



## PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO Y ABSORCIÓN DE FOSFORO DE PLANTULAS DE LEUCAENA POR UN HONGO MICORRIZAL EN UN SUELO DEGRADADO POR MINERÍA DE ALUVIÓN

Paulo C. Daza, Nelson Walter Osorio✉

Universidad Nacional de  
Colombia  
Sede Medellín  
Grupo de Investigación en  
Microbiología del Suelo

✉: nwsorio@unal.edu.co

### Palabras claves:

Suelo degradado  
*Glomus microaggregatum*  
Leucaena  
Promoción de crecimiento  
vegetal

### RESUMEN

*Un experimento de invernadero se realizó para determinar los efectos de la inoculación con el hongo formador de micorriza arbuscular (HFM) *Glomus microaggregatum* sobre el crecimiento de plántulas de leucaena (*Leucaena leucocephala*) en un suelo degradado por minería de aluvión, proveniente de la región del Bajo Cauca Antioqueño. Las condiciones del suelo fueron de alto contenido de arena, pobre estructura, baja retención de agua, bajo contenido de materia orgánica y de nutrientes biodisponibles para las plantas. El hongo micorrizal que se utilizó fue aislado de este mismo tipo de suelo degradado y se seleccionó entre otros dada la abundancia relativa de sus esporas. Para el experimento de invernadero se empleó un diseño completamente al azar y cada tratamiento tuvo cinco repeticiones. Las plántulas no-inoculadas no crecieron bien en este suelo degradado, mientras que la inoculación micorrizal aumento significativamente en cinco veces la absorción de fósforo y el crecimiento de la plántula por más de dos veces.*

## PLANT GROWTH AND PHOSPHORUS UPTAKE PROMOTION IN LEUCAENA BY A MYCORRHIZAL FUNGUS IN LEUCAENA GROWN IN A DEGRADED SOIL BY ALLUVIAL MINING

### Keywords:

Degraded soil  
*Glomus microaggregatum*  
Leucaena  
Plant growth promotion

### ABSTRACT

*A greenhouse experiment was carried out to determine the effects of mycorrhizal inoculation with the fungus *Glomus microaggregatum* on the leucaena (*Leucaena leucocephala*) seedling growth in an alluvial-mining-degraded soil. The soil had high levels of sand, poor structure, low water holding capacity, low soil organic matter content, and low content of bioavailable nutrients. The mycorrhizal fungus was isolated from this type of degraded soil and selected among others given its relative abundance. For the greenhouse experiment a complete randomized design was employed, each treatment had five replications. Leucaena seedlings grown in the uninoculated soil did not grow well and exhibited symptoms of nutrient deficiency, while the mycorrhizal inoculation significantly increased the phosphorus uptake by five-fold and promoted plant growth of the seedlings by more than two-fold.*

SUELOS ECUATORIALES  
41 (2): 144-149

ISSN 0562-5351

Recibido: Octubre 2010

Revisado: Junio 2011

Aceptado: Octubre 2011

## INTRODUCCIÓN

En el Bajo Cauca Antioqueño (Colombia) la actividad minera de aluvi3n es una de las principales actividades econ3micas, pero esta es muy nociva para el ambiente, ya que altera al extremo el equilibrio ecol3gico (S3nchez *et al.* 2003). Esto ha llevado a la degradaci3n de los suelos y generado cambios en el paisaje y en el uso del mismo y fuertes impactos ambientales (Medina *et al.* 2009). Entre los problemas se destacan la p3rdida total de la vegetaci3n, la remoci3n de los horizontes superficiales del suelo y de la poblaci3n microbiana asociada a ellos (3lvarez *et al.* 1997; Rend3n, 1998). Es com3n encontrar la formaci3n de c3rcavas profundas y dep3sitos de material rocoso, el material que queda en la superficie tiene una baja porosidad y se restringe la actividad biol3gica del suelo (Orozco & G3mez, 1994). Como resultado de esta intervenci3n, el contenido de materia org3nica es muy bajo, hay un deterioro severo de la estructura del suelo y de sus condiciones fisicoqu3micas. Adicionalmente, se favorece la sedimentaci3n de las fuentes h3dricas en la cuenca hidrogr3fica con potenciales impactos negativos en la fauna acu3tica y, por consiguiente, disminuyendo la fuente de alimento e ingresos para las comunidades de la zona.

