

Detalle de micorrizas

RELACIONES SIMBIÓTICAS

# INOCULACIÓN Y PERSISTENCIA DEL HONGO MICORRÍZICO ARBUSCULAR *Glomus iranicum var tenuihypharum*

**E. NICOLÁS, JF. MAESTRE-VALERO, F. PEDRERO, R. ALCOBENDAS, JM. BAYONA, JJ. ALARCÓN** CEBAS-CSIC.

Campus de Espinardo (Murcia)

**J. VICENTE-SÁNCHEZ, A.J. BERNABÉ, F. FERNÁNDEZ** Symborg, S.L. Campus de Espinardo 7. Edificio CEEIM (Murcia)

**M. SÁNCHEZ, J. GÓMEZ-MONTIEL** Frutas Esther S.A. Ctra. de la Estación, Km 1.9. Abarán (Murcia)

Actualmente, la producción agrícola intensiva requiere establecer nuevos enfoques dirigidos a incrementar la competitividad y reducir al mínimo el impacto ambiental de las prácticas culturales asociadas al desarrollo de los cultivos. En este sentido, el establecimiento de relaciones simbióticas entre los microorganismos y la rizosfera de plantas parece ser una técnica adecuada (Aroca *et al.* 2013) ya que permite por ejemplo la recuperación de los suelos o la sustitución parcial o total de algunos nutrientes con el consiguiente ahorro en costes de producción (Azcón 2000). En este estudio se evaluaron durante dos años consecutivos los efectos del biopreparado comercial MycoGrowth® a base del exclusivo hongo micorrízico arbuscular (HMA) *Glomus iranicum var tenuihypharum*, en uva de mesa variedad Crimson.

**E**n particular, son de gran importancia los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) ya que además de ser capaces de colonizar la mayor parte de las plantas (Schreiner y Mihara 2009), desempeñan un papel sustancial pues (i) transmiten nutrientes desde una gran distancia hacia la planta (Schnepf *et al.* 2007), (ii)

incrementan la absorción de agua y nutrientes desde el suelo (Aroca *et al.* 2007), (iii) aumentan la conductividad hidráulica de la raíz y de la capacidad fotosintética (Sánchez-Blanco *et al.* 2004) y (iv) promueven el crecimiento y la tolerancia contra estreses tanto abióticos como bióticos (Pozo y Azcón Aguilar 2007). Sin embargo, a pesar de estas

propiedades beneficiosas, su distribución y presencia en el mercado es todavía incipiente y su aplicación en campo es escasa, probablemente por causas diversas, tales como inefectividad a la inoculación (Ryan y Graham 2002) o adaptación insuficiente a las condiciones del suelo. Como consecuencia, la selección de especies adaptadas a las condicio-

## RESUMEN DEL ESTUDIO

La inoculación mejoró el estado hídrico de las plantas incrementando significativamente el rendimiento, la calidad de las uvas y adelantando la recolección, aspecto fundamental desde el punto de vista comercial. La persistencia de esta especie de HMA durante el segundo año de ensayo produjo efectos similares, aunque en menor medida, que el tratamiento inoculado los dos años consecutivos.

Los resultados de este estudio justifican por tanto la aplicación de HMA en vid Crimson. Sin embargo, como resultado de la competencia existente entre la micorriza nativa y la no nativa, sería recomendable un seguimiento de la colonización y re-inoculaciones periódicas de al menos cada año, para lograr cada campaña los efectos positivos evidenciados en el tratamiento inoculado del primer año.

nes edáficas concretas que favorezcan esta simbiosis resulta necesaria.

### DISEÑO EXPERIMENTAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

El ensayo se realizó durante dos campañas consecutivas en una parcela situada en Jumilla (Murcia). Las variables evaluadas fueron una variedad de uva de mesa y la inoculación con HMA. La variedad de uva seleccionada fue Crimson, de diez años de edad con un marco de plantación de 4 x 4. Esta variedad se caracteriza por tener una baya de tamaño mediano a grande, roja, elíptica y sin semillas.

