

DIVERSIDAD Y FUNCIONALIDAD DE HONGOS MICORRÍZICO-ARBUSCULARES EN PLANTACIONES DE *Carica papaya* L., CON DIFERENTE MANEJO AGRONÓMICO

DIVERSITY AND FUNCTIONALITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN *Carica papaya* L., PLANTATIONS WITH DIFFERENT AGRONOMIC MANAGEMENT

Sangabriel-Conde, W.^{1*}; Trejo-Aguilar, D.¹; Soto-Estrada, A.²; Alvarado-Castillo, G.¹

¹Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n Zona Universitaria C.P. 91090 Xalapa, Veracruz, México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, Veracruz-Xalapa, Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, México.

*Autor de correspondencia: wsangabriel@hotmail.com

RESUMEN

Se analizó la diversidad y función de especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) presentes en suelos de plantaciones de papayo (*Carica papaya* L. var. Maradol) cultivadas bajo tres distintos sistemas de manejo agronómico, clasificados como alta (AT), mediana (MT) y baja tecnología, además de un pastizal como testigo (PT). Se recolectaron muestras de suelo en otoño e invierno, se analizó la colonización micorrízica, diversidad, viabilidad y abundancia de esporas de HMA. Se identificaron ocho morfo especies de hongos de *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, y *Archaeospora*. El sitio con alta tecnología mostró resultados contrastantes para la diversidad, entre las épocas del año, un índice de Shannon-Weaver ($H' = 0.89$ en otoño y $H' = 1.01$ en invierno), el menor porcentaje de viabilidad de esporas (13.3% en otoño y 18.7 en invierno) y de colonización micorrízica (8.1% en otoño y 6.9 en invierno). La mayor población de esporas se presentó en el sitio PT (60.17 ± 37.9). Especies de los géneros *Glomus*, *Gigaspora* y *Acaulospora* se registraron en todos los sitios. La colonización micorrízica y la viabilidad de esporas disminuyó conforme se intensificó el manejo en los sitios de producción agrícola.

Palabras clave: papaya, micorriza arbuscular, esporas, viabilidad.

ABSTRACT

We study the diversity and function of arbuscular mycorrhizal fungi present in papaya plantations (*Carica papaya* L. Maradol) cultivated under three different agronomic management systems and classified as high technology (AT), medium technology (MT) and low technology and a site not cultivated as a control (PT). Soil samples were collected at two seasons of the year (autumn and winter). Mycorrhizal colonization, diversity, viability and abundance of HMA spores were analyzed. Eight morphospecies of AMF belonging to the genera *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, and *Archaeospora* were identified. AT site with contrasting results presented the highest diversity with a Shannon-Weaver index ($H' = 0.89$ in autumn and $H' = 1.01$ in winter) and the lowest viability percentage of spores (13.3% in autumn and 18.7 in winter) and mycorrhizal colonization (8.1% in autumn and 6.9 in winter). The highest number of spores occurred at PT control site (60.17 ± 37.9). The genera *Glomus*, *Gigaspora* and *Acaulospora* occurred at all sites. Mycorrhizal colonization and spore viability decreased as management in agricultural production sites intensified..

Key words: papaya, arbuscular mycorrhizae, spores, viability.

Agroproductividad: Vol. 10, Núm. 9, septiembre. 2017, pp: 90-94.

Recibido: julio, 2017. **Aceptado:** septiembre, 2017.



INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) incrementan la productividad en sistemas agrícolas (Poomipan, 2011), captan y transfieren a las plantas nutrientes de baja movilidad, en particular el fósforo (Yao *et al.*, 2001), sin embargo, dichos beneficios no son generalizados, debido a la diversidad genética y funcional de dichos simbioses (Helgason y Fitter, 2009), así como al efecto que las prácticas de manejo agrícola generan en el desarrollo de las poblaciones y la funcionalidad de comunidades de HMA.

