

Aislamiento e identificación de micorrizas asociadas a *Aloe vera* (Aloeaceae) colectadas en la ciudad de Pereira.

Blandón Vega D¹, López Amaya M¹, Ocampo Cárdenas T¹, López Franco R²

¹Estudiantes. VIII Semestre. Programa de Microbiología. Universidad Libre Seccional Pereira.

²Docente Investigador. Programa de Microbiología. Universidad Libre Seccional Pereira.

Resumen

En el presente trabajo de investigación se propuso realizar el aislamiento de micorrizas asociadas a rizósfera de *Aloe vera*, mediante la toma de muestras de suelo; la primera proveniente de rizósfera de planta de *Aloe vera* cultivada en maceta; la segunda de un cultivo en eras de *Aloe vera*; y la última de una planta ornamental procedente del campus de la Universidad Libre Seccional Pereira. Posteriormente, a la muestra de suelo se le adicionaron 100 mL mezcla que fue agitada seguidamente por 15 minutos, transcurrido este tiempo se sometieron a un proceso de tamizaje del cual se recogió con cuidado la interfase que luego fue vertido en un tubo de centrifuga que contenía previamente agua. Adicionalmente se añadió una solución de sacarosa -Tween y se llevó a la centrifuga durante 5 minutos, terminado este paso y tratando de no romper la interfase, con ayuda de una jeringa se recorrió la superficie con el fin de recoger las esporas que no atravesaron la solución. Después, mediante la ayuda de un embudo y papel filtro el contenido de la jeringa fue llevado a una caja de Petri para que finalmente la muestra fuese observada con ayuda de un estereoscopio. Dentro de los resultados obtenidos, se logró la identificación de dos micorrizas presentes en las muestras pertenecientes a la maceta y el cultivo mediano de *Aloe vera*.

Palabras clave: *Aloe vera*, micorrizas, cultivo, identificación, aislamiento.

Abstract

In this research work, it was proposed to make the isolate of mycorrhizae associated with rhizosphere of *Aloe vera*, by taking soil samples; the first rhizosphere from the plant of *Aloe vera* cultivated in a pot; the second of a cultivation in beds of *aloe vera*; and the last of an ornamental plant from the campus of the Universidad Libre Seccional Pereira. Subsequently, 100 mL of the mixture was added to the soil sample, which was then agitated for 15 minutes, after that time they underwent a screening process from which the interface was carefully collected and then poured into a centrifuge tube that contained water previously. Additionally, a solution of Tween- sucrose was added and it was taken to the centrifuge during 5 minutes, after finishing this step and trying not to break the interface, with the help of a syringe the

surface was traversed in order to collect the spores that did not cross the solution. Then, by means of a funnel and filter paper, the content of the syringe was taken to a Petri dish so that finally the sample could be observed with the help of a stereoscope. Among the results obtained, the identification of two mycorrhizae present in the samples belonging to the pot and the medium crop of *Aloe vera* was achieved.

Key words: *Aloe vera*, mycorrhizae, cultivation, identification, isolation.

Objetivo general

Evaluar la presencia de hongos micorrizógenos en suelo de rizósfera asociada con plantas de *Aloe vera* (Aloeaceae).

Objetivos específicos

Aislar estructuras morfológicas de micorrizas presentes en muestras de suelo asociadas a con *Aloe vera*.

Identificar géneros de micorrizas, de aislados de rizófora asociada con *Aloe vera*.

Planteamiento del problema

La asociación micorrizógena presente en las plantas, ofrece múltiples beneficios debido a que tienen la capacidad de mejorar el crecimiento de la unión micorrícica aumentando la superficie de absorción del sistema radial, permitiendo acumular algunos nutrientes, solubilizar minerales comúnmente insolubles, para que las raíces alimentadoras funcionen y sean más resistentes a la infección que ocasionan microorganismos fitopatógenos o plagas [1].

