

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE GREMIOS DE HONGOS MICORRÍCICOS
 ARBUSCULARES (HMA) CON USO POTENCIAL EN AGRICULTURA BAJO
 SEQUÍA.



LAURA CRISTINA HERRERA CORRALES

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de Bióloga

ASESOR:

OMAR OCAMPO JIMÉNEZ, Ms. C., Ph. D.

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
MEDELLÍN
2012

“Si uno avanza confiadamente en la dirección de sus metas y se esfuerza por vivir la vida como lo ha imaginado, seguro se encontrará con el éxito”.

Henry David Thoreau

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres Jaime y Elvia por su apoyo y compañía en esta etapa de mi vida.
- A mi asesor el Dr. Omar Ocampo J. por sus enseñanzas, orientación y acompañamiento en este trabajo.
- Al profesor Jairo Rosado director del grupo Pichiwhel de la Universidad Uniguajira por su colaboración.
- Al Jardín Botánico de Medellín, Joaquín Antonio Uribe por permitirnos en su espacio llevar a cabo gran parte de este trabajo.
- Al CODI por el financiamiento del proyecto.
- Al laboratorio de Microbiología por los recursos y el espacio facilitado.
- A los monitores del Laboratorio de Microbiología Harol, Deisy, Tomas, Juan Pablo, Diana, Laura, Julian, Manuela, María José y Claudia por su colaboración y hacer que mi labor en el laboratorio fuera más grata y amena.
- A Giovanni por haber estado gran parte de mi carrera acompañándome y motivándome para lograr culminar esta meta en mi vida.
- A mi amigo del alma Hugo por brindarme tantos momentos de alegría y hacer que mis dificultades fueran más llevaderas.
- A mis amigas Laura y Andrea por ser mis cómplices, por su afecto y cariño.
- A mis compañeros de tantos años Edwin, Sara, Rafa, David, John Pimienta y Nancy por tantos momentos inolvidables.

Tabla de contenido

1. RESUMEN.....	9
2. ESTADO DEL ARTE	10
2.1 EFECTOS DE LA SEQUIA	10
2.1.1 SEQUIA A NIVEL MUNDIAL.....	10
2.1.2 SEQUIA EN COLOMBIA	10
2.1.3 ESTRATEGIAS PARA PREVENIR LOS EFECTOS DE LA SEQUIA	11
2.2 MICORRIZAS.....	13
2.2.1 QUÉ SON LAS MICORRIZAS	13
2.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE HONGOS MICORRÍCICOS.....	14
2.2.3 TIPOS DE MICORRIZAS.....	15
2.2.3.1 ECTOMICORRIZAS:	15
2.2.3.2 ENDOMICORRIZAS:.....	15
Orquidooides:.....	15
Ericoides:.....	15
Arbusculares:	15
2.2.3.3 ECTENDOMICORRIZAS:.....	16
2.2.4 BENEFICIOS DE LAS MICORRIZAS	16
2.3 PLANTA DE FRIJOL.....	17
2.3.1 CONTEXTO INTERNACIONAL.....	17
2.3.2 CONTEXTO NACIONAL.....	19
2.3.3 CLIMA, SUELOS Y CULTIVO.....	19
2.2.4 ASOCIACIÓN CON MICORRIZAS	20
3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	21

4. HIPÓTESIS:	23
5. OBJETIVOS	23
5.1 OBJETIVO GENERAL.	23
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	23
6. JUSTIFICACIÓN	24
7. METODOLOGÍA.....	26
7.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA.....	26
7.2 AISLAMIENTO DE HONGOS MA.....	26
7.3 EXTRACCIÓN DE ESPORAS (INÓCULO).....	26
7.4 EXPERIMENTO DE AGOBIO HÍDRICO EN FRIJOL.....	27
7.5 VARIABLES DE CRECIMIENTO VEGETATIVO.	27
7.6 COLONIZACIÓN MICORRÍCICA ARBUSCULAR DE RAÍCES.	27
8. RESULTADOS	29
8.1 SELECCIÓN DE GREMIOS.....	29
8.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO VEGETAL.....	30
8.2.1 VARIABLE ALTURA	30
8.2.2 VARIABLE AREA FOLIAR.....	32
8.2.3 VARIABLE DIAMETRO DEL TALLO	34
8.2.4 VARIABLE NÚMERO DE HOJAS.....	36
8.2.5 VARIABLE PESO SECO DE RAÍZ (PSR)	37
8.3 VARIABLES DE COLONIZACIÓN MICORRÍCICA	39
8.3.1 PORCENTAJE DE HIFAS	39
8.3.2 PORCENTAJE DE ARBÚSCULOS	40
8.3.3 PORCENTAJE DE VESÍCULAS.....	42
9. CONCLUSIONES.....	45

10. PERSPECTIVAS.....	45
11. BIBLIOGRAFÍA	46

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de los hongos *Glomeromycota*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Producción Mundial de Frijol y Variación Porcentual anual, 2000- 2010.

Figura 2 Principales productores de frijol en el mundo, 2000-2010.

Figura 3 Principales productores de frijol en Colombia.

Figura 4 Conteo de esporas por gremio.

Figura 5 Esporas de HMA sin clasificar H. hifa de soporte

Figura 6 Altura de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 7 Área foliar de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 8 Diámetro del tallo de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 9 Número de hojas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 10 Peso seco de raíz de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 11 Porcentaje de hifas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 12 Hifas intrarradicales colonizando raíces de *Phaseolus vulgaris*.

Figura 13 Porcentaje de arbuscúlos de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 14 Raíces de *Phaseolus vulgaris* teñidas con azul de Tripano. Arbúsculos intracelulares. a. b. arbúsculos dentro de células radicales c. arbúsculos en células del G4AH durante la fecha de rehidratación d. colonización de arbúsculos en la raíz del G3AH durante la fecha de rehidratación.

Figura 15 Porcentaje de vesículas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico.

Figura 16 Raíces de *Phaseolus vulgaris* teñidas con azul de Tripano. Vesículas de hongos micorrícicos (40X) a. vesícula unida a una hifa b. colonización de vesículas del G3 en fecha de rehidratación.

1. RESUMEN

Los hongos micorrícicos arbusculares aumentan la capacidad de las plantas para establecerse y hacer frente a situaciones de estrés como la deficiencia de nutrientes, la sequía y la perturbación del suelo, sin embargo los hongos micorrícicos no tienen los mismos efectos benéficos en el crecimiento de las plantas. En nuestro trabajo se seleccionaron cinco sitios de muestreo considerando la comunidad de especies vegetales para aislamiento de gremios de HMA en la región de la Alta Guajira en los municipios de Riohacha y Maicao de los cuales se seleccionaron dos gremios en función del contenido de propágulos. Se evaluaron 6 tratamientos con 7 repeticiones por tratamiento: dos gremios de HMA (GHMA3 y GHMA4) y un control sin hongo (NHMA) y dos condiciones de humedad (agobio hídrico "AH" y humedad adecuada "SAH"), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (sin estrés hídrico, estrés hídrico moderado, estrés hídrico severo y después de un riego de rehidratación). Se evaluaron variables de crecimiento (altura de la planta, área foliar, núm. de hojas, peso seco radical y diámetro del tallo) y variables de colonización micorrícica (% de hifas, vesículas y arbusculos) usando como planta trampa plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Para las plantas SAH el gremio que mejor resultado tuvo en las variables de crecimiento fue G3 y para las plantas bajo la condición AH el mejor gremio fue el G4, indicando que el G3 responde mejor cuando las condiciones de agua son adecuadas, mientras el G4 permite a la planta mayor resistencia frente a condiciones desfavorables. Los hongos nativos de clima cálido son una alternativa para usarse en cultivos expuestos a condiciones de sequía.

Palabras claves: Micorriza, Hongos Micorrícicos Arbusculares, gremios micorrícicos, *Phaseolus vulgaris*, déficit hídrico, endomicorriza.

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 EFECTOS DE LA SEQUIA

2.1.1 SEQUIA A NIVEL MUNDIAL

La Organización de las Naciones Unidas, en su documento de la Convención de Lucha Contra la Desertificación define la sequía como: “fenómeno que se produce naturalmente cuando las lluvias han sido considerablemente inferiores a los niveles normales registrados, causando un agudo desequilibrio hídrico que perjudica los sistemas de producción de recursos de tierras”, además afirma que los seres humanos en las zonas afectadas o amenazadas constituyen el centro de las preocupaciones en los esfuerzos de lucha contra la desertificación y mitigación de los efectos de la sequía, la cual reconoce también, que la desertificación y la sequía constituyen problemas de dimensiones mundiales que afectan el desarrollo sostenible por la relación que guarda con problemas importantes tales como la pobreza, la salud y la nutrición deficientes, la falta de seguridad alimentaria, y los problemas derivados de la migración y el desplazamiento de las personas entre otros.

Por “desertificación” se entiende la degradación de zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas, resultantes de diversos factores tales como las variaciones climáticas y actividades humanas y por “lucha contra la desertificación” se entiende las actividades que forman parte de un aprovechamiento integrado de la tierra de las zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas para el desarrollo sostenible y que tienen por objeto: la prevención o la reducción de la degradación de la tierra, la rehabilitación de tierras parcialmente degradadas y la recuperación de tierras desertificadas a través del manejo racional y conservación de los recursos naturales.

2.1.2 SEQUIA EN COLOMBIA

Colombia es rica hídricamente, tiene una precipitación pluvial cercana a tres mil milímetros anuales en el área continental suficiente para nutrir los ríos, quebradas y diferentes tipos de almacenamiento, sin embargo, la disponibilidad del recurso se limita significativamente con la alternancia climática, es decir en unas épocas se presentan inundaciones sin control y en otras sequías sin posibilidad alguna de atenderse con almacenamientos. La zona Pacífico produce el mayor rendimiento hídrico: 170 lt/seg por km², sin embargo, hay en el país zonas muy pobres con menos de 1lt/seg por km², como la Alta Guajira donde no hay agua superficial. Por otra parte, el balance hídrico, medido como excedente y déficit de agua en las cuencas arroja un dato llamado Índice de aridez, que en el caso de Colombia

señala que en toda la zona Andina y el Caribe colombiano hay zonas con déficit permanente de agua, lo más preocupante es que en dichas zonas habita el 80% de la población del país. En Colombia existe 10 000 km² de zonas secas y los ambientes semiáridos y en proceso de déficit suman más de 150 000 km² (Marín-Ramírez, 2003). La región Caribe contrasta con las otras regiones naturales de Colombia debido a sus condiciones climáticas, suelos y vegetación. En ella se encuentran variados tipos de suelo, asociados a la presencia de arcillas expandibles, (Vertisoles), acumulación de sales y sodio, (Aridisoles), que limitan la productividad de los suelos en amplias zonas, especialmente en la Guajira y en zonas en proceso de desertificación, y al desarrollo de suelos con características muy favorables para la producción agrícola y ganadera, (Mollisoles), (Malagón-Castro, 2001).

La Península de la Guajira, tiene una extensión de 25 000 km², ubicada en la región más septentrional de Sudamérica, tiene un clima árido, seco y de altas temperaturas, las lluvias son escasas y se presentan generalmente en los meses de septiembre a noviembre. La aridez de la península hace que el desarrollo sea lento y según el Plan Regional de lucha contra la Desertificación y la Sequía en el departamento de la Guajira este tiene un nivel de desertificación del 87,5% (1.789.736,17 ha), siendo superior al 90% en los municipios de Manaure, Uribia y Maicao. De los 15 municipios que tiene La Guajira, 10 están reportados con desertificación alta (reducción o pérdida de la productividad biológica) y problemas de sequía, estos son: El Molino, Fonseca, Hatonuevo, Maicao, Manaure, Riohacha, San Juan del Cesar, Uribia, Urumita y Villanueva (Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, 2005).

Según el Estudio Nacional del Agua (IDEAM, 2001), aunque Colombia cuenta en general con una gran riqueza hídrica tanto superficial como subterránea; aunque no está distribuida temporal y espacialmente de forma homogénea, en la mayoría de su territorio las condiciones hidrológicas, climática y topográficas garantizan una buena oferta de agua y una densa red hidrográfica. Sin embargo, dado que los sistemas y procesos naturales están siendo intervenidos y alterados desordenadamente, se hace necesario generar el conocimiento y la información que apoyen la toma de decisiones, la planificación, la gestión y el uso sostenible del recurso agua.

2.1.3 ESTRATEGIAS PARA PREVENIR LOS EFECTOS DE LA SEQUIA

La sequía tiene efectos negativos directos en la gestión del agua. La escasez de agua prolongada influye directamente en los recursos hídricos de una región, altera las condiciones de equilibrio del agua y crea situaciones difíciles para cualquier tipo de abastecimiento de agua. Por lo tanto, es importante estimar

exactamente los recursos hídricos superficiales y subterráneos de una determinada región, los posibles cambios de estos recursos, y calcular los balances de agua en diferentes condiciones climáticas e hidrológicas. Durante la época de escasez de agua, las condiciones de calidad se hacen más importantes, especialmente cuando se trata de embalses, lagos y aguas superficiales; por lo tanto el impacto de una sequía continuada sobre la calidad del agua debe ser estudiado y evaluado con mayor minuciosidad.

Entre los impactos económicos, los primeros, sin duda, son los daños causados por la sequía sobre la agricultura. Quizás esta parte de la estrategia es la más sencilla, porque la mayoría de los estudios, en casi todos los países, se han realizado para valorar y demostrar los daños producidos por la sequía en la producción agrícola, tanto en cultivos extensivos, frutas y hortalizas, como en los bosques y en la ganadería.

