

PRESENCIA DE PROPÁGULOS DE HONGOS DE MICORRIZA ARBUSCULAR EN MUESTRAS DE HOJARASCA ALREDEDOR DE DOS ESPECIES ARBÓREAS EN UN BOSQUE HÚMEDO TROPICAL

Presence of Mycorrhizal Fungi propagules in litter samples around tree species in a tropical wet forest

RAÚL HERNANDO POSADA ALMANZA

RESUMEN

En ecosistemas de bosques, las micorrizas juegan un papel determinante en la dinámica poblacional de las diferentes especies de plantas coexistentes; por tal motivo su cuantificación y la determinación de la variabilidad en cuanto a la distribución de las diferentes formas de propágulos alrededor de especies presentes en bosque húmedo tropical, es importante dentro del contexto del ciclaje de nutrientes. Los resultados mostraron grandes variaciones cuantitativas en cuanto a presencia de esporas de hongos de micorriza arbuscular (HMA) en muestras frescas; su abundancia y distribución parece estar relacionada con la humedad del suelo y con la especie vegetal alrededor de la cual fueron colectadas. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) tanto en longitud como en peso total del micelio externo, evaluado para dos especies arbóreas seleccionadas en el bosque húmedo tropical de los Llanos Orientales colombianos.

Palabras clave: Micorriza, especies arbóreas, bosque húmedo tropical.

ABSTRACT

Mycorrhizal fungi play an important role on the dynamics of plant species population of forest ecosystems. Therefore quantitative estimation of plant species, variability and distribution of different kind of propagules around the species present in the wet tropical forest, is important within the nutrient cycling context. We found big variations in the amount of Mycorrhizal Arbuscular spores in fresh samples. Their amount and distribution appears to be related with sample humidity, and with the plant species from which they were gathered. We found significant differences ($p < 0.05$) in both length and total weight of extramatrical micelia, measured in two tree species of the Colombian Llanos Orientales tropical wet forest.

Key words: Mycorrhizal fungi, tree species, tropical wet forest.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales presentes en los bosques se relacionan con la etapa sucesional en la cual se encuentra, presentándose limitaciones por sus características fisiológicas y por la disponibilidad de nutrientes en el sistema. Los lazos hifales que unen plantas

de una y/o diferentes especies pueden ayudar a sobrellevar estas restricciones y fomentar la diversidad de especies en los ecosistemas, dependiendo de la susceptibilidad de las plantas a ser colonizadas por hongos de micorriza arbuscular (HMA) (Newman y Eason, 1993 Newman *et al.*, 1994; Bethlenfalvay y Schyep, 1994; Barea *et al.*, 1995; Moora y Zobel, 1996; Zobel y Moora, 1997) encontrando que a nivel del trópico han sido reportadas entre 15 y 97% dependiendo de las especies vegetales y de las características propias de la zona (Janos, 1980; St. John y Coleman, 1983; Siquiera *et al.*, 1998).

Los HMA se asocian con cerca de 90% de las plantas sobre la superficie del planeta, casi de cosmopolita distribución, su baja especificidad en cuanto a especies vegetales con las cuales tiene vínculos les permite encontrarse en casi cualquier tipo de sistema vegetal, con pocas excepciones, aportándoles a éstos algunos de los recursos nutricionales limitantes en el suelo a cambio de fotosintatos elaborados. Los HMA pueden dispersarse a partir de sus esporas (resistentes a las condiciones adversas), a través de su micelio, el cual se extiende de una planta a otra, pudiéndose expandir a nuevas plantas; o por su presencia en raíces y troncos en estado de descomposición (Orozco *et al.*, 1986). La dispersión de estos propágulos puede ser a través de artrópodos, lombrices de tierra o aves a distancias a las cuales estos migran; o por el viento a distancias de hasta 2 Km.

