

# SUSCEPTIBILIDAD DE DISTINTAS VARIEDADES DE GUISANTE, VEZA Y LUPINO A LA INFECCION POR GLOMUS MOSSEAE

Por

E. J. BEDMAR y J. A. OCAMPO

## SUMMARY

### SUSCEPTIBILITY OF DIFFERENT PEA, WETCH AND LUPIN VARIETIES TO THE INFECTION BY GLOMUS MOSSEAE

The susceptibility of different pea (*Pisum sativum*), wetch (*Vicia sativa*) and (*Lupinus sp.*) varieties to infection by *Glomus mosseae* has been examined. Pea varieties used in this study showed similar levels of VA infection. However, the percent of VA infection in the wetch varieties Agrar-49 and Adeza-81 reached 18%, the variety 2-141-3 was 32%, while in the remainder (4) varied between 61-68%. Among the lupin plants tested, the varieties Lublanc, Multolupa and Cargill-1983 of *L. albus* and the variety Barpine of *L. luteus* developed internal hyphae (about 3% of the roots length). The varieties Unihaverst, Uniwhite and Marri of *L. angustifolius*, LA-82099, LA-108, LA-82233 and Kalina of *L. albus*, *L. pilosus* and the variety Vantus of *L. luteus* showed several entry points although they were abortives. No VA infection was observed in all other lupin varieties. These data indicate the existence of a wide genetic variability regarding to the susceptibility of these plant species to the infection by *G. mosseae*.

El presente trabajo se ha realizado con la ayuda económica recibida de la C.A.I.C. y T. (Proyecto n.º 1.759).

## INTRODUCCION

La importancia de las micorrizas endotróficas vesículo - arbusculares (VA) en el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante la captación de elementos del suelo, principalmente fósforo, se ha puesto de manifiesto claramente a través de numerosos trabajos (ver Hayman, 1983; Harley y Smith, 1983; Barea *et al.*, 1985).

La efectividad de esta simbiosis viene determinada por el tipo de suelo, planta y endofito VA que se utilizan (Hayman, 1983). Con respecto a la planta, se ha demostrado que presentan una elevada variabilidad gené-

tica en cuanto a la respuesta a la micorrización, lo que se ha observado en diferentes cultivares de maíz (Hall, 1978), algodón (Metcaft, 1979) cítricos (Menge *et al.*, 1978; Nemeč, 1978) y trigo (Azcón y Ocampo, 1981).

El estudio de los aspectos genéticos que repercuten en la nutrición de las plantas se ha centrado principalmente en dos áreas: 1) El uso más eficiente de nutrientes minerales a niveles subóptimos del suelo, sin que por ello disminuya la producción vegetal y 2) Obtener una concentración de nutrientes más elevada y equilibrada en las distintas especies de plantas (Hill y Guss, 1976). Se sabe que numerosos mecanismos de variación en la captación y utilización de varios elementos están bajo control genético (Bielecki, 1973; Gerloff, 1976) y que los mismos pueden expresarse no sólo afectando los diversos fenómenos de transporte y utilización de elementos en el interior de las plantas sino también modificando el ambiente exterior alrededor de la raíz.

En los estudios que se han realizado con micorrizas VA, las plantas más idóneas se han seleccionado, generalmente, mediante diversas técnicas que van desde pruebas de campo en las que se estiman variaciones anuales y edáficas hasta experimentos de invernadero en los que se estudian el efecto de los distintos suelos y/o endofitos más adecuados (Hayman, 1984). Sin embargo, en la mayoría de los casos no se ha tenido en cuenta la variabilidad que una determinada especie de planta puede tener frente a la infección por endofitos VA. Por ello el progreso en los criterios de selección de las plantas más adecuadas depende de un mayor conocimiento de las mismas.

El objeto de este trabajo ha sido, por tanto, estudiar la posible variación genética que pueden presentar las plantas de guisante, veza y lupino en la susceptibilidad a la infección por el endofito VA *Glomus mosseae*.