Durante el primer año de experimentación se llevaron a cabo dos tratamientos: ( $T_0$ ) vid Crimson sin inoculación considerada como el tratamiento control y ( $T_1$ ) vid Crimson con inoculación. Durante el segundo año, con objeto de evaluar la persistencia de la inoculación del HMA en la planta, se realizó un tratamiento adicional; La mitad de las vides que se habían inoculado en el primer año, no se inocularon en el segundo año ( $T_2$ ). Los otros tratamientos ( $T_0$  y  $T_1$ ) se realizaron como el primer año.

Las vides se regaron diariamente con agua de conductividad eléctrica de  $2 \text{ dS m}^{-1}$  mediante goteo con emisores de  $4 \text{ l h}^{-1}$  separados cada 75 cm dentro de ca-

da ramal. Las necesidades hídricas del cultivo se determinaron a partir del cálculo de la evapotranspiración potencial estimada mediante la aplicación de la ecuación de Penman-Monteith (Allen *et al.* 1998) y el uso de coeficientes de cultivo locales.

### INOCULACIÓN DEL HMA

El HMA aplicado se aisló previamente en un suelo sódico-salino con un pH de 8,1. El inóculo se suministró a través del sistema de riego al principio del crecimiento vegetativo con una dosis de  $4,5 \text{ Kg ha}^{-1}$ . Finalmente, la efectividad del inóculo se evaluó mediante el test del número más probable.

### REGISTRO DE DATOS

Para realizar los análisis se seleccionaron ocho plantas de cada tratamiento y se analizó el desarrollo simbiótico, el estado hídrico de la planta, la producción y la calidad de fruta.

### Desarrollo simbiótico

Para evaluar el desarrollo simbiótico, se recogieron muestras de raíces y después de limpiarlas con agua des-ionizada, se clarificaron con una solución al 10% de KOH durante 10 minutos a  $90^\circ\text{C}$ , se pasaron por HCl 2N, durante 10 minutos y finalmente se tñieron con una solución de 0.05 lacto glicerina - azul de tripano (Phillips y Hayman 1970). Finalmente, el porcentaje de colonización radicular se evaluó mediante observación visual.

### Estado hídrico

El estado hídrico de la planta se determinó a partir del potencial hídrico de tallo ( $\psi_t$ ). Éste se determinó a mediodía mediante una cámara de presión (Model PMS 3000; Soil-moisture Equipment Corp. USA). Los análisis se realizaron dos veces al año coincidiendo con el envero y se calculó el promedio de ambos valores. Para realizar los análisis, en cada tratamiento se seleccionaron ocho hojas maduras y sanas de la parte media y alta del dosel vegetal localizadas en el lado opuesto del racimo (Kliever 1991). Antes de la recolección de hojas y las mediciones, éstas se introdujeron en una bolsa de aluminio durante 2 h.

## La selección de especies adaptadas a las condiciones edáficas concretas que favorezcan la simbiosis resulta necesaria



Uva de mesa de la variedad Crimson de tres años

## Producción y calidad

Como consecuencia de la maduración escalonada que caracteriza a la variedad Crimson, la recolección se llevó a cabo en dos cortes. La producción total se determinó como la suma de las producciones de ambos cortes.

Para determinar la calidad de la uva, se seleccionaron 100 racimos de uva y 100 bayas al azar de cada tratamiento. Se determinó el peso de racimo y de baya (Radwag WLC 1.2/B1, Polonia), el diámetro de la baya, la firmeza (Durofel DFT 100 penetrómetro, Francia), el contenido de sólidos solubles (Atago MASTER-T refractómetro, EE.UU.) y la acidez (Metrohm 785 DMP Titrino + cambiador de nuestras automático Metrohm 760, Switzerland). El índice de madurez se calculó como el ratio entre el contenido de sólidos solubles y la acidez.

## Análisis estadísticos

La interpretación de los datos se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA; software estadístico IBM SPSS Statistics v. 21 for Windows) para detectar diferencias significativas entre los parámetros medidos. Adicionalmente, cuando las diferencias fueron significativas, se aplicó el test de Tukey al 95% de confianza.

