

---

# RESPUESTA MICORRÍZICA DE SIETE ESPECIES LEÑOSAS PERTENECIENTES A DIFERENTES ETAPAS SUCESIONALES DEL BOSQUE NUBLADO DE ALTOS DE PIPE, VENEZUELA

---

Carmen Flores

## RESUMEN

Se estudió la respuesta a los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) y a la fertilización simultánea con fósforo, de siete especies leñosas de diferentes estados sucesionales del bosque nublado de Altos de Pipe, estado Miranda, Venezuela. Para ello se germinaron sus semillas, posteriormente las plántulas se trasplantaron a macetas con suelo estéril, aplicándose cuatro tratamientos: inoculación con el HMA *Glomus manihotis*, inoculación y fertilización con superfosfato triple (SFT), plantas con SFT pero sin inocular, y controles sin tratamiento alguno. De las siete especies estudiadas, seis desarrollaron con éxito la simbiosis y una especie, *Guapira olfersiana*, se contaminó con un hongo ectomicorrízico. En las especies pioneras e interme-

dias el efecto de los HMA fué evidente en mayores valores de peso seco, longitud radical y eficiencia de utilización del P, y en el caso de las especies tardías estos valores fueron bajos. Los resultados permiten distinguir tres grupos de especies: el de las especies pioneras, con altas respuestas a los HMA; un grupo intermedio constituido por las especies tempranas, con respuestas variables y medias a los HMA; y el de las tardías, con bajas respuestas a los HMA. Se concluye que la respuesta micorrízica de las especies estudiadas es directamente proporcional al porcentaje de sus pelos radicales y que es inversamente proporcional al tamaño de sus semillas.

## Introducción

En las zonas húmedas del trópico los suelos poseen bajos niveles de fósforo disponible (Brady y Weil, 2002). Misayaka y Habte (2001) identificaron la simbiosis mutualista con los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) como un mecanismo utilizado por las plantas para aumentar la eficiencia en la captación de P.

Las micorrizas arbusculares (MA) representan una simbiosis universal, ya que se estima que están presentes en una amplia variedad de ecosistemas y en más del 90% de las especies vegetales, con cerca de 200 especies de hongos capaces de inducir las (Sanders, 2002). Actualmente, la comunidad de HMA ha sido propuesta como potencial indicador biológico de la calidad de los suelos (Karlen *et*

*al.*, 2002). Recientemente el origen edáfico, desde el punto de vista de la fertilidad, de estos hongos mutualistas se considera determinante como mecanismo de adaptación de sus plantas hospederas, factor de suma importancia a considerar en el momento de su utilización en la agricultura, restauración de suelos y en el secuestro de carbono. (Johnson *et al.*, 2010).

Los HMA pueden regular la estructura y productividad de la comunidad vegetal a través de su diversidad funcional, intra e interespecies, y de los efectos diferenciales que este hecho tiene sobre sus plantas hospederas. Lo anterior luce preocupante a la luz de que no están siendo estudiadas las variadas funciones y respuestas de los HMA en la dinámica sucesional, lo cual implica que de seguir utilizándose como herramien-

ta de restauración ecológica, surge la necesidad de conocer su ecología, dado el papel fundamental que desempeñan dentro de la estructura de la comunidad vegetal (Hart y Klironomos, 2002).

Por otro lado, el más destacado y consistente efecto de los HMA sobre las plantas es el mejoramiento de su nutrición mineral, especialmente en relación a la captación de P (Thingstrup *et al.*, 1998). Esta capacidad de absorción de P varía con respecto a la respuesta micorrízica (RM), eficiencia del hongo y morfología de sus raíces (Ravnkov y Jakobsen, 1995). La RM es una medida de la eficiencia del HMA en mejorar el estado nutricional de la planta, y se mide por la diferencia en peso seco entre plantas micorrizadas o no (Plenchette *et al.*, 1983; Janos, 1988, 1996).

Actualmente es motivo de discrepancia el papel de los HMA en la sucesión vegetal en el trópico. Las primeras teorías que tratan de explicarlo fueron planteadas por Janos (1980a, b), sugiriendo un aumento de la RM a medida que se avanza en un gradiente sucesional, y afirmando que en los trópicos húmedos la nutrición mineral, el crecimiento y la supervivencia de los árboles podían depender absolutamente de las micorrizas. No obstante, estudios recientes ponen en evidencia otro punto de vista diferente con respecto a la RM. Evaluaciones hechas en Brasil con árboles nativos bajo diferentes estados sucesionales y HMA, indican que las especies pioneras exhiben altas tasas de colonización y susceptibilidad a los HMA, en contraste a las especies climax, que exhiben una reducida respuesta (Siquei-

---

**PALABRAS CLAVE / Bosque Nublado / Eficiencia de Utilización del Fósforo / *Guapira olfersiana* / Micorrizas Arbusculares / Respuesta Micorrízica /**

---

Recibido: 17/06/2010. Modificado: 18/10/2010. Aceptado: 19/10/2010.

**Carmen E. Flores V.** Ingeniera Agrónoma, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), Venezuela. Especialis-

ta en Manejo de Cuencas Hidrográficas, Universidad Central de Venezuela (UCV). Doctora en Ecología, Instituto Ve-

nezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Profesora, UNET, Venezuela. Dirección: Laboratorio de Fitoquímica,

UNET. Av. Universidad, Paramillo, San Cristóbal 5001. Táchira, Venezuela. e-mail: cfloresvilla@gmail.com

## MYCORRHIZAL RESPONSIVENESS OF SEVEN WOODY SPECIES BELONGING TO DIFFERENT SUCCESSIONAL STAGES OF THE CLOUD FOREST OF ALTOS DE PIPE, VENEZUELA

Carmen Flores

### SUMMARY

The responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and simultaneous phosphorus fertilization was evaluated in seven woody species of different successional stages of the cloud forest of Altos de Pipe, Miranda state, Venezuela. Their seeds were germinated and seedlings were transplanted to pots containing sterile soil. Four treatments were applied: inoculation with the AMF *Glomus manihotis*, inoculation and fertilization with triple superphosphate (TSP), plants with TSP application alone, and untreated controls. Of the seven species studied, six developed successfully symbiosis, while one species, *Guapira olfersiana* was contaminated with an ectomycorrhizal fungus. In

the pioneering and intermediate species, the effect of AMF was evident in higher values of dry weight, root length and P utilization efficiency, and in the case of late species the values were low. The results show three distinct groups of species: pioneer species with high responses to the HMA, an intermediate group comprising the early species, with varying and intermediate responses to AMF, and a third group of late species with low responses to HMA. It is concluded that the responsiveness to AMF of the species studied is directly proportional to the percentage of root hairs and is inversely proportional to the size of their seeds.

