	35	85
NOVIEMBRE	116	174	221	76	132
NOVIEMBRE	115	207	88	106	123
DICIEMBRE	505	257	157	109	267
DICIEMBRE	126	96	116	97	90
ENERO	118	270	383	81	88
FEBRERO	130	220	110	80	80
MARZO	240	80	110	30	80

Existe relativamente poca información respecto a las micorrizas VA en ambientes tropicales por arriba de los 1,500 m de altitud, comparada con la también escasa información del trópico cálido-húmedo de zonas bajas y con la abundante información que hay para zonas templadas; sin embargo, es muy común que en condiciones de baja fertilidad, especialmente de P, se favorezca la micorrización por hongos VA, (Mosse 1973, Janos, 1987, Sieverding 1987).

El suelo en que se encuentra el cafetal de este trabajo es un típico oxisol, definido en general como suelo arcilloso de origen volcánico, con pH ácido de buen drenaje, pero nutricionalmente deficiente, con alta toxicidad potencial por Al y baja capacidad de intercambio catiónico, indicativo de un alto potencial de percolación y poca accesibilidad del P, K, Ca, Mg, S, Zn y otros micronutrientes (National Research Council 1982 y Janos D.P. 1987). Estas características corresponden al suelo estudiado (García-Castañeda *et al.* 1991).

La materia orgánica fue abundante y cae dentro del valor esperado para estos suelos (3.36 y 3.75%) comunicado por Janos (*opus cit.*). El valor promedio anual que se obtuvo fue de cuatro por ciento pudiendo haber un gran contenido de humus que contribuye a la acidez y eleva el contenido de fenoles del suelo. Bajo estas condiciones ambientales las hifas extracorticales de los hongos VA entran en íntima asociación con la materia orgánica, contribuyendo significativamente al flujo de nutrientes hacia sus hospederos.

CUADRO 3. Porcentaje de micorrización en raíces de cafeto

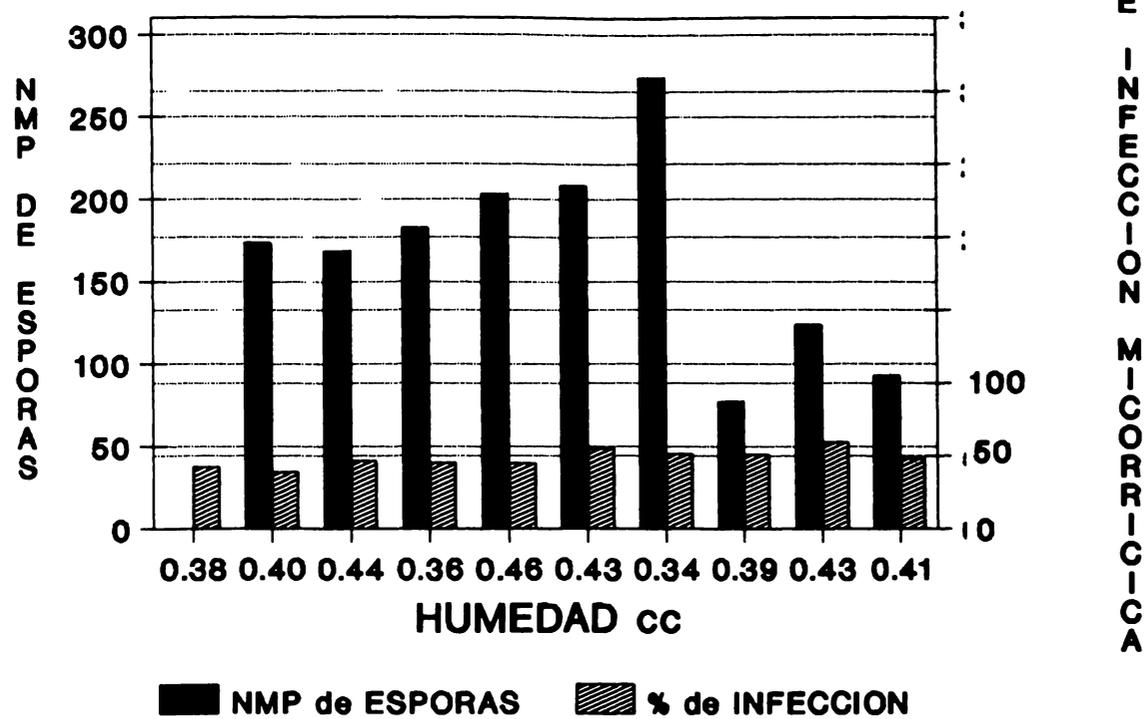
MES DE MUESTREO	M U E S T R A				
	I	II	III	IV	V
MARZO	36.66	26.66	48.0	43.33	50.66
MARZO	44.1	44.0	34.6	29.33	59.33
ABRIL	30.66	21.33	26.66	34.66	28.66
ABRIL	32.00	34.66	41.33	40.00	47.33
MAYO	40.66	39.33	37.33	36.00	41.33
MAYO	45.33	42.00	53.33	46.66	45.33
JUNIO	40.00	42.66	30.00	52.66	48.66
JUNIO	40.00	41.33	49.33	48.00	47.33
JULIO	60.66	54.66	59.33	60.00	53.33
JULIO	40.66	45.33	41.33	46.66	51.33
AGOSTO	40.66	56.66	40.66	43.33	37.33
AGOSTO	60.00	68.00	56.00	45.33	47.3
SEPTIEMBRE	53.33	46.00	58.66	43.33	54.66
OCTUBRE	62.66	58.66	44.66	36.00	52.00
OCTUBRE	49.00	42.66	64.66	42.22	56.66
NOVIEMBRE	43.33	68.00	64.66	58.00	63.33
DICIEMBRE	50.66	32.66	58.00		42.00
DICIEMBRE	50.00	48.66	46.00		49.33
ENERO	51.00	57.33	48.00		42.00
FEBRERO	49.33	58.66	41.33		42.66

