

Micorrización en el desarrollo y en la tolerancia a la salinidad del sustrato de **plantones de olivo** (*Olea europaea* L.)

La inoculación de plantones de olivo con micorrizas vesículo-arbusculares influye muy positivamente en el crecimiento de las plantas durante el periodo de vivero, tanto cuando se desarrollan en sustratos normales, como cuando lo hacen en sustratos altamente salinizados.

C. Martín-Sánchez, A. Porras-Soriano, I. Marcilla-Goldaracena, R. Porras-Soriano, M. León-Egido, M.L. Porras-Soriano •
Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola, U.C.L.M.



Introducción

El beneficio que producen en el olivo (*Olea europaea* L.) las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) ha sido estudiado por diversos autores (Citernes et al., 1998; Soriano-Martín et al., 2006; Porras-Soriano et al., 2006). Estos hongos establecen una simbiosis con las plantas que contribuye a incrementar la absorción de agua y nutrientes y la tolerancia a agentes bióticos y abióticos.

Con este trabajo los autores han demostrado que la aplicación temprana de la especie de MVA *Glomus mosseae* a plántulas de olivo cv. Cornicabra, cultivadas al aire libre en macetas de 2.5 L de capacidad y sometidas al estrés producido por la adición de NaCl al sustrato, incrementa el ritmo de crecimiento de las plantas e inhibe significativamente los efectos negativos del estrés que provoca en ellas la salinización.

La inoculación de plantones de olivo con micorrizas influye positivamente en el crecimiento de las plantas durante el periodo de vivero

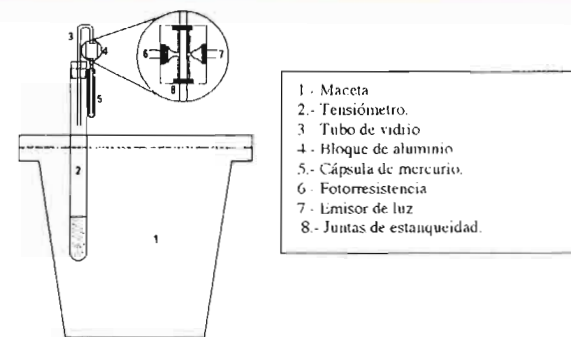
Materiales y métodos

El sustrato utilizado en los ensayos fue una mezcla (1:1; v.v) de arena y de turba. La arena empleada era de río lavada con un tamaño de partículas <0,5 mm y la turba utilizada fue Rubia Sphagnum con un tamaño máximo de partículas de 20 mm. y un máximo del 40 % menor de 1 mm., a la que se le habían añadido 4 kg/m³ de dolomita cálcica. La turba tenía una capacidad de retención del 67 % en volumen, una porosidad del 95 % en volumen, una densidad en seco de 70 kg/m³, un contenido de materia orgánica del 96 % y de cenizas del 4 %. Analizada una parte de turba con cinco partes de agua, su pH fue de 5,9 y su conductividad eléctrica EC 4.0 mS/cm. El sustrato utilizado en todas las fases del ensayo fue tinalizado en autoclave, durante una hora, dos días consecutivos.

Las plántulas utilizadas en el ensayo se propagaron bajo nebulización, según la metodología puesta a punto por Porras et al. (2000), en túnel de ambiente controlado a partir de estaquillas semileñosas de olivo de cv. Cornicabra, de 15 cm. de longitud, con tres pares de hojas en el extremo distal y tratadas en el extremo basal por inmersión en una solución de cuatro gramos de ácido indol-3-butírico/litro de etanol. Las estaquillas se plantaron en el túnel el 15 de julio de 2004 y se mantuvieron en él durante dos meses y medio.

La especie de MVA utilizada, *Glomus mosseae*, fue aislada, propagada y conservada en sepiolita por los profesores Azcón R. y Barea J.M., del Departamento de Microbiología del Instituto de Investigación del Zaidín de Granada del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España). Cada planta micorrizada fue inoculada añadiendo, en la zona de colocación de las raicillas, tres gramos de inóculo (aproximadamente 400 esporas/g de inóculo), tras el enraizamiento en el túnel de propagación, justo en el momento del trasplante a contenedores de turba prensada de 120 cm³ de capacidad, rellenos con el referido sustrato.