## RESPOSTA MICORRÍZICA DE SETE ESPÉCIES LENHOSAS PERTENCENTES A DIFERENTES ETAPAS SUCESSIONAIS DO BOSQUE NUBLADO DE ALTOS DE PIPE, VENEZUELA

Carmen Flores

### RESUMO

Estudou-se a resposta aos fungos micorrízicos arbusculares (HMA) e à fertilização simultânea com fósforo, de sete espécies lenhosas de diferentes estados sucessionais do bosque nublado de Altos de Pipe, estado Miranda, Venezuela. Para isto foram germinadas suas sementes, posteriormente as plântulas foram transplantadas para vasos com solo estéril, aplicando-se quatro tratamentos: inoculação com o HMA *Glomus manihotis*, inoculação e fertilização com superfosfato triple (SFT), plantas com SFT mas sem inocular, e controles sem tratamento algum. Das sete espécies estudadas, seis desenvolveram com sucesso a simbiose e uma espécie, *Guapira olfersiana*, se contaminou com um fungo ectomicorrízico. Nas espécies pioneiras e intermédias

o efeito dos HMA foi evidente em maiores valores de peso seco, longitude radical e eficiência de utilização do P, e no caso das espécies tardias estes valores foram baixos. Os resultados permitem distinguir três grupos de espécies: o das espécies pioneiras, com altas respostas aos HMA; um grupo intermédio constituído pelas espécies prematuras, com respostas variáveis e médias aos HMA; e o das tardias, com baixas respostas aos HMA. Conclui-se que a resposta micorrízica das espécies estudadas é diretamente proporcional a porcentagem de seus pelos radicais e que é inversamente proporcional ao tamanho de suas sementes.

ra *et al.*, 2001; Zangaro *et al.*, 2003).

Dada la controversia planteada en el caso de la selva tropical húmeda y a la escasez de información para los bosques nublados, se trazó el objetivo de evaluar la respuesta a los HMA, y la fertilización simultánea con P, de siete especies leñosas nativas pertenecientes a diferentes estados sucesionales de un bosque nublado. Estas especies fueron las pioneras *Oyedaea verbesinoides*, *Heliocarpus americanus*, las tempranas o intermedias *Vismia ferruginea*, *Palicourea fendleri*, *Hyeronima moritziana* y las especies tardías *Richeria grandis* y *Guapira olfersiana* (Aristeguieta, 1973, 2003).

### Materiales y Métodos

#### Sitio de estudio

El trabajo fue llevado a cabo en un invernadero situado en el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Altos de Pipe, estado Miranda, Venezuela, a ~1750msnm, con humedad relativa y temperatura promedio anuales de 90% y 20°C.

#### Tratamiento de los suelos e inóculo

Para los ensayos de germinación y de invernadero se utilizó suelo superficial (0-30cm) del bosque nublado de Altos de Pipe, cuyas características químicas se detallan

en la Tabla I. Previamente a la instalación del ensayo, el suelo fue pasado por un tamiz de 2mm y posteriormente esterilizado mediante una dosis de 8kgy de radiaciones gamma.

El inóculo utilizado proviene de cultivos puros de *Glomus manihotis* Howeler & Sieverding & Schenck, originarios del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y multiplicado por largo tiempo en el suelo del bosque nublado del IVIC. Se utilizó este HMA por ser una especie aislada de suelos ácidos y con bajos niveles de P de Colombia, identificado como el HMA más efectivo en pH muy ácidos, tolerante a las fluctuaciones en la tempe-

ratura, resistente a fungicidas, además de aumentar su colonización con las aplicaciones de fertilizante, donde los demás HMA se inhibían (Howeler *et al.*, 1987).

#### Recolección de semillas

Las semillas fueron recolectadas manualmente de un individuo adulto para cada una de las especies seleccionadas, en un arbustal sucesional y un bosque nublado maduro en terrenos del IVIC. Posteriormente se colocaron en bandejas, en algodón humedecido con agua estéril, hasta la aparición de la radícula. Una vez germinadas se trasladaron a semilleros con suelo esterilizado del bosque

TABLA I  
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL SUELO  
DEL BOSQUE NUBLADO DE ALTOS DE PIPE

pH H <sub>2</sub> O	pH KCl	P resina µg·g <sup>-1</sup>	P total µg·g <sup>-1</sup>	MO %	N %	Ca <sup>++</sup>	K <sup>++</sup> cmol <sub>c</sub> ·kg <sup>-1</sup>	Mg <sup>++</sup> cmol <sub>c</sub> ·kg <sup>-1</sup>	H <sup>+</sup>
3,9	3,3	3,05	85,60	5,37	0,41	0,32	0,10	0,06	0,99

Fuente: Marulanda (1998).

nublado, hasta su trasplante definitivo en las macetas experimentales.

### Diseño Experimental

Cuando las plántulas tuvieron sus primeras hojas verdaderas, fueron trasplantadas a macetas de plástico de 4kg de capacidad, con suelo esterilizado del bosque. Cada especie con sus cuatro tratamientos fueron colocados, uno al lado del otro, en mesones dispuestos en el invernadero, siendo regadas semanalmente de manera manual con agua corriente. Este riego se realizó cuidadosamente para evitar la contaminación entre tratamientos por salpicaduras de gotas de agua de una maceta a otra.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con un arreglo factorial 2x2, con cuatro tratamientos y diez réplicas por tratamiento, para un total de cuarenta plantas por especie. Los cuatro tratamientos aplicados fueron P: fertilizado con superfosfato triple (SFT) a la dosis de 375mg·kg<sup>-1</sup>; M: inoculado con *G. manihotis*; M+P: fertilizado con SFT e inoculado con *G. manihotis*; y C: control sin tratamiento alguno.