## MATERIAL Y METODOS

Las plantas leguminosas utilizadas en este estudio han sido 10 variedades de guisante (*Pisum sativum* L.): Alaska (Burpee Seed, Riverside, Ca. USA), Feltham First (Finney Lock, Witham, Essex, Inglaterra), J. I. 1205 (Cortesía de B. Snoad, John Innes Institute, Norwich, Norfolk, Inglaterra) y Lincoln, Frisón, Frimas, Filbi, Kiri, Herta y Frogel (proporcionadas por J. L. Fernández Martín, Agrar Semillas, Zaragoza, España); 7 variedades de veza (*Vicia sativa* L.): Agrar-49, Adeza-81, Villosa, 2-141-3, Silna, 2-64-4 y Adeza 468 (J. L. Fernández Martín, Agrar Semillas); 5 variedades de *Lupinus angustifolius* L.: E.S. Trifblue 78, Uniharvest, Ujwhite, Marri, y Fest; 17 de *L. albus*: Gyulatanya (D. Cohen, Department of Agronomy and R.5, Davis, Ca. USA), R-6002, LA-109, R-6020, Gala, LA-82175, Polaca patuchy, Arkansas, Lublanc, Kaliria, LA-82099, LA-84025, Multolupa, LA-108, LA-82233, Kalina y Cargill, 1983; 1 de *L. pilosus* y 3 de *L. luteus*: Portugués, Vantus y Barpine (estas semillas de lupino fueron proporcionadas por J. L. Jambrina, Departamento de Pastos y Forrajes, S.I.A., Salamanca, España).

Todas las semillas fueron esterilizadas por inmersión en  $Cl_2Hg$  al 2.5% durante 15 minutos, seguidos de varios lavados con agua estéril. En

el caso de *L. luteus*, las semillas fueron previamente escarificadas con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  durante dos minutos.

Las semillas pregerminadas se plantaron en macetas de 500 g de capacidad conteniendo un suelo pardo-rojizo calcáreo (tipo ABC) recolectado en la provincia de Granada (Barea, *et al.*, 1980) y mezclado con arena de cuarzo en proporción 3:1 (v/v). El suelo fue previamente esterilizado en autoclave a vapor fluente. Las plántulas se inocularon con 5 g de suelo rizosférico conteniendo esporas, micelio y trozos de raíces de plantas de maíz infectadas por el endofito *Glomus mosseae*. Las plantas crecieron en invernadero, bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad ( $450 \mu\text{E}$ ,  $\text{m}^{-2}$ ,  $5^{-1}$ , 400-700 nm; 25/19° C día/noche; 16/8 horas luz/oscuridad y 60-70% H.R.), durante 12 semanas.

El porcentaje de micorrización se determinó previo lavado y tinción de las raíces (Phillips y Hayman, 1970) por el método de Giovannetti y Mosse (1980). En el caso de lupino, también se determinó la presencia de puntos de entrada e hifas internas según el método descrito por Ocampo *et al.* (1980).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Todas las plantas, excepto las pertenecientes a familias tales como *Cruciferae*, *Chenopodiaceae*, *Cyperaceae* y *Juncaeeae* (Gerdemann, 1975), son susceptibles de micorrizarse. Aunque no hay una especificidad bien definida en la capacidad de un determinado hongo para infectar a una determinada especie o variedad de planta, esta ausencia de especificidad de los hongos VA se está reconsiderando actualmente. De hecho, como puede observarse en las Tablas 1 y 2 las plantas de guisante y veza mostraron diferencias en cuanto a su susceptibilidad para infectarse por *G. mosseae*, pues si bien ambas especies se infectaron, el nivel de infección osciló entre un 72 y 85% para guisante (Tabla 1) mientras que la veza alcanzó un máximo de un 68% de longitud de raíces infectadas (Tabla 2). Hechos similares se observaron con *Gigaspora margarita*, la cual infectó en mayor proporción a raíces de lechuga que de cebolla (Ocampo *et al.*, 1980). Esta cuestión de especificidad se hace más palpable cuando se estudia a nivel de variedades de una misma planta. Mientras que no hay diferencia significativa en los niveles de infección alcanzados por guisante (Tabla 1), tal como ocurre con las variedades de *Festuca* (Molina *et al.*, 1978), sí se encuentran diferencias en las variedades de veza, las cuales oscilan entre un 18% en las variedades Adeza-81 y Agrar-49 y un 68% en las variedades Adeza-46 B. Resultados similares se han encontrado con otras leguminosas (Hall *et al.*, 1977).