Figura 1
Tensiómetro transformado y circuito electrónico utilizados para automatización del sistema de riego



- 1.- Maceta
- 2.- Tensiómetro.
- 3.- Tubo de vidrio
- 4.- Bloque de aluminio
- 5.- Cápsula de mercurio.
- 6.- Fotoresistencia
- 7.- Emisor de luz
- 8.- Juntas de estanqueidad.

Se escogieron por su uniformidad aérea y radicular dos bloques de 150 plantas/bloque y, para su endurecimiento, se introdujeron nuevamente en el túnel de propagación en las mismas condiciones utilizadas para el enraizamiento. En él se mantuvieron dos meses.

Transcurrido dicho tiempo, se escogieron por su uniformidad 100 plantas de cada bloque y cada bloque se separó en dos subgrupos de 50 plantas cada uno. Las plantas, con sus contenedores de turba prensada, fueron introducidas en macetas de polietileno de 2,5 l de capacidad rellenas con el sustrato especificado. En cada subgrupo de 50 macetas se aplicaron los tratamientos que se presentan en la **tabla 1**.

La aportación de sal se hizo añadiendo a cada maceta 250 cm³ de disolución de NaCl en agua esterilizada en la proporción de 24 g/L. La adición se realizó, para evitar pérdidas por percolación, añadiendo desde el día del trasplante a las macetas de polietileno de 2.5 L de capacidad, con intervalos de cinco días, un volumen por aportación de 50 cm³ de solución salina por maceta.

Las plantas se aclimataron durante tres meses al cultivo a la intemperie regándolas con microaspersores. El sistema de riego estaba automatizado mediante un tensiómetro de mercurio modificado según el método electrónico desarrollado por Porras et al. (1991) que, al secarse el sustrato y subir el mercurio por un delgado tubo de vidrio, cuando la humedad del suelo era un 60 % de la humedad de las macetas a capacidad de campo, interrumpía el haz de un emisor de infrarrojos. Al dejar de incidir la luz infrarroja sobre una fotoresistencia, la variación de resistencia que aparecía en ella se utilizaba como señal que, debidamente amplificada, se utilizaba para poner en marcha el riego.

Pasado el periodo de aclimatación se escogieron las 40 plantas de cada subgrupo que ofrecían mejor aspecto exterior y, con el mismo sistema de riego se cultivaron durante todo el ensayo.

Transcurrido un año desde que comenzó el ensayo, se destruyeron las cuarenta plantas de cada subgrupo midiendo en ellas la superficie foliar y el peso seco.

La superficie foliar se determinó utilizando un ordenador

Tabla 1

Tratamientos aplicados a las plantas de olivo tras su endurecimiento en el túnel de propagación

Subgrupo	Tratamiento
T (-)	Plantas control sin aporte de NaCl
M (-)	Plantas inoculadas con <i>G. mosseae</i> sin aporte de NaCl
T (+)	Plantas control con aporte de 6 g de NaCl /L de sustrato
M (+)	Plantas inoculadas con <i>G. mosseae</i> con aporte de 6 g de NaCl /L de sustrato

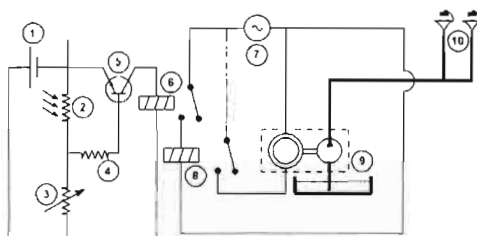
personal y un escáner de sobremesa, con los cuales se digitalizaban las imágenes y se les aplicaba un programa de visión artificial realizado por los autores que permite determinar la superficie, basándose en las diferencias de color de los píxeles que formaban la imagen de las hojas y de las raíces, con el fondo blanco de la imagen.