## COLONIZACIÓN FÚNGICA Y ESTADO HÍDRICO

La **Tabla 1** muestra el porcentaje de colonización durante los dos años de experimentación. Las viñas inoculadas presentaron mayor grado de colonización. Durante el primer año, la colonización



Muestras de raíces, teñidas, para evaluar el desarrollo simbiótico

alcanzó el 60%, mientras que el segundo año este valor fue un 29% superior. Adicionalmente, no inocular las plantas que habían sido tratadas en primer año limitó el porcentaje de colonización (43%) aunque este valor fue significativamente superior al observado en el tratamiento control (19%). Por un lado, estas altas tasas de colonización indican el elevado grado de compatibilidad y establecimiento del HMA en la variedad de vid Crimson (Caglar and Bayram 2006). Por el otro lado, la reducción que se observa en T<sub>2</sub> durante el segundo año su-

giere la existencia de un cierto grado de competencia entre el hongo nativo y el inoculado (Verbruggen *et al.* 2013) (**Tabla 1**). En ambos años de experimentación la inoculación significativamente incrementó  $\psi$ t (**Tabla 1**). Algunas investigaciones indican que una elevada presencia de HMA en la zona radicular facilita la absorción de agua y, por tanto, contribuye a un mejor estado hídrico de la vid (Ruíz-Lozano and Azcón 1995). En el segundo año, se observó una mejora generalizada del estado hídrico de la planta comparada con los resultados ob-

**Tabla 1.** Porcentaje de colonización y potencial de tallo ( $\psi$ t, MPa) para los tres tratamientos realizados en este estudio

Variedad Vid	Tratamientos	% colonización HMA		Potencial hídrico tallo (MPa)	
		1 <sup>er</sup> Año	2 <sup>o</sup> Año	1 <sup>er</sup> Año	2 <sup>o</sup> Año
Crimson	T <sub>0</sub>	10.30a*	19.0a*	-1.07a	-0.80a
	T <sub>1</sub>	60.0 b	89.0c	-0.87b	-0.62b
	T <sub>2</sub>	-	43.0b	-	-0.70ab

\* HMA Nativa

Los valores se corresponden con el promedio de dos medidas realizadas durante el invierno. Los datos que no comparten una letra en común mostraron diferencias significativas (P<0,05) de acuerdo al test de Tukey al 95% de confianza.

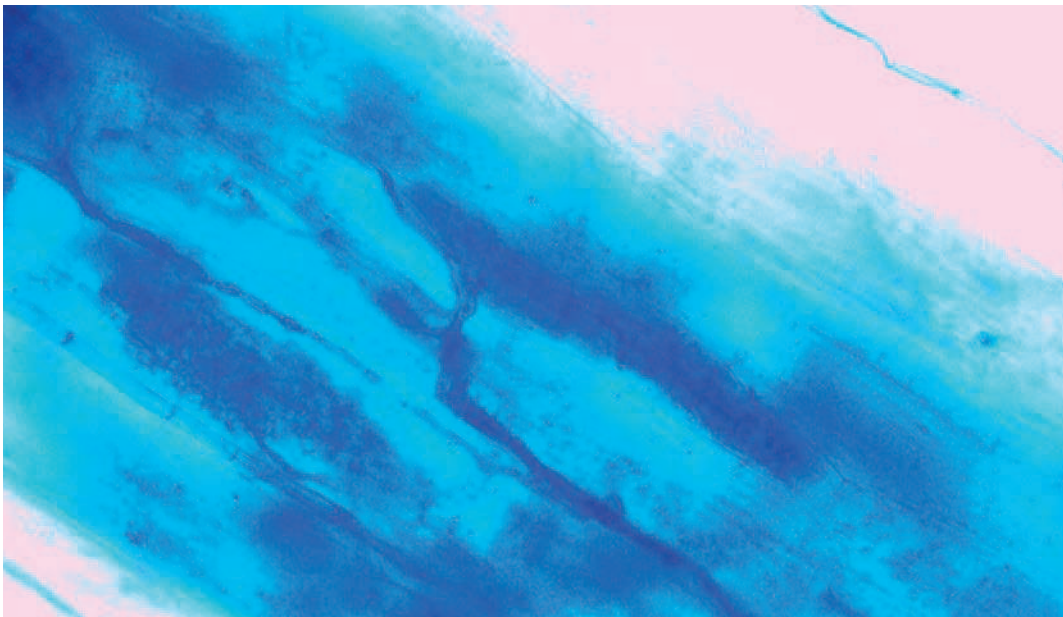
**Tabla 2.** Parámetros de calidad de uva Crimson a los dos cortes: peso de racimo (g), firmeza del grano (presión en N cm<sup>-2</sup>), contenido de sólidos solubles (°Brix) e índice de madurez (°Brix % Tartárico<sup>-1</sup>) en los dos años de tratamiento experimental para los tres tratamientos realizados