Los datos retrospectivos disponibles sobre la susceptibilidad a la sequía de una zona determinada y de la sensibilidad a la sequía de las diferentes plantas cultivadas en una región, deberían ser examinados y evaluados utilizando todos los resultados disponibles de la investigación realizada en la región sobre este tema. Los análisis comparativos de las cosechas, junto con las condiciones climáticas e hidrológicas pueden darnos las mejores respuestas sobre la intensidad de la sequía en los periodos examinados y sobre los daños concretos y pérdidas económicas en la producción agrícola. Este tipo de análisis puede ayudarnos a descubrir las diferencias entre las especies y variedades de las plantas cultivadas utilizadas, así como su capacidad de tolerancia a la falta de agua y la duración de sus periodos vegetativos, como características importantes para reducir los daños. Así mismo es necesario estudiar el efecto del cultivo precedente en la rotación, y determinar cuáles han sido las mejores plantas y las mejores rotaciones en la región, de manera que se puedan reducir sensiblemente los daños de la sequía.

Una cuestión igualmente importante es el resultado que tienen algunos microorganismos sobre la mitigación de los efectos de la sequía sobre las plantas. Pate (Pate, 1994) consideró, que el uso adecuado de los microorganismos del suelo, permite lograr una agricultura sostenible que resulta práctica y económica para cada unidad agrícola y también favorece el reciclaje de nutrientes para mejorar la fertilidad del suelo; por lo tanto, se convierte en alternativa para contribuir al establecimiento de sistemas de producción sostenibles, competitivos y rentables. Uno de estos microorganismos útiles son los hongos micorrícicos que estimulan el crecimiento de las plantas y la absorción de nutrientes (Al-karaki col., 1998, Jeffries y col., 2003). Además, incrementan la tolerancia a ambientes estresantes como la sequía (Augé, 2001), las heladas (Charest y col., 1993), la deficiencia de nutrimentos (Miller, 2000) y fitopatógenos (Sharma y col., 1992). Bajo condiciones de déficit hídrico, la colonización micorrícica mejora las relaciones hídricas de las plantas hospederas (Al-karaki y col., 1998; Goicoechea y col., 1998). Los posibles mecanismos son: el mejoramiento de la conductividad hidráulica (Hardie y Leyton, 1981), la reducción de la elasticidad foliar e

incremento de la turgencia de las hojas (Augé y col., 1987), el incremento de la longitud de la raíz y su efectividad (Davies y col., 1992), el incremento de la acumulación de osmoreguladores (Schellenbaum y col., 1998) y la inducción de una mayor asimilación de nutrientes (Al-karaki y col., 1998).

Karasawa y col. (2000), estudiaron el efecto de la simbiosis micorrícica arbuscular sobre el crecimiento de las plantas de maíz (*Zea mays*) en varias condiciones de humedad en el suelo, y observaron que un contenido adecuado de humedad incrementó la colonización micorrícica mejorando la asimilación P y el crecimiento de las plantas. Sin embargo, la micorriza aumentó también el crecimiento de las plantas bajo las condiciones de suelo seco debido a su capacidad para resistir el déficit de agua. En consecuencia otros autores, como Al-karaki y Al-Raddad, (1998), Subramanian y Charest (1997), Aguilera- Gómez (1998) y Koide y col., (2000), estudiaron el efecto de la colonización micorrícica sobre el aumento en el crecimiento y lo correlacionaron con la asimilación de nutrimentos. Mena-Violante *et al.*, (2006) reportaron que plantas de chile estresadas por sequía e inoculadas con un consorcio de hongos MA aislados del desierto de Sonora, en Sonora México registraron mayor tamaño y calidad de frutos que las plantas no micorrícicas bajo humedad adecuada. Sin embargo, los mecanismos por los cuales la MA mejora la resistencia a la sequía y el flujo de agua a través de la planta hospedera son poco claros.

2.2 MICORRIZAS

2.2.1 QUÉ SON LAS MICORRIZAS

Se conocen con el nombre de micorrizas a la asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas y ciertos hongos del suelo. Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no solo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales.

Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de cien años; estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Hernández, 2001).

Etimológicamente, la palabra se ha formado del término griego “mycos” (hongo) y del vocablo latino “Rhyza” (raíz). El término micorriza, cuyo significado literal es hongo-raíz, se aplicó por primera vez a las asociaciones que se establecen entre plantas terrestres y determinados hongos del suelo, siendo descrito por el patólogo alemán Albert Bernard Frank en 1885 (Frank, 1885). Él estableció que dicha asociación era mutualista dado los beneficios que reporta la misma para ambos participantes, y comprende la penetración radical por parte del hongo y la

carencia de respuesta perjudicial hacia éste por parte de la planta hospedera que lo impida.

2.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE HONGOS MICORRÍCICOS

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) estaban ubicados en el orden *Glomales* de la clase de *Zygomycetes* y se agrupaban en seis géneros con aproximadamente 150 especies, (Hernández, 2003). Sin embargo, una clasificación reciente basada en evidencias moleculares lo elevó a nivel de Phylum *Glomeromycota*, mas relacionado con *Basidiomycota* y *Ascomycota* que con *Zygomycota* (Schüßler *et al.*, 2001). En los últimos 40 años la clasificación de este grupo de hongos ha sido objeto de considerables transformaciones, pasó de ser meramente descriptivo y basado únicamente en la morfología de esporas (Gerdemann y trappe, 1974) al análisis cladístico de caracteres genéticos y fenotípicos. Morton y Benny (1990) hicieron una clasificación basada en análisis de caracteres fenotípicos (morfología de esporas y caracteres de las micorrizas), pero las clasificaciones de Schüßler *et al.* en el 2001 y luego en el 2011 en el que analizaron los caracteres genéticos (variación de la secuencia SSU del ADNr) y las combinaciones con los fenotipos ha sido la clasificación generalmente más aceptada por investigadores de micorrizas y micólogos (Stürmer, 2012.).

Tabla1: Clasificación de los hongos *Glomeromycota*

Phylum:	Clase:	Orden:	Familia:	Género:
<i>Glomeromycota</i>	<i>Glomeromycetes</i>	<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i>
				<i>Funnelliformis</i>
				<i>Simiglomus</i>
				<i>Septoglomus</i>
			<i>Claroideiglomeracea</i>	<i>Claroideoglomus</i>
				<i>Viscospora</i>
		<i>Diversisporales</i>	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Diversispora</i>
	<i>Redeckera</i>			
	<i>Otopora</i>			
	<i>Acaulosporaceae</i>		<i>Acaulospora</i>	
			<i>Kuklospora</i>	
	<i>Entrophosporaceae</i>		<i>Entrophospora</i>	
	<i>Pacisporaceae</i>	<i>Pacispora</i>		
		<i>Gigasporales</i>	<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>
	<i>Scutellosporaceae</i>			<i>Scutellospora</i>
			<i>Orbispora</i>	
			<i>Racocetraceae</i>	<i>Racocetra</i>
	<i>Cetraspora</i>			
	<i>Dentiscutataceae</i>		<i>Dentiscutata</i>	
			<i>Fuscutata</i>	
			<i>Quatunica</i>	

	<i>Archaeosporomyces</i>	<i>Archaeosporales</i>	<i>Archaeosporaceae</i>	<i>Archaeospora</i>
				<i>Intraspora</i>
			<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>
			<i>Geosiphonaceae</i>	<i>Geosiphon</i>
	<i>Paraglomeromyces</i>	<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>

2.2.3 TIPOS DE MICORRIZAS

2.2.3.1 ECTOMICORRIZAS: Suponen aproximadamente un 3% de las asociaciones micorrícicas y se presentan principalmente en especies de interés forestal: Fagáceas, Pináceas, Betuláceas, Quercíneas, etc...Se caracterizan porque las hifas del hongo (normalmente un basidiomiceto y también algunos ascomicetos) no penetran en el interior de las células vegetales, sino que se limitan a desarrollarse entre los espacios intercelulares del cortex de la raíz, formando la denominada red de Harting. La superficie de la raíz queda rodeada por un entremado denso de hifas que constituyen el denominado “manto” (Smith y Read, 1997).

2.2.3.2 ENDOMICORRIZAS: Se caracterizan porque no forman manto y las hifas penetran en las células de la epidermis y/o del cortex de la raíz. Las endomicorrizas son las más frecuentes en la naturaleza y dentro de ella se distinguen:

Orquidoídes: Formada por basidiomicetos y plantas de la familia Orquidaceae. En esta asociación, la planta, que presenta una fase heterótrofa en su ciclo de vida, recibe compuestos carbonados a partir del hongo (Smith, 1966). Este penetra en las células de la raíz, invagina la membrana y forma ovillos dentro de la célula, así como agregados de hifas poco estructurados, conocidos como “pelotones”, que al degenerar liberan los nutrientes que contienen.

Ericoídes: Formada por ascomicetos o basidiomicetos y plantas de la familia de las Eriáceas. El componente fúngico de esta simbiosis presenta una gran versatilidad en el uso de distintas fuentes de C, N y P, orgánicas o no, lo que contribuye significativamente a la capacidad de las plantas que forman este tipo de micorrizas para crecer en suelos con un alto contenido orgánico (Pearson y Read 1975, St-John *et al*, 1985).

Arbusculares: Las micorrizas arbusculares las forman entre el 80 y el 85% de todas las plantas terrestres (Smith y Read, 1997) y los hongos del phylum Glomeromycota (Schubler *et al*, 2001). El hongo es capaz de penetrar las células del cortex de la raíz, en las que ramifica dicotómicamente de forma repetida para dar lugar a los arbusculos, estructuras típicas de colonización de estos hongos. Antes se conocían también como vesículo-arbusculares, en base a unas estructuras globosas, las vesículas, que contienen sustancias de reserva y que

forman algunas especies de hongos micorrícicos en el interior de la raíz. Sin embargo, dado que no todas las especies de hongo micorrícicos son capaces de formar vesículas, es término ha caído bastante en desuso.

2.2.3.3 ECTENDOMICORRIZAS: Son las menos extendidas y presentan características comunes con los otros dos tipos generales de micorrizas, ya que pueden formar un manto más o menos desarrollado, red de Harting y existe una ligera penetración de las hifas en las células de la corteza, en las que forman enrollamientos u ovillos (Yu et al, 2001). Este tipo de micorriza lo suelen formar especies de basidiomicetos con plantas arbustoides o monotropales fundamentalmente. Los hongos implicados pueden también formar ectomicorrizas con árboles de la misma zona.

2.2.4 BENEFICIOS DE LAS MICORRIZAS

La simbiosis micorrícica es un factor importante en la productividad y diversidad de ecosistemas vegetales naturales y es raro encontrar una situación en donde los hongos micorrícicos no tengan un impacto ecológico significativo (Jeffries y col, 2003). Debido a ello la pérdida o perturbación de esta relación simbiótica, puede tener serias consecuencias en términos de degradación, de sanidad y de productividad de la comunidad vegetal (Jeffries y col, 2003). La tecnología en simbiosis micorrícica está dirigida a restaurar el potencial de inóculos de HMA en suelos degradados, alternativamente, la restauración y multiplicación de poblaciones indígenas de hongos pueden utilizarse para preparar inóculos para usarse en otras comunidades vegetales o cultivos (Dodd y col, 1990). La diversidad de hongos MA tiene consecuencias ecológicas significativas debido a que las especies individuales o aisladas varían en su potencial para promover el crecimiento de las plantas y adaptarse a los factores bióticos y abióticos. Así, la composición y dinámica de poblaciones de hongos micorrícicos arbusculares tiene un marcado impacto sobre la estructura y diversidad de las comunidades vegetales asociadas, tanto en ecosistemas naturales como agrícolas (Gange y col, 1990; Van der Heijden y col., 1998).

El reconocimiento, establecimiento y eficiencia de una asociación micorrícica depende de factores como: el tipo de hongo (su tasa de crecimiento interior y exterior de la raíz), la planta hospedante (como genotipo, exudados radicales, geometría radical, presencia de pelos radicales y de raíces laterales) y de los factores biofísicoquímicos del suelo (pH, humedad, textura, fertilidad, tipo de microorganismos).

Las micorrizas tienen potencial para contribuir a una producción sostenible. Sin embargo, se resalta la importancia de profundizar en la investigación sobre el uso de micorrizas nativas o del sitio, lo que implica conocer más sobre la relación hongo-planta, buscando aislar cepas específicas que permitan potencializar el crecimiento y productividad de las plantas en determinados agroecosistemas y evaluar las interacciones de estas con otros microorganismos de dicho suelo.

Roveda y col (2007) evaluaron el efecto de las micorrizas arbusculares sobre la aclimatación y endurecimiento de microplántulas de mora (*Rubus glaucus*) y en general se pudo decir que la inoculación con cepas nativas de HMA produjo resultados favorables en plantas micropropagadas de mora, permitiendo alcanzar el 100% de supervivencia en todos los tratamientos. Blanco y Rowe (1994) estudiaron las diferencias de actividad de 31 poblaciones nativas, encontrando desde poblaciones muy ineficientes hasta muy eficientes para promover el crecimiento del frijol (planta obligadamente dependiente). Alvarado (1996) encontró diferencias de efectividad entre poblaciones pero demostró que la quema de rastrojo no afecta la efectividad de la población nativa de HM para promover el crecimiento de frijol y maíz.