Los tratamientos fertilizados recibieron SFT con 46% de P como P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. La dosis de fertilizante utilizado, de 375mg·kg<sup>-1</sup> de suelo, corresponde a una concentración de P de 75,3mg·kg<sup>-1</sup>. Con esta dosis se obtuvo, en estudios previos realizados con suelos de este mismo bosque y dos especies de *Clusia*, una producción de biomasa comparable a la alcanzada en plantas inoculadas con HMA (Cáceres, 2002). Las plantas de los tratamientos M y M+P recibieron al inicio

del ensayo 30g de inóculo, equivalente a un total de 2616 esporas/planta. El inóculo se colocó debajo de la raíz de cada una de las plantas al ser trasplantadas a las macetas.

Al inicio del ensayo se agregaron, a todas las plántulas, los microorganismos asociados al suelo del bosque nublado, exceptuando los HMA. Para ello se suspendió 1kg de suelo no estéril del bosque nublado, en 1l de agua destilada y posteriormente se filtró con la ayuda de una bomba de vacío a través de papel de filtro Whatman N° 1. Se suministró 40ml de este filtrado a cada una de las plantas. Cada 15 días, a cada planta se le aplicó una solución nutritiva a razón de 80ml por planta (equivalente a 100mg de N, 100mg de K y 50mg de Mg), compuesta por 3,57g·l<sup>-1</sup> de solución de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 2,39g·l<sup>-1</sup> de solución de KCl y 6,34g·l<sup>-1</sup> de solución de MgSO<sub>4</sub> (Hayman, 1974).

### Mediciones y análisis estadístico

Luego de constatadas las diversas respuestas de las siete especies de plantas frente a los diversos tratamientos, en un lapso que varió dependiendo de la especie entre 70 y 203 días, se cosecharon las plantas para determinar el peso seco. Para obtener el peso seco se separaron cuidadosamente las hojas, tallos y raíces de cinco plántulas por

tratamiento y se secaron en una estufa a 60°C por 72h, hasta peso constante. Asimismo, para el momento de la cosecha se tomó nota de la presencia de los cotiledones (Tabla II).

Las raíces y raicillas recolectadas se lavaron cuidadosamente para remover el suelo y

TABLA II  
TIEMPO DE PERMANENCIA EN  
EL INVERNADERO Y PRESENCIA/AUSENCIA  
DE COTILEDONES AL MOMENTO DE  
LA COSECHA DE LAS SIETE  
ESPECIES ARBÓREAS

Especies	Tiempo (días)	Cotiledones
<i>O. verbesinoides</i>	70	Ausentes
<i>H. americanus</i>	74	Ausentes
<i>V. ferruginea</i>	104	Presentes
<i>P. fendleri</i>	103	Presentes
<i>H. moritziana</i>	113	Presentes
<i>R. grandis</i>	203	Presentes
<i>G. olfersiana</i>	103	Presentes

se tiñeron según la metodología de tinción de Phillips y Hayman (1970). Luego de teñidas las raíces, se cuantificó el porcentaje de colonización micorrizica por el método de McGonigle *et al.* (1990).

Para la obtención del diámetro y longitud radical total (LRT) se tomó una alícuota del sistema radical recién cosechado, se determinó su peso fresco y se analizó a través del software WINRHIZO 2002a de Regent Instruments Inc. El porcentaje de pelos radicales (PR) se cuantificó en las láminas utilizadas para determinar el porcentaje de micorrización en las plantas del tratamiento M, expresándose como porcentaje de intersecciones con pelos radicales.

Para el análisis de P se procedió a la digestión total de muestras de 0,25g de semillas, hojas, tallos y raíces con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a 360°C durante 6h. En la solución obtenida, se determinó la concentración de P a través de un autoanalyzer Technicon II. Para el caso específico de las semillas, las determinaciones se hicieron con el número de semillas equivalente a un peso seco de

0,25g y se realizaron tres réplicas. La eficiencia de utilización de fósforo (PUE por sus siglas en inglés) fue estimada, en gr<sup>2</sup>/mg, como la cantidad de materia seca producida por unidad de concentración de P en tejido vegetal (Manjunath y Habte, 1991).

Para calcular la relación vástago/raíz (V/R), se dividió la suma del peso seco de tallos más hojas entre el peso seco de las raíces para cada una de las plantas de los cuatro tratamientos. La longitud radical micorrizada (LRM), se obtuvo al multiplicar la LRT de cada una de las plantas pertenecientes a los tratamientos micorrizados (M y M+P) por el porcentaje de colonización respectivo. La respuesta micorrizica (RM), se calculó según Plenchette *et al.* (1983) como

$$RM = \frac{Ps (+M) - Ps (-M)}{Ps (+M)}$$

donde Ps (+M): peso seco total de las plantas inoculadas con HMA y Ps (-M): peso seco total de las plantas no inoculadas

Se realizó un análisis no paramétrico de la varianza Kruskal Wallis, con un nivel de significancia de 5% y un análisis de correlación por rangos de Spearman, donde se agrupó a las especies de acuerdo a sus historias de vida (pioneras, tempranas y tardías). Asimismo, se analizó los resultados mediante un análisis de componentes principales usando el software STATISTICA y utilizando las siguientes variables: etapa sucesional, porcentaje de micorrización, porcentaje de arbusculos, relación vástago/raíz, longitud radical total, eficiencia de utilización de P, contenido de P en hoja, peso semilla, porcentaje de pelos radicales, longitud radical micorrizada y RM.