Con respecto al lupino, la cuestión de especificidad huésped-endofito es bastante más complicada, ya que esta planta está considerada como débilmente micorrizable. De hecho, en algunos casos, se ha encontrado infección en lupino (Asai, 1944, Maeda, 1954) y bajo ciertas condiciones en *L. angustifolius*, *L. consentinii* y *L. luteus* (Trinick, 1977). En otros casos no se observó infección en estas plantas salvo cuando estaba presente una planta fuertemente susceptible a la micorrización, como es el caso de *T.*

TABLA 1

Porcentaje de longitud de raíces infectadas por *G. mosseae* en distintas variedades de guisante (*P. sativum*)

Variedades	% longitud de raíces infectadas
Alaska .....	71 ± 4
Feltham first .....	77 ± 6
J.I. 1205 .....	80 ± 7
Lincoln .....	78 ± 5
Frimas .....	75 ± 5
Filbi .....	85 ± 11
Kiki .....	77 ± 2
Herta .....	80 ± 5
Frogel .....	83 ± 2
Frisón .....	81 ± 8

Cada valor representa la media de tres repeticiones ± el error standard.

TABLA 2

Porcentaje de longitud de raíces infectadas por *G. mosseae* en diferentes variedades de veza (*V. sativa*)

Variedades	% longitud de raíces infectadas
Adeza-81 .....	19 ± 4
Agrar-49 .....	18 ± 3
Villosa .....	65 ± 2
2-141-3 .....	32 ± 4
Silna .....	61 ± 4
2-64-4 .....	61 ± 5
Adeza-46 B .....	68 ± 3

Leyenda igual que en Tabla 1.

*pratense* (Trinick, 1977) ó *T. repens* (Morley y Mosse, 1976). Bajo nuestras condiciones experimentales, las distintas variedades de lupino ensayadas (Tabla 2) no se infectaron, salvo las variedades Lublanc, Multolupa y Cargill 1983 de *L. albus* y la variedad Barpine de *L. luteus* que desarrollaron una infección no superior al 3%, aunque éstas fueron atípicas (sin presencia de vesículas y arbusculos). También se observó la presencia de algunos puntos de entrada, aunque abortivos, en las variedades Uniharvest, Uniwhite, y Marri de *L. angustifolius*; Kaliria, LA-82099, LA-108, LA-82233 y Kalina de *L. albus*; *L. pilosus* y en la variedad Vantus de *L. luteus*. El porcentaje y tipo de infección alcanzada en las variedades susceptibles, es muy similar al obtenido en otras plantas no susceptibles de

TABLA 3

Presencia de micorrizas vesículo-arbusculares en distintas variedades de lupino (Lupinus sp.) infectadas por *G. mosseae*

Variedades	% de longitud con hifas internas	Puntos de entrada por cm de raíz
<i>L. Albus</i>		
Gyulatanya	-	-
R-6002	-	-
LA-109	-	-
R-6020	-	-
Gala	-	-
LA-82175	-	-
Polaca patuchy	-	-
Arkansas	-	-
Lublanc	3 ± 1	0,2
Kaliria	-	+
LA-82099	-	+
LA-84025	-	-
Multolupa	< 1	0,1
LA-108	-	+
LA-82233	-	+
Kalina	-	-
Gargill-1983	2 ± 1	0,1
<i>L. angustifolius</i>		
E.S. Trifblue 78	-	-
Uniharvest	-	+
Uniwhite	-	+
Marri	-	+
Fest	-	+
<i>L. pilosus</i>		
	-	+
<i>L. luteus</i>		
Portugués	-	-
Vantus	-	+
Barpine	3 ± 1	0,1