Los ecosistemas as3 degradados pierden mucha de su diversidad y su capacidad de auto restauraci3n. Se dejan de cumplir funciones ecol3gicas como la generaci3n de h3bitat y corredores para la fauna, regulaci3n h3drica, control de la erosi3n, aporte, descomposici3n e incorporaci3n de materia org3nica al suelo, sumideros de carbono, etc. (Allen, 1989). La actividad minera genera desechos t3xicos, como residuos de aceites y combustibles, adem3s de metales pesados (p.e. Hg) que se precipitan y hacen parte del medio por largos periodos de tiempo, lo cual dificulta el restablecimiento de la vegetaci3n y recolonizaci3n de la microbiota del suelo (Botelho *et al.* 2006). En general, se limitan las actividades agr3colas, pecuarias y forestales del ecosistema, y por ende, las posibilidades de desarrollo de las comunidades de tales zonas.

Por lo tanto es de entera validez realizar estudios que ayuden a resolver estos problemas y mejorar el crecimiento y establecimiento de plantas capaces de adaptarse a estos suelos degradados (Bashan *et al.* 2007). Para el establecimiento de plantas en suelos degradados se considera 3til la inoculaci3n con microorganismos ben3ficos (Sieverding, 1988; Brundrett *et al.* 1996; Bashan *et al.* 2006). Entre ellos sobresalen los hongos formadores de micorrizas ya que favorecen la absorpci3n de agua y nutrientes por las plantas (Miller & Jastrow, 1990; Chen *et al.* 2005). El objetivo de este trabajo fue aislar hongos

micorrizales nativos de estos suelos degradados y evaluar su efecto promotor de crecimiento en *Leucaena leucocephala*.

## MATERIALES Y M3TODOS

### Sitio

Se tomaron muestras de un suelo degradado por miner3a de aluvi3n en la cercan3a del corregimiento de Jard3n, Municipio de Taraz3, regi3n del Bajo Cauca Antioqueño. Esta zona ha estado sometida a una fuerte explotaci3n minera en los aluviones del Rio Cauca. Las muestras se empacaron en bolsas pl3sticas con cierre herm3tico debidamente marcadas y se transportaron en neveras de icopor con hielo, para mantener una temperatura cercana a los 5°C., hasta el Laboratorio de Microbiolog3a del Suelo de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medell3n.

Para la extracci3n de esporas de hongos formadores de micorriza se us3 el m3todo del tamizaje en h3medo descrito por Brundrett *et al.* 1996 y Habte y Osorio, 2001). Luego, se procedi3 a determinar el n3mero de esporas por gramo de suelo y a separar morfotipos para su observaci3n al estereomicroscopio. El morfotipo m3s abundante fue *Glomus microaggregatum*, el cual se multiplic3 en sorgo siguiendo el protocolo presentado por Habte y Osorio (2001) para los ensayos posteriores.

### Experimento en invernadero

El experimento en invernadero se llev3 a cabo con pl3ntulas de leucaena y como sustrato se utiliz3 suelo degradado por miner3a de aluvi3n proveniente del Bajo Cauca Antioqueño. El suelo se sec3 al aire y se tamiz3 a 4 mm, as3 mismo, se caracteriz3 determinando el pH (agua 1:2), P (Bray II y P soluble en agua con 0.01 M CaCl<sub>2</sub>), Carbono org3nico, N total, Ca, Mg y K (acetato de amonio 1 M, pH 7), contenido y m3xima capacidad de retenci3n de humedad. Para el establecimiento de las plantas se usaron materos pl3sticos que conten3an dos kg de suelo (base seca). Se aplic3 como 3nica fuente de P roca fosf3rica a raz3n de 300 mg/kg de suelo. Luego el suelo recib3 25 g/ kg de un in3culo crudo que conten3a 500 esporas del hongo micorrizal *G. microaggregatum*.

Luego, las semillas de leucaena se escarificaron en 3cido sulf3rico concentrado por 20 minutos y posteriormente se lavaron con abundante agua y se dejaron germinar en c3mara h3meda. Luego de 24 horas se transfirieron tres semillas germinadas a cada matero pl3stico. Luego, se realiz3 un raleo y se dej3 una sola planta por matero. Las plantas se mantuvieron durante 90 d3as en el invernadero bajo

luz natural. El suelo se humedeció frecuentemente para mantenerlo entre un 50-60% de su máxima capacidad de retención de agua.