La cuantificación de la densidad de esporas brinda un simple indicativo de la densidad de inóculo, importante en términos de dispersión, pero no es una característica fiable para la cuantificación de su nivel de actividad; su presencia es inversamente proporcional al estado nutricional de los hospederos y del terreno donde se encuentran a nivel de microcosmos (Orozco *et al.*, 1986; Friese y Allen, 1991). La presencia de micelio externo está más relacionada con la colonización radical, pudiendo alejar a distancias de hasta 10 cm de la raíz en busca de nutrientes, su presencia depende en gran medida de estos nutrientes, hiperparasitismo y de la tasa de herbivoría de los invertebrados. Patrones de agregación (no azarosos) son frecuentemente observados en la distribución espacial de las esporas de HMA son muestreados, cuando se investiga el crecimiento hifal en el suelo (St. John, *et al.*, 1983), o cuando las colonizaciones micorrícicas de los sistemas radicales son examinadas (revisado por Brundrett y Abbott, 1994). La agregación espacial de diferentes tipos de hongos micorrizógenos podría también resultar de diferentes preferencias por el sustrato, así como sucede con las raíces. Por el estado de los nutrientes en los microhábitats del suelo, podría ser posible para ellos ocupar secuencialmente el mismo volumen de suelo y utilizar diferentes recursos (revisado por Brundrett y Abbott, 1994).

El presente trabajo pretende evaluar la presencia de propágulos de HMA alrededor de dos especies arbóreas pertenecientes a las familias Elaeocarpaceae -*Sloanea sp.*- y Annonaceae -indeterminada- en un bosque húmedo tropical en los Llanos Orientales del municipio de Villavicencio en Colombia y los factores que pueden influir en su presencia alrededor de éstos a nivel de microescala.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREOS

En diciembre de 1999 se realizó un único muestreo en un bosque húmedo tropical en los Llanos Orientales colombianos, ubicado a 4°3' Norte, 73°29' Oeste, tomando las especies vegetales *Sloanea* sp -Elaeocarpaceae- y una especie indeterminada-*Annonaceae*-, escogidas por su contribución a la hojarasca y separadas una distancia de 55 m en un terreno con inclinación no superior a 15°; de cada una de ellas se seleccionaron 3 individuos próximos y de cada uno de ellos 4 sitios de muestreo en forma de cruz a una distancia de un metro del tronco del árbol (12 muestras por especie vegetal). Para el muestreo se usaron cuadrantes de 400 cm² (20 x 20) de los cuales se tomó una muestra de hojarasca hasta el nivel del suelo y una muestra de suelo (desde 2.8 hasta 10 cm de profundidad) inmediatamente inferior a la hojarasca (Fig. 1). Además del muestreo se registraron las posiciones relativas de cada una de las plantas respecto a las otras para determinar su efecto sobre la distribución de los propágulos, las muestras se empacaron y llevaron a Bogotá en bolsas en oscuridad para su evaluación en laboratorio.