2.3 PLANTA DE FRIJOL

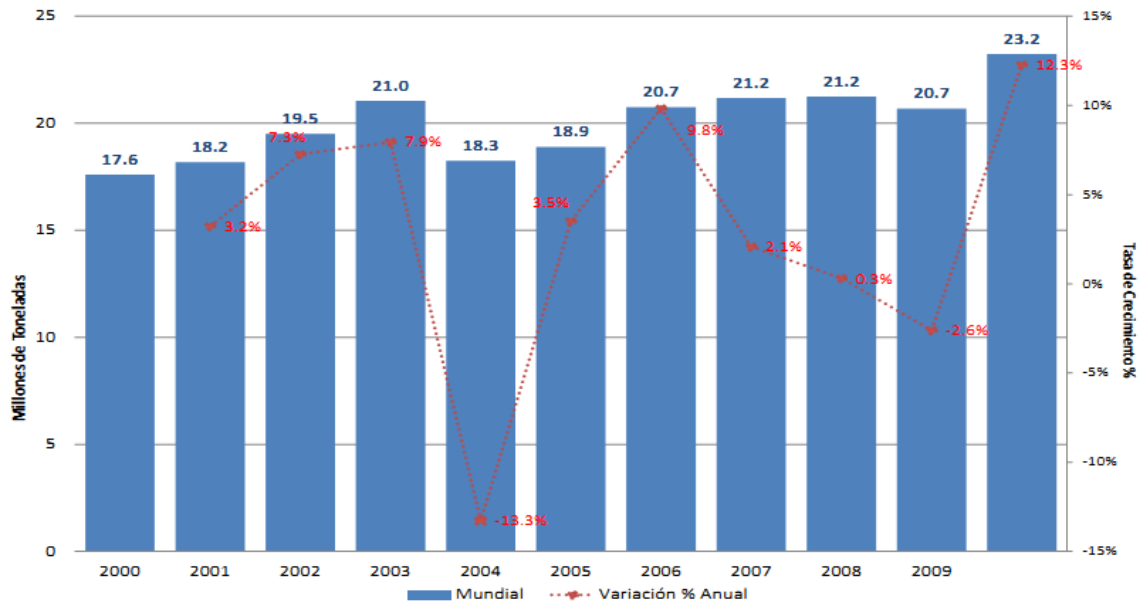
Dentro del grupo de las especies leguminosas, el frijol común es una de las más importantes. Es una planta anual, herbácea intensamente cultivada desde la zona tropical hasta las templadas. Es originario de América y se extiende desde el norte de México y el noroeste de Argentina y se le conoce con diferentes nombres: poroto, haricot, caraota, judía, aluvia, habichuela y otros. Actualmente, esta especie ha extendido sus fronteras a casi todos los países del mundo.

El frijol es uno de los alimentos básicos en la dieta y es la principal fuente de proteína; es rico en lisina pero deficiente en los aminoácidos azufrados metionina, cistina y triptófano; por lo cual una dieta adecuada en aminoácidos esenciales se logra al combinar frijol con cereales (arroz, maíz, otros).

2.3.1 CONTEXTO INTERNACIONAL

De acuerdo a estudios de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el frijol, es la leguminosa alimenticia más importante en el consumo humano en el mundo. Este cultivo es producido en sistemas, regiones y ambientes tan diversos como América Latina, África, el Medio Oriente, China, Europa, los Estados Unidos y Canadá. En América Latina, es un alimento tradicional e importante, especialmente en Brasil, México, América central y el Caribe. El crecimiento de la producción mundial de frijol se ha mantenido a una tasa media de crecimiento anual de 2.8% para el periodo de 2000-2010. En 2010 la producción mundial de frijol se ubicó en 23.2 millones de toneladas. (Figura 1).

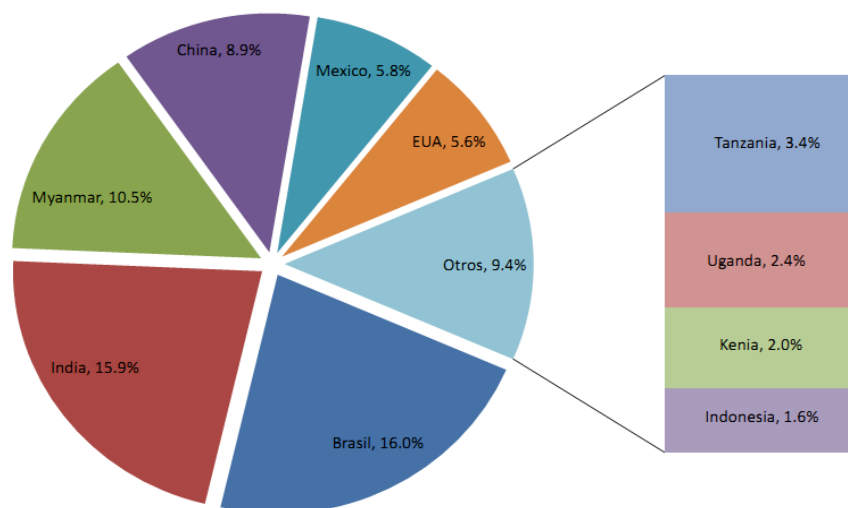
Figura 1. Producción Mundial de Frijol y Variación Porcentual anual, 2000-2010.



Fuente: Elaboración en base a datos de la FAO

Considerando la producción acumulada de 2000-2010, los principales países productores son: Brasil con 16%, seguido de la India con 15.9%, Myanmar con 10.5%, China con 8.9%, ocupando el quinto lugar se encuentra México con 5.8% y en sexto lugar Estados Unidos con 5.6%. (Figura 2).

Figura 2. Principales productores de frijol en el mundo, 2000-2010. Porcentaje con respecto a la producción mundial.



Fuente: Elaboración en base a datos de la FAO

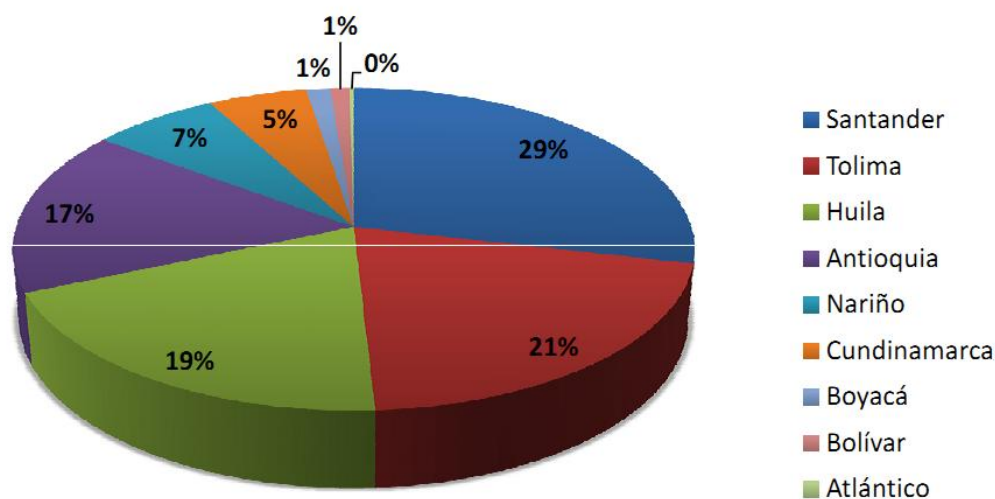
2.3.2 CONTEXTO NACIONAL

De acuerdo con las estimaciones de la Federación Nacional de Cerealistas y Leguminosas, Fenalce, el consumo per cápita año de frijol en Colombia en 2010 fue de 2,7 kilos, cifra que presenta una caída significativa con 2005 cuando se llegó a 3,3 kilos y con 2009, cuando fue de 2,8 kilos.

Los mayores consumidores de frijol en Colombia están en Antioquia, el Eje Cafetero, Bogotá, Santander y la Costa Atlántica.

La producción nacional está por el orden de las 135 mil toneladas de frijol en el país, siendo Antioquia, Tolima, Santander y Huila los líderes a la hora de cosecharlo (Grafico 3).

Figura 3: Principales productores de frijol en Colombia.



Fuente: Reportes de las oficinas regionales de FENALCE. 2010

2.3.3 CLIMA, SUELOS Y CULTIVO

El frijol se adapta bien desde 200 hasta 1.500 msnm. El cultivo necesita entre 300 a 400 mm de lluvia. La falta de agua durante las etapas de floración, formación y llenado de vainas afecta seriamente el rendimiento. El exceso de humedad afecta el desarrollo de la planta y favorece el ataque de gran número de enfermedades. Se recomienda que los suelos para el cultivo de frijol sean profundos, fértiles, preferiblemente de origen volcánico con no menos de 1,5% de materia orgánica en la capa arable y de textura liviana con no más de 40% de arcilla como los de textura franco, franco limosos y franco arcilloso ya que el buen drenaje y la aireación son fundamentales para un buen rendimiento de este cultivo. Se debe evitar sembrar en suelos ácidos, con contenidos altos en manganeso y aluminio y bajos en elementos menores. El pH óptimo para frijol está comprendido entre 6,5 y

7,5 aunque es tolerante a pH entre 4,5 y 8,2. Los terrenos deben ser preferiblemente ondulados o ligeramente ondulados.

El frijol requiere desde el inicio del ciclo hasta un mínimo de sesenta días después de la siembra de humedad adecuada en el suelo, para un buen crecimiento, desarrollo de la planta, formación y llenado del grano; a la vez requiere de un período seco o de poca precipitación al final del ciclo, para favorecer el proceso de maduración y cosecha. Por estas razones es importante sembrar a tiempo, para no carecer de humedad y para que la cosecha coincida con una estación seca favorable. Cuando se desea sembrar al final de la época de siembra recomendada, se sugiere el uso de variedades precoces o de ciclo corto.

2.2.4 ASOCIACIÓN CON MICORRIZAS

Las micorrizas son una alternativa de gran validez para los agricultores que no fertilizan o lo hacen con pequeñas cantidades, como el caso de los campesinos que siembran maíz, donde se suele reducir hasta el 50% de la fórmula de fertilización tradicional en muchas regiones y en el caso de las leguminosas como el frijol, con la práctica de biofertilización se logra reducir el 100% del fertilizante nitrogenado (Medina y col, 2009).

Aguirre y Kohashi (2002) en experimentos con plantas frijol en simbiosis con *Azospirillum-glomus* observaron que después de 90 días de siembra el crecimiento de las raíces es uno de los aportes más resaltantes de los microorganismos; Al parecer, la hifa del hongo sustituye los pelos radicales. Acosta, (2004) evaluó la respuesta del cultivo de frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp, a la inoculación combinada de micorrizas y cepas de *Rhizobium* interactuantes en la rizósfera del cultivo y encontró un incremento en el proceso de nodulación, ofrecido por el efecto del sinergismo de ambos organismos al interactuar en la rizósfera de las plantas de frijol. Afke y col. (1990) estudiaron el efecto de la edad de la planta en el porcentaje de infección micorrizal en raíces del cultivo de frijol (*Vigna unguiculata* (L) Walp), y señalaron que la colonización de los hongos micorrizales es mayor en las raíces jóvenes con una actividad más intensa y efectiva. A medida que la planta va formando raicillas nuevas, los valores de infección aumentan, decreciendo luego cuando las mismas van envejeciendo.

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las sociedades humanas requieren agua para consumo, producción de alimentos, energía y soporte de las actividades comercial e industrial. De éstas, la agricultura, practicada por 1200 millones de personas consume el 65% de agua usada a nivel mundial, aprox. 1000 km³ por año. Sin embargo, una tercera parte de la población mundial vive en países con moderada a severa disponibilidad de agua (Cosgrove and Rijsberman, 2000, P.A.N, 2004). La sequía y otros factores abióticos como la salinidad, temperaturas extremas y toxicidad química son condiciones comunes de estrés que afectan negativamente el crecimiento de las plantas y la producción de cosechas (Maggio *et al.*, 2000; Xiong *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003) deteriorando el ambiente. Según Bray *et al.* (2000), el estrés ocasionado por factores abióticos puede reducir en más de 50% la producción de alimentos. Según la FAO (1996) y la UNICEF (2007), la sequía y desertificación son un problema global que afecta a dos tercios de los países y aun tercio de la superficie mundial (4000 millones de hectáreas), ocasionando pérdidas superiores a 42, 000 millones de dólares y seis millones de hectáreas de tierras productivas. Las tierras secas constituyen cerca del 41% de la superficie mundial, donde viven 2000 millones de personas (Valda, 2006). Por otro lado, la vulnerabilidad de la tierra a la desertificación es principalmente debido al clima, relieve, el estado del suelo y de la vegetación natural y a la forma en que estos dos recursos son usados (FAO, 1996). Se estima que en 2025 la cantidad de tierras arables disponibles será mucho menor, considerándose que éste descenso será de dos tercios en África, un tercio en Asia, un tercio en Norteamérica y casi un quinto en Sudamérica (Valda, 2006).

Colombia es un país muy rico en agua, sin embargo, hay comunidades muriendo de sed y la disponibilidad del recurso se limita con la alternancia climática. La oferta hídrica es de 58 lt/seg por km², sextuplica la cantidad de agua promedio mundial y triplica la cantidad de agua en Latinoamérica. Sin embargo, hay en el país regiones muy pobres hídricamente con menos de 1 lt/seg por km², como en la Alta Guajira. En la zona Andina y el Caribe colombiano (donde vive el 80% de la población del país) aparecen zonas con déficit permanente de agua durante el año hidrológico. En Colombia existen 10,000 km² de zonas relativamente secas. Aquellos ambientes semiáridos y en proceso de déficit hídrico totalizan más de 150, 000 mk², en todo el país (Ramírez, 2003).

La Península de la Guajira tiene una extensión de 25, 000 km² y una población de 655,590 habitantes. Tiene una temperatura promedio de 27-30 °C y máximas de hasta 45 °C y precipitaciones inferiores a 300 mm por año. Las actividades agropecuarias representan el 11% de la economía de la zona, siendo los cultivos más importantes el arroz, ajonjolí, sorgo, yuca, caña de azúcar y tabaco., y la ganadería especialmente caprina.

Las interacciones benéficas microbio-planta en la rizósfera son determinantes en la salud de las plantas y fertilidad del suelo, afectando la productividad de suelos agrícolas y sistemas naturales (Jeffries *et al.*, 2003; Barea *et al.*, 2005). La micorriza arbuscular es la más importante simbiosis microbiana para la mayoría de las plantas influenciando el desarrollo de las comunidades vegetales, absorción de nutrimentos, las relaciones hídricas y la productividad de la rizósfera. También actúa como bioprotector contra patógenos y estrés por elementos tóxicos. Los factores abióticos como la sequía, metales pesados, nutrimentos y temperaturas extremas pueden influenciar el desarrollo de la relación micorrícica, sin embargo, en casi todos los casos su presencia puede disminuir el estrés en las plantas causado por estos factores (Jeffries *et al.*, 2003).

