

MICORRIZACIÓN EN VID. EXPERIENCIAS EN CANARIAS

*M.C. Jaizme-Vega, N. Rodríguez y E. González
Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA),
Apdo. 60 –38200 La Laguna Tenerife, Islas Canarias.*

ANTECEDENTES

Las micorrizas arbusculares (MA) están generalmente asociadas con la mayoría de las especies cultivadas en casi todos los tipos de suelo. Como regla general incrementan el crecimiento del huésped, mediante la optimización en la toma de los nutrientes menos móviles (Harley y Smith, 1983).

En condiciones naturales, las especies e híbridos del género *Vitis* utilizadas en agricultura, tienen sus raíces colonizadas y su crecimiento es fuertemente dependiente de la presencia de micorrizas (Menge et al., 1983).

Desde el punto de vista de la aplicación de hongos MA en la agricultura, los cultivos frutales leñosos, tales como la viña tienen un especial interés, ya que la inoculación no debe ser repetida anualmente y el número de plantas por hectáreas suele ser inferior que en los cultivos herbáceos.

En los últimos años se han publicado algunos trabajos sobre el efecto de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) en plantas leñosas. La viña ha sido especial objeto de atención, ya que la relativamente alta “dependencia micorrícica” de esta especie (Hayman et al., 1976) la hace susceptible de mejoras en su desarrollo a través de la manipulación de estos simbiosomas.

Estudios en este tema (vid y hongos MA) han arrojado resultados positivos para el desarrollo de la planta, tanto si se aplica los inóculos a semillas (Schubert et al., 1988), a microplantas (Schubert et al., 1987; Schellenbaum et al., 1991; Lovato et al., 1992) o a esquejes (Waschkies et al., 1994).

Los resultados de la aplicación de MA a esta especie, hacen pensar que en nuestras condiciones introducir esta práctica en los viveros de producción vegetal puede suponer considerables mejoras con respecto a las técnicas habituales.

Como se conoce, en Canarias no existe la plaga de la filoxera. Esto supone que las plantas pueden propagarse directamente a partir de varetas procedentes de sarmientos y cultivarse sobre sus propias raíces. Esta circunstancia es altamente propicia para utilizar las micorrizas en las primeras etapas de desarrollo, incluyendo el inóculo en los sustratos de enraizamiento. En el último año el interés económico de la viña se ha visto potenciado debido al Real Decreto 1472/2000 en el que se establece la OCM de la viña, modificándose la normativa comunitaria. Dicho decreto propone la implantación de un régimen para la reestructuración y reconversión del viñedo. Estos cambios afectan a la Comunidad Canaria, dado que su sistema de conducción y arcaico manejo cultural, tienen como consecuencia una baja rentabilidad de las explotaciones vitivinícolas. Una de las soluciones previstas es la replantación del viñedo con los cultivares tradicionales existentes en las islas con muy buen potencial enológico, pero con escasas cepas de las que se pueda obtener material para propagar.

OBJETIVO

Con el fin de optimizar la multiplicación de este material vegetal, hemos diseñado un ensayo en el que valoramos, sobre tres variedades locales (Albillo, Listán negro y Uval tinto) la eficacia de dos hongos MA, *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices*, y la comparamos con las técnicas rutinarias del estaquillado de esta especie: aplicación de hormonas (ácido indolbutírico) o tratamientos desinfectantes (oxicloruro de cobre).

MATERIAL Y MÉTODOS

Planta Hospedadora

Se emplearon estacas de tres variedades de vid, (*Vitis vinifera* L.), tradicionales en nuestro archipiélago: Albillo, Uval tinto y Listán negro. Las varetas fueron seleccionadas a partir de material vegetal procedente de plantas seleccionadas por el ICIA en diferentes fincas de la comarca Tacoronte-Acentejo o pertenecientes a la colección de material vegetal del ICIA. Las varetas fueron conservadas durante 4 meses bajo condiciones controladas de 75 % HR y ± 4 °C de temperatura y presentaban un peso medio de 8,5 g y una longitud de 14,5 cm .