México es el primer exportador a nivel mundial de papaya (*Carica papaya* L.) (Fuentes y Santamaría, 2014) y el estado de Veracruz uno de los principales, donde se siembran las variedades Maradol, Red, Yellow Hawaiian y Criolla, en sistema de monocultivo con diferentes niveles de tecnificación, generalmente con alta dependencia de insumos químicos (Evans y Ballen, 2012). Aunque existen investigaciones realizadas en este agroecosistema, no hay reportes sobre las consecuencias que tiene la incorporación excesiva de fertilizantes fosfatados y la siembra continúa del papayo, sobre las asociaciones simbióticas planta-microorganismo, aun cuando ha sido reportado que la abundancia y diversidad de los HMA puede estar influenciada por factores, tales como el pH del suelo (Wang *et al.*, 1993), microorganismos con los que cohabitan (Hodge, 2000), la aplicación de fertilizantes, plaguicidas y uso de maquinaria agrícola (Boddington y Dodd, 2000). Considerando que las prácticas agrícolas reducen la diversidad y abundancia de los HMA (Verbruggen *et al.*, 2012) y la importancia que dichos simbioses tienen en el desarrollo de las plantas de interés agrícola, el objetivo del presente trabajo fue determinar la densidad, diversidad y funcionalidad de los HMA asociados a plantas de *Carica papaya* L., cultivadas en diferentes sistemas de manejo agronómico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el municipio de Isla, Veracruz, México, se seleccionaron y clasificaron tres sitios con base al manejo agronómico clasificadas como sitios con alta tecnología (AT), mediana tecnología (MT) y baja tecnología (BT) (Sangabriel-Conde *et al.*, 2010). El muestreo de raíces se realizó en las épocas de otoño e invierno, utilizando el método de Sieverding (1991). Cada sitio se dividió en seis cuadrantes de 100 m² (10×10 m); y en cada uno se tomaron 10 submuestras de suelo rizosférico a una profundidad de 0-25 cm y a 10 cm de la base

del tallo de las plantas. Las submuestras se mezclaron y se obtuvo una muestra compuesta, con ella se realizó un análisis físico químico de suelo. Se recolectaron 10 muestras de raíces por cuadrante y se determinó el porcentaje de colonización mediante las técnicas de Phillips y Hayman, (1970) y Giovannetti y Mosse (1980). Para la densidad e identificación de esporas de HMA, se utilizó la técnica de Gederhmann y Nicholson (1963) en combinación con Walker (1997) para la extracción de esporas, las cuales se colocaron en portaobjetos con en polivinil-alcohol-lactoglicerol y se determinó su densidad e índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') con el software Species Diversity and Richness[®] versión 2.3, mientras que para la identificación de morfotipos, se utilizaron las características propuestas por el INVAM International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi West Virginia, 2010.

Se evaluaron las diferencias en diversidad de especies de HMA, viabilidad y densidad de esporas y porcentaje de colonización micorrízica mediante un análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones múltiples (Fisher LSD $\alpha=0.05$) con STATISTICA versión 6.0. Para identificar posibles relaciones entre las variables de riqueza y abundancia de especies con variables edáficas para cada sitio, se determinaron correlaciones simples por el método de Spearman con el software R-project. Para conocer la similitud en la composición específica entre los distintos sitios se elaboró una matriz de similitudes basada en el Índice de Sorensen, y se construyó el dendrograma y análisis de similitud de perfiles (SIMPROF) para evaluar la significancia de las agrupaciones con 999 permutaciones, utilizando el software estadístico de PRIMER v.6.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de nutrientes en suelo

Se encontraron características similares en todos los parámetros evaluados (con excepción del contenido de fósforo). Se registró una acidez de fuerte a moderada (pH de 4.3 a 5.6) y contenido normal de materia orgánica. El suelo testigo PT presentó la menor cantidad de fósforo disponible con un valor de 7.0 mg kg⁻¹. En contraste, el suelo del sitio AT hasta 104 mg kg⁻¹. Solo la materia orgánica mostró una correlación positiva (0.8713132; p-value <0.05) con la abundancia de especies.

Colonización micorrízica en campo

Todas las raíces de los puntos muestreados estuvieron colonizadas, sin embargo, todos los sitios agrícolas

registraron porcentajes menores respecto del sitio testigo (59.2% en otoño y 49.3% en invierno). La menor colonización se observó en el sitio AT (8.1% en otoño y 6.9% en invierno), seguido de los sitios MT (15.1% en otoño y 10.6% en invierno) y BT (17.0% en otoño y 8.9% en invierno). No se observaron diferencias significativas entre épocas de muestreo.