El peso seco de las plantas se determinó secándolas en una estufa hasta que no había variación de peso medido en una balanza de 0,01 g de precisión.

Desde el trasplante de los contenedores de turba prensada de 120 cm³ de capacidad a las macetas de polietileno de 2.5 L de capacidad, mensualmente se aportaron 50 cm³ de solución nutritiva de Hewitt (1952).

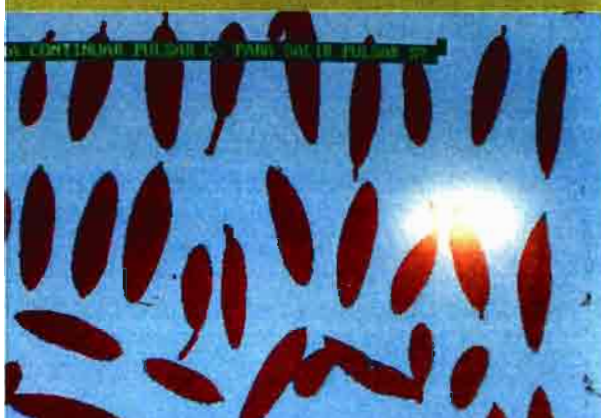
Para comparar la influencia de las AMV en los parámetros cuantificados se utilizó el test de rango múltiple de Fisher's, con un riesgo del 5 % de considerar cada par de medias comparado significativamente diferente, cuando la diferencia real es 0.

Figura 2
Circuito electrónico utilizado para automatización del sistema de riego



- 1.- Fuente de alimentación 12 V. C.C.
- 2.- Fotoresistencia
- 3.- Potenciómetro multivuelta
- 4.- Resistencia de seguridad.
- 5.- Transistor NPN
- 6.- Relé monocontacto
- 7.- Fuente de alimentación 220 V C.A.
- 8.- Contactor de potencia
- 9.- Grupo de bombeo
- 10.- Microaspersores

Figura 3
Muestra digitalizada de hojas para cuantificación su superficie mediante visión artificial de.



Resultados y discusión

Los valores de peso seco medio y de superficie foliar media de las plantas fueron los siguientes:

Tabla 2

Valores medios de peso y de superficie foliar de los plantones de olivo inoculados y no inoculados y con adición y sin ella de NaCl

Parámetro cuantificado	T (-)*	T (+)*	M (-)	M (-)*
Peso seco	3,75 a **	2,33 b	10,85 c	8,91 d
Superficie foliar	66,98 a	46,98 b	206,60 c	151,98 d

* T = Plantas testigo; M = Plantas Inoculadas con *G. mosseae*; (-) = Plantas sin adición de NaCl; (+) = Plantas con adición de NaCl

** Valores en la misma fila seguidos de letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas al nivel 95 %

El resultado de la inoculación temprana de plantones de olivo con la MVA *Glomus mosseae* es altamente positivo, tanto en plantas salinizadas como en las no salinizadas. Estos trabajos concuerdan con los resultados obtenidos por otros autores en otros cultivos (Declerck et al., 1995; Azcón-Aguilar et al., 1997; Escalona et al., 2000; Estaún et al., 2003; Duke et al., 1986; Flores et al., 2000; Ganz et al., 2002), y con los obtenidos por Rinaldelli y Mancuso (1998), Soriano-Martín et al. (2006) y por Porras-Soriano et al. (2006) estudiando la influencia de las MVA en el crecimiento del olivo.

El peso seco de las plantas es, en todos los casos, significativamente menor ($p \leq 0,05$) en las plantas testigo (T(-) y (T(+)) que en las plantas inoculadas con y sin adición de sal. El hecho de que aparezcan diferencias significativas entre las plantas cultivadas en sustrato sin adición de sal y cultivadas en sustrato con adición de sal, indica la importancia que tiene en el desarrollo del olivo cv Cornicabra la presencia de sales en el sustrato, no obstante, los efectos negativos de dicha presencia quedan netamente inhibidos con la inoculación temprana de las raíces con *Glomus mosseae*.

