

Evaluación de bioinoculantes comerciales a base de hongos micorrizógenos arbusculares

Lauriano-Barajas Jorge, Vega-Frutis Rocío, Hanan-Alipi Ana

Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Agricultura, Programa Académico de Biología, Nayarit, México. rocio.vega@uan.edu.mx

Resumen: La producción agrícola basada en el uso de agroquímicos ha llevado a la contaminación del suelo, agua, y disminución de la biodiversidad. El uso de bioinoculantes a base de microorganismos es una alternativa para la agricultura sostenible. En este estudio, la biomasa y porcentaje de colonización de plantas de sorgo tratadas con bioinoculantes comerciales a base de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) fueron evaluados. La biomasa difirió significativamente entre los tratamientos evaluados y no se observó colonización intrarradical. Esto se debe, probablemente, a una baja cantidad o viabilidad de esporas en los bioinoculantes comerciales y la concentración de nutrientes en el suelo del experimento. Por lo tanto, para mejorar la percepción de los usuarios respecto a los beneficios de los bioinoculantes es necesario continuar las investigaciones científicas sobre el tema. **Palabras clave:** agricultura sostenible, esporas, nutrientes minerales.

Abstract: Agriculture using agrochemicals has produced soil and water pollution, and a decrease in biodiversity. The use of bioinoculants based on

minerales, estos hongos son esenciales para la sostenibilidad de los agroecosistemas (Álvarez-Sánchez et al 2019). Los estudios de los HMA se han incrementado debido a que: 1) se encuentran distribuidos en casi todos los agroecosistemas, 2) las prácticas agrícolas convencionales tienen un efecto negativo sobre estos hongos, y 3) los propágulos fúngicos pueden ser usados como bioinoculantes (Rillig et al 2016). En México, el estudio de los HMA como bioinoculantes es relativamente reciente y no existe un control de calidad sobre su origen, método de propagación, almacenamiento y venta. Tampoco se consideran las consecuencias de transportar hongos de un ecosistema a otro (especies exóticas). México concentra casi la mitad de las especies de HMA descritas a nivel mundial (48%, Varela et al. 2019). Sin embargo, su aplicación ha sido poco explorada.

Objetivos. Comparar la infectividad (capacidad de los propágulos fúngicos para colonizar las raíces) y efectividad (efectos positivos que obtienen las plantas inoculadas) de diferentes bioinoculantes comerciales a base de HMA en plantas de sorgo (*Sorghum bicolor* L., Poaceae).

Materiales y Métodos. Se usaron dos bioinoculantes comerciales a base de esporas de HMA: 1) presentación líquida con dos frascos. Un frasco con una bacteria

Tabla 1. Análisis químicos de los bioinoculantes comerciales a base de HMA y del suelo utilizado en el experimento. N = nitrógeno, P = fósforo, Ca = calcio, Mg = magnesio, Na = sodio, pH = potencial de hidrógeno, K = potasio, MO = materia orgánica.

Bioinoculante/suelo	Parámetros químicos							
	N	P	Ca	Mg	Na	pH	K	MO %
Líquido (mgL ⁻¹)	30.1	8.6	134	25	49	7.2	777	-
Mezcla (mgL ⁻¹)	33.6	5.1	415	65	243	7.7	561	-
Sólido (gKg ⁻¹)	2.3	0.6	98.6	14.2	0.7	7.8	2.1	6
Suelo (Kg ⁻¹)	442	432.1	29.53	20.97	-	-	10.11	20.3
	(mgK ⁻¹)	(mgK ⁻¹)	(CmolK ⁻¹)	(CmolK ⁻¹)			(CmolK ⁻¹)	

microorganisms is an alternative for sustainable agriculture. In this study, plant biomass and arbuscular mycorrhizal (AM) fungal colonization in sorghum plants were evaluated using commercial bioinoculants. There were significant differences between the treatments evaluated explaining the biomass, but there was no mycorrhizal colonization. This is likely because of the low number or viability of spores in the commercial bioinoculants and the concentration of mineral nutrients in the experimental soil. Therefore, to increase the awareness among the potential end-users of the benefits of AM inocula, it is necessary to continue scientific research on the subject. **Keywords:** sustainable agriculture, spores, mineral nutrients.

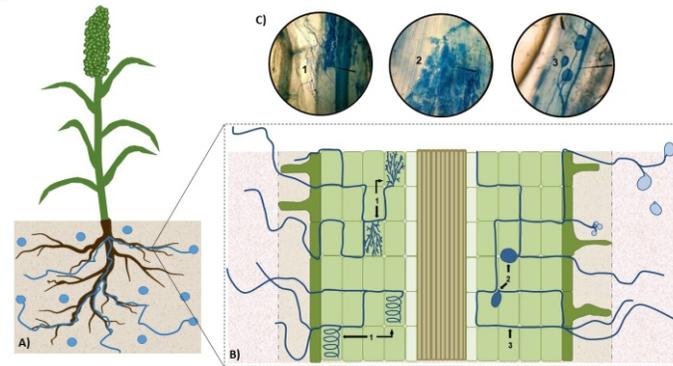
Area 2: Biología y Química.