El por ciento de infección micorrícica, determinado en las raíces finas de cafeto de la capa superficial de los primeros 20 cm de profundidad, coincide con las observaciones de St. John (1980 St. John y Machado, 1978) citados y comentados también por Janos (1987), de que la mayoría de las micorrizas se encuentran en la superficie del suelo, posiblemente a causa de una disminución de O_2 relacionada con la profundidad del suelo.

La poca oscilación de la temperatura en el sitio de estudio y su valor relativamente alto, un promedio anual de $20^{\circ}C$, también explica los valores del por ciento de micorrización y el número de esporas encontradas a lo largo del año, ya que se ha comunicado un incremento en la estimulación micorrícica por hongos VA a medida que la temperatura se incrementa entre 15 y $25^{\circ}C$ (Cooper y Tinker, 1978) o de un efecto máximo a $30^{\circ}C$. Janos (1987) propone que esta actividad puede deberse a un estímulo directo de la temperatura sobre la actividad metabólica de la micorriza o indirectamente al influir en la exudación radical de metabolitos que a su vez influyen sobre ella.

Varios estudios han determinado la presencia de micorrizas VA en cafetos. Butler desde 1939 informa la presencia de este tipo de micorrizas en cafetos y otros árboles y arbustos de cultivo como el té, el hule y los cítricos; más recientemente están los trabajos de Riess (1985, 1984), Lopes *et al.* (1983 a, 1983 b), Cardoso (1987), St. John (1980), Huerta Hernández (1984), Toro y Herrera (1987), habiendo numerosos trabajos de ino-

