

EVALUACIÓN DE LA DEPENDENCIA MICORRIZAL DEL PINO ROMERÓN (*Nageia rospiglosii* Pilger) BAJO CONDICIONES LUMÍNICAS CONTRASTANTES

EVALUATION OF THE UNIT MICORRIZAL OF ROMERÓN PINE (*Nageia rospiglosii* Pilger) UNDER CONTRASTING LIGHT CONDITIONS

María Claudia Díez Gómez¹, Nelson Walter Osorio Vega², Flavio Humberto Moreno Hurtado³

Resumen. El pino romerón (*Nageia rospiglosii* Pilger) es una conífera tropical que crece en bosques altoandinos sobre suelos deficientes en fósforo (P). Bajo tales condiciones, las micorrizas pueden desempeñar una función importante en la nutrición de las plantas. En este trabajo se evaluó la dependencia micorrizal y la concentración foliar de fósforo en plántulas de esta especie inoculadas con *Glomus aggregatum* bajo distintos niveles de intensidad de luz y de disponibilidad de P en la solución del suelo, mediante un diseño experimental de parcelas divididas. Las plántulas se sometieron a tres diferentes niveles de iluminación relativa (IR) en casas de sombra que replicaban las condiciones del sotobosque con baja iluminación relativa (2% de IR), claros medianos o bordes de bosque con iluminación relativa media (18 % de IR) y plena exposición con IR alta. El suelo estéril recibió KH_2PO_4 para obtener tres niveles de concentración de P en la solución del suelo (0,002, 0,02 y 0,2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). La categoría de dependencia micorrizal del pino romerón fue Moderadamente Dependiente. Esta categoría de dependencia no cambió significativamente en las distintas intensidades de luz en que se desarrollaron las plántulas. El contenido foliar de P aumentó con el incremento de la concentración de P en la solución del suelo. La inoculación con *G. aggregatum* incrementó significativamente el contenido de P foliar a 0,002 y 0,02 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ pero no a 0,2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Palabras claves: Micorrizas arbusculares, dependencia micorrizal, Podocarpaceae, *Glomus aggregatum*, plántulas de bosques altoandinos, fósforo.

Abstract. *Nageia rospiglosii* Pilger is a tropical coniferous tree from highland Andean forests, which grows in phosphorous (P) deficient soils. Under such conditions micorrhizae can perform an important function in plant nutrition. This paper evaluates the mycorrhizal dependency and leaf P concentration in seedlings of this species inoculated with *Glomus aggregatum* under different levels of light intensity and phosphorus availability in soil solution using a split-plot experimental design. Seedlings were grown under three levels of relative illumination (RI) in shade houses which resembled light conditions of understory with low light (2% RI), medium-sized canopy gaps or forest edges with medium RI (18% RI) and full sun exposure with high RI. After sterilization, soil received KH_2PO_4 to obtain three levels of P concentration in soil solution (0.002, 0.02 y 0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Results showed that this species is "Moderately Dependant" on mycorrhizal association and that this condition was similar for plants growing under different light intensities. Foliar P increased with the increase of P concentration in soil solution. Inoculation with *G. aggregatum* significantly increased foliar content of P under low to moderate P in soil solution (0.002 and 0.02 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) but not under high P concentration (0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Key words: Arbuscular mycorrhiza, mycorrhizal dependency, Podocarpaceae, *Glomus aggregatum*, Andean forest seedlings, phosphorous.

Nageia rospiglosii (Pilger) C.N. Page, conocido localmente como pino romerón, es una conífera tropical emergente del bosque primario altoandino, que en sus estados juveniles es tolerante a la sombra. Es una especie muy apreciada por su madera con aplicaciones en ebanistería, construcción y producción de pulpa (Marín 1998, Ludeña y Bueno, 1989). El crecimiento de las plántulas de *N. rospiglosii* en los suelos de muy baja fertilidad natural o que se han degradado por efecto de actividades agrícolas y ganaderas de la región

andina en Colombia, es lento cuando se compara con las especies introducidas *Pinus patula*, *Cupressus lusitanica* y *Eucalyptus salign*, o incluso con la especie nativa *Alnus acuminata*, lo cual ha resultado en una preferencia por estas especies para la reforestación (Cavelier y Tobler, 1998).

Los suelos con mayor potencial para reforestación con pino romerón en las zonas altoandinas son los derivados de cenizas volcánicas (Andisoles). Estos se caracterizan por una baja concentración de P en la

¹ Profesora Asociada. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Departamento de Ciencias Forestales. A.A. 568. Medellín, Colombia. <mcdiez@unalmed.edu.co>

² Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Escuela de Geociencias. A.A. 1779. Medellín, Colombia. <nwosorio@unalmed.edu.co>

³ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Departamento de Ciencias Forestales. A.A. 1779. Medellín, Colombia. <fhmoreno@unalmed.edu.co>

solución del suelo debido a que este elemento resulta fuertemente adsorbido por la arcilla alófana y o a que se forman fosfatos de hierro y aluminio de baja solubilidad (Fassbender, 1987). La alta capacidad de retención de P de estos suelos limita la eficiencia de la fertilización, ya que el fosfato disuelto de los fertilizantes fosfóricos solubles es rápidamente precipitado o adsorbido. Una alternativa para mejorar la eficiencia de las plantas para absorber P de este tipo de suelos, es valerse de las asociaciones simbióticas que pueden formar muchas especies forestales con hongos micorrícicos (Vogt *et al.*, 1996). Por ello, la domesticación de especies arbóreas tropicales debe considerar los microorganismos asociados a los árboles que se pretenden establecer, tanto en programas de restauración (Sarmiento 1995, Haselwandter y Bowen 1996, Cuenca *et al.*, 1998, Khurana y Sing 2001, Allen *et al.*, 2005, Matsumoto *et al.*, 2005), como de reforestación comercial (Perry, Molina y Amaranthus *et al.*, 1987, Vogt *et al.*, 1996, Rajan *et al.*, 2000, Huat *et al.*, 2002).