### Resultados

El peso de una semilla, así como la cantidad de semillas presentes en 0,25g (peso utili-

TABLA III  
NÚMERO DE SEMILLAS Y PESO DE UNA SEMILLA  
PARA CADA ESPECIE ESTUDIADA

Especies	Cantidad de semillas en 0,25g	Peso de una semilla (g)
<i>O. verbesinoides</i>	158	0,003
<i>H. americanus</i>	218	0,001
<i>V. ferruginea</i>	19	0,001
<i>P. fendleri</i>	10	0,028
<i>H. moritziana</i>	9	0,033
<i>R. grandis</i>	5	0,054
<i>G. olfersiana</i>	5	0,058

zado para el análisis de P) varió de especie a especie, desde las más pequeñas pertenecientes a las pioneras hasta las más grandes pertenecientes a las especies tardías (Tabla III). Con respecto al porcentaje de pelos radicales (%PR) existen diferencias estadísticas entre *G. olfersiana* y las especies *R. grandis* y *H. moritziana*, estas últimas con menor %PR, mientras que las restantes especies presentaron valores intermedios (Tabla IV).

TABLA IV  
PORCENTAJE DE PELOS RADICALES (PR) PARA LAS SIETE ESPECIES

Especie	% PR
<i>O. verbesinoides</i>	58,4 cd (1,7)
<i>H. americanus</i>	24,4 bcd (7,4)
<i>V. ferruginea</i>	4,6 ab (4,0)
<i>P. fendleri</i>	9,6 abc (1,5)
<i>H. moritziana</i>	0,8 a (0,8)
<i>R. grandis</i>	3,4 a (4,9)
<i>G. olfersiana</i>	79,6 d (1,5)

Los valores dentro de una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo al Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Desviaciones estándar entre paréntesis.

TABLA V  
PORCENTAJE DE MICORRIZACIÓN Y PORCENTAJE DE ARBÚSCULOS PARA PLÁNTULAS DE LAS SIETE ESPECIES PERTENECIENTES AL TRATAMIENTO M

Especie	% Micorrización	% Arbúsculos
<i>O. verbesinoides</i>	96,0 c (0,0)	89,0 c (4,0)
<i>H. americanus</i>	85,0 bc (10,0)	70,0 bc (16,0)
<i>V. ferruginea</i>	56,0 a (10,0)	0,0 a (0,0)
<i>P. fendleri</i>	69,0 ab (10,0)	50,0 ab (15,0)
<i>H. moritziana</i>	73,0 ab (20,0)	42,0 ab (28,0)
<i>R. grandis</i>	67,0 ab (20,0)	56,0 b (21,0)

Los valores dentro de una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo al Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Desviaciones estándar entre paréntesis.

En referencia al porcentaje de colonización micorrízica (%M), se constató que los tratamientos C y P se mantuvieron libres de HMA hasta el final del experimento. Existen diferencias estadísticamente significativas entre *O. verbesinoides* y *V. ferruginea* con el menor porcentaje, mientras las demás especies exhiben valores intermedios. El porcentaje de arbúsculos (%A) diferencia a las especies *V. ferruginea* de *R. grandis* y de *O. verbesinoides*, esta última con el mayor porcentaje, y las demás especies conforman grupos intermedios. *G. olfersiana* se excluyó del análisis ya que no formó micorrizas arbusculares durante el experimento (Tabla V). La concentración de P en los tejidos disminuyó de las especies pioneras a las especies tardías. En la Figura 1 se aprecian los valores de PUE para las espe-

cies estudiadas. Salvo *V. ferruginea* y *G. olfersiana*, las demás especies son más eficientes utilizando el P cuando están micorrizadas (tratamiento M+P).

En líneas generales se observa un orden decreciente de la RM, siendo significativamente más alta para la especie pionera *O. verbesinoides*, en comparación al grupo de especies *V. ferruginea*, *H. moritziana* y *R. grandis*, mientras que *H. americanus* y *P. fendleri* se ubicaron en niveles intermedios (Tabla VI). Destaca el caso de la especie tardía *R. grandis*, la cual exhibe un valor de RM negativo.

Los resultados del análisis de correlación ponen en evidencia que la RM correlacionó con todas las variables, destacándose la correlación negativa con las variables etapa sucesional (ES) y peso de la semilla (Sem), así como la correlación positiva con las variables contenido de P en hoja (P hoja) y PR (Tabla VII).

En la representación gráfica del análisis de componentes principales (ACP; Figura 2) se observa que un 40,31% de la varianza para las siete especies estudiadas es explicada por el Factor 1, y al acumular este porcentaje con la explicada por el Factor 2 se alcanza una varianza de 65,42%, considerada aceptable para la naturaleza de los datos. Asimismo, se aprecia la conformación de tres grupos, el primero formado por la especie pionera *O. verbesinoides* (O.v.), que se separa considerablemente del resto, luego el grupo conformado por *P. fendleri* (P.f.), *H. americanus* (H.a.), *V. ferruginea* (V.f.) y *H. moritziana* (H.m.),

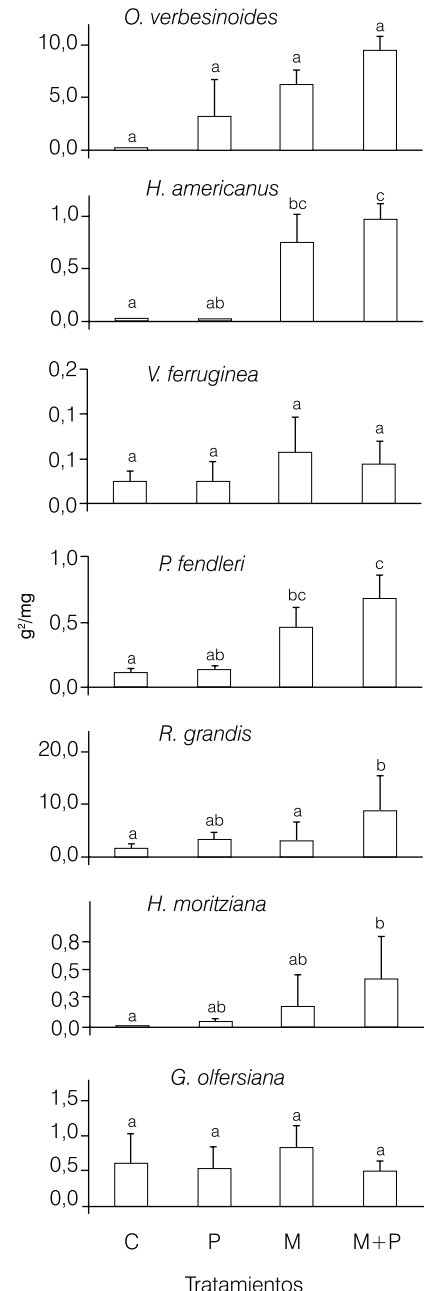


Figura 1. Eficiencia de utilización de P (PUE) para las siete especies. Letras diferentes indican diferencias significativas. La línea vertical en cada barra indica la desviación estándar.