4. HIPÓTESIS: Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) aislados de la rizósfera de plantas de clima seco ayudan a las plantas a resistir o disminuir los efectos negativos del estrés producido por el déficit hídrico, manteniendo o incrementando la producción agrícola.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL.

Aislar y seleccionar gremios de hongos MA aislados de la rizósfera de plantas nativas de clima seco y estudiar su potencialidad en la promoción del crecimiento de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas bajo condiciones de déficit hídrico.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Extracción de esporas de gremios de hongos MA aislados de la rizósfera de plantas nativas de clima seco e Inoculación de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) sujetas a dos condiciones de humedad.
2. Analizar variables del crecimiento vegetal de frijol (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con diferentes gremios de hongos MA nativos de suelo de clima seco, sujetas a dos condiciones de humedad.

6. JUSTIFICACIÓN

La población mundial asciende constantemente y la demanda de agua es cada vez mayor, las fuentes de agua dulce son cada vez más contaminadas y el clima está cambiando debido al aumento del efecto invernadero; la escasez de agua por desgracia seguirá creciendo, provocando el empobrecimiento de la tierra y otros recursos naturales, la erosión, la salinidad y la pérdida de fertilidad se verán afectadas, especialmente en zonas que presentan estrés hídrico. Estas regiones se caracterizan por veranos largos, secos y calurosos, con lluvias escasas e irregulares, con actividades antropogénicas como el pastoreo y con técnicas de cultivo irregulares que junto con la deforestación son la principal amenaza para la sostenibilidad de los ecosistemas.

La desertificación de los ecosistemas terrestres altera las comunidades naturales de plantas, a menudo acompañada o precedida por la pérdida de propiedades físico-químicas y biológicas de los suelos. Estas propiedades determinan en gran medida la calidad del suelo y la fertilidad, y por consiguiente el establecimiento de las plantas y la productividad. La degradación del suelo limita las posibilidades de restablecimiento de plantas nativas, y la erosión y la desertificación se aceleran. La desertificación reduce el potencial de los microorganismos simbiotes mutualistas que son factores ecológicos claves que rigen los ciclos de nutrientes de las plantas y por lo tanto el mantenimiento de las coberturas vegetales en los hábitats naturales.

Los hongos micorrízicos arbusculares aumentan la capacidad de las plantas para establecerse y hacer frente a situaciones de estrés como la deficiencia de nutrientes, la sequía y la perturbación del suelo, sin embargo los hongos micorrízicos no tienen los mismos efectos benéficos en el crecimiento de las plantas, por lo cual es importante seleccionar e identificar aquellos que mejor provecho aporten a las plantas. Las comunidades arbustivas asociadas con plantas son características de muchos ecosistemas áridos, por tanto el restablecimiento de un matorral es un paso clave en las estrategias de revegetación. El hongo coloniza las raíces de las plantas transformándose en un extensión del sistema radicales, las vincula con el medio ambiente del suelo, constituyendo un sistema eficaz para la absorción y compactación de nutrientes en condiciones de pobreza.

Los hongos micorrízicos se sabe que proporcionan una amplia gama de beneficios importantes a sus plantas hospederas, además de mejorar la nutrición mineral, la cual induce una mayor resistencia a patógenos del suelo, mejora la tolerancia al estrés por sequía y reduce la sensibilidad a las sustancias tóxicas que se producen en el suelo. Las micorrizas son un componente imprescindible en la

creación bajo la tierra y en la sostenibilidad de las comunidades de plantas, pero es necesario completar el conocimiento para lograr los máximos beneficios de estos organismos y sus asociaciones.

7. METODOLOGÍA

7.1 Descripción del área

El muestreo se llevó a cabo en la península de la Guajira en la región denominada Alta Guajira, específicamente en los Municipios de Riohacha y Maicao. Ubicados en la parte central izquierda del departamento, Riohacha se encuentra en las coordenadas 11°32' de longitud norte y 72°54' de latitud oeste con una temperatura media de 28 a 45°C, Maicao se encuentra en las coordenadas 11°20' de longitud norte y 72°21' de latitud oeste con una temperatura media de 30°C.

7.2 Aislamiento de hongos MA

Se seleccionaron cinco sitios de muestreo considerando la comunidad de especies vegetales para aislamiento de gremios de HMA en región de la Alta Guajira en los municipios de Riohacha y Maicao. De los cuales se seleccionaron dos gremios en función del contenido de propágulos (esporas). El gremio 1 fue seleccionado de la vía a Mayapu, cuya composición florística comprendía las siguientes especies: *Stenocereus griseus*, *Opuntia wentiana*, *Bastardio viscosa*, *Phitecellobium sp*, *Ipomea carnea*, *Prosopis juliflora*, *Capparis odoratissima*, *Portulaco oferacea* y el gremio 2 se seleccionó de la vía a Maicao y comprende las siguientes especies vegetales: *Cephalocereus russelianas*, *Croton rhamnifolium*, *Opuntia wentiana*, *Castela erecta*, *Phitecellobium sp*. Se observó que la composición florística de los dos sitios seleccionados difiere en las especies. Las muestras de suelo de la rizósfera se colocaron en bolsas de plástico y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su procesamiento. Parte del sistema radical de cada planta se preservó en medio FAA (5 ml formalina, 5 ml ácido acético y 90 ml de alcohol 70% alcohol, diluido dos veces), y almacenado a 4°C para el análisis de colonización micorrícica.

7.3 Extracción de esporas (inóculo).

Las muestras de suelo se tamizaron en húmedo, siguiendo una metodología modificada a la descrita por An *et al.* (1990), Sieverding (1983) e INVAM (2007). 100 gr de suelo se colocaron en una licuadora con 300 ml de agua corriente y licuados a alta velocidad por 5 segundos, después el material licuado se suspendió en un vaso de precipitado aforando a 500 ml con agua corriente, agitándolo por 10 min con un agitador magnético. Después, la suspensión se vació sobre un juego de tamices de 70, 100, 150 y 500 µm. El material colectado en los tamices de 150 y 500 µm se lavaron y se colocaron en una probeta de 25 ml. Posteriormente se tomaron alícuotas de 1 ml y se colocaron en cajas de petri (tres repeticiones). Utilizando un estereomicroscopio se contaron las esporas en cada caja y se obtuvo el número promedio de esporas por 100 g de suelo. Solo se consideraron las esporas intactas y de apariencia sana. Si algunas esporas

estaban agrupadas en esporocarpos, éstos se consideraron como una espora. Para evitar contar esporas más de una vez, las esporas se destruyeron al contarlas. Terminada la extracción de esporas, estas se cubrieron con agua y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

7.4 Experimento de agobio hídrico en frijol.

Se evaluaron 6 tratamientos con 7 repeticiones por tratamiento: dos gremios de hongos MA (GHMA3 y GHMA4) y un control sin hongo (NHMA) y dos condiciones de humedad (agobio hídrico “AH” y humedad adecuada “SAH”), en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico (sin estrés hídrico, estrés hídrico moderado, estrés hídrico severo y después de un riego de rehidratación). Tres semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) esterilizadas de su superficie se sembraron bajo condiciones de invernadero en macetas con 2 Kg de una mezcla de suelo-arena estéril. Las plantas se regaron cada dos días con suficiente agua para mantener el suelo a capacidad de campo, y se fertilizaron cada 7 días con una fórmula de fertilizantes comercial baja en fósforo (se incrementó la dosis de fósforo si las plantas mostraban síntomas de deficiencia de este elemento). 15 días después de la siembra se dejó una planta por maceta, seleccionando plantas visualmente sanas y de altura, área foliar, número de hojas y grosor de tallo, uniformes. En esta fecha las plantas se inocularon con un número aproximadamente igual de esporas y propágulos micorrízicos. El tratamiento control recibió un filtrado pasado por el tamiz de 500 µm hecho del suelo-inóculo, para incorporar otros microorganismos presentes en él, excepto los propágulos de hongos MA. A los 45 días después de la siembra las plantas se sometieron a un régimen de agobio hídrico que consistió en la eliminación de los riegos y fertilización por un período de 21 días, seguido por un riego de rehidratación. En cada etapa del régimen de agobio hídrico se midieron las variables del crecimiento vegetativo y de colonización micorrízica.

7.5 Variables de crecimiento vegetativo.

Se midieron las siguientes variables de crecimiento: altura de la planta, área foliar, núm. de hojas, peso seco radical y diámetro del tallo, siguiendo la metodología propuesta por Radford (1967) y Hunt (1981).

7.6 Colonización micorrízica arbuscular de raíces.

Se hizo mediante una modificación del método de Phillips y Hayman (1970). Las raíces preservadas en medio FAA se cortaron en segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud y se lavaron varias veces con agua corriente, posteriormente se blanquearon en KOH 10% (w/v) a 121°C por 10-15 min (el tiempo dependió del tamaño, estructura y pigmentación de la raíz), se retiró el KOH y se lavaron abundantemente con agua corriente. Después, las raíces se acidificaron con HCl 2 % por 15 min. Después de acidificadas, las raíces se teñieron con azul de tripano 0.05% a y se pigmentaron a 121°C por 5 min. Después de teñidas las raíces, se retiró el exceso de colorante y se le adicionó

gliserol-agua 50 % (v/v). 100 segmento de raíz por planta fueron fijados en portaobjetos (15 por portaobjetos) para evaluar el porcentaje de colonización (hifas, vesículas y arbusculos) en un microscopio óptico a 40x.

8. RESULTADOS

8.1 SELECCIÓN DE GREMIOS

De las muestras de suelo colectadas en la Guajira se realizó un conteo de esporas, las cuales tenían baja cantidad, por esta razón estos gremios fueron multiplicados utilizando una mezcla de plantas trampa: cebolla (*Allium cepa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), caléndula (*Calendula officinalis*) y pasto (*Lolium perenne*). La multiplicación se realizó en macetas que contenían una mezcla de suelo-arena estéril, fertilizada con un fertilizante comercial bajo en fósforo. Después de la multiplicación se hizo una cuenta de esporas de todos los gremios siguiendo la metodología ya descrita y se pudo observar que los gremios obtuvieron diferencias significativas en el número de esporas aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0,05. Para identificar los gremios diferentes se aplicó la prueba DMS y los resultados muestran que el gremio G3 mostró el mayor número de esporas (508.3 por 100g de suelo), seguido del gremio G4 (359.3 por 100g de suelo) y por último los gremios G1, G2 y G5 (287, 255 y 263 por 100g de suelo, respectivamente).

Figura 4: Conteo de esporas por gremio. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.

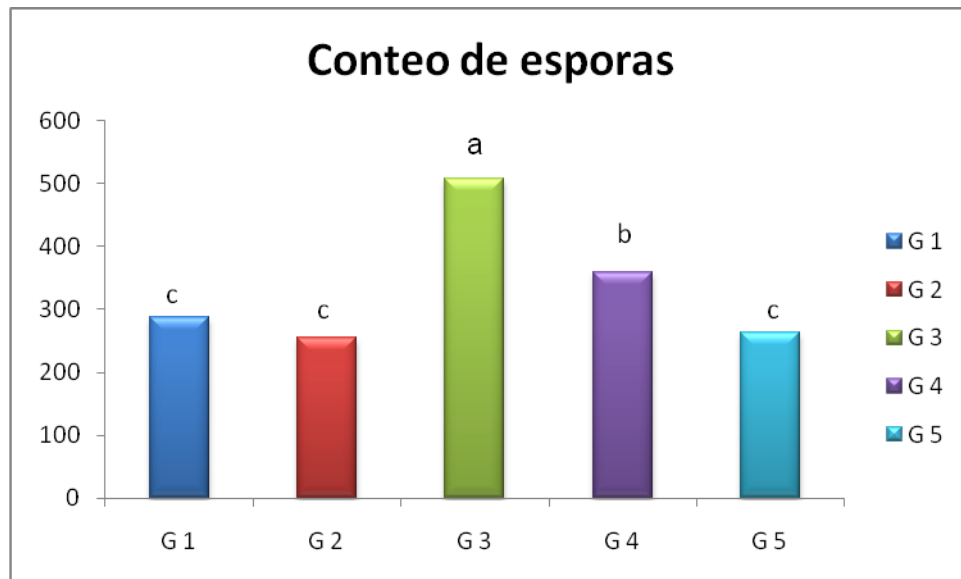
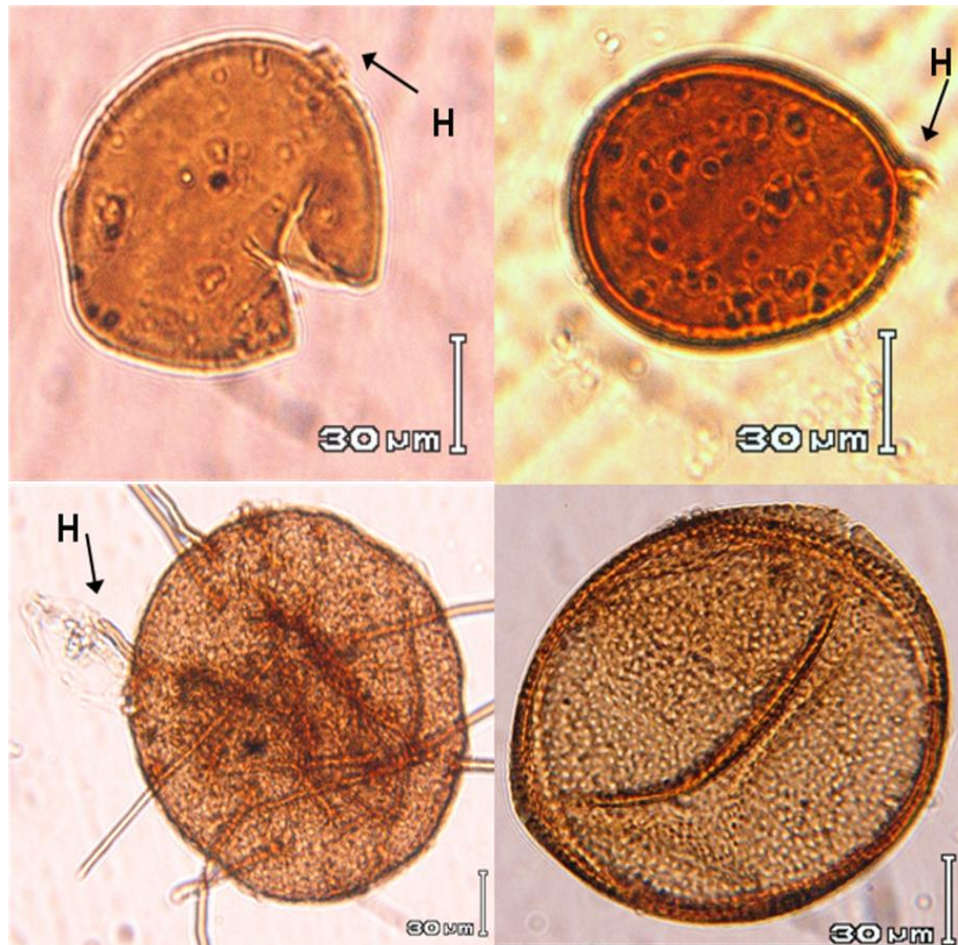