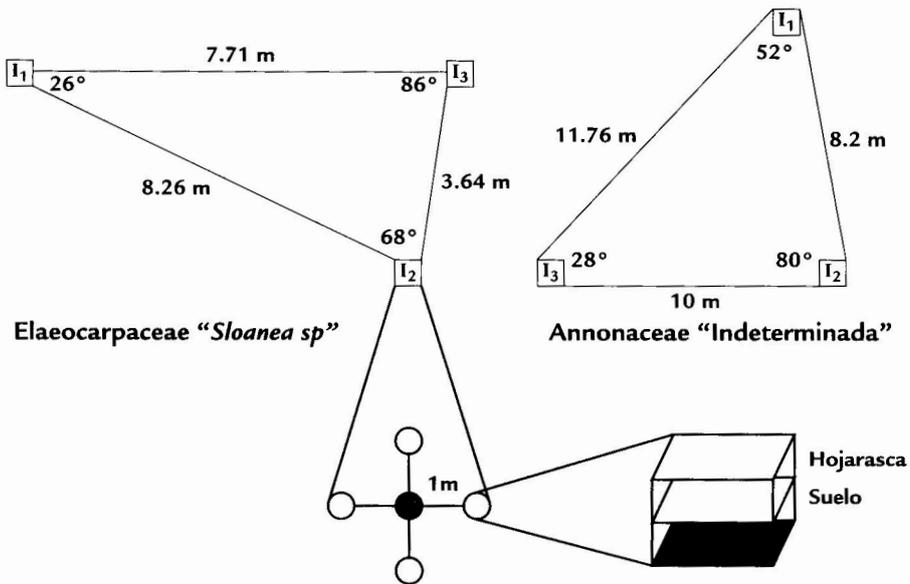


Fig. 1. Distribución espacial y distancias entre individuos de las dos especies evaluadas y forma de tomar las muestras para el análisis.

I_{1,2,3} = los cuadrados con las letras son los sitios donde se encontraron los individuos, el círculo oscuro representa un individuo, los círculos claros son los sitios de muestreo. En cada sitio de muestreo se detallan dos niveles para la toma de muestras: hojarasca y suelo.

DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LAS MUESTRAS

De cada muestra fresca se tomó 5 g (peso fresco), la cual se envolvió en papel craft y se colocó en un horno marca Dies a una temperatura de 72°C por 72 horas, periodo

después del cual se determinó de nuevo su peso (peso seco), obteniendo el contenido de humedad, el cual se expresó en porcentaje (%) para las muestras.

CUANTIFICACIÓN DE ESPORAS DE HMA

La determinación de la cantidad de esporas se realizó con la técnica de Gerdeman y Nicholson, con modificaciones de Sieverding en 1993, utilizando un volumen de 800 ml de agua y 5 g de muestra para los lavados iniciales y desagregación de las partículas de suelo. Luego se aplicó agua a chorro sobre un tamiz de 425 μm de diámetro permitiendo el paso selectivo (tamaños menores a 425 μm) de las esporas de hongos de micorriza arbuscular hasta un tamiz de 45 μm . Los resultados se expresan en número de esporas en 30 g de muestra fresca y seca (Número de esporas/30g de muestra).

CUANTIFICACIÓN DE MICELIO DE HMA

Se empleó la técnica propuesta por Herrera *et al.*, (1986) para muestras de hojarasca, empleando un filtro cualitativo filtrak Sorte^a de 65 g/m², referencia No 3.303.110. A la técnica propuesta por Herrera *et al.*, (1986) se le realizó una modificación, usando tamices (Standard Testing Sieve) de 45 y 425 μm y la agitación se realizó con un agitador magnético marca Lab-Line Instruments Inc. Modelo 1255. Los datos se reportan en miligramos de micelio por 30 g de muestra y en metros de micelio por gramo de muestra (mg/g). Los cálculos para determinar la longitud del micelio se hicieron como lo describe Herrera *et al.*, (1986) a partir de longitud de micelio por unidad de peso de micelio.

CONTENIDO DE RAÍCES DE LAS MUESTRAS DE HOJARASCA Y SUELO

Cada muestra se pesó, separaron las raíces y se halló el porcentaje (%) del peso.

PROFUNDIDAD DE LAS MUESTRAS A PARTIR DEL TAMAÑO DE LOS FRAGMENTOS DE HOJARASCA

La profundidad se midió después de retirar la hojarasca, tomando como profundidad cero la superficie, y promediando la profundidad a cada lado del cuadrante. Como criterio de separación entre suelo y hojarasca, se consideró el suelo como aquel en donde no se encuentran fragmentos de hojarasca mayores a 0.01 cm² de área (determinados con el programa SigmaScan Pro 5).