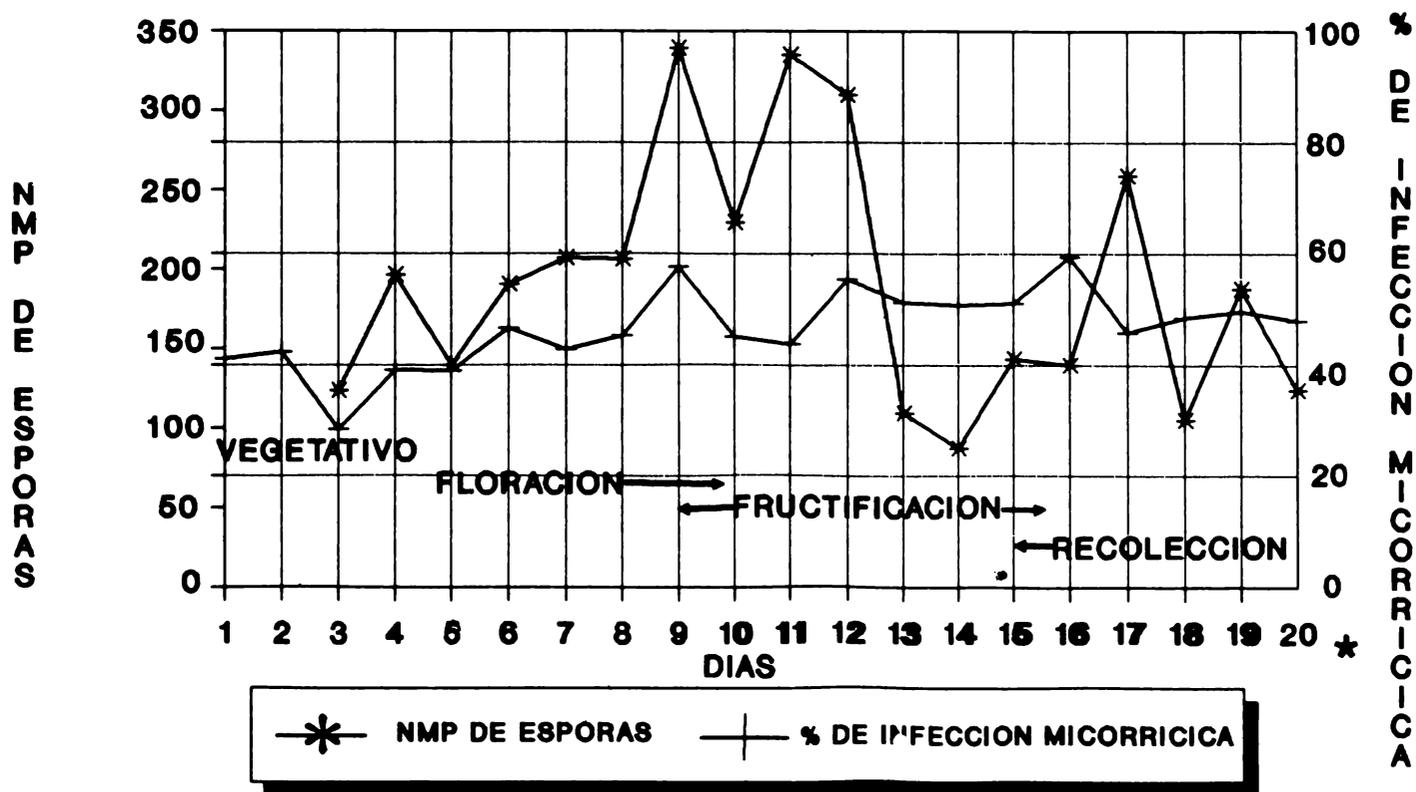
EFFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUELO SOBRE EL NMP DE ESPORAS Y EL % DE INFECCION



CADA VALOR ES EL PROMEDIO DE CINCO MUESTRAS

GRAFICA 1

NMP DE ESPORAS E INFECCION MICORRIZICA Y LOS ESTADIOS FENOLOGICOS DEL CAFE.



* CADA NUMERO REPRESENTA 15 DIAS, A PARTIR DEL 1o. DE MARZO DE 1985

GRAFICA 2

culación de plántulas de cafeto con micorrizas; Siqueira (1987), Sieverding y Toro (1987), Lin, et al. (1987). Hernández (1986) inoculó plántulas de cafeto, con cepas aisladas de la rizosfera del cafeto en estudio y tentativamente identificadas como *Glomus macrocarpum*, *Acaulospora laevis* y *Glomus epigeum*. Estas especies y siete más, identificadas sólo por sus características morfológicas constantes, nos permiten proponer la existencia de una dinámica rizosférica de cambio de especies a lo largo del ciclo agrícola.

SUMMARY

It was studied the coffee tree rhizosphere VAM fungi fluctuation along a year, and correlated with soil and climate changes through the same time. The soil was identified as a vitrandept with a medium capacity to retain phosphorus. The VAM spores number varied between 30 to 540, in the samples of an individual tree, and between 87 to 390 among samples taken in different dates. It was 184 the total spores average.

Statistical analysis did not showed any correlation between the spores number fluctuation or mycorrhizal infection and the soil factors determined. It was observed that some type spores were changed by other through the year.