Se decidió plantear el presente proyecto debido a que actualmente el *Aloe vera* ha cobrado gran importancia por el aumento de su producción para su uso en diversos campos como la alimentación, la salud, la belleza y los cosméticos. Por tanto, la pregunta que encamina el presente proyecto de investigación es, ¿será posible mediante el procedimiento aplicado aislar esporas de micorrizas asociadas a rizósfera de *Aloe vera*?

Introducción

Aloe vera es una planta proveniente de África, de amplia distribución geográfica en el mundo, que cuenta con 15 géneros y cerca de 700 especies. Se caracteriza por ser herbácea perenne, que produce grandes estolones y cuyas hojas son gruesas y carnosas de color verde glauco, que pueden alcanzar una longitud de hasta 50 cm, con un grosor de 5 cm y se agrupan formando rosetas; sus hojas se caracterizan por bordes con dientes espinados; sus flores son pequeñas de color amarillo, por

lo general alargadas y vistosas, cuya inflorescencia sobresale por encima de las hojas con un tamaño de 10-30cm de largo[2].

El hábitat ideal para el cultivo de esta planta son zonas de clima cálido, secos, con óptimas condiciones de humedad, desarrollándose adecuadamente en suelos franco arenosos con buen aporte de materia orgánica, aunque tolerantes a diversos tipos de suelos, facilitando así su adaptación a distintas condiciones ambientales. Sin embargo, una de las principales cualidades de las especies de *Aloe vera* es que pueden ocupar gran variedad de hábitats[3].

Aloe vera se cultiva de 0 a 1500 metros sobre el nivel del mar, siendo su óptimo los 400 a 500 m, con temperatura de crecimiento entre 18 y 30 °C, pudiendo alcanzar hasta los 40 °C; se puede afectar con temperaturas inferiores a 5 °C, necesitando altos niveles de luz y humedad relativa entre 40-85%[4].

Su propagación es vegetativa mediante la emisión de hijuelos, que en el periodo de un año es posible obtener de 5 hasta 15 de ellos. El momento en el que se realiza la separación de la planta madre, con un tamaño de 15 a 30cm y una edad de 1 año, se procede a su plantación en el suelo, bajo condiciones óptimas que favorezca el crecimiento de la planta[5].

El suelo es un ecosistema conformado por partículas sólidas, agua y aire, convirtiéndose así en un hábitat para un sin número de organismo. Clasificados de acuerdo a su tamaño, macro, meso y microorganismos, los cuales interactúan entre sí y con el ambiente que los rodea, cumpliendo con diferentes funciones. Entre los microorganismos se cuentan hongos que presentan la capacidad de asociarse con otros organismos de forma simbiótica, con el fin de obtener beneficios, que por ellos mismos serían incapaces de conseguir. Las simbiosis fúngicas más conocidas son las que se establecen con algas para formar líquenes y las que se presentan con las raíces de las plantas vasculares para formar micorrizas[6,7].

La función principal de las micorrizas es facilitar a la planta la adquisición y absorción de agua, fósforo y nitrógeno, entre otros, sumado a la protección ante el ataque de parásitos, hongos patógenos y nematodos, al generar sustancias de acción antibiótica u ocupar el espacio en la raíz que colonizaría el patógeno. También, aumentan el área de exploración de la raíz, generando un mejor flujo del suelo a la planta. Dicha simbiosis contribuye a mejorar la capacidad productiva de suelos que se han visto afectados por diversas acciones (desertificación, salinización, erosión hídrica y eólica), mediante el enriquecimiento de materia orgánica y la formación de agregados, permitiendo la adhesión de partículas, debido a una proteína exudada por el micelio y la glomalina; así se mejora su estructura y estabilidad, que incrementa la capacidad de retención de agua y reduce el riesgo de erosión; además, el hongo toma la glucosa y otros compuestos orgánicos básicos de la planta, que no puede sintetizar[8,9].