Figura 5: Esporas de HMA sin clasificar H. hifa de soporte



8.2 VARIABLES DE CRECIMIENTO VEGETAL

8.2.1 VARIABLE ALTURA

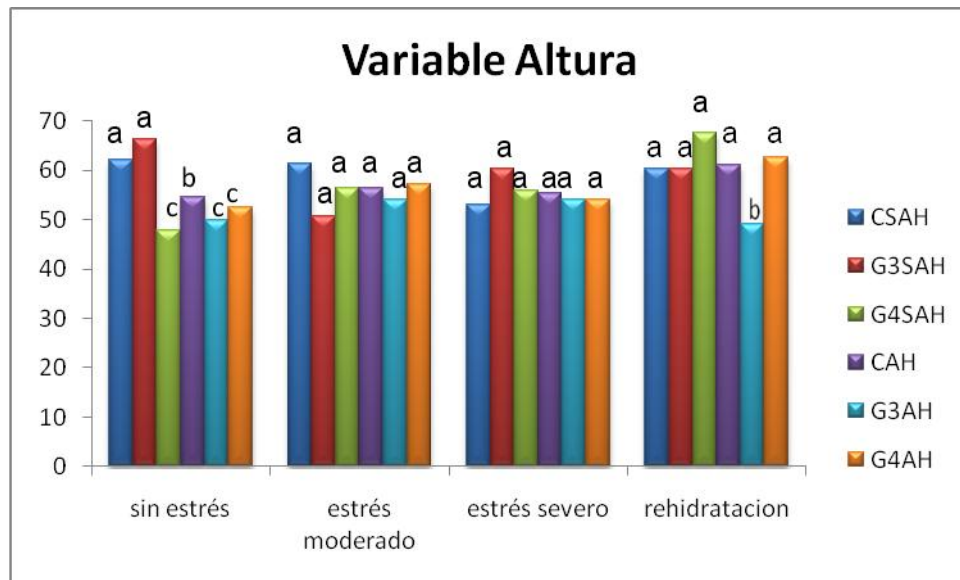
Para la variable altura se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las semanas 1 y 4 que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés y rehidratación. Para las semanas 2 y 3, correspondientes a estrés moderado y estrés severo no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha de evaluación los tratamientos *G3SAH* y *CSAH* presentaron las medias más altas con valores de 66.40 y 62.0 cm, respectivamente, seguidos del tratamiento *CAH* (54.70 cm) y por último los tratamiento *G4AH* (52.60 cm),

G3AH (49.8 cm) y G4SAH (47.80 cm) los cuales presentaron las medias más bajas. Para la cuarta fecha de evaluación el tratamiento G4SAH mostró la media más alta con un valor de 67.50 cm, seguido del tratamiento G4AH con una media de 62.64 cm y seguido a su vez de los tratamientos G3SAH, CSAH y CAH que fueron estadísticamente iguales y con medias de 60.30, 60.40 y 61.20 cm, respectivamente; por último el tratamiento G3AH mostró el valor más bajo de las medias (49.22 cm).

Durante la segunda fecha de evaluación el tratamiento CSAH mostró la media más alta (61.43 cm), seguido de los tratamientos G4AH (57.29 cm), CAH (56.50 cm), G4SAH (56.36 cm) y G3AH con una media igual a 53.93 cm y por último el tratamiento G3SAH el cual presentó la menor media con un valor de 50.71cm. En la tercera fecha de evaluación el tratamiento G3SAH (60.29 cm) mostró la media más alta, seguido de los tratamientos G4SAH, CAH, G3AH y G4AH (55.89, 55.29, 54,14, 54,14 cm, respectivamente) y al final se observó el tratamiento CSAH con un valor de 53.00 cm.

Figura 6: Altura de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



Los hongos micorrícicos arbusculares promueven el crecimiento de las plantas bajo condiciones de agobio hídrico lo cual es reportado por diferentes autores (Sieverding, 1991; Goicoechea y col, 2001; Díaz y Garza, 2007). Esta promoción de crecimiento o la disminución de los efectos negativos del estrés producido por la falta de agua dependen de la severidad del estrés, la especie cultivada y el tipo

de hongo. Estos resultados concuerdan con los observados en nuestro trabajo, los cuales muestran que en la primera fecha de evaluación en el cual tanto plantas control y con hongo micorrízico bajo humedad adecuada, las plantas control mostraron una altura estadísticamente igual a la de uno de los gremios utilizados. Estos resultados señalan por un lado que tanto las plantas con hongos micorrízicos y control tenían un estado fisiológico similar cuando las condiciones no son estresantes pero que el efecto del hongo micorrízico es diferente. Lo cual se observa porque la altura de las plantas de uno de los gremios es menor a la de las plantas control.

Durante las fechas de estrés moderado y severo no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y los valores de altura se conservaron durante las fechas de evaluación, sin embargo, después del riego de rehidratación se observó que las plantas registraron un incremento en la altura, particularmente las inoculadas con el G4, lo cual concuerda con los resultados reportados por (Hernández, 2001; Goicoechea y col, 2001; Quiang Sheng y Ren-Xue, 2006). La altura de las plantas se relaciona con los resultados de colonización micorrízica cuando observamos la disminución en los porcentajes de hifas intrarradicales y un incremento en el porcentaje de vesículas, lo cual está asociado al aumento de la condición de estrés. Después del riego de rehidratación un aumento en el porcentaje de arbuscúlos puede estar relacionado con el incremento en la altura de las plantas.

8.2.2 VARIABLE AREA FOLIAR

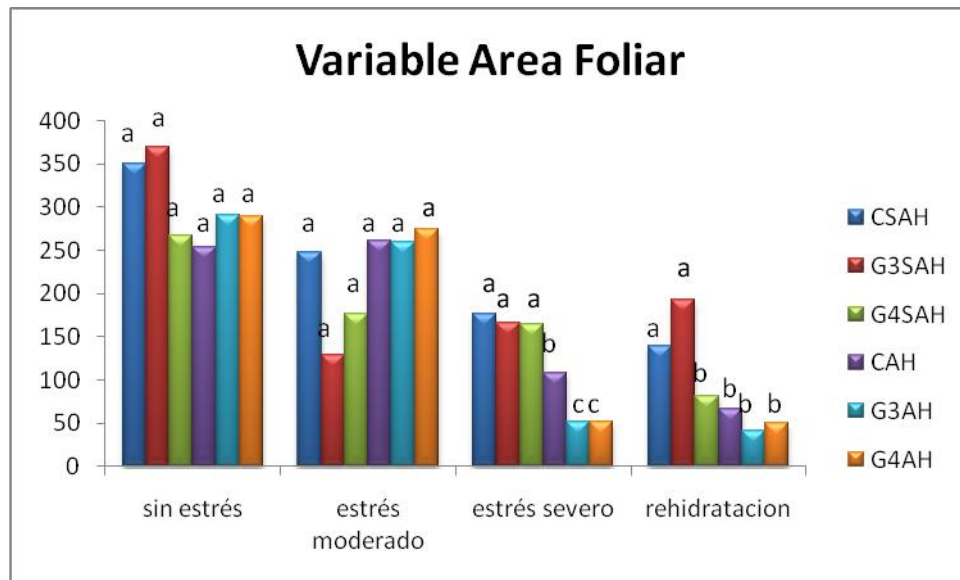
Para la variable área foliar se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las semanas 3 y 4 que corresponden a las fechas de evaluación estrés severo y rehidratación. Para las semanas 1 y 2 correspondientes a las fechas sin estrés y estrés moderado no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Durante la primera fecha de evaluación los tratamientos *G3SAH* y *CSAH* mostraron los valores más altos (369.43 y 351.43 cm² respectivamente) sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos de los tratamientos *G3AH* (291.43 cm²), *G4AH* (289.14 cm²) y *G5SAH* (266.86 cm²) y finalmente el tratamiento *CAH* el cual mostró la menor media con un valor de 253.71 cm². Para la segunda fecha los tratamientos *G4AH*, *G3AH*, *CAH* y *CSAH* cuyas medias fueron 274.50, 261.29, 259.57 y 248.29 cm² no mostraron diferencias significativas entre ellos y presentaron las medias más altas, seguidos de los tratamientos

G4SAH y *G3SAH* con los valores más bajos (176.36 y 129.14 cm², respectivamente).

Para la tercera fecha de evaluación el tratamiento *CSAH* registró la media más alta con un valor de 177.14 cm², seguido de los tratamientos *G3SAH*, *G4SAH* y *CAH* con medias de 166, 164.21 y 108.43 cm² y mostró además diferencias significativas con los tratamientos *G3AH* y *G4AH*, los cuales presentaron la media más baja (51.57 cm²). En la cuarta fecha, los tratamientos *G3SAH* y *CSAH* mostraron las medias más altas (192.86 y 139.29 cm², respectivamente); el tratamiento *G3SAH* presentó diferencias significativas con los tratamientos *G4SAH*, *CAH*, *G4AH* y *G3AH*, los cuales además obtuvieron las medias más bajas y cuyos valores fueron 81.57 , 66.29 , 50.86 y 41.57 cm², respectivamente.

Figura 7: Área foliar de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



Según Boyer (1968) el crecimiento de las hojas es más sensible al déficit hídrico que la raíz. En nuestros resultados se observó que durante las dos primeras fechas de evaluación las plantas con y sin micorrizas no obtuvieron diferencias significativas, sin embargo, las plantas bajo la condición de AH mostraron valores similares para ambas fechas, mientras que las plantas que no están sometidas a estrés (SAH) disminuyeron para la segunda fecha de evaluación. Para la fecha de estrés severo se registró una disminución drástica del área foliar para las plantas sometidas a AH, estando correlacionada con el periodo de prevalencia del

porcentaje de arbúsculos, la rehidratación conservó el área foliar de las plantas e incluso incremento el área foliar en uno de los gremios.

Esto indica que los HMA disminuyeron el impacto del déficit hídrico reflejándose en el mantenimiento de la promoción del crecimiento de las plantas estresadas aun cuando están sometidas a estrés severo. Este efecto puede estar asociado con la diversidad de especies del inóculo, su diversidad funcional y su adaptación a estas condiciones ambientales. Stahl y Christensen, (1991), evaluaron la respuesta de 3 poblaciones de *G. mosseae* aislados de hábitat distintos, a diferentes temperaturas, propiedades físico-químicas del suelo y niveles de humedad, y encontraron que las 3 poblaciones variaron significativamente en su respuesta a las diferentes condiciones ambientales y en su protección contra factores ambientales estresantes.

8.2.3 VARIABLE DIAMETRO DEL TALLO

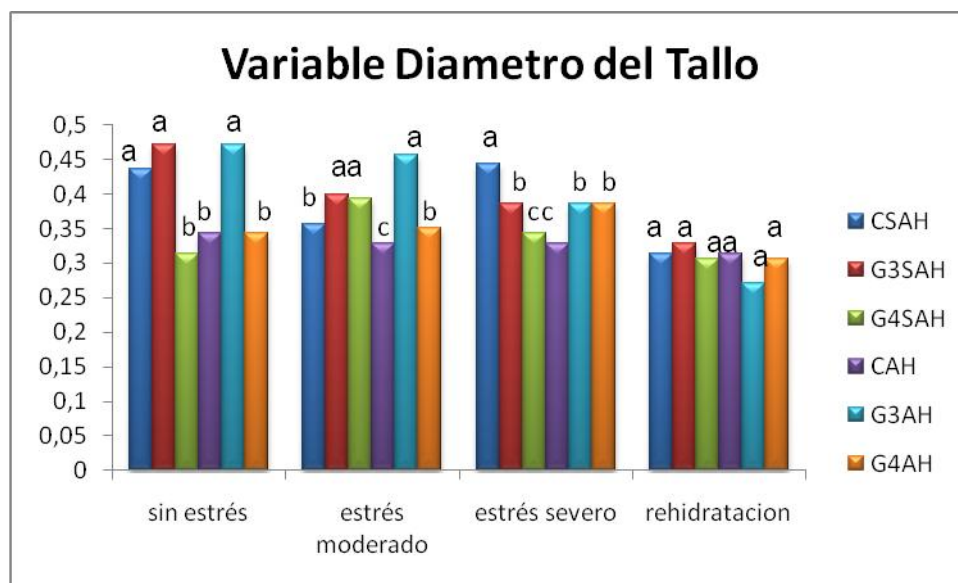
En la variable diámetro del tallo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las semanas 1, 2 y 3 que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y estrés severo. Para la semana 4 correspondiente a la fecha de rehidratación no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha de evaluación los tratamientos *G3AH*, *G3SAH* y *CSAH* mostraron los valores más altos (0.471 ,0.471 ,0.43 cm, respectivamente) sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos por los tratamientos *G4SAH*, *CAH* y *G4SAH* cuyos valores fueron 0.34, 0.34, 0.31cm, respectivamente. En la segunda fecha los tratamientos *G3AH* (0.45 cm), *G3SAH* (0.40 cm) y *G4SAH* (0.39 cm) mostraron los valores más altos sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos por los tratamientos *CSAH* (0.357 cm), *G4AH* (0.350 cm) y por último el tratamiento *CAH* mostró la menor media (0.329 cm). En la tercera fecha de evaluación el tratamiento *CSAH* mostro diferencias significativas con los tratamientos *G4SAH* y *CAH*, siendo el tratamiento con la mayor media (0.44cm), seguido de los tratamientos *G3SAH*, *G3AH* y *G4AH* los cuales fueron estadísticamente iguales entre ellos y cuyos valores fueron 0.386cm para todos. Los tratamientos *G4SAH* (0.343cm) y *CAH* (0.329cm) registraron las medias más bajas.

