

ARTÍCULO ORIGINAL

Asociación micorrízica entre *Moringa oleífera* Lam y el *Glomus fasciculatum*

Mycorrhizal association between *Moringa oleífera* Lam and *fasciculatum*

**Alfredo Pita Hernández¹, Carlos A. Miranda Sierra², Esteban García Quiñones³,
Marcos A. Valdés Iglesias⁴**

¹Master en Ciencias del Suelo. Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura, Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: aseguramiento@pri.minag.cu

²Master en Ciencias Meteorológicas. Centro Meteorológico Provincial, Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: calberto@pri.insmet.cu

³Master en Agroecología y Agricultura Sostenible. Profesor Titular, Universidad de Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: egarcia@af.upr.edu.cu

⁴Ingeniero Agrónomo. Universidad de Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: aiglesias@vrect.upr.edu.cu

RESUMEN

La asociación micorrízica de la planta forestal *Moringa oleífera* Lam es un tema muy poco estudiado. Menos aún se ha trabajado este mutualismo en condiciones de árbol fuera del bosque (AFB) con esta especie en suelos de baja fertilidad. Para evaluar si el HMA *Glomus fasciculatum* establece micorrización con esta planta, se montó un experimento en diseño

215 *Revista Avances Vol. 15 (2), abril-junio, 2013*

de ajedrez con dos variantes y tres réplicas, en la Biofábrica de Pinar del Río, aledaña a la Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura, en el Reparto Hermanos Cruz de la Capital Provincial. Como resultado de los análisis realizados en el laboratorio de microbiología de la Universidad, se pudo comprobar que existe asociación micorrízica entre la planta y el hongo, por lo que se comprueba que la especie *Moringa oleífera* Lam está incluida entre el 95-96 % de las especies vegetales que establecen asociación con los hongos micorrizógenos arbusculares.

Palabras clave: Asociación micorrízica, Experimento, Mutualismo, Suelos degradados, Suelos de baja fertilidad.

ABSTRACT

The mycorrhizal association of forest plant *Moringa oleífera* Lam and the theme of mutualism in conditions of low fertility soils. To evaluate whether the AMF *Glomus fasciculatum* establishes mycorrhizal associations with this plant, an experiment was carried out on a chess design with two variants and three replications at Pinar del Rio Biofactory, nearby the Provincial Delegation of the Ministry of Agriculture, at Hermanos Cruz neighbourhood. As a result of the analysis performed in the microbiology laboratory of the University, it was found that there exists and mycorrhizal association between the plant and the fungus, so it is found that the species *Moringa oleífera* Lam is included between 95-96% of the plant species that establish association with arbuscular mycorrhizal fungi.

Key words: Mycorrhizal association, Experiment, Mutualism, Degraded soils, Low fertility soils.

INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los ecosistemas de mayor biodiversidad en el planeta. En él se encuentran muchos de los macro y microorganismos representados en el reino animal. Los artrópodos, arácnidos, nematelmintos y los microorganismos bacterias, algas, hongos y actinomicetos constituyen la mayor proporción de biomasa del suelo según Davet (2004) y Altieri (2006).

Entre los microorganismos del suelo están los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) los cuales son capaces de colonizar las raíces y así acceder a los recursos de las plantas. Al darse esta asociación, ocurren cambios físicos y químicos en la rizósfera disparados por los cambios en la fisiología del hospedero y del hongo (Azcón, 2000).

De manera más detallada, los hongos micorrizógenos arbusculares, forman una asociación mutualista con las plantas, denominadas micorrizas, la cual facilita la absorción de elementos minerales a las plantas hospederas, esta integración fisiológica entre los simbiontes permite que el hongo suministre a la planta compuestos inorgánicos (sales minerales) que esta necesita para su nutrición (micotrofia) y la planta aporta al hongo heterótrofo los compuestos orgánicos (fotosintatos) para su desarrollo y crecimiento.