Si el pino romerón resulta ser dependiente de la asociación con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), su desempeño en los programas de reforestación se verá afectado por la efectiva colonización micorrizal de las plántulas, la cual podrá mejorar su habilidad competitiva e incrementar su tasa de crecimiento.

La dependencia micorrizal se definió inicialmente como el grado en que una especie de planta depende de la asociación con hongos micorrícicos para producir su máximo crecimiento o rendimiento a un nivel de fertilidad dado (Gerdermann, 1975). Posteriormente se precisó el concepto, definiéndolo en función de la concentración de P en la solución del suelo (Manjunath y Habte, 1991), puesto que la inoculación con HMA tiene su máximo efecto en el crecimiento de la planta hospedera cuando el nivel de P en la solución del suelo es relativamente bajo.

Varios estudios en árboles tropicales han mostrado de manera contundente que la concentración de P en la solución del suelo afecta la respuesta a la inoculación con HMA (Johnson *et al.*, 1997, Moyersoén *et al.*, 1998, Garampalli *et al.*, 2005, Huat *et al.*, 2002). A pesar de esto, otros estudios de dependencia micorrizal han considerado solo un nivel de concentración de P en la solución del suelo, el

cual corresponde al del suelo en el que se realiza el experimento o el que se obtiene al adicionar una cierta cantidad de fertilizante fosfórico (Janos, 1980, Plenchette *et al.*, 1983, Ba *et al.*, 2000, Siqueira *et al.*, 1998, Zangaro *et al.*, 2000, 2003). Igualmente se ha demostrado que la intensidad de radiación puede tener influencia, tanto en los niveles de colonización micorrizal como en la respuesta en crecimiento de plantas inoculadas con HMA (Ferguson y Menge, 1982, Bethlenfalvay y Pacovsky, 1983, Tester *et al.*, 1985, 1986, Son y Smith, 1988, Smith y Gianinazzi-Person, 1990, Saito y Kato, 1994, Vierheiling *et al.*, 2002).

Este estudio tiene el objetivo de evaluar el efecto de la iluminación relativa sobre la categoría de dependencia micorrizal de plántulas de pino romerón inoculadas con el hongo formador de micorriza arbuscular (HMA) *Glomus aggregatum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. Las semillas se cosecharon en árboles localizados en un fragmento de bosque alto andino de la cordillera occidental en el suroeste de Antioquia, Colombia (05°43'41" N y 75°44'36" W; 2205 m de altitud, 2415 mm de precipitación promedio anual; suelos ácidos, pH 5,0, alto contenidos de materia orgánica, niveles medios de nitrógeno y bajo contenido de P disponible). Este bosque está dominado por árboles de *N. rospiglosii* de más de 30 cm de diámetro que alcanzan el dosel. El fragmento tiene forma lineal, a lo largo de una quebrada. Está rodeado de extensas áreas de potreros con pequeños fragmentos remanentes de bosque degradado. Los ensayos de invernadero se establecieron en la Estación Forestal Piedras Blancas, del Departamento de Ciencias Forestales (Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín). La Estación Forestal (06°15'38" N y 75°30'23" W) se encuentra a una altitud de 2400 m. La precipitación promedio anual es de 2114 mm y la temperatura promedio anual de 14,9 °C (EPM, 1994).

Diseño experimental. El diseño experimental fueron parcelas divididas. Se consideraron tres factores: iluminación relativa (IR), concentración de fósforo en la solución del suelo (P) e inoculación con el hongo micorrizo-arbuscular *G. aggregatum* (M). El factor IR se asignó al azar a las parcelas principales

y se incluyeron los niveles de IR baja, media y alta (2, 18 y 100% de la iluminación relativa en el interior del invernadero), con cinco repeticiones (casetas) de cada uno. Las seis combinaciones de la concentración de P en la solución del suelo y la inoculación micorrizal, se asignaron al azar a las parcelas menores (macetas). Los niveles de P fueron 0,002, 0,02 y 0,2 mg·L⁻¹, y los niveles de inoculación con *G. aggregatum* fueron inoculado (M+) y no inoculado (M-). El experimento se desarrolló con 90 plántulas (3 niveles de IR x 3 niveles de P x 2 niveles de inoculación micorrizal x 5 casetas).

Preparación de las casetas de iluminación.

Dentro del invernadero se construyeron 15 casetas y se acondicionaron para los tratamientos de iluminación. Para el tratamiento de IR alta no se cubrió la caseta con tela de sombra; para el tratamiento de IR media se cubrió la caseta con una capa de tela de sombra del 80% y para el tratamiento de IR baja se cubrió con dos capas de tela de sombra del 80%. La IR dentro de las casetas y fuera de ellas, se midió utilizando sensores cuánticos marca LICOR (LI-190, Lincoln, Nebraska, USA) conectados a un almacenador de datos (LI-1000, Lincoln, Nebraska, USA). Se tomaron datos durante dos condiciones de nubosidad (alta y baja nubosidad) y se calculó el promedio de cuatro mediciones a lo largo del día (9:00, 11:00, 13:30, 16:00 horas), tomados en las cinco casetas de cada ambiente lumínico. Con estos datos se calculó el Índice de IR promedio para cada tratamiento.