y por último las especies tardías *R. grandis* (R.g.) y *G. olfersiana* (G.o.).

## Discusión

En este trabajo se observó que a pesar de que no existe una especificidad taxonómica estricta entre el HMA y su planta hospedera, sí existe compatibilidad funcional (Ravnkov y Jakobsen, 1995), ex-

presada en las diferentes respuestas de las seis especies al HMA *G. manihotis*. Todas las especies estudiadas aquí fueron capaces de formar micorrizas con una misma especie de HMA, salvo el caso de *G. olfersiana*, que formó ectomicorrizas.

Las respuestas expresadas en peso seco total ante la inoculación variaron considerablemente, desde una respuesta micorrizica del 100%, como las exhibidas por las especies pioneras *O. verbesinoides* y *H. americanus*, hasta una levísima respuesta como la mostrada por la especie tardía *R. grandis*. Estos

TABLA VI  
RESPUESTA MICORRÍZICA (RM),  
CALCULADA PARA SEIS ESPECIES

Especie	RM*
<i>O. verbesinoides</i>	1,0 c (0,0)
<i>H. americanus</i>	1,0 bc (0,0)
<i>V. ferruginea</i>	0,7 a (0,2)
<i>P. fendleri</i>	0,9 ab (0,0)
<i>H. moritziana</i>	0,6 a (0,5)
<i>R. grandis</i>	-0,1 a (1,21)

\* Según Plenchette *et al.* (1983). Los valores dentro de una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo al test Kruskal-Wallis (P<0,05). Desviaciones estándar entre paréntesis.

resultados apoyan lo expuesto por Smith y Read (1997), quienes señalaron que la producción de biomasa y su in-

cremento en las hospederas es quizás uno de los atributos de los HMA de mayor relevancia ecológica.

Los resultados obtenidos en los tratamientos micorrizados mostraron una significativa variabilidad dentro de una misma especie y un mismo tratamiento, lo cual concuerda con lo expuesto por Koide y Dickie (2002), quienes afirmaron que los HMA pueden incrementar la desigualdad en tamaño y reproducción entre las plantas de una misma población exagerando sus atributos genéticos, lo que resultaría en individuos

Altos porcentajes de micorrización generalmente se correlacionan con el activo crecimiento de sus hospederas (Smith y Read, 1997). La condición micorrizica de las especies pioneras fue evidente por los altos valores de colonización (%MA), los que decrecieron en las tempranas y más aún en la especie tardía. Se obtuvo una correlación negativa y significativa entre el porcentaje de colonización micorrizica (%M) y de arbusculos (%A) y los estadios sucesionales, lo que corrobora estadísticamente la tendencia de las tardías a tener una menor colonización micorrizica. Los arbusculos son los principales sitios de intercambio de nutrientes entre el HMA y su planta hospedera, demostrándose que su desarrollo está controlado por la demanda de nutrientes del hospedero (Koide y Li, 1990). En este estudio, se observó que a excepción de *V. ferruginea*, todas las demás especies desarrollaron arbusculos, siendo éstos más abundantes en las pioneras. En las especies estudiadas en este trabajo, la adición del SFT no disminuyó significativamente la colonización (%MA), lo cual concuerda con lo expuesto por Howeler *et al.* (1987), quienes reportaron tolerancia de *G. manihotis* a la fertilización en suelos ácidos de Colombia.

Los HMA disminuyen la biomasa seca de las raíces de sus hospederas, ya que éstas no necesitan invertir en raíces para explorar el suelo, porque las hifas del hongo las reemplazan (Zhu *et al.*, 2001). Los resultados del presente trabajo sugieren que la MA podría sustituir eficientemente a las raíces en la absorción de nutrientes; además de que pueden ser indicadores de la efectividad del HMA en las especies estudiadas.

Según Baylis (1975) las plantas producen tres tipos de raíces: magnolioides (gruesas, sin pelos radicales), intermedias, y graminoides (finas y con abundantes pelos radicales). Para este autor raíces

TABLA VII  
CORRELACIÓN POR RANGOS DE SPEARMAN. TRATAMIENTO M PARA PLANTAS DE LAS SEIS ESPECIES

	ES	% M	% A	V/R	LT	PUE	P hoja	Sem	PR	LRM	RM
ES	1,00	-0,70	-0,64	-0,33	-0,65	-0,32	-0,82	0,34	-0,72	-0,71	-0,86
% M	-0,70	1,00	0,93	0,25	0,68	0,57	0,79	-0,13	0,60	0,76	0,74
% A	-0,64	0,93	1,00	0,18	0,78	0,75	0,84	0,02	0,63	0,85	0,72
V/R	-0,33	0,25	0,18	1,00	0,31	0,09	0,42	-0,68	0,65	0,32	0,51
LT	-0,65	0,68	0,78	0,31	1,00	0,75	0,91	-0,09	0,78	0,98	0,77
PUE	-0,32	0,57	0,75	0,09	0,75	1,00	0,70	0,25	0,51	0,78	0,49
P hoja	-0,82	0,79	0,84	0,42	0,91	0,70	1,00	-0,23	0,83	0,95	0,91
Sem	0,34	-0,13	0,02	-0,68	-0,09	0,25	-0,23	1,00	-0,51	-0,10	-0,46
PR	-0,72	0,60	0,63	0,65	0,78	0,51	0,83	-0,51	1,00	0,80	0,78
LRM	-0,71	0,76	0,85	0,32	0,98	0,78	0,95	-0,10	0,80	1,00	0,80
RM	-0,86	0,74	0,72	0,51	0,77	0,49	0,91	-0,46	0,78	0,80	1,00

ES: etapa sucesional, %M: porcentaje de micorrización, %A: porcentaje de arbusculos, V/R: relación vástago/raíz, LT: longitud radical total, PUE: eficiencia de utilización de P, P hoja: contenido de P en hoja, Sem: peso semilla, PR: porcentaje de pelos radicales, LRM: longitud radical micorrizada, RM: respuesta micorrizica. Las correlaciones son significativas al p<0,05.