		1 <sup>er</sup> Año		2 <sup>o</sup> Año	
		1 <sup>er</sup> Corte	2 <sup>o</sup> Corte	1 <sup>er</sup> Corte	2 <sup>o</sup> Corte
Peso de Racimo	T <sub>0</sub>	493 Aa	391 Aa	617 Aa	537 Aa
	T <sub>1</sub>	560 Ba	518 Ba	876 Ba	830 Ba
	T <sub>2</sub>	-	-	654 Aa	556 Aa
Firmeza	T <sub>0</sub>	61.9 Aa	69.3 Ab	82.0 Aa	85.5 Ab
	T <sub>1</sub>	64.4 Ba	68.6 Ab	88.0 Ba	87.0 Aa
	T <sub>2</sub>	-	-	86.1 Aa	86.4 Aa
° Brix	T <sub>0</sub>	20.1 Aa	19.7 Aa	21.0 Aa	20.9 Aa
	T <sub>1</sub>	21.3 Bb	20.0 Aa	21.4 Aa	21.2 Aa
	T <sub>2</sub>	-	-	21.2 Aa	21.1 Aa
Índice de Madurez	T <sub>0</sub>	50.2 Aa	56.2 Ab	21.0 Aa	47.1 Aa
	T <sub>1</sub>	52.8 Ba	61.5 Bb	21.4 Aa	60.2 Ca
	T <sub>2</sub>	-	-	21.2 Aa	54.5 Ba

Las letras mayúsculas significan diferencias entre tratamientos en cada corte.

Las letras minúsculas significan diferencias entre cortes en el mismo tratamiento.

Los datos que no comparten una letra en común mostraron diferencias significativas (P<0,05) de acuerdo al test de Tukey al 95% de confianza.



servados en el primer año. Esta mejora se atribuyó al aumento de colonización micorrízica y a una mejor nutrición, particularmente P (Graham and Syverston 1984). De hecho, cuanto mayor es el porcentaje de colonización y absorción de P, mejor estado hídrico de la planta se ha observado (**Tabla 1**).

### PRODUCCIÓN Y CALIDAD

Las **Figuras 1a y 1b** muestran la producción ( $t\ ha^{-1}$ ) de vid Crimson para los dos años de experimentación. La producción total del primer año para el tratamiento control fue de  $20.98\ t\ ha^{-1}$ . La

inoculación incrementó significativamente la producción (incremento del 48,3%). Se observaron incrementos significativos en los dos cortes realizados en  $T_1$  con respecto a  $T_0$ , aunque este aumento fue más elevado en el segundo corte (incremento  $\approx 81,9\%$ ).

### La competencia entre los hongos nativos e indígenas obliga a la práctica de re-inoculaciones periódicas

En el segundo año, se produjo una reducción generalizada de la producción. Por ejemplo, en  $T_0$  y  $T_1$  se observaron reducciones del 15% y 20% con respecto a la campaña anterior. La inoculación incrementó el rendimiento (aumento de 59,1% comparado con  $T_0$ ). Como ocurrió en el primer año, los incrementos causados por la inoculación se observaron en todos los cortes aunque de nuevo el aumento más significativo se observó en el segundo corte. La persistencia del HMA en el tratamiento  $T_2$  también incrementó la producción pero con un efecto más moderado que el tratamiento  $T_1$  (producción =  $20,01\ t\ ha^{-1}$ ; aumento de 27,0% con respecto a  $T_0$ ). Esta mayor producción se atribuyó al efecto positivo de la simbiosis entre el HMA y la planta que favoreció la absorción de agua y nutrientes (Navarro *et al.* 2011).