Al final del periodo de crecimiento se evaluaron la altura de la planta, la masa seca aérea (MSA), la masa seca de raíces (MSR) y el contenido de P absorbido en la parte aérea. Para las masas La diferencia significativa entre los promedio de los tratamientos se determinó mediante un ANAVA y la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD) con un nivel de significancia ( $P \leq 0.05$ ). Los análisis estadísticos se realizaron en el software Statgraphisc versión 4.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la extracción de esporas micorrizales del suelo degradado se detectaron tres morfotipos, el morfotipo 3 fue el más abundante y representó el 69% de las esporas colectadas en las muestras (Figura 1). Este morfotipo fue morfológicamente identificado como *Glomus microaggregatum*. Los morfotipos 1 y 2 no fueron identificados, y representaron el 17 y 15% del total de esporas. Este hongo ha sido reportado previamente en varios estudios realizados en la zona de estudio por Medina et al. (2009) y se escogió para ser empleados en los experimentos de invernadero.

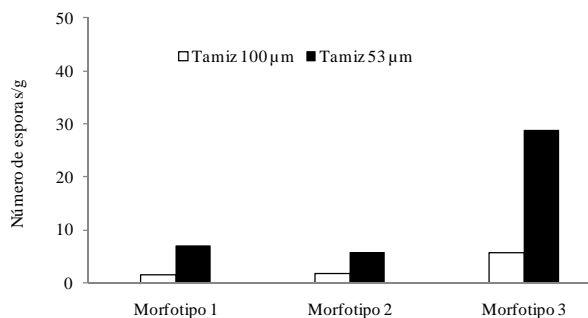


Figura 1. Esporas de hongos micorrizales por g de suelo seco proveniente de la zona de estudio.

La inoculación con el hongo micorrizal tuvo un efecto promotor de crecimiento de leucaena. Por ejemplo, la altura se incrementó significativamente en un 92% (Figura 2). Así mismo, la MSR y la MSA aumentaron en 156 y 120% con la inoculación micorrizal con respecto al control no-inoculado (Figura 2). Estos incrementos son muy notables porque favorecen el desarrollo del sistema de raíces y se refleja en la MSA, tal como se ha reportado previamente (Osorio et al., 2002; Habte y Manjunath 1991; Osorio y Habte 2001). Muy probablemente esta promoción de crecimiento se debe al incremento en la absorción de P de la planta, las hifas del hongo

absorben P de la solución del suelo y lo transfieren a la raíz. En este experimento se detectó que las plántulas de leucaena micorrizadas exhibieron 5 veces más P en el tejido aéreo que aquellas no-inoculadas (Figura 2)

En numerosos trabajos se ha reportado la capacidad que presentan las raíces para establecer simbiosis con microorganismos del suelo como los hongos micorrizales, estrategia les permite a las plantas colonizar ecosistemas terrestres (Abbott y Robson 1992; Rilling 2004). El beneficio que derivan las plantas de la asociación micorrizal es un mayor captura de nutrientes y, por ende, mayor crecimiento y desarrollo de las plantas. Esta asociación le permite a las plantas una mejor adaptación al suelos pobre en nutrientes y/o en ambientes donde escasea el agua (Habte y Osorio, 2001; Osorio, 2007). Tales condiciones se pueden presentar en suelos degradados

Resulta evidente en este experimento que el efecto de la inoculación micorrizal fue mucho mayor en la captura de fósforo que en la promoción de crecimiento. En el primer caso el incremento fue de 5 veces al pasar, mientras que en el segundo caso el incremento fue de 2.2 a 2.5 veces. Las plantas inicialmente acumulan altas cantidades de fósforo (Barber, 1995) que después utilizan para producir mayor biomasa y desarrollar nuevos tejidos (Marschner, 1997)

Así mismo, varios autores, en diversos estudios han demostrado que la inoculación con hongos micorrizo-arbusculares incrementan la producción de aminoácidos, proteínas, clorofila y contenido de azúcares comparada con plantas no-micorrizadas (Mathur y Vyas, 2000), además, incrementan la captación de nutrientes (Johansen et al. 1993; Jakobsen et al. 1992; Sieverding, 1991) y tienen un efecto positivo en la salud de las mismas (Avis et al. 2008). Lo que, repercute directamente en el desarrollo vegetal y por supuesto en una mayor biomasa (Figura 3).