Para que se forme una micorriza es necesario que exista en el suelo un inóculo del hongo formador de esta asociación, que puede ser nativo o inoculado a un cultivo por efectos antrópicos. Tanto el hongo como la raíz sufren una serie de cambios bioquímicos que facilitan al hongo su ingreso a la raíz, para formar seguidamente formar la asociación micorrizógena. Seguidamente, se forman unas estructuras llamadas vesículas y otras arbusculos, encargadas de traspasar a la planta los nutrimentos que el micelio del hongo ha tomado desde el suelo y también de pasarle al hongo el carbono que la planta libera por la raíz[7].

Se ha incrementado significativamente el uso de las micorrizas como fertilizantes biológicos, bioprotectores y biorestauradores, gracias a todos los beneficios que otorga, entre ellos, la protección de los cultivos [10-6].. González y Rivera (2012) reportaron incrementos en el rendimiento del promedio de cultivos de arroz, algodón, maíz, trigo, soya, frijol y girasol en Colombia, Cuba y Bolivia. Pese a que las micorrizas como biofertilizantes si se han empleado en otros cultivos se encuentran escasas referencias acerca del tema en el cultivo de *Aloe vera*, por lo que proponen un reto en esta aérea[11].

Mediante la reinoculación de una cepa eficiente de HMA, cada uno o dos años, con dosis no mayores de 4×10^5 esporas por hectárea, garantizó la permanencia de un funcionamiento micorrízico efectivo del pasto *Brachiaria decumbens*, bajo régimen de corte intensivo, permitiendo la movilización de P y K del suelo en cantidades funcionales para el vegetal, a través de un esquema de fertilización eficiente, que contribuyó al ahorro de hasta un 57 % de las dosis de fertilizantes aplicados[11].

Metodología

Para llevar a cabo la identificación de micorrizas, se contó con tres muestras de suelos diferentes, la primera de ellas proveniente de la siembra de *Aloe vera* en maceta, la siguiente se extrajo de un cultivo en cama de *Aloe vera* y la última se obtuvo como control de una planta ornamental del Camus Belmonte, de La Universidad Libre Seccional Pereira.

Una vez obtenidas las muestras se analizaron por separado, aplicando la metodología propuesta por Medina y Rodríguez (2010) [12; para ello se pesaron 10g del suelo y se depositaron en un beaker de 500ml en el cual se adicionaron 100ml de agua destilada, continuando con agitación constante por medio de una varilla de vidrio durante 15 minutos.

Transcurrido este periodo de tiempo se vertió la muestra en el tamiz de 70 μm y se lavó con agua corriente el contenido del tamiz superior. A continuación se recogió cuidadosamente la interfase y se depositó en un tubo de centrifuga de 10ml, con 5ml de agua y 5ml de la solución de sacarosa 72% con tween 20 al 2%. Se centrifugaron los tubos durante 5 minutos a 2000 rpm, se sacaron de la centrifuga de modo que no se rompiera la interfase agua-sacarosa y por medio de una jeringa se extrajo un volumen de la interfase depositándose el contenido de la jeringa sobre

papel filtro con ayuda de un embudo y se realizó visualización en un estereoscopio. De la misma manera se procedió para las tres muestras analizadas.

Resultados y discusión

Al analizar las muestras de *Aloe vera* tomadas de cultivo y maceta se pudo observar en ambas, presencia de esporas de hongos micorrizógenos, según lo encontrado por Medina y Rodríguez (2010) [12-13], en un estudio realizado en La Habana, Cuba cuyo objetivo era el aislamiento e identificación de hongos micorrizógenos arbusculares, fue posible determinar que las esporas encontradas en la muestra de maceta corresponden a *Glomus mosseae-like* (Fig.1); que se caracteriza por tener una forma globosa o subglobosa de color pardo claro y de tamaño entre 100 y 260 μm , que consta de tres capas (L1, L2 y L3). Respecto a la primera capa se ha descrito como hialina, mucilaginosa con 1.4 a 2.5 μm de espesor; seguidamente la capa L2 es generalmente rígida, hialina y con un espesor de 0.8 a 1.6 μm , finalmente la capa 3 consta de un color amarillo pardo compuesta por subcapas o laminas que tienen de 3.2 a 6.4 μm de espesor [12, 13, 14].

