

## ACCION DE LAS MICORRIZAS VESICULARES ARBUSCULARES EN LA NUTRICION Y CRECIMIENTO DEL PORTAINJERTO CITRICO LIMONERO RUGOSO - *Citrus jambhiri* Lush

J. J. Ferreira; H. J. Polero y C. A. Jontza (1)

Recibido: 15/4/82

Aceptado: 25/8/82

### RESUMEN

Plantas cítricas de poco desarrollo y con síntomas de deficiencias están asociadas con la ausencia de hongos micorrízicos en suelos esterilizados; con el agregado a este suelo de 32 esporas de *Glomus fasciculatus*, se consiguió que las plantas tratadas de Limonero Rugoso presentaran un mayor tamaño, del orden del 227,4 por ciento comparadas con las no inoculadas, lo cual se debe a que los hongos micorrízicos estimulan en las plantas tratadas la mayor absorción de macronutrientes y también elementos menores. Esto fue corroborado en el análisis del % de Fosforo, que dió 0,278 por ciento para las plantas micorrizadas, en cambio en plantas no micorrizadas fue de 0,168 por ciento. También presentan las plantas micorrizadas color de follaje verde intenso, mayor superficie foliar, como así también una notable diferencia en el desarrollo radicular.

La relativa dependencia micorrízica del protainjerto Limonero Rugoso, fue determinado por la expresión del peso seco de plantas micorrizadas y no micorrizadas. El peso medio seco de la parte aérea y radicular en los citrus micorrizados fue mayor que en los no micorrizados.

### ACTION OF VESICULAR ARBUSCULAR (V.A.) MYCORRHIZAL FUNGI ON THE GROWTH OF *Citrus jambhiri* ROOTSTOCK

### SUMMARY

In sterile soils symptoms of deficiency and poor development of citrus plants are related to the absence of mycorrhizic fungi. Through the addition of 32 *Glomus fasciculatus* spores to this soil, Rough Lemon plants were obtained showing a larger size of about 227,4 % as compared to non inoculated ones. The idea is that mycorrhizic fungi stimulate the absorption of phosphorus and other minor mineral elements for the use of them by the plants under treatment.

This was corroborated by phosphorus percentage analysis, yielding 0,278 in contaminated plants whereas controls show 0,168 %. Mycorrhizae-treated plants also show a darker green foliage, a large foliar surface and a remarkable improvement in root development.

The relatively mycorrhizae-dependent behaviour of Rough Lemon rootstock was determined by dry weight figures in treated and untreated plants. Mean dry weight of aerial and root portion of mycorrhized citrus plants was higher than that of control.

---

(1) Cátedra de Fruticultura, Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, (1417) Buenos Aires, Argentina.

## INTRODUCCION

En las raíces de la mayoría de las plantas superiores se encuentran asociados una clase de microorganismos, las micorrizas vesiculares arbusculares (M.V.A.), que son hongos presentes en el suelo y simbióticas a la vez, de tal manera que ambos miembros se benefician con esta asociación (Safir, 1980). Estos hongos incrementan la nutrición mineral de las plantas huésped, especialmente de fósforo, cobre, zinc, azufre y otros elementos. Debido a que estos hongos proveen elementos esenciales para el crecimiento, las plantas micorrizadas crecen más rápidamente y muestran una mayor lozanía que las plantas no micorrizadas, especialmente en suelos de baja fertilidad (Gerdemann, 1975).

Entre las plantas superiores (Angiospermas), existe un amplio rango de dependencia con M.V.A. para el crecimiento. La dependencia micorrízica es definida por Gerdemann como "el grado que una planta resulta ser dependiente de la condición micorrízica, en un suelo de nivel de fertilidad establecido, para producir su máximo crecimiento o rendimiento". Los citrus son infectados por un buen número de especies y son considerados altamente dependientes.

Las micorrizas en citrus están ampliamente distribuidas en todo el mundo. Rayner (1933, 1935), Reed y Fremont (1935) observaron la presencia de M.V.A. en el sur de California y consideraron la importancia de estas endomicorrizas en el normal desarrollo de las raíces de todas las especies cítricas. Neill (1944) encontró endomicorrizas presentes en las raíces de todos los cultivares de Citrus en Nueva Zelanda, Australia y en las Islas Cook; Sudskaya (1958) en Rusia y Gerdemann y Bakshi (1976) en Egipto.