Las micorrizas son probablemente el mutualismo más abundante y más distribuido en la superficie terrestre, ya que se estima que el 95 % de las plantas tienen micorrización (Harrison, 2002). También se considera el más antiguo pues un estudio reciente (Wilkinson, 2001, citado por Harrison) de rocas del período Ordovícico muestran hifas y esporas que se parecen a los ejemplares modernos del género *Glomus*, lo cual hace fechar la relación hongo-planta en 460 millones de años atrás, antes incluso, que el reino vegetal colonizara toda la tierra.

El *Glomus fasciculatum* es uno de los endomicorrizógenos más abundantes en los climas tropicales. Tiene el micelio aceptado y delgado que al penetrar dentro de la raíz se extiende entre y dentro de las células corticales de la planta, donde puede originar arbusculos y vesículas.

Los arbusculos son estructuras derivadas de la ramificación dicotómica de la hifa del hongo en su crecimiento, que copan los espacios entre células y dentro de las células de los tejidos de las raíces de la planta. Funcionan como sitios de intercambio entre el hongo y la planta hospedera, para el carbono, agua y minerales (Harley y Smith, 1984).

Las vesículas son secciones intracelulares de toda esa red arbuscular donde las hifas del hongo se dilatan o hinchan y sirven para almacenar productos fosfolípidos. No todos los géneros de HMA desarrollan vesículas (Johnson, 1999). Se conoce que este HMA establece asociación micorrízica con un grupo de plantas hortícolas, granos y otras, pero no se reporta su asociación con especies forestales, especialmente con *Moringa oleifera* Lam.

Moringa oleifera Lam es la especie más conocida de las 13 identificadas del género *Moringa* (Font, 1975). Se le conoce por varios nombres vulgares en diferentes zonas geográficas del mundo (árbol de la vida, árbol generoso, el milagroso, árbol de la esperanza, palo jeringa, acacia, jazmín francés etc.). Es una especie forestal no

maderable oriunda del norte de la India. Se trata de un árbol perenne pero poco longevo ya que vive alrededor de 20 años (Jyothi *et al.*, 1990; Morton, 1991, citados por Smith, 1996).

Entre sus características se destaca su rápido crecimiento (unos 3 m en su primer año pudiendo llegar a 5 m en condiciones ideales; el árbol adulto llega a los 10 o 12 m de altura máxima) y su rusticidad que lo hace muy fácil de cultivar (Reyes, 2008). Por otra parte, su belleza también motiva que sea utilizada como planta ornamental.

Su madera sirve como leña y para hacer carbón. García Roa (2010) considera que no tiene las cualidades físico-mecánicas para ser considerado como maderable, por lo que no es una especie apropiada para este fin. Según Gómez (1995) la madera de *Moringa* constituye una excelente pulpa de celulosa para papel de gran calidad por lo que se pueden establecer industrias de PFNM. La planta es buena purificadora del agua. Sin embargo, sus mayores valores están en el contenido de nutrientes que posee y que son útiles para la alimentación humana directamente, para los animales y para la industria farmacéutica.

Esta planta posee un alto contenido en proteínas, vitaminas y minerales y ofrece un amplio surtido de productos alimenticios ya que todas las partes de la planta son comestibles: las vainas verdes, las hojas, las flores, las semillas y las raíces.

En Cuba, aunque existe desde hace años una de sus variedades, subsistía como una metapoblación dispersa y sin atención (Sotolongo, 2011 y Rodríguez Nodals, 2011)), por algunas Provincias. Su jerarquización es reciente, al ser incorporada al programa alimentario del País, como suplemento alimenticio animal y para el consumo directo de la población como producto fresco o elaborado.

Por ello existe un programa nacional de atención a esta planta, dirigido por la Dirección Nacional Forestal, que pretende masificarla en todas las estructuras productivas en el menor tiempo posible, incluidas las de ganadería, cultivos varios y la agricultura urbana y suburbana, fuera de las tradicionales áreas boscosas y donde se considera técnicamente como árboles fuera del bosque.