Germinación de las semillas y selección de las plántulas para el montaje del ensayo.

Las semillas se desinfectaron mediante inmersión en hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos y se lavaron con abundante agua destilada. Luego se remojaron durante 5 días en agua destilada, sin cubrirlas totalmente, para mejorar y homogenizar la germinación. Las cubetas de germinación se lavaron con hipoclorito de sodio al 1% y agua destilada. Las semillas se sembraron en cuarzo grueso esterilizado en autoclave (120 °C, 30 min) y se regaron inmediatamente con agua destilada hasta saturar el sustrato. Luego, se taparon y se continuó agregando agua cuando se detectó desecación. Las cubetas se instalaron en el invernadero en un área de baja iluminación (80 µm m⁻² s⁻¹ de radiación fotosintéticamente activa, RFA), pues bajo este

ambiente se podían obtener mejores niveles de germinación. Una vez empezaron a germinar, las plántulas se transplantaron a macetas plásticas desinfectadas con sustrato de cuarzo grueso estéril. Allí permanecieron hasta que se consideró que las plántulas eran independientes de las reservas de las semillas; se estimó que esto ocurrió tres meses después de que la semilla había caído. Para el montaje del ensayo se seleccionaron 90 plántulas homogéneas en tamaño y desarrollo, y se escogieron otras 10 plántulas de tamaño similar para determinar el peso seco y la altura inicial. Las plántulas tenían inicialmente en promedio 7.01 (± 0,43) cm de altura y 0,62 g (± 0,05) de masa seca total.

Preparación del sustrato y siembra de las plántulas.

Como sustrato de crecimiento se utilizó una muestra subsuperficial del horizonte B_w (30 a 50 cm) de un Andisol de la Estación Forestal Piedras Blancas, el cual se encontraba bajo cobertura vegetal de pastos. Se hizo un análisis químico del suelo, para determinar la necesidad de aplicación de otros nutrientes diferentes del P con el fin de garantizar una buena nutrición de las plántulas. Se realizó una isoterma de adsorción de P de acuerdo al método de Fox y Kamprath (1970), para calcular la cantidad de P que se debía aplicar a cada tratamiento para obtener tres concentraciones de P en la solución del suelo: 0,002, 0,02 y 0,2 mg·L⁻¹, según lo propuesto por Manjunath y Habte (1991) para estudios de dependencia micorrizal. El suelo se secó al aire y se tamizó con una malla de 4 mm. Una semana antes del montaje del ensayo el suelo se esterilizó con vapor de agua a 80 °C, durante 1 h. La fertilización e inoculación del suelo se hicieron en forma individual para cada maceta, con el fin de tener mayor control sobre las cantidades adicionadas. Cada maceta tenía unas dimensiones de 22 cm de altura y 10 cm de diámetro, con capacidad de 1300 g de suelo seco. Los tres tratamientos de P en la solución del suelo de 0,002, 0,02 y 0,2 mg·L⁻¹ se consiguieron adicionando KH₂PO₄ por maceta en dosis de 0,23, 2,24 y 17,23 g, respectivamente. El inóculo utilizado en los tratamientos de inoculación con *G. aggregatum* fue originalmente suministrado por el Dr. M. Habte de la Universidad de Hawaii y luego multiplicado en sorgo y kudzu en el Laboratorio de Microbiología de Suelos (Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín). A las macetas de los

tratamientos inoculados (M+) se les agregó 50 g de inóculo crudo el cual contenía esporas, hifas extraradicales y fragmentos de raíces colonizadas suspendidas en una mezcla suelo:cuarczo (1:1, m). Para estimar el número de propágulos infectivos en el inóculo crudo se empleó el método del número más probable (NMP) (Porter, 1979), el cual dio como resultado 8500 propágulos infectivos por kg. Los suelos de los tratamientos no inoculados recibieron 50 g del sustrato esterilizado y filtrados del lavado del inóculo crudo luego de la remoción por filtración (papel filtro Whatman No. 1) de las estructuras de los hongos micorrizales. Una vez las macetas se llenaron con el sustrato preparado según el tratamiento correspondiente, se procedió a humedecer el suelo con agua destilada, hasta alcanzar un contenido de humedad entre 50 y 60%. El agua se agregó en la base de la maceta para que ascendiera por capilaridad. Se sembraron las plántulas cuidando que la raíz quedara extendida. Con el fin de evitar la contaminación entre los tratamientos se aplicó una capa delgada de cuarzo fino sobre la superficie del suelo en cada maceta. Las plántulas se asignaron al azar a los tratamientos y se marcaron con una etiqueta que las identificaba.

Seguimiento del ensayo. Cada semana se evaluó el contenido de humedad del suelo mediante el pesaje de una muestra de 10 macetas seleccionadas al azar y se agregó agua destilada hasta alcanzar un valor entre 50% y 60 % de la máxima capacidad de retención de agua. Para evitar la aparición de deficiencias nutricionales, cada dos semanas se agregaron a cada maceta 260 mL de solución *Hoagland* libre de P. Dentro de cada tratamiento de iluminación, las plántulas se movieron de localización cada dos semanas para conseguir mayor aleatoriedad de las condiciones ambientales. A partir del primer mes, se monitoreó el contenido foliar de P siguiendo el método no destructivo desarrollado por Aziz y Habte (1987), para la posterior medición de P foliar por el método de azul de molibdato (Murphy y Riley 1962). Después de un mes del montaje del ensayo, se seleccionó una hoja de cada plántula, tomando la cuarta o quinta hoja desde la base de la rama, en la rama más recientemente formada, la cual corresponde a una hoja madura pero no senil y totalmente expandida. El muestreo mediante este procedimiento y el análisis de contenido de P foliar, se siguió realizando

cada mes, hasta el final del ensayo, 180 días después de la siembra (6 mediciones).