CONTENIDO DE FÓSFORO (P) EN EL SUELO

El suelo colectado en los sitios de muestreo se homogenizó, obteniendo una muestra a la cual se le determinó el contenido de P y el valor de pH, análisis efectuados en el Laboratorio de Suelos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables evaluadas (porcentaje de humedad de las muestras, número de esporas en muestra fresca y seca, peso y longitud de micelio externo) se transformaron por presentar un coeficiente de variación superior a 20%, luego se les realizó análisis de varianza entre individuos y sitios por especie vegetal y entre especies vegetales para cada una de las variables. Se realizó separación de valores promedio por medio del

procedimiento de Bonferroni y se realizaron correlaciones entre las variables por especie vegetal. Todos los análisis fueron efectuados con programa estadístico Statistix (1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

HUMEDAD, PRESENCIA DE ESPORAS Y MICELIO DE HMA EN MUESTRAS DE HOJARASCA Y SUELO
Las diferencias en humedad, cantidad de esporas y de micelio en muestras de hojarasca y suelo (Tabla 1) reflejan un comportamiento general homogéneo entre los sitios de muestreo.

Variable	Sin discriminación de especie			Especie arbórea			
	Individuo	Sitio	Especie	Annonaceae		Elaeocarpaceae	
Hojarasca				Individuo	Sitio	Individuo	Sitio
Humedad	0**	0.56ns	0.0621ns	0.0002**	0.191ns	0.027*	0.901ns
No esporas muestra fresca	0.0758ns	0.519ns	0.193ns	0.265ns	0.836ns	0.4989ns	0.5495ns
No esporas muestra seca	0.0006**	0.638ns	0.354ns	0.022*	0.566ns	0.1003ns	0.7719ns
Peso micelio externo	0.692ns	0.649ns	0.026*	0.705ns	0.439ns	0.585ns	0.5259ns
Longitud micelio externo	0.692ns	0.649ns	0.026*	0.705ns	0.439ns	0.585ns	0.5259ns
Suelo							
Humedad	0**	0.458ns	0.077ns	0.0369*	0.776ns	0.0002**	0.2711ns
No esporas muestra fresca	0.1615ns	0.088ns	0.0066**	0.634ns	0.482ns	0.244ns	0.361ns
No esporas muestra seca	0**	0.238ns	0.0415*	0.07ns	0.341ns	0.0008**	0.913ns
Peso micelio externo	0.652ns	0.364ns	0.415ns	0.162ns	0.324ns	0.1781ns	0.519ns
Longitud micelio externo	0.995ns	0.285ns	0.116ns	0.956ns	0.23ns	0.9501ns	0.3292ns

Tabla 1: Análisis de varianza para las características evaluadas en hojarasca y suelo; valores de p para discriminar el análisis general de los datos y por especie arbórea, dentro de ellos por individuos, sitios y especies arbóreas. *: diferencias significativas a 5%; **: diferencias significativas al 1%.

Al valorar las variaciones entre individuos, encontramos que éstas manifiestan diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) en humedad y en número de esporas en muestra seca, tanto en hojarasca como en suelo cuando se realiza la valoración con o sin discriminación de la especie arbórea. Diferencias significativas ($p < 0.05$) se encuentran para el número de esporas en muestra seca de hojarasca y en la humedad de suelo de la *Annonaceae* y para la humedad de hojarasca de la *Elaeocarpaceae*. Las diferencias no se conservan al valorar la variable número de esporas en muestra seca para cada especie por separado, ya que no se encuentra variación en el suelo de la *Annonaceae* ni en la hojarasca de la *Elaeocarpaceae*.

En la Tabla 2 se observan los promedios obtenidos y la separación de promedios para aquellas variables que presentan diferencias significativas entre los individuos evaluados, discriminando entre el análisis general de las variables y el análisis para cada especie arbórea por separado. En la Tabla 3 la separación se realiza entre las medidas obtenidas de las dos especies arbóreas para cada variable que mostró diferencias significativas según el análisis de varianza.