Enraizamiento

El sustrato utilizado consistió en una mezcla cernida a través de un tamiz con 1 cm de luz de malla y desinfectada en máquina de vapor. Estaba compuesto de suelo, turba rubia corregida TKS® 1-Instant (Sphagnum-Torf® Klasman-Deilmann GmbH, Alemania), y picón negro (ceniza volcánica); en la proporción 1:1:1, v/v . El contenido en fósforo (Olsen) de dicho sustrato era de 32 ppm. Se utilizaron multipots de polietileno negro del tipo empleado en viveros forestales. Las dimensiones eran de 45,5x27x31cm (LxAxH) y disponían de 15 alveolos con un volumen aproximado de 1,7 L cada uno.

Tratamientos

Con el propósito de comparar los efectos de los hongos MA con las técnicas rutinarias de viveros de propagación, incluimos un tratamiento con la hormona ácido indolbutírico (AIB, sal potásica Sigma®) y otro con oxiclورو de cobre al 50% Cupravit®, (Bayer) así como otros en los que combinábamos la aplicación de hongos MA y la hormona ya descrita. Los dos hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA), inoculados fueron:

- *Glomus intraradices* Schenck y Smith, aislado bajo cítricos en el IRTA, Cabrils (Barcelona), y multiplicado bajo sorgo con un 88% de colonización.
- *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe, aislado local, procedente de una finca con sistema de cultivo biológico situada en Los Realejos, Tenerife. El porcentaje de colonización para este inóculo es de un 80.7%.

Se utilizó “inóculo bruto”, compuesto por una mezcla de suelo rizosférico y raíces de sorgo (*Sorghum bicolor* var. *sudanense*) colonizadas por los hongos de la micorriza.

La aplicación de cada uno de los tratamientos descritos se realizó en el momento del enraizamiento en todos los cultivos estudiados. Para ello, y en el caso de la inoculación con hongos MA, después de rellenar a tres cuartas partes de su capacidad los alvéolos del “multipot”, se añadió 25 gramos por compartimento de cada uno de los dos hongos descritos en aquellos tratamientos que así lo exigieran. A continuación se colocó la vareta y se rellenó con sustrato.

El tratamiento con Cupravit ® se aplicó impregnando un extremo de cada vareta con el producto. Igualmente, los esquejes del tratamiento de hormona fueron sumergidos durante unos segundos en una solución de 1000 ppm de AIB. En estos dos últimos casos los esquejes fueron enterrados en alvéolos totalmente rellenos de sustrato.

Aquellos esquejes pertenecientes a tratamientos donde se combinaba la aplicación de hongos MA y hormona, se procedió primero a la adición de la hormona y en segundo lugar a la inoculación micorrízica.

Se utilizaron 30 varetas por variedad y tratamiento lo que representó un total de 630 estacas.

Manejo y fertilización

El experimento se mantuvo a lo largo de 120 días en condiciones de umbráculo.

Durante este tiempo, se dieron varios tratamientos con el fin de combatir los diferentes problemas fitosanitarios que se presentaron a lo largo del cultivo. Así se dio un tratamiento anticriptogámico (Silkaben® Snoek 5 g/L) y azufre mojable micronizable (Thiovit® microesferas, Sandoz agro, S.A.E: Barcelona) a una dosis de 2g/l para combatir el ácaro blanco. Se aplicó Dipel®2X, AgroEvo para combatir la lagarta a la dosis recomendadas por dichos productos.

Como fertilizantes se utilizó se procedió a aplicaciones eventuales de abonos de tipo foliar (Göemar® BM 86, Aragonesas al 0.3%) y de descomposición lenta (Guanito® ANE Agro-Nutrientes 6 g/ planta).

En tres ocasiones (t1= 60, t2= 90 y t3= 120 días después del inicio), se evaluaron sobre 8 plantas por variedad y tratamiento los efectos de las diferentes aplicaciones sobre las tres variedades.

Variables experimentales

En cada uno de los levantes se procedió a determinar las siguientes variables experimentales:

Parámetros físicos: Peso fresco de la parte aérea y de la raíz (g). Peso seco de la parte aérea y de la raíz (g). Longitud de la parte aérea (cm). Número y longitud de primarias (cm). Superficie foliar (cm²). Colonización micorrízica (%). Dependencia micorrízica relativa (%).
Parámetros químicos: Contenido en nutrientes de la parte aérea (mg/planta).