El efecto tan favorable de la inoculación micorrizal la muestra como una práctica a tener en cuenta en los procesos de restauración de ambientes degradados, particularmente aquellos generados por la minería (Medina et al. 2009). El efecto negativo de las condiciones físicas tan adversas que enfrentan las raíces en tales suelos, tales como compactación, sellamiento, adensamiento, reducción del espacio poroso para la retención de agua y aireación (Sanchez et al. 2003), se puede compensar con la presencia de las hifas de los hongos. Estas hifas pueden alcanzar hasta distancias desde la superficie de la raíz de 10 cm (Jakobsen et al., 1992) y tomar agua y nutrientes; esta distancia es muy superior a la que alcanzan los pelos radicales que sólo miden entre 1 a 2 mm (Bolan 1991).

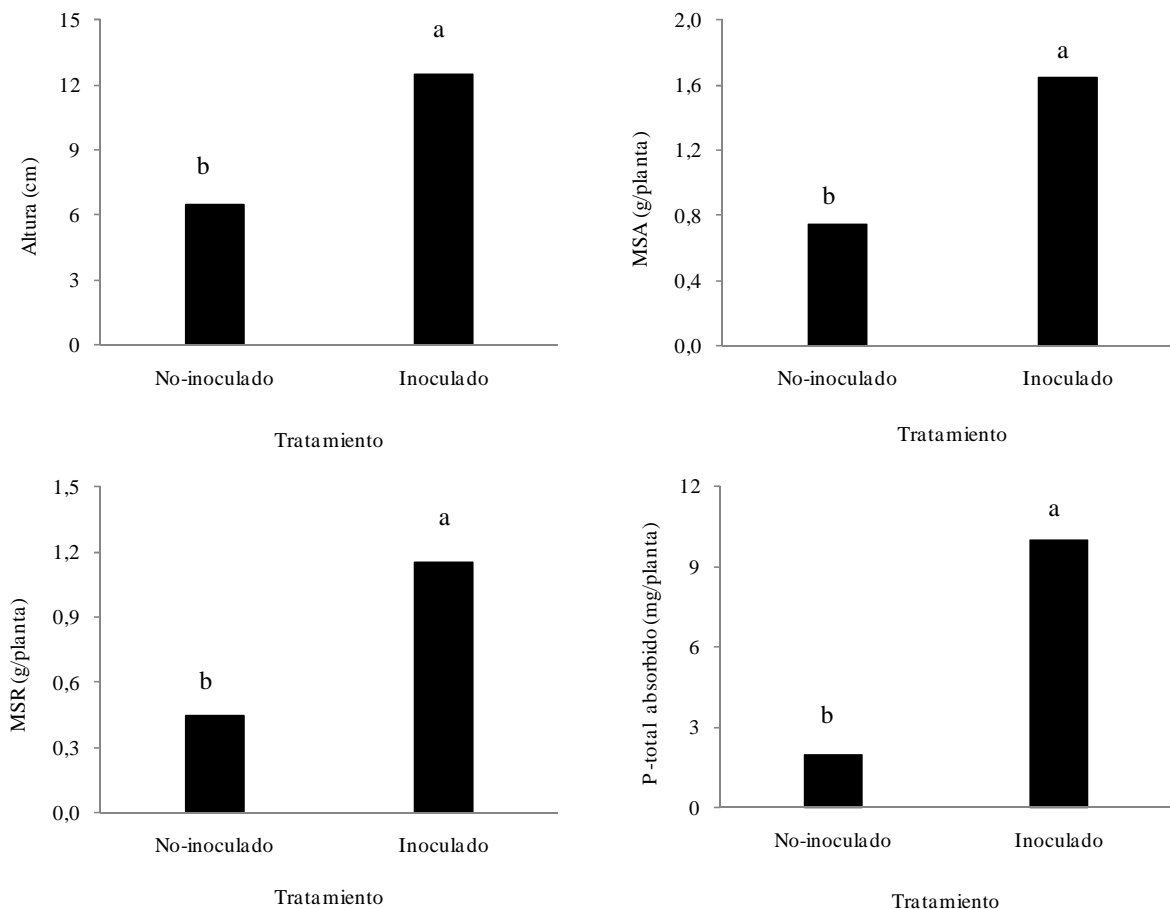


Figura 2. Efecto de la inoculación micorrizal sobre el crecimiento y la absorción de fósforo de leucaena creciendo en un suelo degradado por minería de aluvión. Las letras diferentes sobre las columnas indican que hubo diferencia significativa en la variable en función del tratamiento (Prueba de LSD,  $P \leq 0.05$ ).