Identificación y diversidad de especies de HMA

Se registraron ocho morfotipos, y cinco de ellos se identificaron a nivel especie, y tres a género. Del total de éstos, el 50% correspondieron a *Glomus* (*Glomus heterosporum*, *Glomus* spp., *Glomus* spp., *Glomus* spp., 25% a *Acaulospora* (*Acaulospora spinosa* y *Acaulospora scrobiculata*), 12.5% a *Gigaspora* (*Gigaspora gigantea*) y 12.5% al género *Archaeospora* (*Archaeospora leptoticha*). El mayor número de morfotipos se registró en el sitio AT (7), y en PT, MT, y BT seis, cinco y tres respectivamente. El índice de diversidad de Shannon mostró diferencias significativas entre sitios para la época de otoño (Figura 1). El sitio AT registró el mayor valor ($H' = 0.89$) comparado con MT, BT y PT ($H' = 0.52, 0.22, 0.47$, respectivamente).

Densidad y viabilidad de esporas de HMA

Se registraron diferencias significativas entre sitios con respecto a la densidad de esporas. El sitio AT presentó el valor más alto y registró diferencias significativas entre épocas

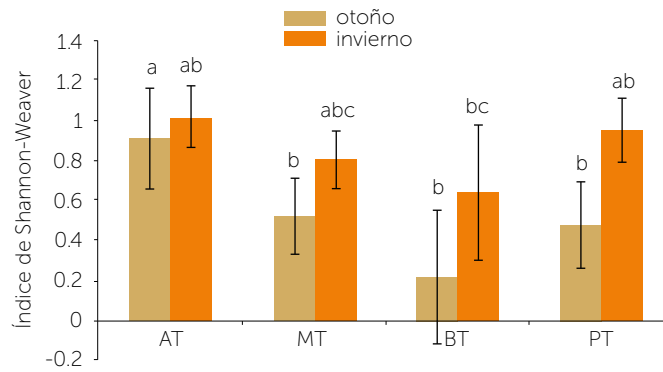


Figura 1. Índice de diversidad de especies de Shannon-Weaver (H') de HMA en los sitios de estudio. Letras diferentes entre columnas del mismo color indican diferencias significativas según la prueba de comparaciones múltiples (Fisher LSD $\alpha=0.05$).

se encontraron bajos porcentajes de viabilidad (13.4% en otoño y 18.7% en invierno) (Figura 2) mientras que los demás sitios registraron altos porcentajes en ambas épocas de muestreo.

Abundancia de especies de HMA

Las especies de HMA, *Gigaspora gigantea*, *Acaulospora scrobiculata* y los morfotipos *Glomus* spp1 y *Glomus* spp3 podrían considerarse "generalistas", por la frecuencia y dominancia en la mayoría de los sitios estudiados. *Glomus* spp1 fue la más dominante en los cuatro sitios, para ambas épocas de muestreo. El morfotipo *Glomus* spp2 sólo se encontró en las muestras de suelo recolectadas en otoño, mientras que la especie *Glomus heterosporum* se encontró en los sitios de AT y MT en otoño e invierno. *Archaeospora leptoticha* fue la menos abundante y localizada en el sitio PT (Cuadro 1).

Distribución de especies de HMA

El análisis clúster generó un primer grupo compuesto por los sitios de baja y mediana tecnología, y un segundo constituido por sitios de alta tecnología y el testigo. El análisis SIMPROF demostró que las agrupaciones generadas no presentan diferencias entre ellas ($\pi=1.64, p=0.49$; Figura 3).