La **Tabla 2** muestra los principales parámetros de calidad de vid Crimson para los dos años de experimentación. En el primer año, los resultados del primer corte mostraron que la inoculación incrementó de forma significativa el peso del racimo (de 493 g a 560 g), la firmeza de la baya (de  $61,9\ N\ cm^{-2}$  a  $64,4\ N\ cm^{-2}$ ), el contenido de sólidos solubles (de 20,1 °Brix a 21,3 °Brix) y el índice de madurez (de  $50,2\ °Brix\ \% \text{ Tartárico}^{-1}$  a  $52,8\ °Brix\ \% \text{ Tartárico}^{-1}$ ). Sin embargo, estas diferencias no se



1er Premio  
2.600 €

# Premio CRISTÓBAL DE LA PUERTA

PARA MONOGRAFÍAS SOBRE GANADERÍA

Editorial Agrícola abre, un año más, el plazo de presentación de los trabajos y monografías ganaderas en una nueva edición del Premio Cristóbal de la Puerta.

Envíanos tu trabajo a:  
[redaccion@editorialagricola.com](mailto:redaccion@editorialagricola.com) antes del 25 de noviembre

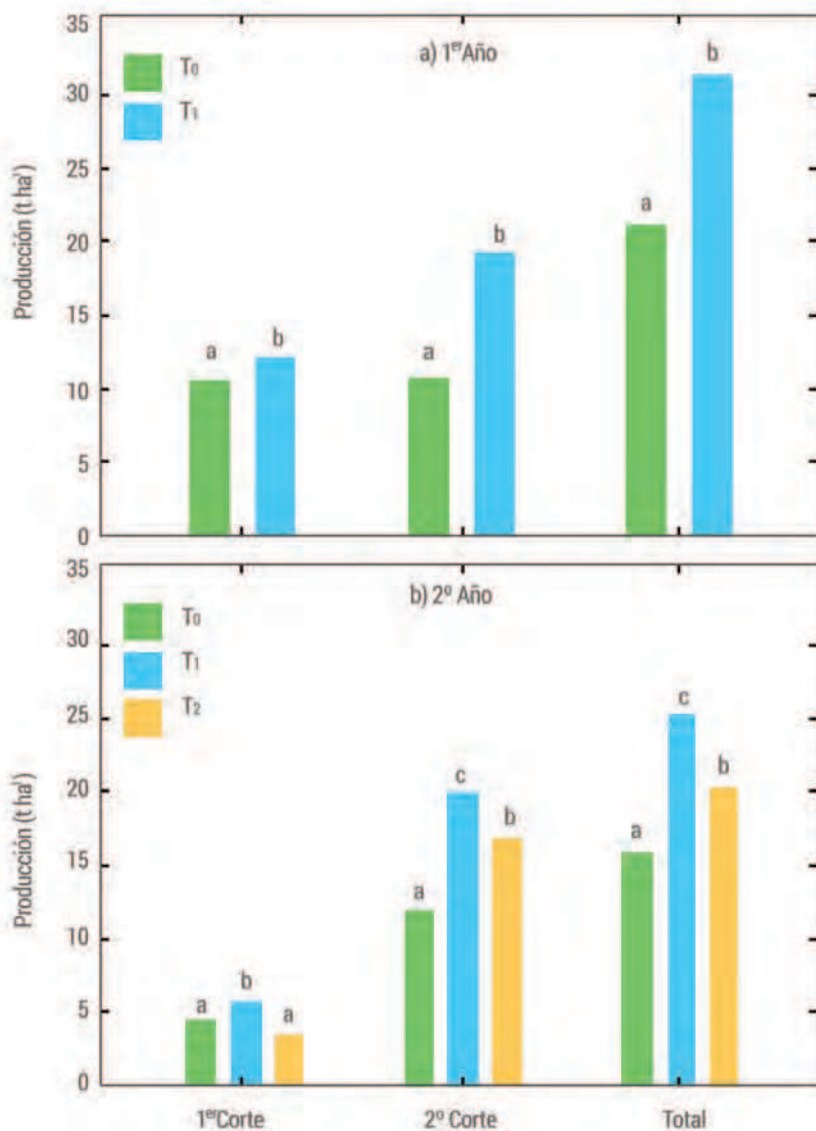
Consultar las bases del Premio en [www.editorialagricola.com](http://www.editorialagricola.com)