Los árboles fuera del bosque (AFB ó TOF, por sus siglas en inglés Trees Outside Forest) incluyen entre otros a árboles en tierras agrícolas, urbanas y peri-urbanas; árboles a lo largo de la infraestructura humana como carreteras, canales, al margen de ríos o riachuelos dentro del paisaje agrícola ("árboles en galería"); árboles en parques y huertos; y también árboles en tierras naturales donde la cobertura arbórea es tan escasa que la vegetación no cumple con la definición de bosque (Kleinn, 2000).

Al extender la reforestación con *Moringa oleífera* Lam a perímetros urbanos y suburbanos, así como a carreteras y autopistas en los cuales se desarrollaría como una planta fuera del bosque en suelos generalmente de baja fertilidad, se incluyó en el proyecto ECOGUAMÁ _ Producciones agropecuarias integradas para el desarrollo de agroecosistemas en conversión agroecológica en el municipio de Pinar del Río, dirigido por la Empresa ECOVIDA del CITMA,, la tarea de conocer si establecía o no micorrización efectiva para proponer la utilización de las ventajas de este mutualismo en posteriores programas de extensión de la especie y así posibilitar su crecimiento y desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase de campo de este Proceso de Investigación Científica requirió de tres componentes principales:

- Una parcela experimental con un tamaño de muestra correctamente calculado.
- 80 plantas de *Moringa oleífera* Lam en bolsas
- 10 Kgs de Inóculo del HMA *Glomus fasciculatum*

El área seleccionada para la ejecución del experimento, se ubica en el lateral derecho de la Biofábrica del Ministerio de la Agricultura en la ciudad de Pinar del Río

Datos del campo experimental

Área de cálculo de cada parcela: 6 x 7 m: 42 m²

Total de parcelas 8

Área total de cálculo..... 336 m²

Área de borde o seguridad..... 140 m²

Área total del campo experimental (n)..... 476 m²

Área total de la parcela degradada (N)...1800 m²

Intensidad de muestreo..... 0,145

Tipo de muestreo.....Parcelas fijas

Número de plantas por parcelas..... 9

Total de plantas del campo experimental..... 72

*Origen del inóculo de *Glomus fasciculatum**

Procedente de la Unidad Básica de Producción Cooperativa (UBPC) Organopónico Alamar en la Habana, centro de referencia nacional de la agricultura urbana y suburbana, que asesorado por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) produce a pequeña escala comercial el HMA *Glomus fasciculatum*, se trajeron 10 Kgs del inóculo con una concentración promedio de 30 esporas por gramo en correspondencia con las normas establecidas.

Profundidad de la investigación y método utilizado

La investigación por su profundidad fue exploratoria, ya que hasta donde se conoce, no existían antecedentes de estudios de micorrización en esta especie forestal.

El método empírico utilizado fue el Experimento ya que se ejecutó una acción sobre una variable independiente y después se midió su efecto en la variable dependiente lo cual se corresponde con la clasificación de Babbie (1979).

Dentro de los diseños experimentales se utilizó un Diseño no Típico de Ajedrez, con dos variantes y tres réplicas en dos bandas o franjas (Jiménez, 1986).

La fase de trabajo de campo se extendió de octubre del 2011 al 30 de junio del 2012 y durante ese período de tiempo se ejecutaron las siguientes tareas, incluidas en el plan de trabajo:

Fase de vivero:

El 25 de octubre del 2011 se sembraron 80 bolsas con la especie forestal no maderable *Moringa oleífera* Lam destinadas a este experimento. La mezcla de suelo utilizada procedía de la misma parcela experimental a la cual serían trasplantadas, suelo que llevaba 5 años libre de todo tipo de vegetación lo que impedía inicialmente la presencia de cualquier tipo de HMA, ya que el mutualismo para el Hongo es obligada (Azcon, R. 2000). Durante los 50 días transcurridos en el vivero, las bolsas tuvieron riego sistemático, primero cada tres días y pasado el primer mes, cada cinco días. Se le realizó un escarde contra malas hierbas.

Trasplante a la parcela Experimental:

La preparación de tierras fue ligera para toda el área, con hoyado en la posición de las plantas. La plantación de las 8 parcelas del área experimental se realizó el 20 de diciembre del 2011.