Cosecha de las plántulas y evaluación de parámetros. Después de seis meses de establecido el ensayo se cosecharon las plántulas. Todas las plántulas sobrevivieron hasta el final del ensayo. Las macetas se abrieron cuidadosamente con una sierra eléctrica para que el sistema radical se pudiera extraer sin dañarse. Cada plántula se cortó a la altura del cuello para separar la biomasa aérea de las raíces. Tanto la porción aérea como la radical de cada plántula se empacaron en una bolsa de papel *kraft* marcada y se llevó al horno hasta masa seca constante (aproximadamente 48 h a 70 °C). La dependencia micorrizal se evaluó mediante el índice propuesto por Plenchette *et al.* (1983), como la diferencia entre la masa seca aérea de las plantas inoculadas y no inoculadas expresada en porcentaje de la masa seca aérea de las plantas inoculadas.

$$DM = \frac{M(pi) - M(pni)}{M(pi)} * 100$$

donde,

DM: Dependencia micorrizal

M(pi): Masa seca aérea de las plántulas inoculadas

M(pni): Masa seca aérea de las plántulas no inoculadas.

El valor de dependencia micorrizal de cada tratamiento se comparó con la clasificación de dependencia micorrizal propuesta por Manjunath y Habte (1991).

Procesamiento de los datos. Se verificó que los datos se ajustaran a la distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov; cuando el supuesto de normalidad no se cumplía, los datos fueron transformados. Luego se realizó análisis de varianza de acuerdo con el diseño experimental de parcelas divididas. Cuando los valores de *F* resultaron significativos, se realizaron pruebas de medias y contrastes ortogonales de *Bonferroni*. Para los análisis estadísticos se emplearon los programas SYSTAT versión 8.0 (*Systat Software Inc.*,

Richmond, CA, USA) y STATISTICA versión 5 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA).

RESULTADOS

Efecto de la iluminación relativa (IR), la inoculación con *G. aggregatum* (M) y la concentración de P en la solución del suelo (P) sobre la concentración foliar de P. Los tres factores analizados (IR, M y P) tuvieron un efecto significativo sobre la concentración foliar de P al final del ensayo (después de 6 meses) en las plántulas de pino romerón, pero las interacciones no fueron significativas excepto la interacción P x M, lo cual

indica que la inoculación micorrizal influyó en la concentración de P foliar de las plántulas de pino romerón de manera diferente dependiendo de la concentración de P en la solución del suelo. En efecto, las plántulas de romerón incrementaron la concentración foliar de P por efecto de la inoculación micorrizal en los niveles de baja y media concentración de P en la solución del suelo (Figura 1), pero en el nivel más alto de concentración de P en la solución del suelo ($0,2 \text{ mg L}^{-1}$), la concentración foliar de P de las plántulas inoculadas no fue mayor que en las plantas no inoculadas e incluso disminuyó

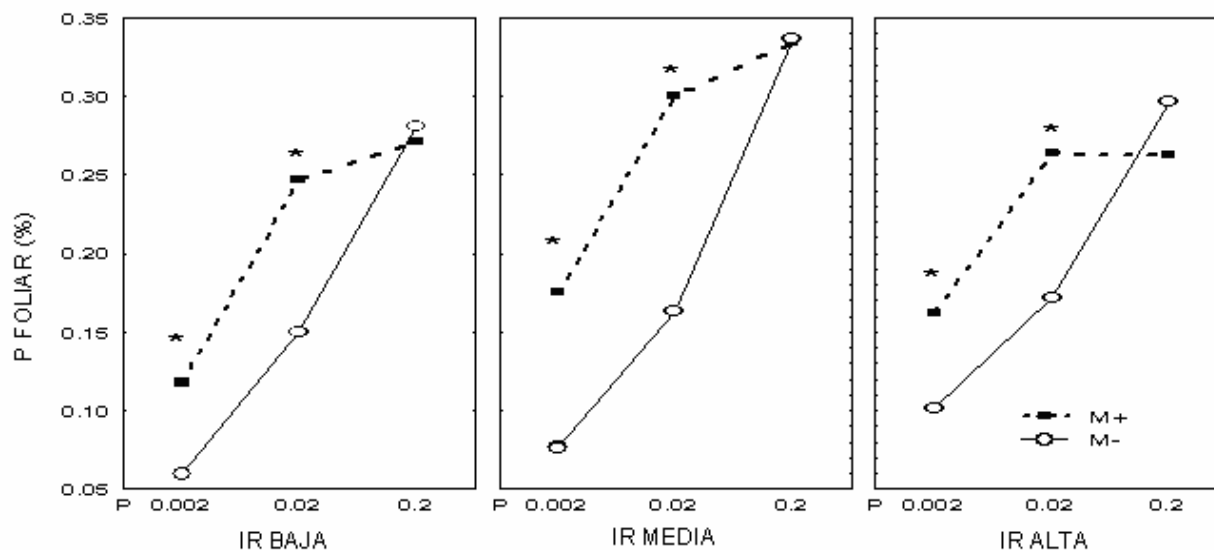


Figura 1. Interacción entre la concentración de P en la solución del suelo y la inoculación con *G. aggregatum* con respecto a la variable P foliar al final del ensayo (después de 6 meses). Niveles de M: M+ = plántulas inoculadas y M- = plántulas no inoculadas; niveles de P: 0,002, 0,02 y 0,2 mg L⁻¹ de concentración de P en la solución del suelo; niveles de IR: baja, media y alta (2, 18 y 100% respectivamente). Los asteriscos indican diferencias significativas (P < 0,05) entre plantas inoculadas y no inoculadas en cada nivel de P en la solución del suelo.