(-) Ausencia de estructuras fúngicas (VA); (+) Presencia de puntos de entrada abortivos, Resto de la leyenda igual que en Tabla 1.

micorrizarse (Ocampo *et al.*, 1980) y al igual que éstas es probable que no sean efectivas en el crecimiento y desarrollo de lupino (Ocampo, 1986). Sin embargo, la aparición de estas infecciones implica una menor resistencia de estas variedades a la infección por *G. mosseae*.

Todavía no se ha determinado con claridad los mecanismos responsables de la distinta susceptibilidad de las plantas a la micorrización VA, aunque se ha apuntado la existencia de varios factores que pueden tener incidencia en ella. Entre ellos cabe destacar la geometría de la raíz, velocidad de crecimiento de la planta, nivel de nutrientes, defoliación, luz, temperatura, contenido de los exudados radicales, tamaño radicular y capacidad de exudación de las raíces (Harley y Smith, 1983). En otros casos, la constitución de las paredes (Ocampo *et al.*, 1980) y/o la existencia de sustancias tóxicas no difusibles presentes en los extractos de raíz (Ocampo *et al.*, 1985) o de sustancias tóxicas difusibles presentes primordialmente en la cubierta de las semillas (Morley y Mosse, 1975) en los casos de crucíferas y lupino respectivamente, han sido algunos de los factores responsables de la ausencia de infección por hongos formadores de micorrizas VA. Sin embargo, en la mayoría de los casos citados anteriormente, para estudiar el efecto de estos factores, ha sido necesario modificar las condiciones externas de la planta con la consiguiente alteración fisiológica de las mismas.

Con el material actualmente disponible, será posible continuar el estudio de los mecanismos implicados tanto en la ausencia de infección como de los factores que pueden intervenir para condicionar los distintos grados de susceptibilidad de una misma especie a la infección por hongos formadores de micorrizas VA.

## RESUMEN

Se ha estudiado la susceptibilidad de diferentes variedades de guisante (*Pisum sativum*), veza (*Vicia sativa*) y lupino (*Lupinus sp.*) a la infección por endofitos vesículo - arbusculares pertenecientes al género *Glomus mosseae*. No se encontró diferencia significativa en los niveles de infección alcanzados por las diferentes variedades de guisante ensayadas. Sin embargo, las variedades Agrar-49 y Adeza-81 de veza alcanzaron un porcentaje de longitud de raíz infectada de un 18%, la variedad 2-141-3 un 32%, mientras que el resto de variedades de esta planta alcanzaron entre un 61-68% de longitud de raíz infectada. Si bien ninguna de las variedades de lupino desarrollaron una infección VA típica, las variedades Lublane, Multolupa y Cargill, 1983 de *L. albus* y la variedad Barpine de *L. luteus* desarrollaron hifas internas (no superior a un 3% de la longitud de las raíces) y en las variedades Uniharvest, Uniwhite y Marri de *L. angustifolius*; LA-82099, LA-108, LA-82233 y Kalina de *L. albus*, *L. pilosus*, y la variedad Vantus de *L. luteus* se formaron algunos puntos de entrada, aunque abortivos. Estos resultados indican la existencia de variabilidad genética de veza y lupino en la susceptibilidad de estas plantas a la infección por *G. mosseae*.