El hoyado fue a 20 cm de diámetro por 25 de profundidad. La plantación se ejecutó a tres bolillos a 1,5 metros de separación entre hileras y 2,0 metros entre plantas y la numeración de las plantas para las evaluaciones de campo posteriores fue de sur a norte y de izquierda.

*Inoculación del HMA *Glomus fasciculatum**

En el momento del trasplante a las parcelas 2, 3, 6 y 7 se le añadió 100 gramos por planta del producto, espolvoreándolo sobre el área radical de las posturas y los laterales y el fondo del hoyo, de manera tal que se pusiera rápidamente en contacto con las raíces de la planta. Se plantó en esas condiciones cada una de las posturas y se le añadió 500 mililitros de agua por planta para garantizar las condiciones de humedad que propiciarán el inicio de la actividad fúngica. A las parcelas 1, 4, 5, 8 no se les inoculó el HMA.

Atenciones silviculturales a la parcela experimental

Durante los primeros veinte días se le suministró 250 ml de agua por planta cada 7 días y a partir del segundo mes se amplió el intervalo de riego a cada 15 días. A partir del 1^o de abril se le suspendió el riego dejando que la humedad residual del suelo comenzara a depender de la pluviometría de esos meses, lo cual está en correspondencia con el tratamiento silvicultural de las especies forestales que no tienen sistemas de riego en Cuba. En los primeros sesenta días se le ejecutó una limpia total con guataca, en el tercer mes un descepe dirigido y en el quinto mes una chapea selectiva de algunas gramíneas que alcanzaban 25 centímetros de altura.

Recogida de muestras y pruebas de laboratorio realizadas

La identificación de los HMA en las plantas incluye su extracción del suelo y su detección y cuantificación en las raíces de las plantas asociadas, por lo que la prueba, para su ejecución se dividió en dos fases:

- a) Colecta de raíces en el campo
- b) Ablandamiento, tinción y observación de raíces al microscopio.

La colecta de raíces en el campo se realizó por el procedimiento de Helg-Cuevas (2008).

1.- Tomar muestras de raíces lo más fina posible de las plantas de las parcelas inoculadas y no inoculadas.

2.-Lavarlas y colocarlas en bolsas, correctamente identificadas según el número de planta y parcela y llevarlas al laboratorio antes de las 24 horas.

Se tomaron muestras de cuatro plantas en cada parcela no inoculada (52 %) y siete plantas de cada parcela inoculada (80 %) para un total de 44 muestras.

El ablandamiento y tinción para la observación al microscopio se realizó siguiendo una de las variantes del procedimiento para la tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970)

1.- Se lavaron las raíces de cada planta varias veces con agua corriente para evitar que quedara adherida a ellas alguna partícula de suelo. Se cortaron en porciones inferiores a un centímetro y se fueron colocando en tubos de ensayo identificando número de parcela y planta.

2.- Se cubrió las raíces con KOH al 10 % y se pusieron todos los tubos de ensayo en baño de maría por 20 minutos

3.- Se escurrió el KOH y se añadió HCL al 10 %, poniéndolo a hervir nuevamente en baño maría por 10 minutos.

4.- Se escurrió el HCL y sin enjuagar, se añadió azul de tripano al 5 %, se puso a baño maría por 30 minutos y después se dejó 24 horas a temperatura ambiente.

5.- Entre el miércoles 18 y el viernes 20 de abril se hicieron las observaciones al microscopio, primero con segmentos de raíces disueltas en agua y después se pusieron en portaobjetos y se hicieron observaciones con objetivo 10x y 40 x.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se pudieron observar, en las muestras de las plantas inoculadas, con mucha precisión, la presencia de la morfología de todas las estructuras fúngicas (*Figura 1, Figura 2 y Figura 3*) especialmente los micelios y las vesículas. En las muestras de las plantas no inoculadas no aparecieron estas estructura.