En todos los casos ocurre que la superficie foliar es netamente superior ($p \leq 0,05$) en las plantas cultivadas en sustrato sin sal, que en las plantas cultivadas en sustrato al que se le añadió NaCl.

Conclusiones

Hasta el nivel de salinización aplicado al sustrato, se puede considerar que:

- La interacción planta-sal-MVA es evidente.
- La adición de sal al sustrato es causa de disminución del vigor de las plantas.

La aplicación temprana de *Glomus mosseae* disminuye el estrés provocado por la salinización en el desarrollo de plantones de olivo y promueve un mayor creci-

miento de los plantones de olivo, tanto en el caso de plantas cultivadas en sustrato no salinizado, como en las cultivadas en el mismo sustrato, pero salinizado.

El hecho de que aparezcan diferencias significativas entre la superficie foliar de las plantas T (-), T (+), M (-) y M (+) hace evidente la importancia de la aplicación temprana de MVA en la producción comercial de plantones de olivo, sobre todo cuando el agua disponible para el riego es salina.

Bibliografía

- Azcón-Aguilar, C., Troncoso, A., Cantos, M., Barea, J.M. (1997) Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. *Scientia Horticulturae*, 72: 63-71.
- Citernesi, A.S., Vitagliano, C. y Giovannetti, M. (1998) Plant growth and root system morphology of *Olea europea* L. rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas. *Journal of horticultural science and biotechnology*, 73 (5): 647-654.
- Copeman, R.H., Martin, C.A., Stutz, J.C. (1996) Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or nonsaline soils. *Hortscience* 31, 341-344.
- Declerck, S., Plenchette, C., Strullu, D.G. (1995). Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant Soil* 176, 183-187.
- Duke, E.R., Johnson, C.R., Koch, K.E. (1986) Accumulación of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split-root citrus seedlings colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on zero, one or two halves. *New Phytologist* 104: 583-590.
- Escalona, M., Trejo, D., Rivera, J., Lara, L. y Rivera, A. (2000). Efecto de la Endomicorriza arbuscular y diferentes fechas de fertilización sobre el crecimiento de papaya en campo. En *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. (Alarcón y editores) pp 194-206. 1ª Ed. Editorial Mundiprensa México.
- Estaún, V., Camprubí, A. y Calvet, C. (2003). Nursery and Field Response of Olive Trees Inoculated with Two Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Glomus Intraradices* and *Glomus Mosseae*. *Amer.Soc.Hort.Science* 128 (5): 767-775.
- Flores-Bello, R., Aguilar, S., García, R. y Zamora, A. (2000). Respuesta de crecimiento en plántulas de leucaena a la micorriza arbuscular en condiciones de vivero. En *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. (Alarcón y editores) pp 156-161. 1ª Ed. Editorial Mundiprensa México.
- Ganz, T.R., Kailis, S.G. y Abbott, L.K. (2002) Mycorrhizal colonization and its effect on growth, phosphorus uptake and tissue phenolic content in the European olive (*Olea europaea* L.) *Scientia Horticulturae*, 16 (3-4): 109-116.
- Hewitt, E.J., (1952). Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Farnham Royal Commonwealth Agr Bur, Bucks, UK Tech Commun, 22.
- Porras, A., Soriano, M.L.; Pérez, C.; Domenech, B. (2000) High precision computer control of mist propagation. *International Symposium of olive growing- Bari (Italia)*.
- Porras-Soriano, A., Marcilla-Goldaracena, I., Soriano-Martín, M.L., Porras-Piedra, A. (2006) Development and resistance to verticillium dahliae of olive plantlets inoculated with mycorrhizal fungi during the nursery period; *Journal of Agricultural Science* 144: 1-7. Centro y Canarias; I.S.B.N.: 84-8544-119-2.

Las micorrizas establecen una simbiosis con las plantas que incrementan la absorción de agua y nutrientes