El seguimiento del P foliar, con mediciones mensuales durante los seis meses del ensayo, mostró diferentes efectos de los factores ambientales en función del tiempo. Las diferencias entre las plántulas inoculadas y no inoculadas que crecieron en diferentes niveles de P se hicieron significativas (P < 0,05) a partir del tercer mes en el nivel de P bajo ($0,002 \text{ mg L}^{-1}$) y del cuarto mes en el

nivel intermedio de P ($0,02 \text{ mg L}^{-1}$), y se mantuvieron hasta el final del ensayo. En las plántulas que crecieron en niveles altos de P no se presentaron diferencias significativas en el P foliar entre las plántulas inoculadas (M+) y no inoculadas (M-) durante todo el tiempo del ensayo (Figura 2).

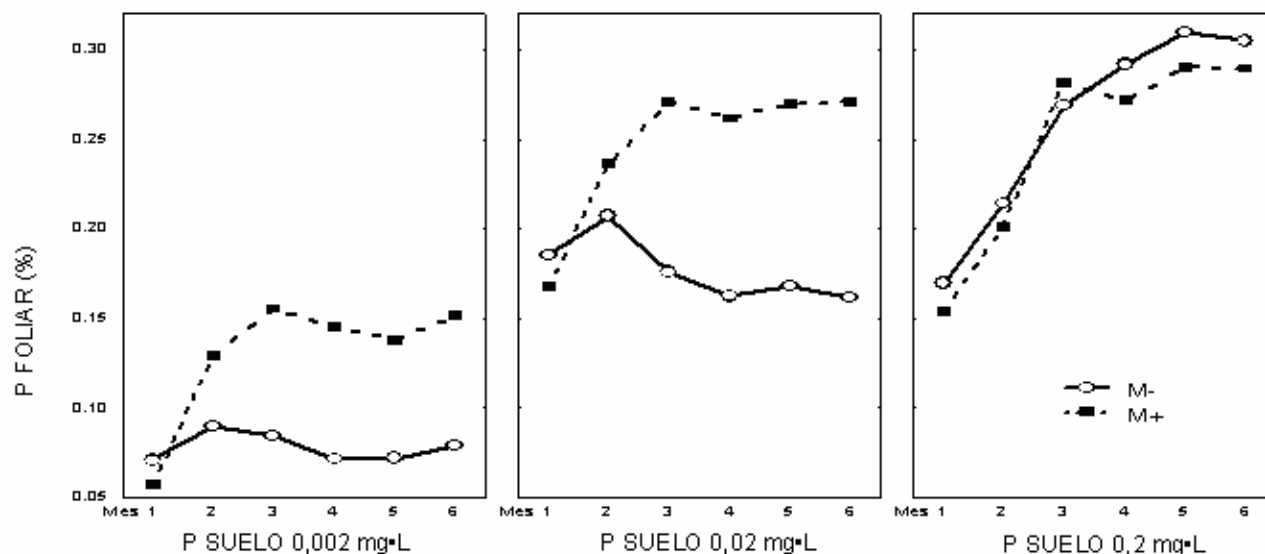


Figura 2. Valores de P foliar, con mediciones mensuales durante los seis meses de ensayo. Niveles de M: M+ = plántulas inoculadas y M- = plántulas no inoculadas; niveles de P: 0,002, 0,02 y 0,2 mg L⁻¹ de concentración de P en la solución del suelo. Los asteriscos indican diferencias significativas (P < 0,05) entre plantas inoculadas y no inoculadas en cada mes.

Dependencia micorrizal. No se presentaron diferencias significativas en los valores de dependencia micorrizal (DM) entre las plántulas que crecieron bajo los diferentes niveles de IR. Sin embargo, la tendencia fue que a IR media, se alcanzaron los mayores valores de DM (Figura 3). Se presentaron diferencias significativas en los valores de DM entre las plántulas que crecieron en diferentes niveles de P. La DM se incrementó cuando se pasó de niveles bajos de P (0,002 mg L⁻¹) y a niveles medios (0,02 mg L⁻¹), pero disminuyó significativamente cuando las plántulas crecieron en concentraciones altas de P (0,2 mg L⁻¹), incluso

hasta llegar a tener valores negativos de DM. Este comportamiento y las proporciones de aumento y disminución de esta variable fueron similares en los diferentes ambientes de iluminación, por lo cual esta interacción (P x HMA) no mostró diferencias significativas (Figura 3). Para definir la categoría de Dependencia Micorrizal, se consideró el valor alcanzado a una concentración de P en la solución del suelo de 0,02 mg L⁻¹. El mayor valor de DM se obtuvo en el tratamiento de iluminación relativa intermedia (38,5 % ± 7,7). En el nivel de IR baja la DM fue 27,4 % ± 1,95 y en el de IR alta fue 28,01 % ± 8,24.