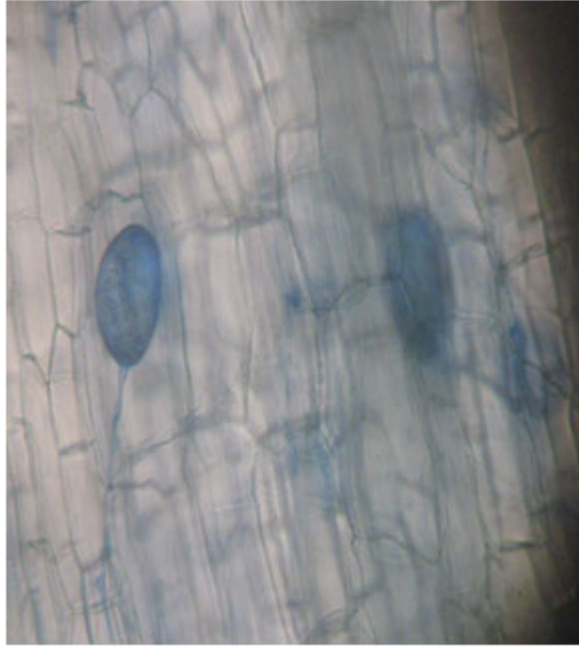


Figura 1. Vesículas producto de la dilatación de las hifas



Figura 2. Hifas desarrolladas como red arbuscular.

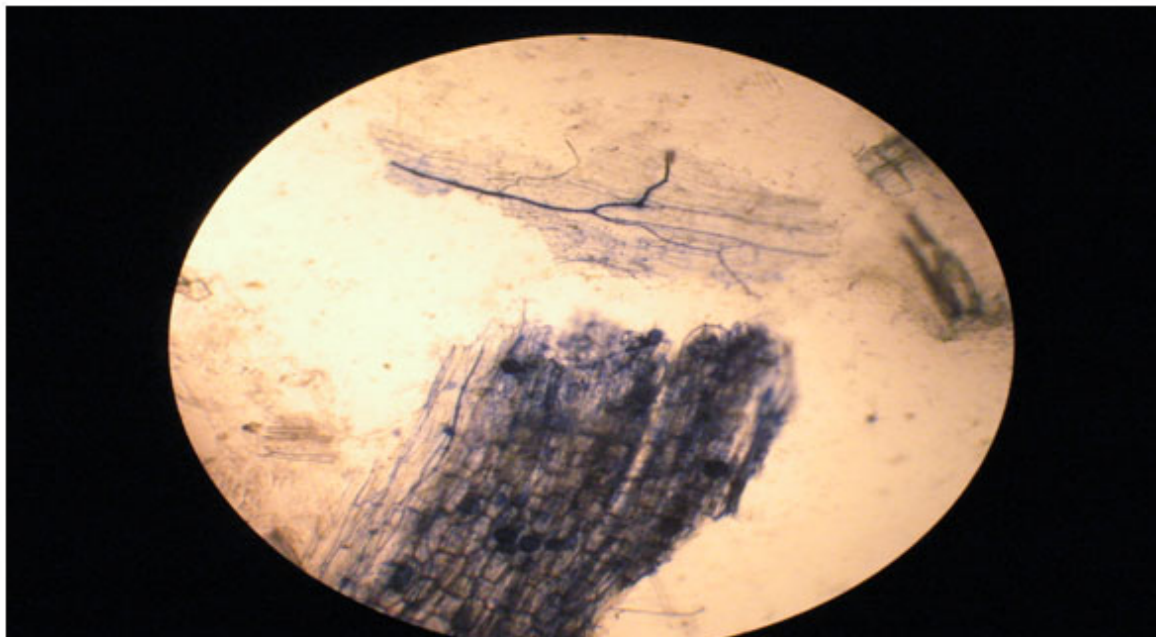


Figura 3. En la parte superior hifas desarrolladas dicotómicamente como red arbuscular.

En la parte inferior, alta concentración de vesículas aproximadamente elípticas.