En la producción de plantines cítricos para portainjertos es práctica normal, en el extranjero y en diferentes zonas de nuestro país, la esterilización o fumigación del suelo del almácigo donde se siembran las semillas de citrus para destruir hongos tales como *Phytophthora*, *Pythium*, *Alternaria*, causantes del "Damping-off".

Mediante esta práctica, si bien resulta efectiva la destrucción de los hongos patógenos, quedan eliminadas también las endomicorrizas presentes en el suelo, ocasionando a los plantines un pobre desarrollo manifestado por clorosis y enanismo.

Según Menge (1976-1977) "los hongos micorrízicos tienen la capacidad de estimular el crecimiento de los citrus en un grado que oscila entre un 20 y 2.600 por ciento en comparación con plantines desarrollados en suelos fumigados o esterilizados. Las micorrizas en citrus aumentan la absorción de nutrientes minerales del suelo, tales como fósforo, cobre, zinc, azufre y quizás otros elementos también".

Una planta micorrizada posee un sistema radicular aumentado por la red de hifas fúngicas que se extienden desde la superficie de la raíz en el suelo hasta siete centímetros de distancia, aumentando la capacidad de absorción de nutrientes. La densidad y la estructura de esta red varía de acuerdo a la especie de hongo micorrízico, el huésped y el suelo (Safir, 1980).

Son numerosas las especies de micorrizas vesiculares-arbusculares y, asimismo, varía su grado de dependencia entre ellas con las distintas especies de portainjertos cítricos. Menge (1977) encontró en suelos de plantaciones y viveros cítricos de California y Florida que el 98 por ciento de los mismos estaban infectados con hongos micorrízicos, tales como *Glomus fasciculatus*, *macrocarpus*, *microcarpus*, *mosseae*, *caledonius*, *monosporus*, *constrictus*, *Sclerocystis sinuosa* y *Gigaspora margarita*.

La acción de las micorrizas también incrementó el desarrollo de plántulas de palto, *Persea americana* Mill, las cuales inoculadas con *Glomus fasciculatus* produjeron un aumento del desarrollo del orden de 49-254 por ciento mayor que las no inoculadas (Menge *et al.*, 1980), incluso algunas especies como *Leptospermum scoparium* pueden alcanzar por acción de las micorrizas un desarrollo de 13.000 por ciento respecto a las no micorrizadas (Hall, 1975).

Dada la importancia de estos microorganismos para lograr plantines de portainjertos cítricos sanos, de mayor crecimiento y en menor tiempo para su posterior injertación, se comenzó el estudio del efecto de una endomicorriza en el crecimiento de una especie de portainjerto utilizada en las zonas cítricas más importantes del país, Mesopotamia y Noroeste.

## MATERIALES Y METODOS

En este experimento se utilizó el portainjerto Limonero Rugoso, *Citrus jambhiri*, el cual según Menge *et al* (1979) es altamente dependiente de micorrizas. Las semillas fueron suministradas por la Estación Experimental Regional Agropecuaria (INTA) Concordia. La micorriza utilizada fue *Glomus fasciculatus*, que tratándose de una endomicorriza, se encontraba en raíces y suelo de Sorgo Sudán (*Sorghum sudanense*), remitidas por Menge desde California, Estados Unidos de Norte América.

El suelo empleado en el ensayo fue preparado mezclando tierra común con arena en proporciones iguales. Se lo esterilizó con Dazomet (3,5 dimetil-tetrahidro 1,3,5 - 2H tiodizina 2-tion DMTT) Se analizó el contenido de P de este suelo por el método Bray 1.

Las plántulas se obtuvieron por siembra en la tierra estéril en macetas plásticas de 10 cm de altura. Cuando las mismas tenían una altura aproximada de 3 cm y 3-4 hojas se retiraron y se podó levemente la raíz principal. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con 7 repeticiones. Se trasplantaron individualmente a pequeños potes plásticos de 200 cm<sup>3</sup> conteniendo tierra estéril y colocando el inóculo, *Glomus fasciculatus*, alrededor de las raíces. El inóculo tenía una riqueza de 4 clamidosporas/gramo y se colocaron 8 gramos, conteniendo cada recipiente 32 esporas. Las plantas testigo no recibieron ningún agregado de inóculo y ningún tratamiento fue fertilizado.