Figura 3. Plantas de leucaena no-inoculadas (izquierda) e inoculadas (derecha) con un hongo micorrizal.

### CONCLUSIONES

Los resultados indican que la inoculación micorrizal incrementó significativamente la absorción de fosfato y el crecimiento de las plántulas de leucaena en un

suelo degradado por minería de aluvión. Este resultado indica que la inoculación micorrizal es una práctica recomendada para mejorar el desarrollo vegetal y su establecimiento en programas de revegetalización de estos suelos.

### REFERENCIAS

- ABBOTT L, ROBSON AD (1992) Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 35: 121-150.
- ALLEN M (1989) The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the 20 th century and a peek into the 21th . *Mycological Research* 100 (7): 769-782.
- ÁLVAREZ C, ZULUAGA JC, GÓMEZ E, OROZCO FH (1997) Asociación maní inoculado con *Bradyrhizobium* spp. y pasto *Brachiaria dictyoneura* en suelos degradados por minería de aluvión. *Suelos Ecuatoriales* 27: 231-234.

- ANTUNES PM, DEAVILLE D, GOSS MJ (2006) Effects of two AMF life strategies on the tripartite symbiosis with Bradyrhizobium japonicum and soybean. Mycorrhiza 16: 167-173.
- AVIS TJ, GRAVEL V, ANTOUN H, TWEDDELL RJ (2008) Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology and Biochemistry 40: 1733-1740.
- BARBER SA (1995) Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. John Wiley, New York.
- BASHAN Y, KHAOSAAD T, SALAZAR BG, OCAMPO JA, WIEMKEN A, OEHL F, VIERHEILING H (2007) Mycorrhizal characterization of the boojum tree, *Fouquieria columnaris*, an endemic ancient tree from the Baja California Peninsula, Mexico. Trees 21: 329-335.
- BASHAN Y, PUENTE ME, SALAZAR B, DE-BASHAN LE, BACILIO M, HERNADEZ JP, LEYVA LA, ROMERO B, VILLALPANDO R, BETHLENFALVAY GJ (2006) Reforestation of eroded land in the desert. Role of plant growth promoting bacteria and organic matter. Suelos Ecuatoriales 35(1): 70-77.
- BOLAN NS (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant and Soil 134:189-207.
- BOTELHO R, MELLONI R, PEREIRA EG (2006) Microbiologic and biochemical attributes as indicator of recovery of degraded areas. Cerne Levrás 12(1) 48-55.
- BRUNDRETT M, BOUGHER N, DELL B, GROVE T, MALAJCZUK N (1996) Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agriculture Research. Monograph 32, 374 p.
- CHEN X, TANG JJ, ZHI GY, HU SJ (2005) Arbuscular mycorrhizal colonization and phosphorus acquisition of plant: Effects of coexisting plant species. Applied Soil Ecology 28: 259-269.
- DE-BASHAN LE, HOLGUIN G, GLICK BR, BASHAN Y (2007) Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales, 170-224 pp. En: FERRERA-CERRATO R, ALARCÓN A (ed) Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo, Editorial Trillas, México City.
- GALINDO T, POLLANIA J, SANCHEZ J, MORENO N, VANEGAS J, HOGUIN G (2006) Efecto de inoculantes microbianos sobre la promoción de crecimiento de plántulas de Mangle y plantas de *Citrullus vulgaris*, San Andres Isla, Colombia. Acta Biológica Colombiana 11(1): 83-97.
- JAKOBSEN I, ABBOTT LK, ROBSON AD (1992) External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 2. Hyphal transport of <sup>32</sup>P over defined distances. New Phytologist, 120: 509-516.
- JOHANSEN A, JAKOBSEN I, JENSEN ES (1993) External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 3. Hyphal transport of <sup>32</sup>P and <sup>15</sup>N. New Phytologist 120: 61-68.
- KIM KY, MCDONALD GA, JORDAN D (1997) Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium. Biology and Fertility of Soils 24:347-352.
- LÓPEZ-GUTIÉRREZ JC, TORO M, LÓPEZ-HERNÁNDEZ D (2004) Arbuscular mycorrhiza and enzymatic activities in the rhizosphere of *Trachypogon plumosus* Ness. in three acid savanna soils. Agriculture, Ecosystems and Environment 103: 405-411.
- MARSCHNER H (1997) Mineral Nutrition of higher plants. Academic Press, London.
- MATHUR N, VYAS A (2000) Influence of arbuscular mycorrhizae on biomass production, nutrient uptake and physiological changes in *Ziziphus mauritiana* Lam. under water stress. Journal of Arid Environments 45: 191-195.
- MATIAS SR, PAGANO MC, CARVALHO-MUZZI CH (2009) Effect of rhizobia, fungi mycorrhizal fungi and phosphate- solubilizing microorganisms in the rhizosphere of native plants in degrade area. European Journal of Soil Biology 45: 259-266.
- MEDINA M, OROZCO FH, MÁRQUEZ ME (2009) Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares de una crono-secuencia de suelos aluviales degradados por actividad minera en el Bajo Cauca Antioqueño, Colombia. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 62(1): 4749-4759.
- MILLER RM, JASTROW JD (1990) Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. Soil Boil. Biochem. 22, pp 579-584.
- OROZCO FH, GÓMEZ E (1994) "Recuperación" biológica de suelos: 48 - 59. En: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo (SCCS) Comité Regional de Santander (ed). Memorias del VII Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo "El componente biorgánico del suelo", Bucaramanga.
- OSORIO NW (2007) A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake. Revista Facultad Nacional de Agronomía 60(1): 3621-3643.
- OSORIO NW, HABTE M (2001) Synergistic Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and a P solubilizing fungus on growth and P uptake of *Leucaena leucocephala* in an oxisol. Arid Land Research and Management 15 (3): 263-274.
- OSORIO NW (2003) Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de P de tres suelos de Hawai. Tesis de Maestría, Universidad de Hawaii, Honolulu, USA.
- RENDÓN MJE (1998) Caracterización de aislados de la familia rizobiaceae de suelos degradados por minería de aluvión del Bajo Cauca Antioqueño. Trabajo de Grado Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, 107 p.
- RILLING M (2004) Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. Ecology Letters 7: 740-754.
- ROSAS SB, ANDRES JA, ROVERA M, CORREA NS (2006) Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia-legume symbiosis. Soil Biology and Biochemistry 38: 3502-3505.
- ROY S, KHASA DP, GREER CW (2007) Combining alder, Frankia, and mycorrhizae for the revegetation and