Al comprobar, mediante análisis al microscopio con lente 40 X, que el HMA *Glomus fasciculatum* establece micorrización efectiva con *Moringa oleifera* Lam, se confirmó lo planteado por Janos (1996) de que la inoculación de las plantas de este género de HMA puede ocurrir mediante esporas procedentes de plantas industriales o artesanales y la afirmación de Azcón (2000) de que los HMA son capaces de colonizar raíces y así acceder a los recursos de la planta.

Se verifica además, lo planteado por Harrison (2002) de que las micorrizas son probablemente el mutualismo más abundante y más distribuido en la superficie terrestre, ya que se estima que el 95 % de las plantas tienen micorrización y esta es una de ellas.

CONCLUSIONES

El Hongo Micorrizógeno Arbuscular *Glomus fasciculatum* establece asociación micorrízica con *Moringa oleifera* Lam lo que sitúa a esta especie forestal entre el 95 % de las especies vegetales que establecen asociación micorrizógena con algún tipo de HMA.

RECOMENDACIONES

Continuar estudios de dosificación y de momento para determinar los niveles de inóculo económicamente más adecuados y evaluar la inoculación en el momento de la siembra en vivero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altieri, M.A. (2006). Desafíos agroecológicos para el desarrollo de una agricultura sustentable en la América Latina del siglo XXI. Conferencia. VI Encuentro de Agricultura Orgánica. La Habana. Cuba.
- Azcon, R. (2000). Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros organismos en el crecimiento vegetal. IRENAT-Colegio de Postgraduados. Mundo Prensa. México. (pp.1-15).
- Cué, J.L. (2003). Evaluación de Biobras-16 y diferentes especies de micorrizas en el cultivo del tabaco negro. Universidad de Pinar del Río, Cuba.
- Cuenca, Gisela. (2004). Las micorrizas arbusculares y la restauración de sabanas en Venezuela. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas. Venezuela.
- Davet, P. (2004). Microbial ecology of the soil and plant growth. Chapter 2. Science Publishers Inc. End field, USA (pp. 22-30).
- Font Quer, P. (1975). Diccionario Botánico. Edit. Labor S.A. Barcelona. (1244 pp.).
- Freud, J.E. (1980). Estadística Elemental Moderna. Edit. Pueblo y Educación. La Habana. (466 pp.).
- García Roa, M. (2010). Producción de semillas forestales de especies forrajeras enfatizadas en sistemas silvopastoriles. INAFOR. (37 pp.).
- Gómez, M. L., Rodríguez, E. (1995). Árboles y arbustos forrajeros utilizados en alimentación como fuente proteica. Edit. CIPAV. Colombia. (126 pp.).
- González Izquierdo, E. (2011). Conferencias sobre Tipología Forestal. Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales. UPR. Cuba
- Harley, J.L. y Smith, S. E. 1984. Mycorrhizal simbiosis. Segunda impresión. Academic Press, Londres, Gran Bretaña. (pp. 4-33).
- Harrison, M.J. 1997. The arbuscular mycorrhizal symbiosis. Trends in Plant Science, 2, 54-60.
- Hernández Sampier, R. (2004). Metodología de la Investigación. Editorial Félix Varela La Habana, Cuba.
- Johnson, N.C., Dell, T. O.y Bledsoe, C. S. (1999). Methods for ecological Studies of mycorrhizae. Oxford University Press, Estados Unidos.

- Kleinn, C. (2000). Inventario y evaluación de los árboles fuera del bosque en grandes espacios. *Unasylva*, 200(51), 3-10.
- Reyes, N. (2008). *Moringa oleifera* and *Cratylia argentea*: potential fodder species for ruminants in Nicaragua. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management Uppsala. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- Sotolongo, R. (2011). Conferencia sobre biodiversidad. Programa de Doctorado Curricular Colaborativo en Ciencias Forestales.
- Smith, O. B. (1996). El forraje de árboles y arbustos como alimento para el ganado en los trópicos. Serie "mejores cultivos" No. 42. FAO. Roma. (52 pp.).

Aceptado: diciembre 2012

Aprobado: mayo 2013

MSc. Alfredo Pita Hernández. Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura, Pinar del Río, Cuba. Correo electrónico: aseguramiento@pri.minag.cu