La presencia de estructuras características de HMA en todos los sitios de estudio, indicaron que las especies nativas son capaces de establecer simbiosis,

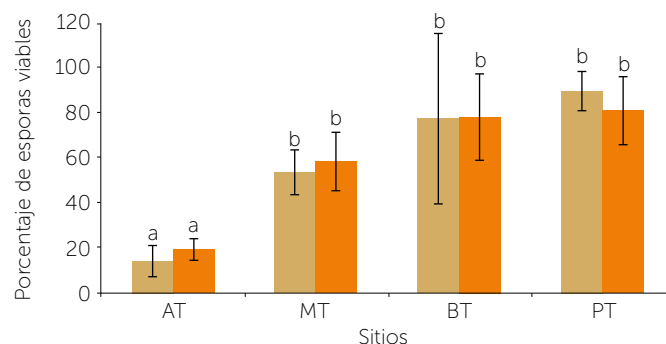


Figura 2. Porcentaje de esporas viables. Letras diferentes entre columnas del mismo color indican diferencias significativas según la prueba de comparaciones múltiples (Fisher LSD $\alpha=0.05$).

cas de muestreo, con un mayor número de esporas en otoño (51 ± 29), mientras que los sitios MT y PT presentaron valores altos en invierno (37 ± 16 y 60 ± 37) respectivamente. El número más bajo de esporas se presentó en el sitio BT (2 ± 2) para ambos muestreos. No hubo diferencias significativas en los valores de viabilidad (%) entre épocas de muestreo. En el sitio AT

se encontraron bajos porcentajes de viabilidad (13.4% en otoño y 18.7% en invierno) (Figura 2) mientras que los demás sitios registraron altos porcentajes en ambas épocas de muestreo.

se encontraron bajos porcentajes de viabilidad (13.4% en otoño y 18.7% en invierno) (Figura 2) mientras que los demás sitios registraron altos porcentajes en ambas épocas de muestreo.

se encontraron altos porcentajes en ambas épocas de muestreo. En el sitio AT se encontraron bajos porcentajes de viabilidad (13.4% en otoño y 18.7% en invierno) (Figura 2) mientras que los demás sitios registraron altos porcentajes en ambas épocas de muestreo.

independientemente del nivel de tecnología, sin embargo los valores de colonización fueron bajos en los suelos con AT (8.1% en otoño y 6.9% en invierno), en contraste el número de esporas presentó mayor densidad y diversidad, a pesar de las elevadas dosis y frecuencia de aplicaciones de plaguicidas, fertilizantes

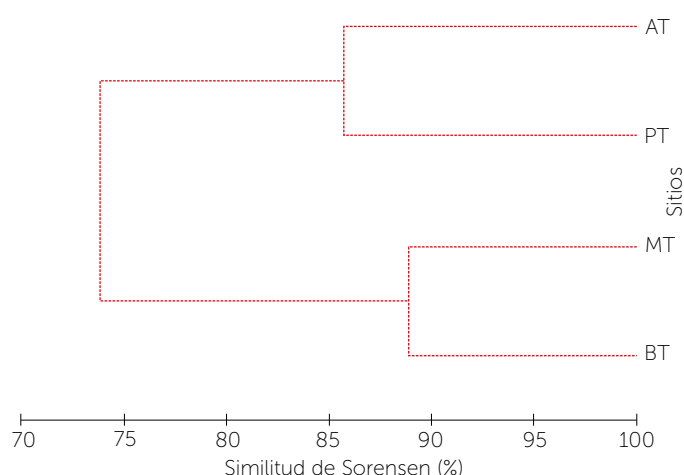
Cuadro 1. Abundancia relativa de especies de HMA en los sitios de *Carica papaya* L., en época de otoño e invierno.

Especies de HMA	Otoño								Invierno							
	AT		MT		BT		PT		AT		MT		BT		PT	
<i>Glomus heterosporum</i> G.S. Sm. & N.C. Schenck	0.9	(3)	2.8	(4)					4.6	(5)	3.1	(7)				
<i>Glomus</i> spp1	35.9	(110)	85.7	(120)	45.4	(5)	11.3	(36)	42.5	(46)	95.0	(209)	27.2	(3)	14.1	(51)
<i>Glomus</i> spp2	0.9	(3)					0.3	(1)								
<i>Glomus</i> spp3	1.3	(4)	2.1	(3)	9.0	(1)			3.7	(4)	0.9	(2)			0.2	(1)
<i>Gigaspora gigantea</i> T.H. Nicolson & Gerd.	31.0	(95)	6.4	(9)			77.9	(248)	43.5	(47)	0.9	(2)	63.6	(7)	80.8	(292)
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	29.0	(89)	2.8	(4)	45.4	(5)	5.6	(18)	5.5	(6)			9.0	(1)	0.8	(3)
<i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe	0.6	(2)					4.4	(14)							3.3	(12)
<i>Archaeospora leptoticha</i> N.C. Schenck & G.S. Sm.							0.3	(1)							0.5	(2)