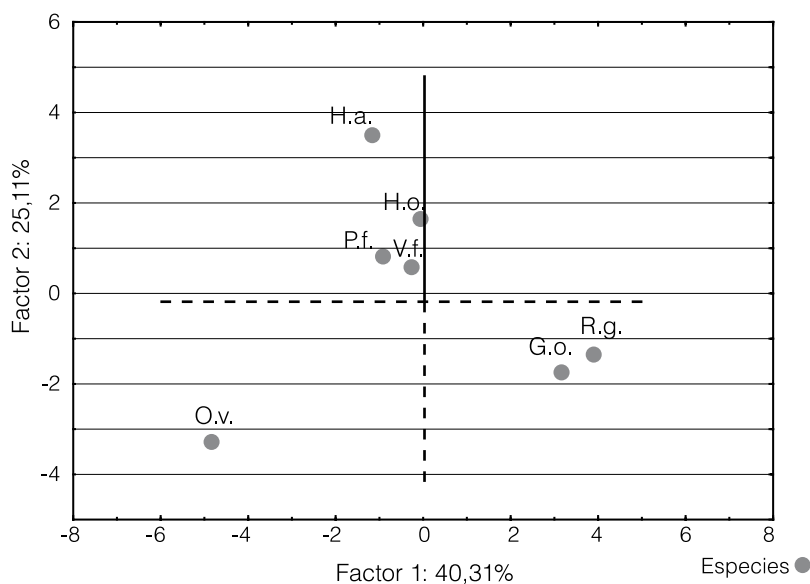


Figura 2 Análisis de componentes principales para las siete especies.

más robustos en la generación siguiente y en la selección de los más aptos para reproducirse y perpetuarse. Con la excepción de *O. verbesinoides* y *R. grandis*, cuya asociación con los HMA se reporta por primera vez en este trabajo, nuestros resultados coinciden con lo reportado para los géneros *Helicarpus* (Guadarrama *et al.*, 2004), *Vismia*, *Hyeronima* y *Palicourea* (Kottke y Haug, 2004).

gruesas con pocos o sin pelos radicales, indican una alta RM, teoría apoyada por otros estudios (St. John, 1980; Schweiger *et al.*, 1995; Brundrett, 2002; Montilla *et al.*, 2002; Jakobsen *et al.*, 2005). Por el contrario, para otros autores (Guisso *et al.*, 1998), quienes trabajaron con árboles frutales, los pelos radicales evidenciaron una correlación positiva con la RM.

En líneas generales, se obtuvo una relación significativa y positiva entre la RM y los pelos radicales, apoyando la apreciación de Guisso *et al.* (1998) e indicando una vez más una excepción a la hipótesis de Baylis (1975).

Janos (1980a, b) sugirió que existe una tendencia de las plantas micotróficas obligadas a tener semillas grandes, lo que permite la supervivencia por un tiempo suficiente para asegurar el encuentro con el inóculo, además de permitir mayor capacidad fotosintética para soportar el desarrollo inicial con el HMA. Adicionalmente, este autor planteó que en estados tempranos de la sucesión, las especies pioneras exhiben semillas pequeñas, con buena dispersión y rápida colonización, lo que haría más probable que encontrasen a su paso alta disponibilidad de minerales, no necesitando grandes reservas en sus semillas para soportar la preinfección inicial con HMA.

Por otra parte, Allsopp y Stock (1995), contrariamente a lo expuesto por Janos (1980a, b), encontraron que las respuestas de las especies frente a los HMA, en suelos bajos en P, decrecían con el tamaño de las semillas y los contenidos de P. De igual modo, Siqueira *et al.* (1998) detectaron que las especies del bosque maduro tienen semillas grandes capaces de sostener el crecimiento inicial de las plántulas, independientemente de los HMA, y que por el contrario las especies pioneras poseen semillas pequeñas, exhibiendo alta colonización y crecimiento. Adicionalmente, se demostró que

plántulas de especies pertenecientes a un mismo estado sucesional pueden exhibir diferentes respuestas frente a los HMA dependiendo del tamaño de sus semillas; de este modo, especies con semillas más grandes y con más contenido de fósforo tienden a responder menos a los HMA (Grandcourt *et al.*, 2004).

Los resultados obtenidos en seis especies indican que su respuesta micorrízica aumenta desde las especies pioneras, pasando por las tempranas hasta llegar a la de menos condición micotrófica que es la tardía *R. grandis*. Las especies pioneras de este estudio, *O. verbesinoides* y *H. americanus*, poseen semillas pequeñas, con bajos contenidos y concentraciones de nutrientes; sin embargo, exhiben una alta respuesta micotrófica en comparación a la especie tardía con semillas grandes y con mayor contenido de nutrientes, *R. grandis*. Los resultados de este trabajo corroboran los resultados obtenidos con respecto a la RM, por Siqueira *et al.* (1998), Zangaro *et al.* (2000, 2003), y Pascualini *et al.* (2007).

De las siete especies de este estudio, solo las dos pioneras *O. verbesinoides* y *H. americanus* no conservaban los cotiledones para el momento de la cosecha, al final del ensayo de invernadero; las cuatro especies restantes aún los conservaban. Si se relaciona lo anterior, con el hecho de que los mayores valores de colonización coincidentalmente son de estas dos especies, todo parece indicar que, para el caso particular de estas seis especies, se evidencia una correlación negativa entre la presencia de los cotiledones y la colonización micorrízica, lo que corrobora lo reportado por Cuenca *et al.* (1990).