A los 30 días se trasplantaron a macetas plásticas de 12 cm de altura conteniendo tie-

rra estéril, colocándolos directamente, eliminando previamente el fondo de los potes originales.

Los parámetros obtenidos fueron la medición de altura de los plantines a intervalos de 20 días. A los 150 días se dió por finalizado este ensayo, y quitando los plantines, se pesó por separado peso fresco y peso seco de las partes aérea y radicular (Nemec, 1979). La dependencia fue expresada como el porcentaje de la altura y el peso fresco y seco medio de las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas. El análisis estadístico fue hecho según el análisis de varianza a un nivel de  $P = 0,01$  y  $P = 0,05$ . A la finalización del ensayo se analizó contenido de P en el suelo (Bray 1), como también en planta en parte aérea y radicular.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los plantines testigos al transplantarse en macetas más grandes con suelo estéril sin micorrizas, presentaron crecimiento muy es-

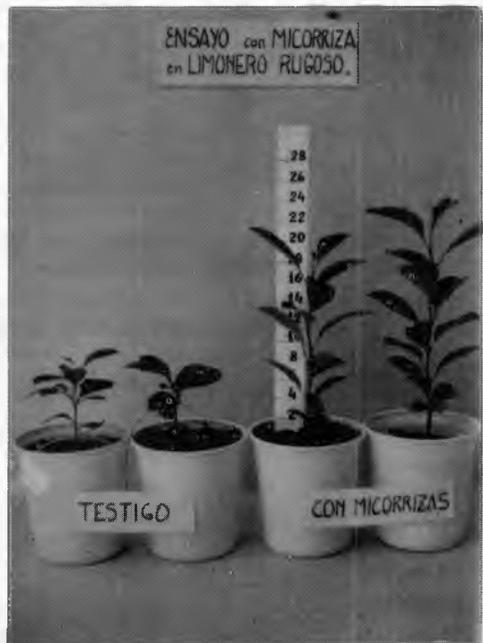


Figura 1: Diferencias observadas en tamaño y superficie foliar entre plantas testigo y plantas micorrizadas con *Glomus fasciculatus*.

caso persistiendo el enanismo con clorosis visible, tamaño de hoja pequeño y entrenudos cortos.

En cambio, las plantas que fueron micorrizadas con *Glomus fasciculatus* se caracterizaron por ser de mayor tamaño, color de follaje verde intenso, mayor superficie foliar, lo que puede apreciarse en la Figura 1.

La diferencia de crecimiento entre plantas micorrizadas y no micorrizadas fue observable a partir de los 40 días. A los 60 días las plantas micorrizadas duplicaron la altura de las plantas no micorrizadas. A la finalización del ensayo (150 días) se logró un aumento en la altura media del orden del 227,4 por ciento (Figura 2). Este valor final resultó ser significativo al nivel de  $P = 0,01$  (Cuadro 1),

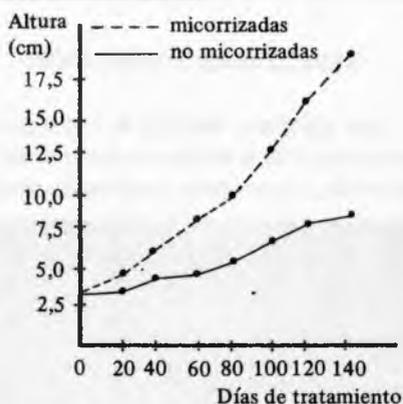


Figura 2: Crecimiento de plantas de Limonero Rugoso, micorrizadas y no micorrizadas.

De la observación del Cuadro 2 surge que el peso medio fresco de las plantas micorrizadas en relación con las no micorrizadas dio un valor altamente significativo, lo mismo que en lo referente a la parte radicular. Es notable la diferencia de desarrollo radicular entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas; estas últimas poseen un sistema radicular pobremente desarrollado, lo que se puede apreciar en la Figura 3.



Figura 3: Distinto desarrollo del sistema radicular entre plantas micorrizadas y testigo.