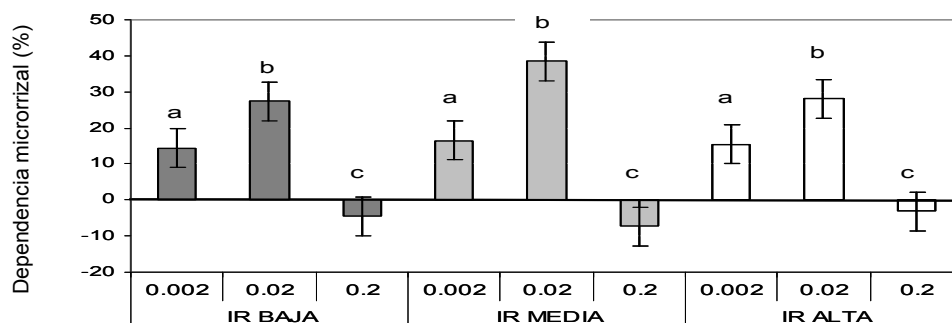


Figura 3. Valores promedio de dependencia micorrizal de los tratamientos de IR y P con plántulas de pino romerón. Niveles de P: 0,002, 0,02 y 0,2 mg L⁻¹ de concentración de P en la solución del suelo; niveles de IR: baja, media y alta (2, 18 y 100% respectivamente). Letras diferentes indican diferencias significativas (P < 0,05).

DISCUSIÓN

Existe un rango de concentración de P en la solución del suelo que es óptimo para la actividad del hongo, pero al cual este elemento es poco accesible para las raíces de las plantas desprovistas de la asociación micorrizal. En esta condición, el hongo compensa al hospedero por los costos de la simbiosis; el balance entre hongo y hospedero se mantiene y se logra un crecimiento efectivo de las plantas (Fitter, 1991). Se ha postulado que en especies con sistema radical grueso (como el pino romerón), el valor óptimo de concentración de P en la solución del suelo es de $0,02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Manjunath y Habte 1990, Manjunath y Habte, 1991), lo cual coincide con los resultados de esta investigación. Así mismo, se ha propuesto que cuando la concentración de P en la solución del suelo es muy baja ($0,002 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), el hongo y la planta hospedera compiten por el escaso P presente (Koide, 1991); no obstante, esta parece no ser la situación que ocurrió con pino romerón, pues bajo este nivel de P edáfico, tanto la concentración foliar de P como el crecimiento de las plantas micorrizadas fueron superiores a los registrados en las plantas sin micorrizar. Por otro lado, cuando la concentración de P está muy por encima de este valor óptimo (p.e., $0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), las plantas disminuyen progresivamente su dependencia de la asociación micorrizal para tomar P, hasta el punto que, como aparentemente sucedió en este estudio, el hongo micorrízico se vuelve parásito de la planta, lo cual se refleja en un crecimiento menor en las plantas micorrizadas en comparación con las no micorrizadas; por ello, sólo las especies altamente dependientes responden a la inoculación micorrizal (Miyasaka y Habte 2001), entre las cuales no parece encontrarse el pino romerón.

Manjunath y Habte (1991) y otros autores, evaluaron las respuestas de varias especies de árboles tropicales bajo diferentes niveles de concentración de P en el suelo y propusieron cinco categorías de dependencia de las plantas hospederas. Los valores de DM de pino romerón encontrados en el presente estudio fueron intermedios, por lo cual esta especie corresponde a la categoría de dependencia micorrizal moderadamente dependiente en todos los niveles de iluminación relativa. Otras especies pertenecientes a esta categoría son *Acacia koa* (Miyasaka *et al.*,

1993), *Leucaena retusa* y *Sesbania grandiflora* (Manjunath y Habte, 1991).

Antes de realizar el montaje del experimento, las plántulas pino romerón usadas en este ensayo se cultivaron durante tres meses después de que los cotiledones se habían caído, para evitar que las reservas de nutrientes de las semillas, que pasan posteriormente a las plántulas, pudieran afectar los resultados de dependencia micorrizal. Esta precaución es de vital importancia, pues en diversos estudios de dependencia micorrizal realizados en Brasil con muchas especies de bosques húmedos tropicales (Siqueira *et al.*, 1998, 2001, Zangaro *et al.*, 2000), la inoculación micorrizal promovió significativamente el crecimiento en el 75% de las especies pioneras, pero solo en un 25% de las especies del bosque maduro. Según estos autores, la falta de respuesta en crecimiento a la inoculación micorrizal en especies con semillas grandes que se ha observado en las especies del bosque maduro, se puede atribuir a que las plántulas dependen de las reservas de las semillas, más que de las micorizas para su crecimiento. Este resultado es opuesto a lo encontrado por otros autores como Janos (1980) y Huante *et al.* (1993), quienes afirman que las especies de estados sucesionales maduros, tienden a mostrar mayor respuesta a la inoculación micorrizal que las especies de los estados sucesionales tempranos, después de que la planta se independiza de las reservas nutritivas contenidas en sus grandes semillas. Pino romerón es una especie del bosque maduro altoandino, con semillas de tamaño medio, cuya respuesta a la inoculación con HMA fue moderada; el incremento en la tasa de crecimiento que alcanzó por la asociación micorrizal (entre 27 y 39%) puede ser muy importante para esta especie que se caracteriza por su lento crecimiento.

Otro aspecto que puede explicar las diferencias entre la dependencia micorrizal de las especies hospederas es la morfología del sistema de raíces. Las raíces del pino romerón son bastante gruesas y no tienen pelos radicales, y en ellas se encontró una colonización micorrizal relativamente baja (24,5 a 34,1 %), pero que produjo importantes incrementos en el desarrollo de las plántulas. Estos resultados concuerdan con los planteamientos de Baylis (1975), quien postuló la hipótesis de que las especies de plantas que tienen sistemas de raíces gruesos, con pocos pelos radicales, son más dependientes de los

HMA que las de raíces finas, con numerosos pelos radicales. Los ensayos posteriores de Manjunath y Habte (1991), corroboraron esta hipótesis y encontraron que la dependencia micorrizal se podría predecir por variables asociadas al sistema de raíces como biomasa de raíces, longitud de pelos radicales, densidad de raíces e incidencia de pelos radicales, entre otras.