En líneas generales, en este trabajo se evidenció una mayor absorción del P en plantas micorrizadas en comparación con las plantas control; el P en las hojas resultó estar correlacionado positivamente con la LRM, porcentaje de

pelos radicales y la RM (0,96; 0,83 y 0,91). Sin embargo, en relación a los estadios sucesionales, las correlaciones con el P foliar fue de -0,82, indicando que las plantas con menor RM también tienen menores contenidos de P en las hojas.

De acuerdo al RM, las especies pioneras *O. verbesinoides* y *H. americanus* y las tempranas *P. fendleri*, *H. moritziana* y *V. ferruginea* son especies que responden muy bien a los HMA, ya que el crecimiento de las plantas no micorrizadas fue escaso en comparación a las micorrizadas y, en promedio, los HMA mejoraron significativamente el estado nutricional de las plantas. En el caso de la especie tardía *R. grandis*, su RM fue notablemente bajo, indicando una baja dependencia a los HMA. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Siqueira *et al.* (1998), Zangaro *et al.* (2000, 2003, 2007), y Pascualini *et al.* (2007).

#### Resultados para la especie *G. olfersiana*

La familia Nyctaginaceae es considerada una familia no micorrízica con aisladas especies que forman ectomicorizas (Brundrett, 2002). La especie *G. olfersiana*, perteneciente a esta familia, a pesar de que fue inoculada de igual manera que las otras seis especies, no desarrolló colonización micorrízica con el HMA *G. manihotis*. No obstante, se constató que fue colonizada por hifas intracelulares ectomicorrízicas. Estos resultados, coinciden con los obtenidos para el género *Guapira* por Haug *et al.* (2005) y por Kottke *et al.* (2008) en un bosque de montaña de Ecuador.

#### Conclusiones

La respuesta micorrízica (RM) disminuyó conforme se avanza en las etapas sucesionales; es decir, las especies pioneras demostraron una ma-

yor respuesta al HMA *G. manihotis*, seguido de las especies tempranas y por último las tardías, coincidiendo con los resultados de otros autores en el trópico y en contradicción a lo planteado por Janos (1980a, b). Asimismo, los resultados obtenidos permiten distinguir tres grupos de especies: un primer grupo constituido por las especies pioneras, con altas respuestas a los HMA y dependientes de ellos debido a sus altos requerimientos de P; un grupo intermedio constituido por las tempranas, con respuestas variables y medias a los HMA; y por último un tercer grupo, el de las especies tardías, con bajas respuestas y dependencia a los HMA, debido a sus bajos requerimientos de P. Además, se concluye que la RM de las especies estudiadas es independiente del contenido de nutrientes en sus semillas y es inversamente proporcional al tamaño de las mismas. Asimismo, la RM aumenta con el porcentaje de pelos radicales, lo que contradice lo postulado por Baylis (1975) sobre la menor RM de especies con sistemas radiculares ramificados y abundantes pelos radicales.

Mención aparte merece la especie tardía *Guapira olfersiana*, la cual fue colonizada por un hongo ectomicorrízico. La evidencia mostrada coincide con los hallazgos de otros autores en bosques nublados con características similares al bosque objeto de este estudio, lo cual deja planteada la interrogante de ¿qué tan importante es la simbiosis ectomicorrízica en los bosques nublados tropicales?

Finalmente, vista la complejidad de las respuestas obtenidas por las especies aquí estudiadas frente a un único HMA y reconociendo el potencial que ofrecen las especies pioneras y tempranas, dados los resultados de este trabajo, surge la interrogante de ¿cuáles serán las mejores combinaciones simbiote-planta hospedera para su aprovechamiento seguro en programas de recuperación de áreas

degradadas? Inmediatamente surge una única respuesta: las combinaciones HMA-planta hospedera producto de la investigación en las propias comunidades a ser recuperadas.