CUADRO 1: Medición del crecimiento comparativo de plantas no micorrizadas y micorrizadas.

	No micorrizadas (cm)	Micorrizadas (cm)	Aumento (%)
Comienzo	3,00	3,00	-
20 días	3,50	4,25	121,0
40 días	4,00	5,75	143,8
60 días	4,00	8,05	201,3
80 días	5,00	9,50	190,0
100 días	6,60	12,50	189,4
120 días	7,75	16,25	209,7
150 días	8,40	19,10	227,4 *

\* significativo al nivel  $P = 0,01$ .

CUADRO 2: Diferencia de peso fresco y seco en plantas micorrizadas y no micorrizadas.

	Peso Promedio							
	Peso Fresco				Peso Seco			
	Parte aérea (g)	Parte radicular (g)	Total (g)	Relación R/PA	Parte aérea (g)	Parte radicular (g)	Total (g)	Relación R/PA
Plantas micorrizadas	3,913**	2,563*	6,475**	0,668	1,648**	1,403**	3,050*	0,873
Plantas no micorrizadas	1,225	1,200	2,425	0,965	0,468	0,500	1,015	1,023

\* significativo al nivel  $P = 0,05$ ; \*\* significativo al nivel  $P = 0,01$ .

El peso medio total de las plantas testigo fue menor al de las plantas micorrizadas, valores significativos al nivel de  $P = 0,05$ . La relación Raíz/Parte Aérea (R/PA) para todas las plantas micorrizadas y no micorrizadas se puede observar en el Cuadro 2. Las plantas no micorrizadas dieron una relación R/PA cercana a uno; en cambio; en las plantas micorrizadas la relación R/PA es bastante menor que uno. Esto indica que las plantas micorrizadas poseen un mayor crecimiento de la parte aérea en relación a su parte radicular.

La relativa dependencia micorrízica del portainjerto Limonero Rugoso fue determinado por la expresión de peso seco de citrus micorrizados y de peso seco de citrus no micorrizados. El peso medio seco de la parte aérea y radicular en las plantas micorrizadas fue mayor que en las no micorrizadas. La diferencia entre ambos valores fue significativa al nivel de  $P = 0,01$  en ambos casos. En cambio, para el peso medio total, la diferencia fue significativa al nivel  $P = 0,05$ .

Los análisis del contenido de fósforo en el suelo (Bray 1), fueron los siguientes: En suelo testigo la proporción de fósforo era de 12,67 ppm; en suelo no micorrizado después del ensayo 11,53 ppm; y en suelos micorrizados disminuyó el fósforo a 7,1 ppm; ésto indica que la acción de las micorrizas se traduce en una mayor captación del fósforo disponible en el suelo.

La concentración de P en hoja y tallo

del Limonero Rugoso fue determinado y dió 0,119 por ciento de P en plantas micorrizadas y en raíz dió 0,088 por ciento de P. En cambio, en las plantas no micorrizadas el resultado fue de 0,112 por ciento de P y 0,056 por ciento de P en las partes aéreas y radicular respectivamente. Estos datos se expresan en porcentaje de P sobre materia seca. El aumento en el porcentaje de fósforo fue en la parte aérea 78 por ciento y en la radicular 57 por ciento. Estos valores son significativos al nivel de  $P = 0,01$ .

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que la causa principal del pobre crecimiento o enanismo en el portainjerto Limonero Rugoso en suelos de almácigos fumigados o esterilizados, es la ausencia de las micorrizas (M.V.A.).

Es notable la dependencia de este portainjerto a los M.V.A. medible por las diferencias significativas de las alturas de las plantas. Ya a los 60 días se observa una apreciable diferencia y al finalizar el ensayo, la misma alcanzó un valor de 227,4 por ciento.

Otros parámetros indicaron esa dependencia, como el peso fresco y seco de las partes aérea y radicular y total, los cuales fueron significativos. Las plantas inoculadas tienen una relación R/PA menor que uno, indicando un mayor peso de la parte aérea en

comparación al peso de las raíces. En las plantas no micorrizadas la relación está cercana a uno, indicando lo contrario (relacionado a peso).