En la cuarta fecha de evaluación no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo el tratamiento *G3SAH* mostró el valor más alto

(0.329 cm), seguido de los tratamientos *G4SAH*, *CAH* y *G4AH* (0, 314, 0.314, 0.307 y 0.307 cm, respectivamente) sin que se observaran diferencias significativas entre ellos y por último el tratamiento *G3AH* presentó el valor más bajo (0.271 cm).

Figura 8: Diámetro del tallo de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



Para las tres primeras fechas de evaluación se observó que las plantas inoculadas con el Gremio 3 registraron en las dos condiciones de humedad valores superiores o iguales a los controles e incluso al Gremio 4, el cual se mantuvo constante durante estas fechas. Para la fecha de rehidratación no se registró diferencias significativas entre los tratamientos, lo cual puede atribuirse a la edad de las plantas. En algunos casos, se han descrito que las micorrizas no tienen efectos significativos sobre el crecimiento de las plantas. Sin embargo, en la mayoría de estas situaciones, la depresión o estabilidad del crecimiento es transitoria, probablemente debido bien a la competición entre planta y hongo por fotosíntatos en los estadios iniciales de la infección, cuando el hongo consume sin aportar aún beneficios, o bien cuando las condiciones para la fotosíntesis son subóptimas en cuanto a intensidad o calidad lumínica, temperatura, etc.

Las depresiones persistentes de algunas variables de crecimiento de una planta pueden tener lugar cuando se provocan concentraciones supraóptimas de P en los tejidos vegetales, o bien cuando la oferta de P del medio es tal que la planta se satisface sin necesidad del hongo, por lo cual el mantenimiento de éste es un

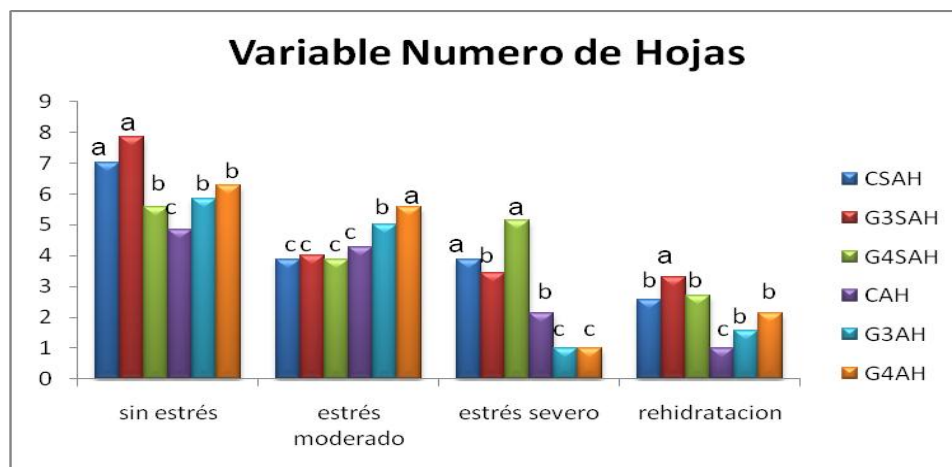
gasto superfluo, o sea, que el micosimbionte se está comportando como un auténtico parásito.

8.2.4 VARIABLE NÚMERO DE HOJAS

En la variable número de hojas se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las cuatro fechas de evaluación (sin estrés, estrés moderado, estrés severo y rehidratación). Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha de evaluación los tratamientos *G3SAH* (8.0) y *CSAH* (7.0) mostraron las medias más altas seguidos de los tratamientos *G4AH*, *G3AH* y *G4SAH* con valores 6.40, 6 y 5.40 respectivamente y por último el tratamiento *G3AH* que mostró el valor más bajo de las medias (4.6). Durante la segunda fecha el tratamiento *G4AH* (5.6) mostró la media más alta, seguido del tratamiento *G3AH* (4.8) y por último los tratamientos *CAH* (4.0), *G3SAH* (3.6), *G4SAH* (3.8) y *CSAH* (4.2), los cuales mostraron las medias más bajas y no presentaron diferencias significativas entre ellos. En la tercera fecha el tratamiento *G4SAH* (5.14) mostró la media más alta, seguido de los tratamientos *CSAH* (3.86), *G3SAH* (3.43) y *CAH* (2.14) y por último los tratamientos *G3AH* y *G4AH* los cuales presentaron el mismo valor (1.00) y la menor media. Para la cuarta fecha de evaluación el tratamiento *G3SAH* (3.2) presentó la media más alta, seguido de los tratamientos *G4SAH* (2.6), *CSAH* (2.6), *G4AH* (1.6) y *G3AH* (1.4), por último el tratamiento *CAH* (0.6) presentó el valor más bajo

Figura 9: Número de hojas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



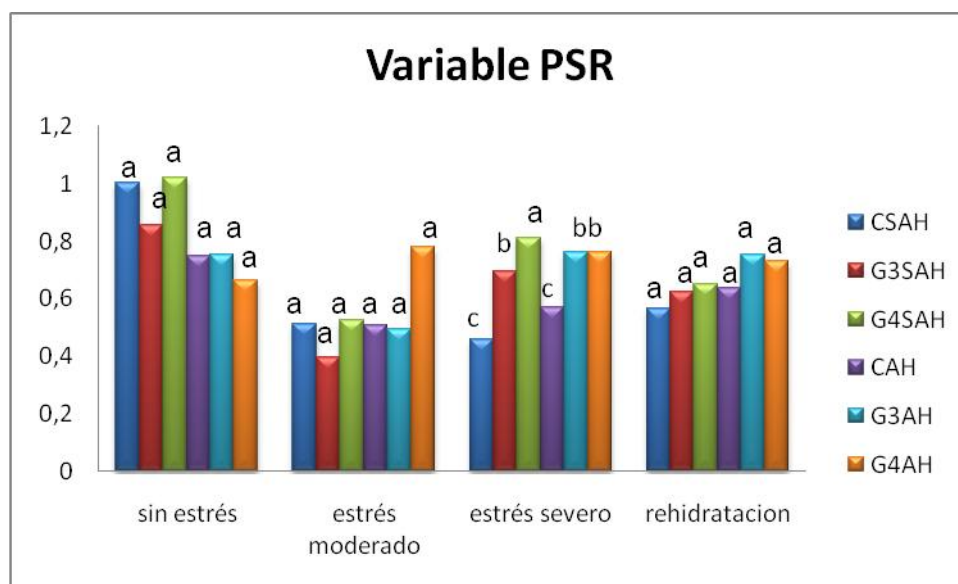
8.2.5 VARIABLE PESO SECO DE RAÍZ (PSR)

Para la variable PSR se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las semanas 1,2 y 4, que corresponden a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y rehidratación, respectivamente. Para la fecha 3 correspondiente a la evaluación estrés severo no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha de evaluación los tratamientos *G4SAH* y *CSAH* presentaron las medias más alta (1.0186 y 1.0029 g respectivamente) sin que se observaran diferencias significativas entre ellos, seguidos del tratamiento *G3SAH* con un valor de 0.85 g y por último los tratamientos *CAH* (0.75 g), *G3AH* (0.75 g) y *G4AH* (0.66 g) con las menores medias. En la segunda fecha el tratamiento *G4AH* presentó la media más alta (0.77 g), seguido de los tratamientos *G4SAH*, *CSAH*, *CAH* y *G3AH* (0.52, 0.51, 0.50 y 0.49 g, respectivamente) los cuales fueron estadísticamente iguales y no se observaron diferencias significativas entre ellos, y por último, el tratamiento *G3SAH* mostró el valor más bajo de las medias (0.39 g). Para la cuarta fecha los tratamientos *G3AH* (0.75 g) y *G4AH* (0.73 g) mostraron las medias más altas, seguidos de los tratamientos *G4SAH*, *CAH* y *G3SAH* (0.65, 0.63 y 0.62 g, respectivamente) y en último lugar se encontró el tratamiento *CSAH* con una media de 0.56 g.

Durante la tercera fecha de evaluación se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para esta variable. El tratamiento *G4SAH* mostró la media más alta (0.81 g), seguido de los tratamientos *G3AH* (0.76 g), *G4AH* (0.76 g), *G3SAH* (0.69 g) y *CAH* (0.57 g) y por último el tratamiento *CSAH* el cual presentó la medias más baja (0.45 g) y fue significativamente diferente de los tratamientos *G3SAH*, *CSAH*, *G3AH* y *G4AH*.

Figura 10: Peso seco de raíz de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



Aunque durante las dos primeras fechas de evaluación y la cuarta fecha no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, el G4 mostró valores más elevados a los controles e incluso al G3. Sin importar el gremio, las plantas micorrizadas registraron valores de PSR más altos que algunos controles, siendo esta una evidencia de que los hongos micorrízicos incrementan la biomasa de la raíz debido a la formación de arbuscúlos por la demanda de crecimiento radical y la formación de vesículas cuando la planta está sometida a estrés hídrico.

La disminución de PSR en la fecha de estrés moderado se puede deber a un retardo en el proceso de simbiosis o otros factores. Existen diversos factores que podrían haber generado este hecho como es la fase de latencia del efecto de la inoculación micorrízica. En varios estudios se ha demostrado que existe un periodo de latencia entre la inoculación micorrízica y el periodo de tiempo en el cual se manifiesta su efecto (Sieverding, 1991). Es importante recordar que las plantas que mantienen simbiosis micorrízica necesitan una gran cantidad de energía metabólica, para lograr un desarrollo integral. Este fenómeno representa un elevado flujo de carbono derivado del proceso fotosintético que se expresa en un retardamiento del crecimiento vegetal (Guerrero y col, 1996).

8.3 VARIABLES DE COLONIZACIÓN MICORRÍCICA

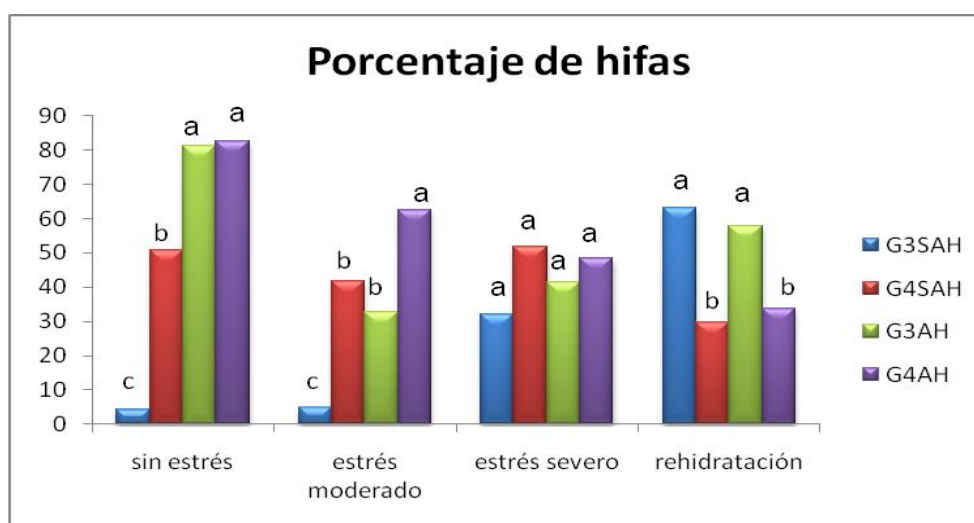
8.3.1 PORCENTAJE DE HIFAS

Para la variable porcentaje de hifas se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante las semanas 1,2 y 4 correspondientes a las fechas de evaluación sin estrés, estrés moderado y rehidratación. Para la semana 3 que corresponde a la fecha de estrés severo no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Durante la primera fecha de evaluación los tratamientos *G3AH* y *G4AH* mostraron el porcentaje más alta (81.26 y 82.4 %, respectivamente), seguidos de los tratamientos *G4SAH* (50.68%) y *G3SAH* (43.38%). Para la segunda fecha el tratamiento *G4AH* con un valor de 62,64% se mostró como el mejor tratamiento, seguido de los tratamientos *G4SAH*, *G3SAH* y *G3AH* cuyos valores fueron 41.90, 40.95 y 2.59%, respectivamente. Para la cuarta fecha los tratamientos *G3SAH* y *G3AH* mostraron los porcentajes más altos 63.17 y 57.88%, seguidos de los tratamientos *G4AH* (33.86%) y *G4SAH* (29.84%).