Variable	Sustrato	Individuos			Análisis
		1	2	3	
Humedad	Hojarasca	66.54 a	52.88 b	43.97 c	General
		69.65 a	54.67 b	37.95 c	Annonaceae
		63.41 a	51.09 ab	49.99 b	Elaeocarpaceae
	Suelo	73.80 a	42.52 b	38.82 b	General
		76.45 a	48.85 ab	41.50 b	Annonaceae
		71.15 a	36.19 b	36.15 b	Elaeocarpaceae
Esporas en muestra seca	Hojarasca	77.40 a	43.65 ab	20.9 b	General
		84.9 a	39.90 ab	14.4 b	Annonaceae
		69.9 a	47.40 a	27.4 a	Elaeocarpaceae
	Suelo	72.7 a	20.35 b	25.9 b	General
		63.8 a	16.80 a	22.9 a	Annonaceae
		81.6 a	23.90 b	28.9 b	Elaeocarpaceae

Tabla 2. Separación de valores promedio por el método de Bonferroni de los individuos para la humedad (%), y número de esporas en 30 g de muestra seca, para las muestras de hojarasca y suelo de la *Elaeocarpaceae* "*Sloanea sp*" y la *Annonaceae* "indet." evaluadas. Diferentes letras indican medias significativamente diferentes.

Variable	Especie Vegetal	
	Annonaceae	Elaeocarpaceae
	"indet."	" <i>Sloanea sp</i> "
Número de esporas en muestra de suelo fresca	12.24 b	19.06 a
Número de esporas en muestra de suelo seco	34.5 b	44.8 a
Peso de mic. ext. en hojarasca	1.83 b	2.93 a
Longitud de mic. ext. en hojarasca	2.57 b	4.13 a

Tabla 3. Separación de valores promedio por el método de Bonferroni para el número de esporas en 30g de muestra fresca y seca, promedios de micelio externo en mg por 30 g de muestra y metros por gramo de muestra, evaluadas de la *Elaeocarpaceae* "*Sloanea sp*" y la *Annonaceae* "indet." evaluadas. Diferentes letras indican medias significativamente diferentes.

Observando gráficamente las diferencias entre individuos, encontramos que el número de esporas en hojarasca varía de la misma forma que lo hace la humedad de las muestras para la *Annonaceae*, mientras esto no sucede con la *Elaeocarpaceae* (Figs. 2 a, b). Para el caso de las esporas en suelo, la variación de valores se encuentra en el mismo sentido que lo hace la humedad en el suelo para la *Elaeocarpaceae*, pero no para la *Annonaceae* (Figs. 2 b, c).

Al realizar comparaciones entre los datos obtenidos por especie arbórea se encuentran diferencias significativas ($P < 0.05$) en la valoración del micelio externo para las muestras de hojarasca y en el número de esporas en las muestras de suelo, siendo siempre mayores las cantidades encontradas alrededor de la *Elaeocarpaceae* "*Sloanea sp*" (Tablas 1 y 3), indicando que parece haber un efecto de la especie vegetal en la abundancia de propágulos de HMA.