Introducción: En los últimos años han aumentado los estudios enfocados al desarrollo de cultivos agrícolas bajo sistemas sostenibles, con la finalidad de revertir la contaminación del suelo, agua, y aumentar la biodiversidad y productividad agrícola (Naher et al 2013, Berruti et al 2016, Álvarez-Sánchez et al 2019). Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA, subphylum Glomeromycotina) son un linaje antiguo que forman relaciones benéficas con las raíces de casi el 80% de las especies de plantas terrestres, y necesitan de estas durante todo su ciclo de vida (Smith y Read 2008). Los hongos transfieren agua y nutrientes minerales a las plantas, a cambio obtienen los carbohidratos esenciales para su desarrollo. Las plantas obtienen beneficios en términos de crecimiento, reproducción, y resistencia al estrés biótico y abiótico (Smith y Read 2008). Además de incrementar la calidad del suelo, la retención de agua y la redistribución de

fijadora de nitrógeno, *Azospirillum brasilense* (1x10¹¹) y, el otro frasco con especies de HMA pertenecientes al género *Glomus* spp. (6x10³) y hongos pertenecientes al género *Trichoderma* spp. (7x10⁹). Ambos frascos debían ser mezclados. 2) presentación sólida que contenía 5,500 esporas por kg e incluía cinco especies de HMA: *Glomus constrictum*, *G. tortuosum*, *G. geosporum*, *Acaulospora scrobiculata* y *Gigaspora margarita*. Previo al experimento, los bioinoculantes fueron adquiridos en una tienda local de agroquímicos.

Bajo condiciones de invernadero (20.19 °C ± 1.23) se realizó un experimento completamente al azar con cuatro niveles de inoculación: 1) líquido (solo *Glomus* spp. y *Trichoderma* spp.), 2) mezcla (*Glomus* spp., *Trichoderma* spp., y *A. brasilense*), 3) sólido (*Glomus constrictum*, *G. tortuosum*, *G. geosporum*, *Acaulospora scrobiculata* y *Gigaspora margarita*), y 4) control. 25 plantas de tamaño similar, y germinadas previamente en sustrato estéril, fueron asignadas a cada tratamiento y colocadas en macetas con suelo comercial (adquirido en un vivero local) estéril. La inoculación se realizó sobre la raíz de acuerdo a las indicaciones del fabricante: 1) líquido, se tomó 1 mL de la solución (24 esporas de *Glomus* spp. por mL), 2) mezcla 1:1, se colocó 1 mL de esta mezcla (12 esporas de *Glomus* spp. por mL), 3) sólido, se hizo una solución con 95.45 g del bioinoculante en un litro de agua, se utilizó 25 mL de la solución (~6 esporas de HMA por mL), y 4) control, plántulas sin inocular. Se tomaron 10 alícuotas de 1 mL de cada bioinoculante para observar y contar manualmente las esporas, para ello se usó un microscopio estereoscópico. En los 10 mL que se revisaron, no se observaron esporas de HMA. Se realizaron análisis químicos para el suelo y los inoculantes (Tabla 1) de acuerdo a la Norma Oficial

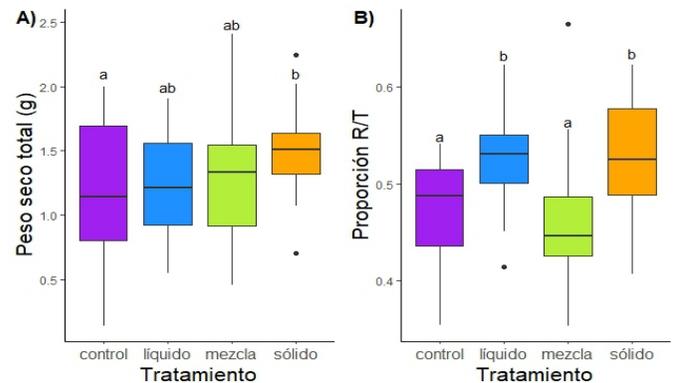
Figura 1. Esquema de las diferentes estructuras de los hongos micorrizógenos. A) propágulos fúngicos (esporas y micelio en el suelo). B) colonización dentro de la raíz mostrando: 1) arbuscúlos, estructuras de transferencia de nutrientes entre el hongo y la planta; 2) vesículas, estructuras de almacenamiento del hongo; y 3) hifas intrarradicales. C) estructuras del hongo bajo el microscopio óptico con aumento total de 400x. 1) hifas intrarradicales; 2) arbuscúlos y 3) vesículas. Esquema elaborado por Jorge Lauriano-Barajas.



Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (DOF 2000). El experimento duró 32 días, con la finalidad de que la colonización fuera producto de la infectividad de las esporas usadas y no de la recolonización por nuevos propágulos fúngicos. Durante la cosecha, se tomaron ~2 g de raíces por planta que fueron teñidas con azul de tripano (0.05%), para cuantificar el porcentaje de colonización micorrizica en un microscopio óptico. Posteriormente, la parte aérea y subterránea de la planta fueron separadas, secadas (60 °C por 3 días) y pesadas. Se calculó la proporción raíz/tallo (R/T: peso seco subterráneo/peso seco aéreo) y se obtuvo el peso seco total. Para probar si las variables de respuesta peso seco total y la proporción R/T diferían entre los niveles del tratamiento de inoculación (líquido, mezcla, sólido y control), se realizó un ANOVA de una vía, para ello se verificó la normalidad de los residuales y la homogeneidad de varianzas. Cuando hubo diferencias significativas se utilizó la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos fueron realizados en el lenguaje estadístico R (R Core Team 2016).

algunos bioinoculantes no mostraron diferencias significativas con el tratamiento sin HMA. Las posibles explicaciones y no excluyentes de nuestros resultados son: 1) la cantidad de esporas en los bioinoculantes comerciales probablemente fue baja, debido a que en las alícuotas analizadas no se observaron esporas. 2) Las esporas no eran viables, probablemente por las condiciones de propagación y almacenamiento del fabricante, lo cual se desconoce. 3) Los niveles de nutrientes minerales en el suelo comercial fueron altos. Se ha demostrado que altas concentraciones de fósforo en el suelo disminuyen la efectividad e infectividad (Smith y Read 2008). Además, los bioinoculantes podrían contener promotores de crecimiento y otros microorganismos benéficos. 4) Baja "compatibilidad" planta-hongo debido al origen y las especies de esporas que contenían los bioinoculantes. Lauriano-Barajas y Vega-Frutis (2018) observaron colonización intrarradical en plantas de maíz inoculadas con el mismo bioinoculante sólido. Por lo tanto, es necesario continuar con la evaluación de los bioinoculantes

Figura 2. A) peso seco total (g), y B) proporción raíz/tallo (g) de las plantas de sorgo. La línea horizontal muestra la mediana y los cuartiles primero (inferior) y tercero (superior), respectivamente. Las líneas verticales muestran los valores mínimo y máximo, y los puntos aislados representan valores atípicos. Diferentes letras sobre las barras, indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey P (<0.05).



Resultados y Discusión: No se observaron estructuras fúngicas pertenecientes a la colonización por HMA (Fig. 1) en ninguno de los tratamientos. Hubo diferencias significativas para el peso seco total (F_{3,95} = 2.889, P < 0.039, Fig. 2A), pero esto no se atribuye a la colonización por HMA. Las plantas creciendo en el tratamiento sólido presentaron un mayor peso seco total comparado con las plantas control, mientras que los tratamientos líquido y mezcla no mostraron diferencias significativas con los tratamientos sólido y control. La proporción R/T, también, presentó diferencias significativas (F_{3,95} = 8.747, P < 0.001, Fig. 2B). Los tratamientos con mayores valores fueron líquido y sólido, y no mostraron diferencias significativas entre ellos. Los tratamientos mezcla y control tuvieron valores menores, y tampoco difieren entre ellos. Varios estudios han mostrado efectos positivos en diferentes especies cultivadas, en términos de incremento en la adquisición de nutrientes minerales, tolerancia al estrés hídrico, resistencia a patógenos, crecimiento, etc., cuando las plantas son inoculadas con HMA comparado con plantas sin inocular (Naher et al. 2013, Berruti et al. 2016). Sin embargo, en este estudio el peso seco total y la proporción R/T de las plantas creciendo con

comerciales a base de HMA que se encuentran en el mercado, y promover una norma enfocada a verificar la calidad y origen de los bioinoculantes que se venden a los agricultores. En conclusión 1) Hubo diferencias significativas en la biomasa de las plantas de sorgo con los diferentes tratamientos, 2) no se observó colonización intrarradical. Es necesario conocer el estado en el que se encuentran los bioinoculantes comerciales. Estudios como el presente se podrán tomar como referencia para su regulación.

Impacto socioeconómico: El presente estudio pone al descubierto la necesidad de implementar normas rigurosas para la producción de bioinoculantes comerciales a base de HMA, los cuales juegan un rol importante en el desempeño de las plantas cultivadas. Como lo han sugerido varias organizaciones mundiales (FAO, UNESCO, ONU, OMS), el propósito final es que los agricultores confíen en el uso y beneficio de estos productos, que a largo plazo permitirá avanzar hacia una agricultura sostenible a favor de la salud humana y del medioambiente.

Agradecimientos: Al CONACYT (proyecto 257345, RV-F y beca 25357, JL-B), y a la beca para Mujeres en la Ciencia L'oreal-UNESCO-AMC (edición 2015).

Contacto PCTI: hnlasco2008@hotmail.com