Para determinar la colonización micorrízica se tomó una muestra de raíz aproximadamente igual al 10% del peso total del sistema radical. Éstas fueron procesadas siguiendo la técnica descrita por Phillips & Hayman (1970) y modificada por Koske & Gemma (1989), blanqueándolas previamente con KOH al 2.5% y teñidas luego con azul de trypan al 0.05%. El porcentaje de colonización radical fue determinado en las raíces micorrizadas, a partir de 10 trozos de 1 cm de raíz teñida y observadas al microscópico óptico según el sistema de Brundett et. al. (1985).

La superficie foliar se determinó empleando un medidor de superficie LICOR, modelo Li-3100.

La dependencia micorrízica relativa (DMR), definida por Gerdeman (1975), como el grado de necesidad de las plantas de estar micorrizadas para producir el máximo crecimiento o cosecha a un nivel de fertilidad determinado, fue establecida según la fórmula propuesta por Plenchette et al. (1983).

Las muestras foliares se analizaron en el Departamento de Suelos y Riegos del ICIA. Con este fin colocaron en estufa durante 24 horas a 70°C, y posteriormente fueron evaluados los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio. Para medir el N la muestra fue mineralizada por "vía húmeda", y determinada calorimétricamente en el caso del P, y por espectrofotometría de absorción atómica en el del K.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y cuando se encontraron diferencias significativas, se procedió a comparar las medias utilizando el test de mínima diferencia significativa de Fisher, ($P \leq 0.05$) Para todo ello se utilizó el paquete estadístico Systat® versión 5.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Los hongos MA son capaces de mejorar considerablemente el desarrollo y la nutrición de las plantas de viña durante la fase de enraizamiento.

Los tres cultivares estudiados mostraron capacidad para incrementar el crecimiento con cualquiera de los dos hongos MA inoculados, sin bien fue el cv. Albillo y el endófito *Glomus mosseae* la combinación que mostró mayor dependencia micorrícica, representada en la figura 1.

En general, y para todos los cultivares, a los 90 días después de la inoculación, es cuando se manifiesta el máximo efecto de la simbiosis. A partir de este tiempo, el incremento se mantiene constante o decrece moderadamente, aunque siempre con valores superiores que las plantas control (sin inocular) o las tratadas con la hormona (AIB) o el Cupravit (oxicloruro de cobre).

Por motivos de espacio, solo describiremos con detalle los datos correspondiente al cv. Albillo, estando a disposición de los interesados, los valores relativos a los otros cultivares.

El cv. Albillo es, como ya comentamos, el que presenta una mayor capacidad para beneficiarse de la inoculación micorrícica.

En las Figuras 2, 3 y 4, las variables experimentales referida a longitud, superficie foliar y peso fresco aéreo, se ven claramente incrementadas a lo largo de todo el ensayo, con énfasis a los 90 días después de la aplicación del inóculo. La presencia de la micorriza (con o sin aplicación de AIB), garantiza un mejor desarrollo de las varetas, frente a las plantas no inoculadas o tratadas con Cupravit o sólo con AIB. A partir de este momento de estudio los porcentajes de colonización micorrícica sufren un claro descenso en las raíces de aquellas plantas sometidas al tratamiento con hormona, siendo estos datos significativamente inferiores desde el punto de vista estadístico (Figura 5).

El efecto de los tratamientos con micorrizas sobre la arquitectura radical se manifiesta especialmente 90 días después de la inoculación. En general, las plantas de los tratamientos micorrizados, con o sin hormonas presentan sistemas radicales con raíces primarias más cortas y menos numerosas que las plantas control o tratadas con Cupravit o sólo con hormona. Las plantas inoculadas con hongos MA mantienen, tres meses después del inicio del ensayo una relación raíz/parte aérea (R/S) inferior y cercana al 0,5, si las comparamos con aquellas no micorrizadas, cuya R/S se acerca a 1. Los contenidos en macronutrientes de la parte aérea son significativamente mayores en las plantas con hongos MA, con independencia de que éstas estén tratadas o no con AIB (Figura 6). Los resultados del estudio realizado 90 días después de la inoculación, muestran que las plantas inoculadas con *Glomus mosseae*, contienen en sus hojas unas cantidades de N, P y K muy superiores a los de cualquier tratamiento.