BIBLIOGRAFÍA

- BUTLER, E.J., 1939. The occurrences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **22**:274.
- CARDOSO, E.J.B.N., 1987. Ocorrência de micorriza em café. *Summa Phytopatologia* **4**:136-137.
- COOPER, K.M. and P.B. TINKER, 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytol.* **81**:43.
- GARCÍA CASTAÑEDA, M.T.; S. REYNA-TÉLLEZ; E. VENTURA-ZAPATA y S. AGUILAR-FLORES, 1991. Ocurrencia y variación anual de la comunidad microbiana en la rizosfera de cafeto I. Suelo y población microbiana total viable. *An. Esc. nac. Cienc. biol, Méx.*, **35**:29-47.
- GIOVANNETTI, M. and B. MOSSE, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* **84**:489-500.
- HERNÁNDEZ, B.R., 1986. Efecto de las endomicorrizas vesículo-arbusculares sobre el crecimiento de plantas de café. Tesis profesional, ENCB, IPN.
- HOWELER, R.H.; E. SIEVERDING and S. SAIF, 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant and Soil.* **100**:249-283.
- HUERTA-HERNÁNDEZ, E.P., 1984. Aislamiento, identificación y propagación de algunas cepas de hongos endomicorrícicos vesículo-arbusculares. Tesis profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.
- JACKSON, RICHARD M. and P.A. MASON, 1984. Mycorrhiza. Studies in Biology, 159 Arnold, London.
- JANOS, D.P., 1987. VA mycorrhizas in humid tropical ecosystems, in: Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. Ed. by Safir G.R.C.R.C. Press. Boca Raton, Ed.
- LIN, M.T.; F.B. LUCENA; M.A.M. MATTOS; M. PAIVA; M. ASSIS and L.S. CALDAS, 1987. Greenhouse production of mycorrhizal plants of nine transplanted crops. Proceedings of the 7th North American Conference on Mycorrhiza. Edited by D.M. Sylvia, J. Graham and L.L. Hung. Institute of Food and Agriculture Sciences, University of Florida.
- LOPES, E.S.; E. OLIVEIRA; R. DIAS and N.C. SCHENCK, 1983a. Occurrence and distribution of

- vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations in central Sao Paulo, Brazil. *Turrialba* 33:417-422.
- LOPES, E.S.; E. OLIVEIRA; A.M.L. Neptune and F.R.P. Moraes, 1983b. Efeito da inoculacao do cafeeiro, com diferentes especies de fungos micorrizicos vesicular-arbusculares. *R. Bras. Ci. Solo.* 7:137-141.
- MOSSE, B.; D.S. HAYMAN and D.J. ARNOLD, 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by three plant species from P-deficient soils labelled with ^{32}P . *New Phytol.* 72:809.
- National Research Council, 1982. Ecological aspects of development in the humid tropics. National Academy of Sciences. Washington, D.C.
- PHILLIPS, J.M. and D.S. HAYMAN, 1970. Improved procedures for fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-160.
- RIESS, S., 1984. Indagini sulle micorrizza, IN: Riess, S.; Rambelli, A.; Maggi, O.; Persiani, A.M. y Onofri, S. Studi micologici preliminari nella zona cafeeicola di Xalapa, Veracruz, México. Instituto Italo-Americano, Roma, INIREB, Xalapa y Universita degli studi di Roma.
- RIESS, S. and A. SANVITO, 1985. Micorrizza vescicolari-arbuscolari in diverse condizioni di coltivazione del caffè in Messico. *Mic. Ital.* 3:57-62.
- SIEVERDING, E. and S. TORO, 1987. Growth of coffee and tea plants in nurseries inoculated with different VAM funga species. Proceedings of the 7th North American Conference on mycorrhiza. Edited by D.M. Sylvia, J. Graham y L.L. Hung. Institute of Food and Agriculture Sciences, University of Florida.
- SIQUEIRA, J.O., 1987. Mycorrhizal benefits to some crop species in a P deficient oxisol of southeastern Brazil. 7th North American Conference on Mycorrhiza. Ed. Sylvia, Graham, Hung, University, Florida.
- SMITH, G.W. and H.D. SKIPPER, 1979. Comparison of methods to extract spore of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:722-725.
- ST. JOHN, T.V., 1980. A survey of mycorrhizal infection in an Amazonian rain forest. *Acta Amazonica.* 10:527-533.
- ST. JOHN, T. and A.D. MACHADO, 1978. Evidência de ação da microorganismos na ramificação de raízes. *Acta Amazonica,* 8:9-11.
- TORO, M. and R. HERRERA, 1987. Existence of mycorrhizal spores in two different coffee plantations. Proc. 7th N. Am. Conf. on Mycorrhiza Ed. D.M. Sylvia, J. Graham, L.L. Hung, University, Florida.