Departamento de Microbiología.  
Estación Experimental del Zaidín.  
C.S.I.C. 18008-Granada

## BIBLIOGRAFIA

- ASSAI, T. (1948): Über die Mykorrhizenbildung der leguminösen Pflanzen, Jap. J. Bot., 13, 463.
- AZCON, R. and OCAMPO, J. A. (1981): Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. New Phytol., 87, 677-685.
- BAREA, J. M.; AZCON-AGUILAR, C. y ROLDAN-FAJARDO, B. E. (1985): Avances recientes en el estudio de las micorrizas V-A.I. Formación, funcionamiento y efectos en nutrición vegetal. Ann. Edaf. y Agrobiol.
- BAREA, J. M.; ESCUDERO, J. L. and AZCON-AGUILAR, C. (1980): Effect of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa*, in phosphate-fixing soils as affected by P fertilizers. Plant Soil, 54, 203-296.
- BIELESKI, R. E. (1973): Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. Annu. Rev. Plant Physiol., 24, 225-252.
- GERDEMANN, J. W. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En: The development and function of root. Ed. J. G. Torrey y D. T. Clarkson, Acad. Press. New York, págs. 575-591.
- GERLOFF, G. C. (1976): Plant efficiencies in the use of nitrogen, phosphorus and potassium, págs. 161-173. En Plant adaptation to mineral stress in problem soil. Ed. M.J. Wright. Cornell Univ. Agric. Exp. Stn. Ithaca, N.Y.
- GIOVANNETTI, M. and MOSSE, B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular - arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol., 84, 489-500.
- HALL, I. R. (1978): Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on two varieties of maize and one of sweetcorn N.Z.J. Agric. Res., 21, 517-519.
- HALL, I. R.; SCOTT, R. S. and JOHNSTONE, P. D. (1977): Effects of vesicular - arbuscular mycorrhizas on response of Grasslands Huia and Tamar white to phosphorus. N.Z.J. Agric. Res., 20, 349-355.
- HARLEY, J. L. and SMITH, S. E. (1983): Mycorrhizal symbiosis. Acad. Press, London-New York.
- HAYMAN, D. S. (1983): The physiology of vesicular - arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. bot., 61, 944-963.
- HAYMAN, D. S. (1984): Methods for evaluating and manipulating vesicular - arbuscular mycorrhizas. En: Microbiological methods for environmental biotechnology. Ed. Society for Appl. Bacteriol., págs. 95-117.
- HILL, R. R. and GUSS, S. B. (1976): Genetic variability for mineral concentrations in plants related to mineral requirements of cattle. Crop. Sci., 16, 680-685.
- MAEDA, M. (1954): The meaning of mycorrhiza in regard to systematic botany. Bumamoto J. Sci. Ser. B, 3, 57-87.
- METCALF, S. M. (1979): The influence of vesicular - arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by cotton. Ph. D. Thesis, Univ. California, Berkeley.
- MENGE, J. A.; JOHNSON, E. L. U. and PLATT, R. G. (1978): Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. New Phytol., 81, 553-559.
- MOLINA, R. J.; TRAPPE, J. M. and STRICKLER, G. S. (1978): Mycorrhizal fungi associated with *Festuca* in the western. Unites States and Canada. Can. J. Bot., 56, 1.691-1.695.
- MORLEY, C. D. and MOSSE, B. (1976): Abnormal vesicular - arbuscular mycorrhizal infections in white clover induced by lupin. Trans. Br. mycol. Soc., 67, 510-513.

- NEMEC, S. (1978): Response of six citrus rootstock to three species of *Glomus*, a mycorrhizal fungus. Proc. Florida St. Hor. Soc., 91, 10-14.
- OCAMPO, J. A. (1986): Plant competition and effect of host plant infection on VA mycorrhizal effectiveness of non host plants. Soil. Biol. Biochem. (En prensa).
- OCAMPO, J. A.; CARDONA, F. L. and EL-ATRACH, F. (1985): Effect of root extracts of non host plants on VA mycorrhizal infection and spore germination. 1st European Symp. on Mycorrhizae, pág. 49.
- OCAMPO, J. A.; MARTIN, J. and HAYMAN, D. S. (1980): Influence of plant interactions on vesicular - arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plants grown together. New Phytol., 84, 27-35.
- PHILLIPS, J. M. and 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.
- TRINICK, M. J. (1977): Vesicular-arbuscular infection and soil phosphorus utilization in *Lupinus sp.* New Phytol., 78, 2907-304.