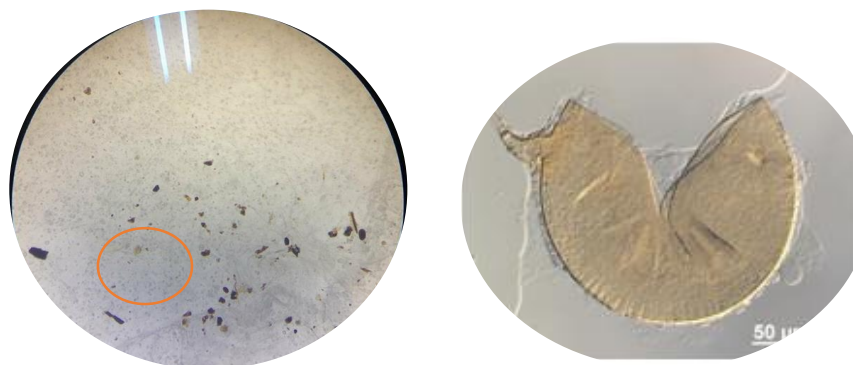


Figura 1. A) ubicada a la izquierda corresponde a la muestra de *Aloe vera* en maceta vista en el estereoscopio. B) ubicada a la derecha es una micrografía a 50 μm de *Glomus mosseae-like* tomada de Medina y Rodríguez (2010), utilizada como referente.

De igual forma, con base al estudio realizado por Medina y Rodríguez (2010) [12-13], en la muestra de cultivo de *Aloe vera*, fue posible observar esporas de hongos micorrizógenos que pertenecen a la especie *Glomus ambisporum* (Fig.2); se identifica por su color pardo rojizo, su forma globosa y tener un tamaño entre 60 y 100 μm ; está constituida por 3 capas (L1, L2 y L3). La primera capa presenta una superficie reticulada que contiene placas hexagonales en una disposición ordenada, es subhialina y tiene entre 2 a 4 μm de espesor, la capa L2 está compuesta por subcapas finamente adheridas de color pardo oscuro y tiene de 3 a 14 μm de espesor, por último la capa L3 es la más interna de la pared de la hifa siendo delgada y flexible teniendo menos de 1 μm de grosor [12, 13, 14].

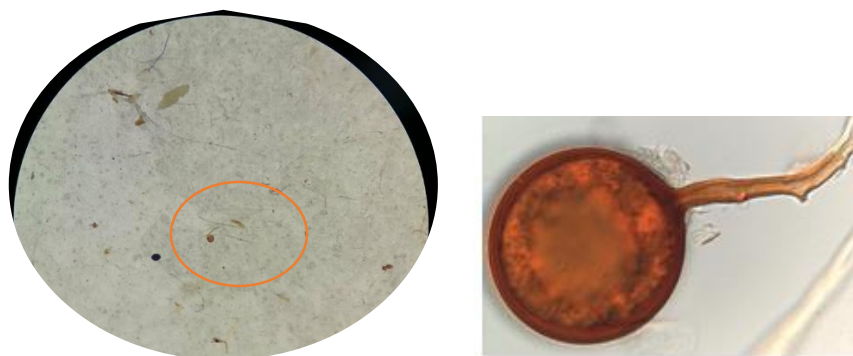


Figura 2. A) se obtuvo a partir de la muestra de *Aloe vera* en cultivo vista desde un estereoscopio. B) ubicada a la derecha es una micrografía a 20 μ m de *Glomus ambisporum* tomada de Medina y Rodríguez (2010), utilizada como referente.

Los resultados obtenidos son consistentes con los hallados por Burni y sus compañeros de trabajo en los estudios de micorrizas arbusculares de *Aloe vera* en Pakistán y la asociación de estas a plantas ornamentales en los cuales se determinó que en el suelos rizosferico de *Aloe vera* el género más común fue *Glomus*. [11, 12].