## REFERENCIAS

- Allsopp N, Stock WD (1995) Relationship between seed reserves, seedling growth and mycorrhizal response in 14 related shrubs (Rosidae) from a low-nutrient environment. *Funct. Ecol.* 9: 248-254.
- Aristeguieta L (1973) *Familias y Géneros de los Árboles de Venezuela*. Instituto Botánico - Ministerio de Agricultura y Cria. Caracas, Venezuela. 845 pp.
- Aristeguieta L (2003) *Estudio Dendrológico de la Flora de Venezuela*. Vol. 38. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. Caracas, Venezuela. 572 pp.
- Baylis G (1975) The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy root systems derived from it. En Sanders F, Mosse B, Tinker P (Eds.) *Endomycorrhizas*. Academic Press. Londres, RU. pp. 373-389.
- Brady NC, Weil RR (2002) *The Nature and Properties of Soils*. 13ª ed. Prentice-Hall. 960 pp.
- Brundrett MC (2002) Coevolution of roots and mycorrhizas of land plant. *New Phytol.* 154: 275-304.
- Cáceres A (2002) *Algunos Aspectos Funcionales de la Simbiosis con Micorrizas Arbusculares (MA) de Dos Especies Arbóreas del Género Clusia en el Bosque Nublado de Altos de Pipe*. Tesis. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 172 pp.
- Cuenca G, Herrera R, Meneses E (1990) Effect of VA mycorrhiza on the growth of cocoa seedlings under nursery conditions in Venezuela. *Plant Soil* 126: 71-78.
- Grandcourt A, Epron D, Montpied P, Louisanna E, Béreau M, Garbaye J, Guehl JM (2004) Contrasting responses to mycorrhizal inoculation and phosphorus availability in seedlings of two tropical rainforest tree species. *New Phytol.* 161: 865-875.
- Guadarrama P, Álvarez-Sánchez J, Estrada-Torres A (2004) Phosphorus dependence in seedlings of a tropical pioneer tree: the role of arbuscular mycorrhizae. *J. Plant Nutr.* 27: 1-16.
- Guisso T, Bâ AM, Quadba JM, Guinko S, Duponnois R (1998) Responses of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth, *Tamarindus indica* L. and *Zizyphus Mauritania* Lam to arbuscular mycorrhizal fungi in a phosphorus deficient sandy soil. *Biol. Fert. Soils* 26: 194-198.
- Hart MM, Klironomos JN (2002) Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem functioning. En van der Heijden MGA, Sanders IR (Eds.) *Mycorrhizal Ecology*. Ecological Studies 157. Springer. Berlin, Alemania. pp 225-242.
- Haug I, Weib M, Homeier J, Oberwinkler F, Kottke I (2005) Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytol.* 165: 923-936.
- Hayman DS (1974) Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytol.* 73: 71-80.
- Howeler RH, Sieverding E, Saif S (1987) Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant Soil* 100: 249-283.
- Jakobsen I, Chen B, Munkvold L, Lundsgaard T, Zhu Y (2005) Contrasting phosphate acquisition of mycorrhizal fungi with that of root hairs using the root hairless barley mutant. *Plant Cell Env.* 28: 928-938.
- Janos DP (1980a) Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rainforest plant growth. *Ecology* 61: 151-162.
- Janos DP (1980b) Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica Suppl.* 12: 56-64.
- Janos DP (1988) Mycorrhiza applications in tropical forestry: Are temperate-zone approaches appropriate? En Ng FSP (Ed.) *Trees and Mycorrhiza*. Proceedings of the Asian Seminar, 13-17 April 1987. Malaysia. pp 133-188.
- Janos DP (1996) Mycorrhizas, succession and the rehabilitation of deforested lands in the humid tropics. En Frankland JC, Magan N, Gadd GM (Eds.) *Fungi and Environmental Change*. Cambridge University Press. Nueva York, EEUU. pp 129-162.
- Johnson N, Wilson G, Bowker M, Wilson J, Miller M (2010) Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 2093-2098.
- Karlen DL, Andrews SS, Doran JW (2002). Soil quality: Current concepts and applications. *Adv. Agron.* 74: 1-40.
- Koide RT, Dickie IA (2002) Effects of mycorrhizal fungi on plants populations. *Plant Soil* 244: 307-317.
- Koide R, Li M (1990) On host regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 114: 59-65.
- Kottke I, Haug I (2004) The significance of mycorrhizal diversity of trees in the tropical mountain forest of southern Ecuador. *Lyonia J. Ecol. Applic.* 7: 50-56.
- Kottke I, Beck A, Haug I, Setaro S, Suárez P (2008) Mycorrhizal fungi and plant diversity in the tropical mountain forest of southern Ecuador. *Biodiv. Ecol. Ser.* 2: 67-78.
- Manjunath A, Habte M (1991) Relationship between mycorrhizal dependency and rate variables associated with P uptake, utilization and growth. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 22: 1423-1437.
- Marulanda O (1998) *Efectos de los Cambios Florísticos y Estructurales en la Dinámica de Raíces Finas y el Flujo de CO<sub>2</sub> del Suelo en un Mosaico Sucesional de la Cordillera de la Costa, Altos de Pipe*. Tesis. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela. 178 pp.
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL, Swan JA (1990) A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- Misayaka S, Habte M (2001) Plant mechanisms and mycorrhizal symbioses to increase phosphorus uptake efficiency. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 32: 1101-1147.
- Montilla M, Herrera-Peraza R, Monasterio M (2002) Influencia de los períodos de descanso sobre la distribución vertical de raíces, micorrizas arbusculares y pelos radicales en páramos andinos venezolanos. *Ecotrópicos* 15: 85-98.
- Pasqualini D, Uhlmann A, Stürmer S (2007) Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil. *Forest Ecol. Manag.* 245: 148-155.
- Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Plenchette C, Fortin JA, Furlan V (1983) Growth response of several plant species to mycorrhiza under field conditions. *Plant Soil* 70: 191-209.
- Ravnskov S, Jakobsen I (1995) Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant. *New Phytol.* 129: 611-618.
- Sanders IR (2002) Ecology and Evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *Am. Naturalist* 160: S128-S141.
- Schweiger PF, Robson AD, Barrow NJ (1995) Root hair length determines beneficial effect of a *Glomus* species on shoot growth of some pasture species. *New Phytol.* 131: 247-254.
- Siqueira JO, Carbone MA, Curi N, Da Silva SC, Davide AC (1998) Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in Southeastern Brazil. *Forest Ecol. Manag.* 107: 241-252.
- Siqueira JO, Saggin-Junior OJ (2001) Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. *Mycorrhiza* 11: 245-255.
- Smith SE, Read D (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*. 2ª ed. Academic Express. San Diego, CA, EEUU. 605 pp.
- St. John TV (1980) Root size, root hairs and mycorrhizal infection: a reexamination of Baylis's hypothesis with tropical trees. *New Phytol.* 84: 483-487.
- Thingstrup I, Rubæk G, Sibbesen E, Jakobsen I (1998) Flax (*Linum usitatissimum* L) depends on arbuscular mycorrhizal fungi for growth and P uptake at intermediate but not high soil P levels in the field. *Plant Soil* 203: 37-46.
- Zangaro W, Bononi VLR, Trufen SB (2000) Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *J. Trop. Ecol.* 16: 603-622.
- Zangaro W, Nisizaki SMA, Domingos JCB, Nakano EM (2003) Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species in South Brazil. *J. Trop. Ecol.* 19: 315-324.
- Zangaro W, Nishidate F, Vandresen J, Andrade G, Nogueira MA (2007) Root mycorrhizal colonization and plant responsiveness are related to root plasticity, soil fertility and successional status of native woody species in southern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 23: 53-62.
- Zhu YG, Cavagnaro TR, Smith SE, Dickson S (2001) Backseat driving? Most plants depend on arbuscular mycorrhizal fungi to access phosphate beyond the rhizosphere depletion zone. *Trends Plant Sci.* 6: 194-195.