Animate  
y participa



**editorial  
agrícola**

**Figura 1.** Producción (t ha<sup>-1</sup>) de vid Crimson para los dos años de experimentación para los tres tratamientos realizados. T<sub>0</sub> es el tratamiento control, T<sub>1</sub> es el tratamiento inoculado y T<sub>2</sub> es el tratamiento inoculado el primer año que no se inocula el segundo año. Los datos que no comparten una letra en común mostraron diferencias significativas (P<0,05) de acuerdo al test de Tukey al 95% de confianza



encontraron en el diámetro ecuatorial de baya y en el peso de la baya (datos no mostrados). En el segundo corte, solamente se identificaron diferencias significativas en el peso del racimo (de 391 g a 518 g) y en el índice de madurez (de 56,2 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup> a 61,5 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup>).

En el segundo año, la calidad de la uva fue notablemente superior con respecto al primer año. En el primer corte, se encontraron incrementos significativos en el peso del racimo (de 617 g a 876 g), en la firmeza de la baya (de 82 N cm<sup>-2</sup> a

88 N cm<sup>-2</sup>), en el índice de madurez (de 45,8 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup> a 58,5 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup>) y en el diámetro ecuatorial (datos no mostrados) en el tratamiento T<sub>1</sub>. En T<sub>2</sub>, solo se observaron incrementos significativos en el índice de madurez (de 45,8 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup> a 52,3 °Brix % Tartárico<sup>-1</sup>) y en el diámetro ecuatorial (datos no mostrados). En el segundo corte se identificó una tendencia muy similar (**Tabla 2**).

Se debe finalmente destacar el hecho de que las mejoras en el rendimiento y calidad en el tratamiento

inoculado no se correlacionaron con la coloración de las bayas, en las que prácticamente no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Este hecho se justifica ya que el parámetro fundamental comercial establecido para determinar el momento de recolección es la coloración de uva.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El HMA aplicado ha colonizado satisfactoriamente las raíces de vid. Incluso en el tratamiento T<sub>2</sub> (plantas que habían sido inoculadas durante el primer año y no se inocularon en el segundo año), se observó una colonización residual superior a la registrada en el tratamiento control. La inoculación ha mejorado el estado hídrico de la planta y, además, se ha observado que, a mayor porcentaje de colonización, mejor es el estado hídrico.

Las vides inoculadas han incrementado considerablemente el rendimiento y la calidad, así como una mayor precocidad, lo que conlleva un mayor valor comercial. Este resultado positivo también se ha detectado, aunque en menor medida, en T<sub>2</sub>. Se ha observado un cierto grado de competencia en la colonización del suelo entre la cepa nativa y el HMA aplicado no nativo, lo cual sugiere que un seguimiento periódico de la colonización de micorrizas se debe llevar a cabo y, por lo tanto, re-inoculaciones periódicas se deben aplicar para obtener todos los efectos positivos observados en el tratamiento inoculado.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad por el proyecto CICYT (AGL2010-17553), al FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional) y a la Comisión Europea en el marco del proyecto EFP7 SIRRIMED (FP7-KBBE-2009-3-245159) por la financiación de este estudio. Los autores también agradecen la asistencia de Frutas Esther S.A. en el desarrollo del proyecto. ■

## Bibliografía

Quedan a disposición del lector interesado en el correo electrónico [redaccion@editorialagricola.com](mailto:redaccion@editorialagricola.com)