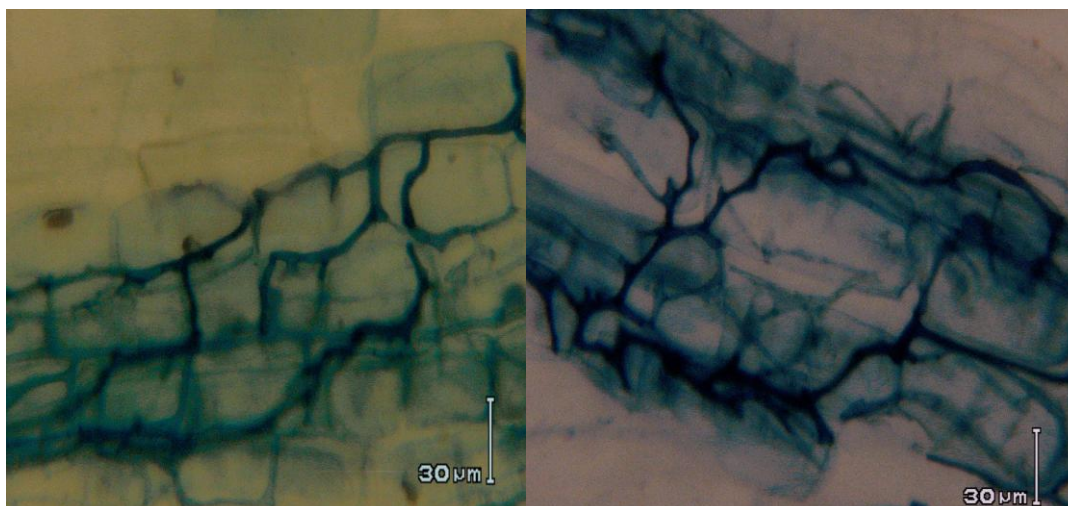
Para la tercera fecha de evaluación los tratamientos *G3AH* y *G3SAH* mostraron los porcentajes más altos (51.64 y 48.46%, respectivamente), seguido del tratamiento *G3AH* (41.48%) y por último el tratamiento *G3SAH* (32,16%).

Figura 11: Porcentaje de hifas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.



Se observó que para las tres primeras fechas de evaluación que el G4 registró valores superiores al G3 sin importar la condición de humedad (SAH-AH). Para la fecha de rehidratación el G3 mostró una recuperación más significativa que el G4. Esto se debe a que el hongo está supeditado a las condiciones ambientales del suelo, en particular la humedad parece ser un factor regulador de importancia. El G3AH tuvo la capacidad durante las fechas de estrés de aumentar el porcentaje de hifas y la rehidratación potencializó su desarrollo. Esto es un indicativo de que las hifas promueven la eficiencia para localizar y absorber el agua, implicando un efecto altamente beneficioso contra el estrés hídrico.

Figura 12: Hifas intrarradicales colonizando raíces de *Phaseolus vulgaris*.



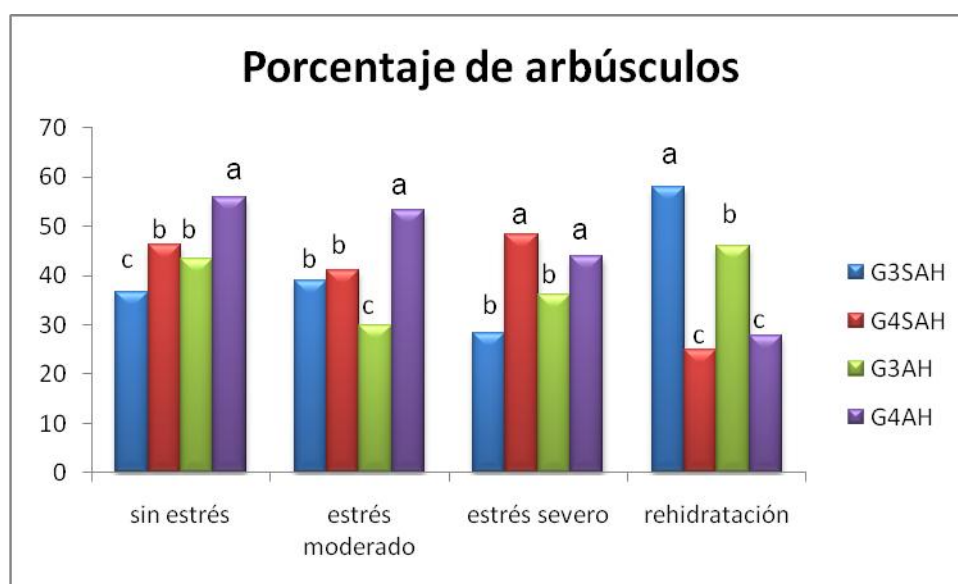
8.3.2 PORCENTAJE DE ARBÚSCULOS

En la variable porcentaje de arbúsculos se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante todas las fechas de evaluación (sin estrés, estrés moderado, estrés severo y rehidratación). Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha de evaluación el tratamiento G3AH (55.76%) mostró el porcentaje más alto y fue significativamente diferente de los demás tratamientos, seguido de los tratamientos G4SAH y G3AH (46.13 y 43.49 respectivamente) y en último lugar el tratamiento G3SAH(36.71%) presentó el menor porcentaje. Durante la segunda fecha el tratamiento G4AH con un porcentaje de 53.33 % se mostró como el mejor tratamiento, seguido de los tratamientos G4SAH (41.16%) y G3SAH (39.04%) y en último lugar el tratamiento G3AH con el menor porcentaje 29.94%. Para la tercera fecha de evaluación los tratamientos G4SAH y G4AH mostraron

los porcentajes más altos (48.44 y 43.91%, respectivamente) y estuvieron seguidos por los tratamientos *G3AH* (36.08%) y *G3SAH* (28.35%), los cuales presentaron los porcentajes más bajos. Para la cuarta fecha de evaluación el tratamiento *G3SAH* mostró el porcentaje más alto 57.98%, seguido del tratamiento *G3AH* (45.92%) y por último los tratamientos *G5AH* y *G5SAH* presentaron los porcentajes más bajos (27.83 y 24.86%, respectivamente).

Figura 13: Porcentaje de arbusculos de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.

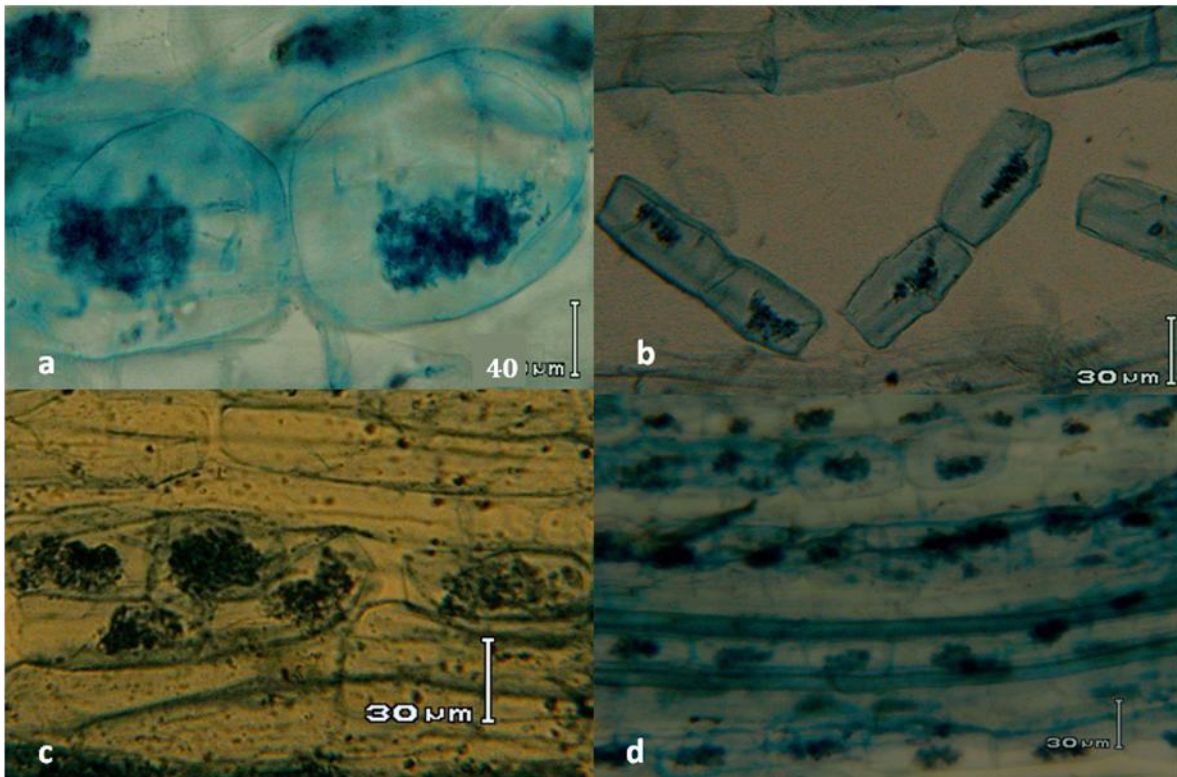


Algunos autores señalan que el grado de micorrización y colonización del sistema radical se ve influenciado por factores como el grado de fertilidad del suelo y el pH (Barea y col, 1982). En nuestros resultados se observó que el gremio 4 obtuvo mayor porcentaje de arbusculos durante las tres primeras fechas de evaluación, sin embargo el gremio 3 aumentó su porcentaje de formación de arbusculos cuando pasó de la fecha de estrés severo a la rehidratación. El hecho de que el G4 haya disminuido su porcentaje de arbusculos para la ultima fecha de evaluación es una muestra de que los arbusculos tienen un periodo de vida corto entre una y tres semanas, revelando su superioridad en las tres primeras fechas de evaluación, cuando el intercambio de nutrientes esta activo evidenciándose en algunas de las variables de crecimiento.

Estos resultados pueden correlacionarse con los encontrados por Aguirre J.F.M, 2009 quienes obtuvieron mayor cantidad de arbusculos durante el desarrollo vegetativo del frijol y hasta la floración (78%). Después de esta etapa, el

porcentaje se redujo a 40% hasta la cosecha. La reducción de la infección coincidió con la aparición de los órganos reproductivos y el desarrollo de las vainas.

Figura 14: Raíces de *Phaseolus vulgaris* teñidas con azul de Tripiano. Arbúsculos intracelulares. a. b. arbúsculos dentro de células radicales c. arbúsculos en células del G4AH durante la fecha de rehidratación d. colonización de arbúsculos en la raíz del G3AH durante la fecha de rehidratación.



8.3.3 PORCENTAJE DE VESÍCULAS

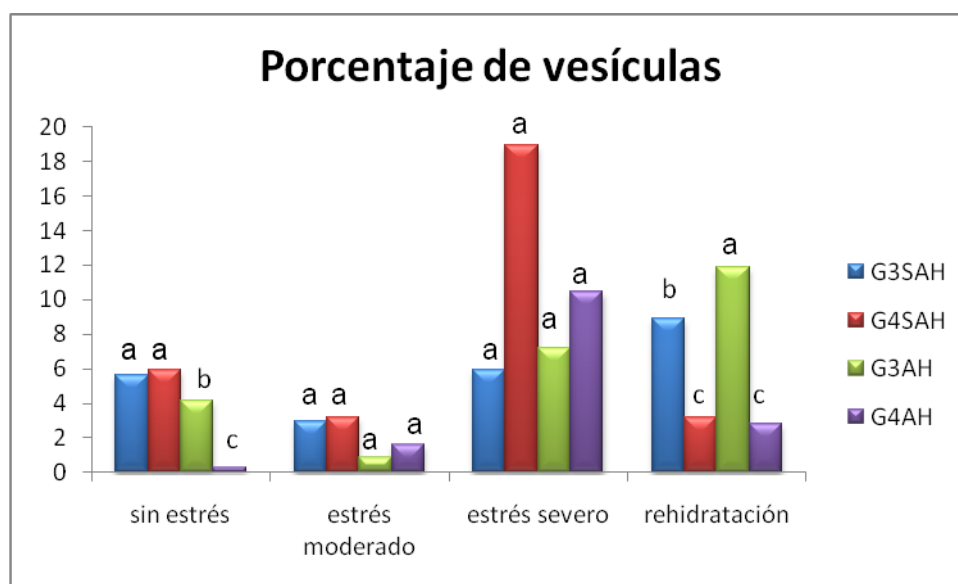
Para la variable porcentaje de vesículas se observaron diferencias significativas entre los tratamientos aplicando la prueba F con nivel de significancia de 0.05 durante la evaluación que corresponde a la fecha de rehidratación. Para las semanas 1,2 y 4 correspondientes a las fechas sin estrés, estrés moderado y rehidratación no se encontraron diferencias significativas. Para identificar los tratamientos diferentes por semana se aplicó la prueba DMS y los resultados fueron:

Para la primera fecha los tratamientos *G4SAH* y *G3SAH* mostraron los porcentajes más altos (5.9%³ y 5.6%¹, respectivamente), seguidos del tratamiento *G3AH* (4.13%) y por último el tratamiento *G4AH* (0.32%). Durante la segunda

fecha de evaluación los tratamientos *G4SAH* y *G3SAH* presentaron los porcentajes más altos (3.17 y 2.96%, respectivamente), seguidos del tratamiento *G4AH* (1.59%) y por último el tratamiento *G3AH* (0.85%) mostró el porcentaje más bajo. Para la cuarta fecha el tratamiento *G3AH* (11.85%) presentó el porcentaje más alto, seguido del tratamiento *G4SA* (8.88%) y en último lugar los tratamientos *G4AH* y *G4AH* mostraron los valores más bajos (3.17 y 2.85%, respectivamente).

Para la tercera fecha de evaluación, el tratamiento *G4SAH* (18.94%) mostró el porcentaje más alto, seguido de los tratamientos *G3AH*, *G4AH* y *G3SAH* (9.84, 7.19 y 5.92%, respectivamente) los cuales presentaron los porcentajes más bajos.