No obstante más recientemente, los estudios de Zangaro *et al.* (2005), presentaron resultados opuestos, pues encontraron que las respuestas a la inoculación con HMA y a la colonización micorrizal están directamente relacionadas con la incidencia de pelos radicales y la longitud de los mismos. Para ellos, estas características de las raíces están más relacionadas con las especies de los estados sucesionales iniciales, de rápido crecimiento, y argumentan que estas raíces pueden ser más receptivas a la atracción, infección y colonización por HMA, que las especies de los estados sucesionales tardíos.

Si bien la relación entre HMA y las plántulas de especies tropicales es compleja, este experimento demuestra que la asociación con HMA representa una ventaja competitiva para el pino romerón. En cualquier ambiente lumínico en que se desarrolle, inclusive en la penumbra del sotobosque, siempre que crezca en niveles bajo y medio de disponibilidad de P (propios de los Andisoles donde al parecer evolucionó esta especie), se espera una respuesta en crecimiento y absorción de P al desarrollar esta asociación. Determinar los factores que influyen en su funcionamiento puede proporcionar claves para entender tanto la dinámica planta-HMA, como los procesos que mantienen la alta diversidad de plantas característica de los bosques húmedos tropicales de montaña.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con la financiación de la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (DIME), mediante el proyecto 030803763 y del proyecto "Exploración de asociaciones simbióticas en pino romerón", financiado por CORANTIOQUIA. Además se contó con el apoyo logístico del Departamento de Ciencias Forestales y de los laboratorios de Ecología y Conservación Ambiental (Departamento de

Ciencias Forestales) y Microbiología del Suelo (Facultad de Ciencias). Los autores agradecen a los evaluadores anónimos por sus valiosos comentarios y sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, M.F., E.B. Allen and A. Gomez. 2005. Effects of mycorrhizae and non target organisms on restoration of a seasonal tropical forest in Quintana Roo, Mexico: Factors limiting tree establishment. *Restoration Ecology* 13 (2): 325-333.

Aziz, T. and M. Habte. 1987. Determining vesicular-arbuscular mycorrhizal effectiveness by monitoring P status of leaf disks. *Canadian Journal of Microbiology* 33 (12): 1097-1101.

Ba, A.M., C. Plenchette, P. Danth, R. Duponnois and T. Guissou. 2000. Functional compatibility of two arbuscular mycorrhizae with thirteen fruit trees in Senegal. *Agroforestry Systems* 50: 95-105.

Baylis, G.T.S. 1975. The magnoloid mycorrhizal and mycotrophy in root systems derived from it. pp. 373-389. In: F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, London.

Bethlenfalvay, G.J. and R.S. Pacovsky. 1983. Light effects in mycorrhizal soybeans. *Plant Physiology* 73: 969-972.

Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove and N. Malajczuk. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph* 32. Canberra. 374 p.

Cavelier, J. and A. Tobler. 1998. The effect of abandoned plantations of *Pinus patula* and *Cupressus lusitanica* on soils and regeneration of a tropical montane rain forest in Colombia. *Biodiversity and Conservation* 7(3): 335-347.

Cuenca, G., Z. de Andrade and G. Escalante. 1997. Arbuscular mycorrhizae in the rehabilitation of fragile degraded tropical lands. *Biology and Fertility of Soils* 26: 107-111.

Empresas Públicas de Medellín-EPM. 1994. Boletín hidrometeorológico. Volumen 1-2. EPM, Medellín. 80 p.