y labranza convencional. Esto ya ha sido señalado por otros autores, quienes mencionan que la aplicación de agroquímicos no siempre tiene efectos que vayan en detrimento de la densidad de esporas (Dhillion y Gardsjord, 2004). Los datos obtenidos en este trabajo muestran que una alta densidad de esporas no está estrictamente relacionada con la colonización micorrízica, o bien con la capacidad infectiva. Resultados similares se han reportado con otros hospederos (Abd-Alla *et al.*, 2000; Dhillion y Gardsjord, 2004). Se considera que aunque el sitio AT registró el índice de diversidad más elevado ($H' = 0.89$), las especies de HMA en dicho sitio, podrían no estar funcionales para establecer la simbiosis micorrízica, el bajo porcentaje de colonización intraradical encontrado en campo, y la baja viabilidad de las esporas son indicadores de ello. Es posible que aunque los productos químicos no están afectando la esporulación, si están causando efecto negativo sobre la capacidad de los hongos para establecer la simbiosis; por ejemplo, AT fue el único sitio donde se aplica el fungicida carbendazim, conocido por inhibir la función de las tubulinas, cruciales para el establecimiento de la simbiosis (Butters *et al.*, 1995). Además productos como glifosato (aplicado en dosis elevadas en el sitio AT) reduce significativamente la co-

lonización micorrízica y la viabilidad de esporas de HMA (Druille *et al.* 2013). Se identificaron ocho morfotipos distintos y el valor más elevado para el índice de diversidad fue $H' = 0.89$, valores bajos si se comparan con estudios similares de diversidad en agroecosistemas de papayo donde se reportan hasta 33 especies distintas (Khade y Rodrigues, 2008, Walsh y Ragupathy, 2007) y valores de H' entre 1.7 y 2.82 para agroecosistemas con diferente intensidad de manejo agronómico (Belay *et al.*, 2015). Del total de especies detectadas, 50% correspondieron al género *Glomus*, confirmando con ello la capacidad "generalista" de dicha especie. En este estudio se encontró una correlación positiva entre la abundancia de especies y el contenido de materia orgánica en el suelo ($r^2 = 0.87$), se sabe que especies como *R. intraradices* y *G. mosseae* pueden registrar aumentos de hasta seis veces en su abundancia y esporulación cuando se desarrollan

en parches ricos en materia orgánica (Quilliam *et al.*, 2010). Se encontraron pocas especies dominantes, la especie *G. heterosporum* se encontró únicamente en los sitios agrícolas AT y MT en ambas épocas de muestreo. Se ha reportado que la especie *G. heterosporum* no se caracteriza por ser generalista y se presenta en mayor proporción en ecosistemas naturales

**Figura 3.** Clúster de agrupamiento de comunidades de HMA en los sitios de estudio.

(Oehl *et al.*, 2003), los resultados encontrados en este trabajo muestran que dicha especie no es exclusiva de sitios conservados o con bajo manejo agronómico.

CONCLUSIONES

Es claro que la simbiosis micorrízica juega un papel importante en el funcionamiento y productividad de los sistemas agrícolas, por lo tanto, su evaluación en campo es crucial para encontrar estrategias que permitan incrementar la productividad de dichos sistemas. Es importante señalar que estos resultados representan un punto en el tiempo y se desconoce la variación en la respuesta y comportamiento de las comunidades de HMA en plantaciones de papayo durante ciclos continuos. Sin embargo, este estudio pone en evidencia que existen diferencias importantes en la función y diversidad de HMA asociados dependiendo del manejo agronómico.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Sidney Luiz Stürmer investigador de la Universidad Regional de Blumenau, Brasil, por su valioso apoyo en la identificación taxonómica de las especies de hongos micorrízicos arbusculares.