Figura 15: Porcentaje de vesículas de planta de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con G3, G4 y un control sin HMA, bajo dos condiciones de humedad (SAH y AH) en cuatro fechas de evaluación durante el régimen de agobio hídrico. Los valores se obtuvieron aplicando la prueba F con un nivel de significancia de 0,05. Letras iguales muestran que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.

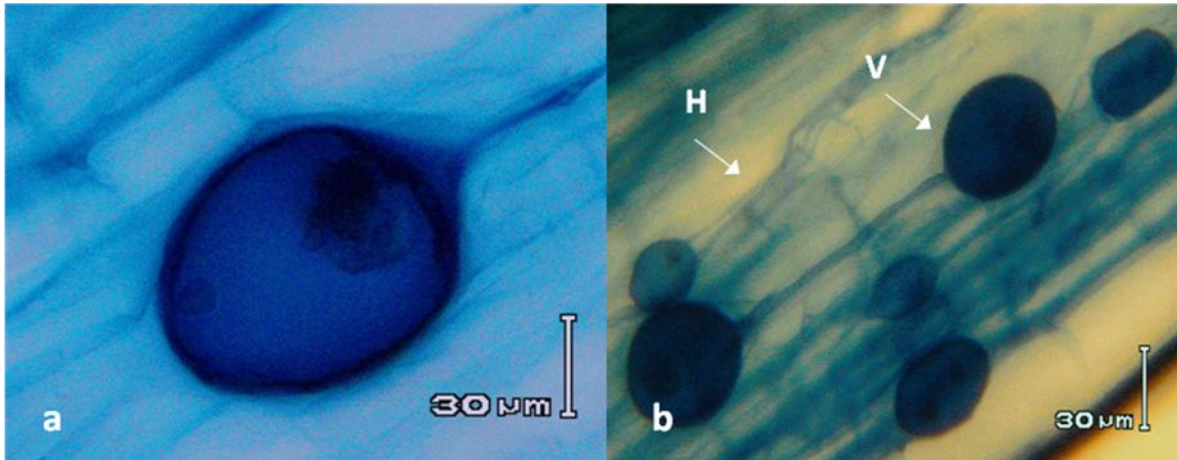


Durante las dos primeras fechas de evaluación los porcentajes de vesículas son bajos, estos resultados pueden ser explicados dado que la producción de las vesículas ocurre como respuesta a factores adversos de humedad. Las vesículas son las estructuras de almacenamiento de los hongos, cuya formación de sustancias es posterior a la de los arbuscúlos, correlacionándose esto con las dos últimas fechas donde el porcentaje de arbuscúlos tiende a disminuir y el de las vesículas aumenta.

Para la fecha de estrés severo se observó como aumenta el porcentaje de vesículas de una forma significativa sin diferencias entre los tratamientos, ya que las vesículas responden a estímulos de estrés. Esto puede ser relacionado con

algunos autores como Parodi, 2010 que registró la presencia de vesículas durante todas las estaciones del año, aunque los mayores valores se registraron en primavera y verano, cuando las plantas están bajo estrés hídrico.

Figura 16: Raíces de *Phaseolus vulgaris* teñidas con azul de Tripano. Vesículas de hongos micorrícicos (40X) a. vesícula unida a una hifa b. colonización de vesículas del G3 en fecha de rehidratación.



9. CONCLUSIONES

- Se observaron diferencias funcionales en los dos gremios, puesto que el G3 se comporta mejor bajo condiciones de humedad adecuada (SAH) y el G4 bajo déficit de agua (AH).
- Las diferencias en la colonización micorrícica (% de hifas, arbuscúlos y vesículas) durante la exposición de las plantas de frijol en agobio hídrico mostraron que el porcentaje de arbuscúlos e hifas aumentaron en condiciones de humedad adecuada, mientras que el porcentaje de vesículas se incrementa cuando las condiciones de agobio son más difíciles.
- Las condiciones de humedad afectan de forma diferente del desarrollo de las plantas de frijol y el efecto de los HMA sobre las plantas.
- Los HMA promueven el crecimiento de las plantas de frijol y disminuyen el efecto nocivo de la falta de agua en las plantas de frijol.
- Los HMA nativos de suelo de clima cálido son una alternativa para usarse en cultivos que se ven expuestos a condiciones de estrés hídrico o sequía.

10. PERSPECTIVAS

- Hacer cultivos monoesporicos con el fin de evaluar la multiplicación, infectividad y efectividad de cada uno de los géneros presentes en los gremios G3 y G4.
- Analizar la composición de géneros de HMA presente en cada gremio
- Formular biofertilizantes o fertilizantes biológicos que promuevan el crecimiento de las plantas cultivadas bajo condiciones de agobio hídrico.

11. BIBLIOGRAFÍA

- **Acosta K.** 2004. Respuesta del cultivo de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) a la asociación simbiótica con micorrizas vesículo arbuscular y *Rhizobium* sp. Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía pp. 1-74.
- **Afeck U. E., Rinaldedelli J., Menge E., Jonsoson and Pond.** 1990. Mycorrhizal species, root age, and position of mycorrhizal inoculum influence colonization of cotton, onion, and pepper seedlings. Journal American Society Horticulturae Science. Vol 115. N° 6. pp. 938-942.
- **Aguilera-Gómez L.I.** 1998. Influencia de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, desarrollo e intercambio gaseoso de *Zea mays* L. (MAÍZ) y *Capsicum annuum* L. (CHILE ANCHO). Tesis de doctorado; CINVESTAV-I.P.N., U. Irapuato., México.
- **Aguirre M.J.F., Kohashi S.J.** 2002. Componentes Morfológicos y Fisiológicos del Rendimiento, Dinámica de la Colonización Micorrízica y contenido de Fósforo en Frijol *Phaseolus vulgaris* L. Agric. Tec. Mex. 28: 23-33.
- **Aguirre M.J.F., Garza M., Duran A., Grajeda O., Peña M., Loredó C. y Gutiérrez A.** 2009. Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Centro de investigación regional pacifico sur campo experimental Rosario Izapa. Folleto técnico num 5 Tuxtla Chico, Chiapas.
- **Augé R.M.** 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhiza. Mycorrhiza 11:3-42.
- **Augé R.M., Schekel K.A y Waple R.L.** 1987. Leaf water and carbohydrate status of VA mycorrhizal rose exposed to drought stress. Plant and Soil 99:292-302.
- **Al-karaki G.N., Al- Raddad A. y Clark R.B.** 1998. Water stress and mycorrhizal isolate effects on growth and nutrient acquisition of wheat. Journal of plant Nutrition 21 (5): 891-902.
- **Al-karaki G.N. y Clark R.B.** 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal of Plant Nutrition 21 (2):263-276.
- **Alvarado G.L.** 1996. Efecto de las quemadas sobre las micorrizas vesículo arbusculares en sistemas de relevo frijol-maíz en un ultisol de Pérez Zeledón. Tesis, Lic Heredia, Costa Rica. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. p.71.
- **Blanco F., Rowe H.** 1994. Efectividad de 31 poblaciones nativas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA). In reunión anual de la Sociedad del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales. San José, Costa Rica, p.23.

- **Charest C., Dalpé Y. y Brown A.** 1993. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae and chilling on two maize hybrids of maize. *Mycorrhiza* 4:89-92.
- **Davies F.T., Potter J.R. y Linderman R.G.** 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size nutrient content. *Journal of Plant Physiology* 139: 289-294.
- **Diaz A., Garza I.** 2007. Growth of sorghum and safflower genotypes associated with arbuscular mycorrhizal colonization in low fertility soil. *revista Universidad y ciencia* 23:15-20
- **Dood J.C., Arias I., Comen I. y Hayman D.S.** 1990. The management of populations of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in acid-infertile soil of a savanna ecosystem. I. the effect of pre-cropping and inoculation with VAM-fungi on plant growth and nutrition in the field. *Plant Soil* 122:229-240.
- **Frank A.B.** 1885. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutsch Botanischen Gesellschaft* 3: 128-145.
- **Gange A.C., Brown V.K. y Farmer L.M.** 1990. A test of mycorrhizal benefit in an early successional plant community. *New Phytologist* 115:85-91.
- **Guerrero E., Azcon C., Barea J., Moyersen B., Orozco C., Cano C., Mejía D., Mayer J., Rivillas C y Rivera E.** 1996. Micorrizas: fundamentos biológicos y estado del arte. En: Guerrero Micorrizas: recurso biológico del suelo. Fondo FEN, Colombia. 208.
- **Gerdemann J.W., Trappe J.M.** 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycol Mem* 5:1-76
- **Goicoechea N., Szalai G., Antolin M.C, Sanchez Díaz M. y Paldi E.** 1998. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on free polyamines and proline levels in water-stressed alfalfa. *Journal of Plant Physiology* 153 (5-6): 706-711.
- **Goicoechea N., Merino S. y Sanchez Diaz.** 2001. Adaptaciones a la sequia en alfalfa micorrizada. *Pastos*, XXXI; 201-216.
- **Hardie K. y Leyton L.** 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth and water relations of red clover. In phosphate deficient soil. *New Phytologist* 89:599-608.
- **Hernández M.I.** 2000. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de maestría. INCA.
- **Hernandez C.L.** 2001. Efecto del hongo micorriza (*Glomus intraradices*) en el crecimiento del portainjerito Mexícola (*Persea americana*) cultivado bajo cinco tratamientos de fertilización. Taller de Licenciatura. Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de agro-económica. 84

- **Hernández C.L., Castillos A.S., Guadarrama C.P., Martínez O. y Romero R.M.A., Sánchez G.I.** 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del pedregal de San Angel. Facultad de Ciencias UNAM. Ed. Las prensas de ciencias. 77p.
- **IDEAM.** 2001. El medio ambiente en Colombia.
- **Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K, and Barea JM.** 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol Fertil Soil* 37: 1-16.
- **Karasawa T., Takebe M. y Kasahara Y.** 2000. Arbuscular mycorrhizal (MA) effects on maize growth and AM colonization of roots under various soil moisture conditions. *Soil Science Plant Nutrition* 46 (1): 53-60.
- **Koide R.T., Goff M.D. y Dickie I.A.** 2000. Component growth efficiencies of mycorrhizal and nonmycorrhizal plants. *New phytologist* 148: 163-168.
- **Malagón Castro D.** 2001. Ensayo sobre tipología de suelos colombianos - Énfasis en génesis y aspectos ambientales- *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 27(104): 319-341.
- **Marín R.R.** 2003. Colombia potencia Hídrica. IDEAM-Colombia.
- **Medina J.F., Irizar M.B., Prado A.D., Cabrera O.A., Osti M.A., Osti C.L., Baeza A.G.** 2009. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para agricultura en México. Folleto técnico 5:11.
- **Mena-Violante et al.** 2006 .Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought, *Mycorrhiza* 16 (2006), pp. 261–267.
- **Miller RM and Jastrow JD.** 2000. Micorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik Y, Douds DD (eds) *Arbuscular Mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic. Dordrecht. The Netherlands 3-18.
- **Morton J.B., Benny G.L.**1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes). A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37:471–491
- **Parodi G.** 2010. Micorrizas arbusculares en dos gramíneas nativas (*Nassella neesianan* y *Coelorhachis selloana*) de un pastizal natural de Uruguay. Universidad de la Republica. Facultad de Ciencias
- **Pate J.S.**1994. The mycorrhizal association: just one of many nutrient acquiring specializations in natural ecosystems. *Plant and soil* 159.
- **Pearson V., Read D.J.**1975. The physiology of the mycorrhizal andophyte of *Calluna vulgaris*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64:1-7.

- **Roveda G., Cabra I., Ramírez M.M., Peñaranda A.** 2007. Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la aclimatación y endurecimiento de microplántulas de mora (*Rubus glaucus*). Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 8:28-36.
- **Quiang-Sheng W. y Ren-Xue X.**2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of plant physiology. 163:417-425.
- **Schüßler A., Schwarzott D. y Walter C.**2001. A new fungal phylum, the glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research 105:1413-1421.
- **Schüßler A., Walker C.** 2011. Evolution of the 'Plant-Symbiotic' Fungal Phylum, Glomeromycota. In: Poggeler S, Wostemeyer (eds) Evolution of Fungi and Fungal-Like Organisms, The Mycota XIV. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 163–185
- **Sieverding E.**1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal management in tropical agrosystems. Technical Cooperation. Federal Republic of Germany. 371
- **Subramanian K.S. y Charest C.** 1997. Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays L.*) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. Mycorrhiza 7 (1): 25-32.
- **Schellenbaum L., Muller J., Boller T., Wiemken A. y Schuepp H.** 1998. Effects of drought on non-mycorrhizal and mycorrhizal maize: change in the pools of non-structural carbohydrates, in the activities of invertase and trehalase, and in the pools of amino acids and iminoacids. New Phytologist 138:59-66.
- **Sharma A.K., Johri B.N. y Gianinazzi S.** 1992. VAM in relation to plant disease. World Journal and microbiology and Biotechnology 8:559-563.
- **Smith S.E.**1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. New Phytol. 65: 488-499.
- **Smith S., Read D.** 1997. Mycorrhizal symbiosis Academic Press, London.
- **St-John B.J., Smith S.E., Nicolas D.J.D., Smith F.A.** 1985. Enzymes of ammonium assimilation in *Peizizella ericae* Read. New Phytol, 100: 579-584.
- **Stürmer S.L.** 2012. History of the taxonomy and systematic of arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the phylum Glomeromycota. Mycorrhiza, 10.1007.
- **Van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M., Moutoglou P., Streitwolfangel R., Boller T., Wiemken A. y Sanders I.R.**1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. Nature 396:69-72.

- **Yu T., Egger K.N., Peterson R.I.** 2001. Ectendomycorrhizal associations, characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11:167-177.