- remediation of contaminated ecosystems. *Canadian Journal Bot.* 85: 237-251.
- RUDRESH DL, SHIVAPRAKASH MK, PRASAD RD (2005) Effects of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacteria and Trichoderma ssp. On growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). *Applied Soil Ecology* 28: 139-146.
- SANCHEZ NB, VIÑALES AM, PADRÓN CM (2003) Prueba de especies forestales en áreas devastadas por minería a cielo abierto en Holguín. *Centro Agrícola* 30 (1): 80-83.
- SATPAL S, KAPOOR KK (1998) Effects of inoculation of phosphate-solubilizing microorganisms and an arbuscular mycorrhizal fungus on mungbean grown under natural soil conditions. *Mycorrhiza* 7: 249-253.
- SIEVERDING E (1991) Vesicular-Arbuscular mycorrhiza management. *Editorial GTZ, Eschbor*, 57-72.
- SIEVERDING E (1988) La micorriza un componente biotecnológico en la producción vegetal. *Ciencia y Tecnología* 7 (1): 9-11.
- SOUCHIE EL, AZCON R, BAREA MJ, SAGGIN-JUNIOR OJ, RIBEIRO DA SILVA EM (2006) Phosphate solubilization and synergism between P-solubilizing and arbuscular mycorrhizal fungi. *Pesquisa Agropec Brasileira* 41(9): 1405-1411.
- VANCE PC (2001) Symbiotic Nitrogen Fixation and phosphorous acquisition. *Plant Nutrition in a world of declining renewable resource.* *Plant Physiology* 127: 390-397.
- VESSEY JK (2003) Growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.