- Fassbender, H. y E. Bornemisza. 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Editorial IICA, San José de Costa Rica. 420 p.
- Ferguson, J.J. and J.A. Menge. 1982. The influence of light intensity and artificial extended photoperiod upon infection and population of *Glomus fasciculatum* on Sudan grass and on root exudation of Sudan grass. New Phytologist 92: 183-191.
- Fitter, A.H. 1991. Cost-benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. Expertia 47: 350- 355.
- Fox, R.L. and E.J. Kamprath. 1970. Phosphate solution isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. Soil Science Society of America Proceedings 34: 902-907.
- Garampalli, R.H., S. Deene and C.N. Reddy. 2005. Infectivity and efficacy of *Glomus aggregatum* and growth response of *Cajanus cajan* (L.) Millsp in flyash amended sterile soil. Journal of Environmental Biology 26 (4): 705-708.
- Gerdermann, J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizal. pp. 575-591. En: Torrey, J.G. and D.T. Clarkson (Eds.). The development and function of roots. Academic Press, London.
- Giovannetti, M., B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 84: 489-500.
- Haselwandter, K. and G.D. Bowen. 1996. Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. Forest Ecology and Management 81: 1-17.
- Huat, O.K., K. Awang, A. Hashim and N.M. Majid. 2002. Effects of fertilizers and vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth and photosynthesis of *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs seedlings. Forest Ecology and Management 158: 51-58.
- Janos, D.P. 1980. Mycorrhizal influence tropical succession. Biotropica 12: 333-340.
- Johnson, N C., J. H. Graham and F. A. Smith. 1997. Functioning of mycorrhizal association along the mutualism-parasitism continuum. New Phytologist 135: 575-585.
- Khurana, E. and J.S. Singh. 2001. Ecology of tree and seedlings: Implications for tropical forest conservation and restoration. Current Science 80 (6): 748-757.
- Koide, R. T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. New Phytologist 117: 365-386.
- Ludeña, P. y J. Bueno. 1989. Pulpa química al sulfato de tres especies forestales de la selva central. Revista Forestal del Perú 162 (2): 49-56.
- Marín, A. 1998. Ecología y silvicultura de las Podocarpaceas andinas de Colombia. Smurfit-Cartón de Colombia S.A., Departamento de Investigación Forestal. OP Gráficas. Cali. 143 p.
- Manjunath, A., and M. Habte. 1990. Establishment of soil solution P levels for studies involving vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Communications in Soil Science and Plant Analysis 21 (7/8): 557-566.
- Manjunath, A. and M. Habte. 1991. Root morphological characteristics of host species having distinct mycorrhizal dependency. Canadian Journal of Botany 69 (3): 671-676.
- Manjunath A. and M. Habte. 1991. Categories of vesicular-arbuscular mycorrhizal dependency of host species. Mycorrhiza 1 (1): 3-12.
- Matsumoto, L.S., A. M. Martinez, M. A. Avanzi, U. B. Albino, C. B. Brasil, D. P. Saridakis, L. G. L. Rampazo, W. Zangaro and G. Andrade. 2005. Interactions among functional groups in the cycling of carbon, nitrogen and phosphorus in the rhizosphere of three successional species of tropical woody trees. Applied Soil Ecology 28: 57-65.
- Miyasaka, S.C. and M. Habte. 2001. Plant mechanisms and mycorrhizal symbiosis to increase phosphorus uptake efficiency. Communications in Soil Science and Plant Analysis 32 (7-8): 1101-1147.
- Miyasaka, S.C., M. Habte and D.T. Matsuyama. 1993. Mycorrhizal dependency of two hawaiian

- endemic tree species: koa and mamane. *Journal of Plant Nutrition* 16 (7): 1339-1356.
- Moyersoen, B., I.J. Alexander, and A.H. Fitter. 1998. Phosphorus nutrition of ectomycorrhizal tree seedlings from a lowland tropical rain forest in Korup National Park, Cameroon. *Journal of Tropical Ecology* 14: 47-61.
- Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27:31-35.
- Perry, D.A., R. Molina, and M. P. Amaranthus. 1987. Mycorrhizae, microrrhizospheres and reforestation: current knowledge and research needs. *Canadian Journal of Forest Research* 17 (8): 929-940.
- Plenchette, C., J.A. Fortin, and V. Furlan. 1983. Growth responses of several plants species to mycorrhizae in soil of moderate P fertility. Mycorrhizal dependence under field conditions. *Plant and Soil* 70: 199-209.
- Porter, W. 1979. The "Most Probable Number" method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular micorrizal fungi in soil. *Australian Journal of Soil Research* 17: 515-519.
- Rajan, S.K., B.J.D. Reddy and D.J. Bagyaraj. 2000. Screening of arbuscular mycorrhizal fungi for their symbiotic efficiency with *Tectona grandis*. *Forest Ecology and Management* 126: 91-95.
- Saito, M. and T. Kato. 1994. Effects of low temperature and shade on relationship between nodulation, vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and shoot growth of soybeans. *Biology and Fertility of Soils* 17: 206-211.
- Sarmiento, F.O. 1995. Restoration of ecuatorial Andes: The challenge for conservation of trop-andean landscapes in Ecuador. In S.P. Churchill, H. Balslev, E. Forero and J.L. Luteyn. Biodiversity and conservation of neotropical montane forests, pp. 637- 652. The New York Botanical Garden, Bronx, N.Y.
- Siqueira, J.O., M.A.C. Carneiro, N. Curi, S.C.S. Rosado and A.C. Davide. 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to sucesional groups in southeastern Brazil. *Forest Ecology and Management* 107: 241-252.
- Smith, S. and V. Gianinazzi. 1990. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: Effects of photon irradiance and phosphate nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* 17: 177-188.
- Son, C.L. and S.E. Smith, 1988. Mycorrhizal growth responses: interactions between photon irradiance and phosphorus nutrition. *New Phytologist* 108: 305-314.
- Tester, M., F.A. Smith and S.E. Smith. 1985. Phosphate inflow into *Trifolium subterraneum* L. Effects of photon irradiance and mycorrhizal infection. *Soil Biology and Biochemistry* 17: 807-810.
- Vierheiling, H., B. Bago, S. Lerat and Y. Piche. 2002. Shoot-produced, light-dependent factors are partially involved in the expression of the arbuscular mycorrhizal (AM) status of AM host and non-host plants. *Journal of Plant Nutrition* 165 (81): 21-25.
- Vogt, K., H.A. Asbjornsen, F. Ercelawn, F. Montagnini and M. Valdes. 1996. Roots and mycorrhizas in plantation ecosystems. pp. 247- 297. In: Sadanandan, E.K., Nambiar, A. and G. Brown (Eds.). ACIAR Monograph No. 43. ASIAR-CSIRO-CIFOR. Canberra, Australia.
- Zangaro, W.V.L., R. Bononi and S.B. Trufen. 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 16: 603-622.
- Zangaro, W., S.M.A. Nisizaki, J.C.B. Domingos and E.M. Nakano. 2003. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 19 (3): 315-324.
- Zangaro, W., F. Nishidate, F. Spago, G. Romagnoli and J. Vandressen. 2005. Relationships among arbuscular mycorrhizas, root morphology and seedling growth of tropical native woody species in southern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 21 (5): 529-540