CONCLUSIONES

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) incrementan el crecimiento y la nutrición de las plantas de viña durante la fase de enraizamiento.

No hay diferencia en efectividad ni en capacidad infectiva entre dos hongos MA inoculados, *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices*.

Los tres cultivares de vid estudiados Albillo, Listán Negro y Uval Tinto, se benefician de modo similar frente a la inoculación micorrízica, si bien el cv. Albillo logró los mayores incrementos en desarrollo.

Las plantas tratadas con Cupravit® (Oxicloruro de cobre) padecen depresión en el crecimiento en relación con las demás plantas del ensayo, independientemente del tratamiento al que pertenezcan.

BIBLIOGRAFÍA

Brundett, M.S., Piche y Peterson, R.L. 1985. A development study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Can. J. Bot.* 63, 184-194.

Gerdemann, J.V. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En: "The Organization and Structure of Roots", J.G. Torrey y D.T. Clarkson (Editors). Academic PRESS, London, New York, San Francisco, pp. 575.

Harley, J.L. y Smith S.E. 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London. pp. 483.

Hayman, D., Barea, J.M. and Azcón, R., 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Southern Spain; its distribution in crops growing in soil of different fertility. *Phytopathología mediterranea* 15, 1-6.

Hernández González, 1992. Posibilidades de la producción de inóculos de micorrizas vesículo-arbusculares sobre sustratos canarios de origen volcánico. Trabajo de Fin de Carrera de la ETSIA, Universidad de La Laguna. Tenerife. Islas Canarias.

Jaizme-Vega, M.C. y Carnero Hernández, A. 1990. Estudio preliminar del uso de los hongos micorrícicos en el cultivo de tomate bajo invernadero en las Islas Canarias. I Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas.

Jaizme-Vega, M.C. y Azcón, R. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 5: 213-217.

Jaizme-Vega, M.C., Sosa Hernández, B. y Hernández Hernández, J.M. 1998. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi and the soil pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* on the first stages of micropropagated Grand Naine banana. *Proc. International Symposium Banana in Subtropics*. Ed. V. Galán Saucó. *Acta Horticulturae* 490, ISHS 1998.

Jaizme-Vega, M.C. y Díaz Pérez, M.A. 1999. Effect of *Glomus intraradices* on *Phoenix roebelinii* during the nursery stage. Proc. 2^o Int. Symposium on Ornamental Palms and others Monocots from the Tropics. Ed. M. Caballero Ruano Acta Horticulturae 486, ISHS 1999.

Koske, R.E. y Gemma, J.H. 1989. A modified procedure for staining root to detect VA mycorrhizas. Mycol. Res. 92: 692.

Lovato, P., Guillemin J.P. y Gianinazzi, S. 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. Agronomie 12, 873-880.

Menge, J.A, Raski, D.J., Linder, L.A., Johnson, E.L.V., Jones, N.O., Kissler, J.J. y Hemstreet, C.L. 1983. Interaction between mycorrhizal fungi, soil fumigation and growth of grapes in California. Amer. J. Enol. Vitic. 34: 117-121.

Phillips, J.M. y Hayman, D.S. 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, J.A. y Furlan, V. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate phosphorus fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. Plant and Soil, 70: 199-209.

Schellenbaum, L., Berta, G., Ravolanirina, F., Tisserant, B. and Gianinazzi, S. 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology a micropropagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.). Annals of Botany 68, 135-141.

Schubert, A. and Cammarata, S., 1986. Effect of inoculation with different endophytes on growth and P nutrition of grapevine plants grown in pots. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. 1^o Symposium Europeo en Mycorrhizae. París.

Schubert, A., Cammarata, S. and Eynard I., 1988. Growth and root colonization of grapevines inoculated with different mycorrhizal endophytes. HortScience, 23, 302-303.

Waschkies, C., Schropp, A. and Marschenr, H., 1994. Relation between grapevine replant disease and root colonization of grapevine (*Vitis* sp.) by fluorescent pseudomonads and endomycorrhizal fungi. Plant and Soil 162, 21-227.