Las plantas micorrizadas contienen un alto porcentaje de fósforo comparadas con las no micorrizadas; el porcentaje de fósforo para plantas micorrizadas y no micorrizadas fue de 0,278 y 0,168, respectivamente.

Sería útil comprobar el efecto de M.V.A. en otros portainjertos cítricos, como así también otras especies de endomicorrizas. Las posibilidades de inocular en escala comercial los almácigos o filas de vivero de portainjertos, abre un panorama excitante para obtener plantas en menor tiempo y de mayor sanidad y calidad.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Dr. John B. Carpenter, Plant Pathologist del United States Department of Agriculture, por habernos suministrado el material de inóculo; al Ing. Agr. Silder Barrios del Departamento de Microbiología del INTA Castelar (Buenos Aires) por sus sugerencias y al Ing. Agr. Juan Carlos Ceriani de la Cátedra de Manejo y Conservación de Suelos de la Facultad de Agronomía (U.B.A.) por los análisis químicos realizados.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Gerdemann, J. W., 1975. The Development and Function of Roots. J. G. Torrey D. T. Clarkson (eds.). *Academic Press*, New York, 575-591.
- 2) Gerdemann, J. W. and B. K. Bahshi, 1976. Endogonaceae of India: Two New Species. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 66: 340-343.
- 3) Hall, I. R., 1975. Endomycorrhizas of *Metrosideros umbellata* Weinmaniania racemosa. *N. Z. J. Botany*, 13: 463.
- 4) Kleinschmidt, G. D. and J. W. Gerdemann, 1972. Stunting of Citrus Seedlings in Fumigated Nursery Soils Related to the Absence of Endomycorrhizae. *Phytopathology*, 62: 1447-1453.
- 5) Marx, D. H., W. C. Bryan and W. A. Campbell, 1971. Effect of Endomycorrhizae formed by *Endogone mosseae* on Growth of Citrus. *Mycologia*, 63: 1222-1226.
- 6) Menge, J. A., H. Lambright and E. L. V. Johnson, 1977. Utilization of Mycorrhizal Fungi in Citrus Nursery. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 129-132.
- 7) Menge, J. A., S. Nemeč, R. M. Davis and V. Minassian, 1977. Mycorrhizal Fungi Associated with Citrus and Their Possible Interactions with Pathogens. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 3: 873-876.
- 8) Menge, J. A., E. L. V. Johnson and R. G. Platt, 1978. Mycorrhizal Dependency of Several Citrus Cultivars under Three Nutrient Regimes. *New Phytol.*, 81: 553-559.
- 9) Menge, J. A., E. L. V. Johnson and V. Minassian, 1978. Effect of Heat Treatment and Three Pesticides upon the Growth and Reproduction of the Mycorrhizal Fungus *Glomus fasciculatus*. *New Phytol.*, 82: 473-480.
- 10) Menge, J. A., J. La Rue, C. K. Labanaushas and E. L. V. Johnson, 1980. The Effect of Two Mycorrhizal Fungi upon Growth and Nutrition of Avocado Seedlings Grown and Six Fertilizer Treatments. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 105 (3): 400-404.
- 11) Neill, J. C., 1944. Rhizopagus in Citrus. *New Zealand J. Sci. Technol.*, 25: 191-201.
- 12) Nemeč, S., 1979. Response of Six Citrus Rootstocks to Three Species of *Glomus*, a Mycorrhizal Fungus. *The Citrus Industry*, May: 5-14.
- 13) Rayner, M. C., 1933. Mycorrhizal in the Genus Citrus. *Nature*, 131: 339-342.
- 14) Rayner, M. C., 1935. Mycorrhizal Habit in the Genus Citrus. *Nature*, 136: 516-517.
- 15) Reed, H. S. and T. Fremont, 1935. Factors That Influence the Formation and Development of Mycorrhizal Associations in Citrus Roots. *Phytopathology*, 25: 645-647.
- 16) Sudskaya, L. A., 1958. Materials on the Mycorrhiza of Citrus Plants. *Sh. Rabot Kafedry Bot Must. Sel' Skokdiz Acad. Im. K. A. Timiryazeva*, 1: 128-147.
- 17) Safir, G. R., 1980. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Crop Productivity. The Biology of Crop Productivity. *Academic Press Inc.*, N. Y., 231-253.