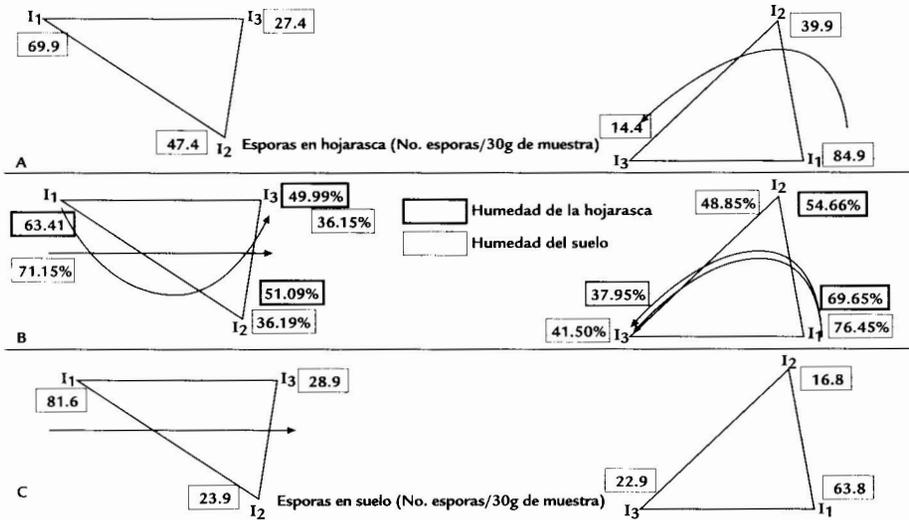


Fig. 2. Tendencia de las variables (esporas en hojarasca, esporas en suelo y humedad en hojarasca y suelo) en forma decreciente según la distribución de los individuos para las dos especies arbóreas evaluadas. Las cantidades entre los cuadrados indican el valor numérico promedio para cada individuo y las líneas indican la dirección decreciente de los datos. A: Esporas en hojarasca; B: Humedad en hojarasca y suelo; C: Esporas en suelo.

CONTENIDO DE RAÍCES EN LAS MUESTRAS DE HOJARASCA Y SUELO

Los datos se graficaron conjuntamente para las muestras de hojarasca y suelo, mostrando el contenido de raíces en porcentaje de peso para cada uno de los individuos muestreados (Fig. 3)

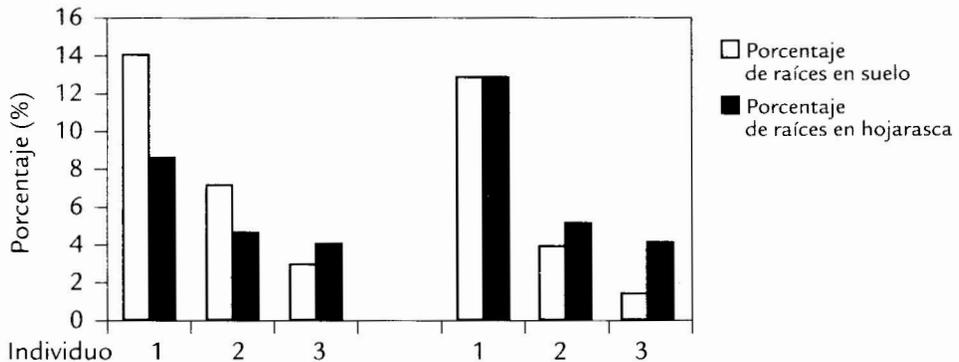


Fig. 3. Porcentaje de las muestras de hojarasca y suelo correspondientes a raíces, para cada individuo de las dos especies arbóreas seleccionadas (*Elaeocarpaceae* "Sloanea sp" y *Annonaceae* "indet").

Tomando en cuenta que se encontraron raíces tanto en las muestras de hojarasca como en las muestras de suelo, aún cuando no excedieron 14% de la muestra (Fig. 3), su presencia conlleva a pensar que pudieron asociarse con propágulos de HMA

debido a la profundidad de la hojarasca entre 2.8 y 9.5cm, distancia que puede llegar a colonizar micelio de HMA en busca de alimento y a una baja disponibilidad de fósforo en el suelo (7.19 ppm); todo esto sumado al pH ácido del suelo, explica por qué es posible hallar propágulos de HMA (esporas y micelio) tanto en el suelo como en la capa de hojarasca inmediatamente superior a éste. La presencia de micelio externo generalmente está asociada con una mayor colonización de las raíces de las especies vegetales con las cuales provienen (Gianinazzi y Gianinazzi, 1996), se puede esperar una mayor colonización por parte de hongos de micorriza en las raíces alrededor de la *Elaeocarpaceae* "*Sloanea sp*", que en las raíces alrededor de la *Anonaceae* "indet." (posterior evaluación); ya que el P disponible se encuentra en la misma cantidad para los dos suelos 7.19 ppm.

PROFUNDIDAD DE LAS MUESTRAS A PARTIR DEL TAMAÑO DE LOS FRAGMENTOS DE LA HOJARASCA
Se encontró una profundidad de la capa de hojarasca que oscila entre los 2.8 y los 9.5cm, profundidad a la cual se inicia el suelo, indicando una cantidad de materia orgánica variable, susceptible de sufrir procesos de descomposición por hongos diferentes a HMA y absorbida y transportada por éstos a las raíces de las plantas vivas.