LITERATURA CITADA

- An Z.Q., Hendrix J.W. 1988. Determining viability of Endogonaceae spores with a vital stain. *Mycologia* 80:259-261.
- Abd-Alla M.H., Shukry A.O., Sokol K. 2000. The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. *Applied Soil Ecology* 14:191-200.
- Belay Z., Vestberg M., Assefa F. 2015. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across different land use types in a humid low land area of Ethiopia. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 18: 47-69.
- Bever J.D. 2002. Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth. *Plant and Soil* 244:281-290.
- Boddington C.L., Dodd J.C. 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil* 218:137-144.
- Butters J.A., Kendall S.J., Wheeler I.E., Hollomon D.W. 1995. Tubulins. Lessons from existing products that can be applied to target new antifungals. In: Dixon GK, Copping LG, Hollomon DW (eds) *Antifungal agents, discovery and mode of actions*. BIOS, Oxford, pp 173-191.
- Dhillon S.S., Gardsjord T.L. 2004. Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity, productivity, and nutrients in boreal grasslands. *Canadian Journal of Botany* 82:104-114.
- Druille M., Omacini M., Golluscio R.A., Cabello M.N. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application *Applied Soil Ecology* 72:143-149.
- Evans E., Ballen F. 2012. An Overview of Global Papaya Production, Trade, and Consumption. Food and Resource Economics Department, UF/IFAS Extension.
- Fuentes G., Santamaria J. 2014. Papaya (*Carica papaya* L.) Origin, domestication and production. In: Ming R, Moore PH (eds) *Genetics and Genomics of Papaya*. Springer Science and Business Media, New York.
- Gedermann J.W., Nicholson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soils by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society* 46:235-244.
- Gianinazzi S., Gollotte A., Binet M.N., van Tuinen D., Redecker D., Wipf D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20:519-530.
- Helgason T., A. Fitter, 2009. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota). *Journal of Experimental Botany* 60: 2465-2480.
- Hodge A. 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology* 32:91-96.
- INVAM International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi West Virginia U. 2010.
- Khade W.S., Rodrigues B.F. 2008. Ecology of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Carica papaya* L. in agro-based ecosystem of Goa, India. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 8:265-278.
- Oehl F., Sieverding E., Ineichen K., Mäder P., Boller T., Wiemken A. 2003. Impact of Land Use Intensity on the Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69:2816-2824.
- Poomipan P., Suwanarit A., Suwanarit P., Nopamornbodi O., Dell B. 2011. Reintroduction of a native Glomus to a tropical Ultisol promoted grain yield in maize after fallow and restored the density of arbuscular mycorrhizal fungal spores. *Journal of Plant Nutrition* 174:257-268.
- Quilliam R.S., Hodge A., Jones D.L. 2010. Sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi in organic-rich patches following host excision. *Applied Soil Ecology* 46:247-250.
- Rillig M.C., Mummey D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171:41-53.
- Sangabriel-Conde W., Trejo-Aguilar D., Soto-Estrada A., Ferrera-Cerrato R., Lara-Capistrán L. 2010. Potencial de colonización de hongos micorrízico-arbusculares en suelos cultivados con papayo bajo diferentes manejos de producción. *Revista Mexicana de Micología* 31: 45-52.
- Sieverding E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn, Germany.
- Verbruggen E., Van Der Heijden M.G.A., Weedon J.T., Kowalchuk G.A., Rölling W.F.M. 2012. Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Molecular Ecology* 21: 2341-2353.
- Walker C. 1997. Spore extraction by centrifugation-sugar flotation. *Biological Research and Imaging Laboratory*, Hampshire, UK.
- Walsh K.B., Ragupathy S. 2007. Mycorrhizal colonisation of three hybrid papayas (*Carica papaya*) under mulched and bare ground conditions. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47:81-85.
- Wang G.M., Stribley D.P., Tinker P.B., Walker C. 1993. Effects of pH on Arbuscular Mycorrhiza. I. Field Observations on the Long-Term Liming Experiments at Rothamsted and Woburn. *New Phytologist*, 124:465-472.
- Yao Q., Feng G.L X., Christie P., 2001. Mobilization of sparingly soluble inorganic phosphates by the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Plant and Soil*, 230:279-285.