CONCLUSIONES

Existe poca homogeneidad en la distribución de propágulos de HMA en las muestras de hojarasca y suelo tomadas alrededor de *Anonaceae* "indet." y *Elaeocarpaceae* "*Sloanea sp*" evaluadas.

Parece haber una influencia de la humedad en la distribución de esporas de HMA.

Se encontró un efecto de la especie vegetal alrededor de la cual se toman las muestras sobre la abundancia de propágulos (esporas y micelio) de HMA.

No se puede considerar una valoración puntual alrededor de una especie vegetal, como un indicativo del estado real de distribución de propágulos de HMA.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Colciencias y a la Pontificia Universidad Javeriana por la financiación y a esta última por las instalaciones donde se realizó la práctica de laboratorio. En especial a las doctoras Emma Lucía Rivera y Lucía Ana Díaz, por su apoyo logístico e intelectual ya que hicieron posible esta investigación como parte de un gran proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- BAREA, J. M.; REQUENA, N. y JIMÉNEZ, I., 1985. A revegetation strategy based on the management of arbuscular mycorrhizae, Rjzobium and rhizobacterias for the reclamation of desertified Mediterranean Shrubland ecosystems. En: La mycorrhization des plantes forestieres en Milieu Aride et semi-aride et la lutte contre la desertification dans le Bassin Mediterranéen. New York. 20:75-86.

- BETHLENFALVAY, M. C. y SCHYEPP, H. 1994. Arbuscular mycorrhizas and agrosystems stability. En: Gianinazzi S. and SchYepp, H (Eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Switzerland. Pp. 117-131.
- BRUNDRETT, M. C. y ABBOTT, L. K. 1994. Mycorrhizal fungus propagules in the Jarrah Forest. II. Spatial variability in inoculum levels. *New Phytol.* 127: 147-155.
- FRIESE, C. F. y ALLEN, M. F. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil; inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia* 83: 409-418.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. y GIANINAZZI, S. 1986. The physiology of improved phosphate nutrition in mycorrhizal plants. En: Gianinazzi-Pearson, V. y Gianinazzi, S. *Physiological and genetical Aspects of Mycorrhizae*. Paris. Pp. 101-109.
- HERRERA, R. A.; RODRÍGUEZ, A. y FURRAZOLA, E. 1986. Método para determinar la biomasa de micelio extramatriculo vasículo-arbuscular. En: *Ciclo lectivo sobre el tema Técnicas de Investigación en Micorriza*, CATIE, IFS, Turrialba - Costa Rica. Informe Provisinal No 18: 187-208.
- JANOS, D. P. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest growth. *Ecology* 61: 151-162.
- MOORA, M. y ZOBEL, M. 1996. Effect of Arbuscular Micorriza on Inter- and intraspecific competition of two grassland species. *Oecologia*. 108:79-84.
- NEWMAN, E. I. y EASON, W. R. 1993. Rates of P transfer within and between ryegrass (*Lolium perenne*) plants. *Funct. Ecol.* 7: 742-778.
- _____; DEVOY, C. L.; EASEN, N. J. y FOWLES, K. J. 1994. Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 126: 691-693.
- OROZCO, M. O.; RODRÍGUEZ, M. E.; HERRERA, R. A. y FERRER, R. L. 1986. Micorrizas VA, Micelio extramatriculo y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. *Ciclo lectivo sobre el tema Técnicas de Investigación en Micorriza*. CATIE, IFS, Turrialba - Costa Rica. Informe provisional No 18: 251-271.
- SIQUIERA, J. O.; CARBONE-CARNEIRO, M. A.; CURI, N.; DA SILVA ROSADO, S. C. y DAVIDE, A. C. 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management*. 107: 241-252.
- ST. JOHN, T. V. y COLEMAN, D. C. 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. *Can. J. Bot.* 61: 1005-1014.
- ZOBEL, M. y MOORA, M. 1987. Plant coexistence in the interactive environment; arbuscular micorriza should not be out of mind. *Oikos*. 78: 202-208.