Finalmente, de la muestra de la planta ornamental tomada del campus de la Universidad Libre Seccional Pereira, no se encontró presencia de asociaciones micorrizógenas

Conclusiones

De esta forma es posible concluir que los hongos micorrizógenos que más se observan asociados con *Aloe vera* pertenecen al género *Glomus*.

La información acerca de las micorrizas en *Aloe vera* aún es muy poca y se recomienda realizar más investigaciones sobre el tema.

Referencias

1. León Velandia D. evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihit esculenta* sp) en dos regiones de la amazonia colombiana. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de ciencias, Microbiología agrícolas y veterinaria. Bogotá D.C Diciembre de 2006. Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis296.pdf> . Consultado el 24 de agosto de 2017.
2. Ramírez G. Sábila (*Aloe vera*). Fitoterapia. Revisiones monográficas. NATURA M. 2003; 21(1):26-31. Consultado el 28 de Septiembre de 2017.
3. Jiménez Castellanos H, Malagòn Sánchez L. *Aloe vera* investigación biológica del cultivo. SENA. Centro de la tecnología del diseño y la productividad empresarial regional Cundinamarca. Sena Girardot. Grupo de investigación Tecnología y productividad. Disponible en:

http://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/3588/1/aloe_vera.pdf. Consultado el 28 de Septiembre de 2017.

4. Saavedra M. Salazar M. Jiménez J. Quiñonez B. Salas E. Urdaneta L. evaluación *in vitro* del efecto de extractos de *Aloe vera* sobre *Streptococcus mutans*. Revista Acta Bioclina. Volumen 4, N 8, Julio-Diciembre 2014. Disponible en: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/4969/4791> consultado el 28 de Septiembre de 2017.

5. Ferraro G. Revisión de la *Aloe vera* en la dermatología actual. Revista Argentina de dermatología. 2009, 90: 2018-223. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/rad/v90n4/v90n4a04.pdf>. Consultado el 28 de Septiembre de 2017.

6. Betancourt Bastidas, Rafael Ramón. Los beneficios de los hongos simbiotes. Córdoba, AR: El Cid Editor | apuntes, 2011. ProQuest ebrary. Web. 28 September 2017.

7. Corpoica. Las Micorrizas: Una Opción Sostenible De Manejo De Suelos y Nutrición De Plantas. Disponible en: https://books.google.com.co/books?id=bTmd-XYrPwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. Consultado el: 28 de septiembre de 2017.

8. Camargo Ricalde S, Montaña Manuel N, Rosa Mera C, Montaña Arias S. Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. 1 de julio 2012 • Volumen 13 Número 7. • ISSN: 1067-6079. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>. Consultado el: 28 de septiembre de 2017.

9. El semillero, su aliado forestal. Micorrizas. Guía de Reforestación- 2ª. Edición. Disponible en: <http://www.elsemillero.net/pdf/Micorrizas.pdf>. Consultado el: 28 de septiembre de 2017.

10. FENIAGRO. Biofertilizantes, bioprotectores y biorestauradores micorricicos para la produccion agroecologica en las fincas de los productores de café. Federación de Cooperativas Agroindustriales de Nicaragua R.L. Managua, 2010. 87p. Disponible en: <http://www.renida.net.ni/renida/funica/REE14-F981b.pdf>. Consultado el: 28 de septiembre de 2017.

11. González PJ y Rivera R. (2012). Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria*. Editorial Universitaria.

12. Medina C, L; Rodriguez Y. (2010). Aislamiento e identificación de hongos Micorrizicos Arbusculares Nativos de la Zona de las Caobas, Holguín. SciELO. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000300014.

- 13.** Tabassum Yaseen, Ayesha Naseer and Muhammad Shakeel , 2016. Investigating the Association of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Selected Ornamental Plants Collected from District Charsadda, KPK, Pakistan. Science, Technology and Development, 35: 141-147 DOI: 10.3923/std.2016.141.147.
- 14.** Burni T, Nasreen S, Yaseen T, Bibi S. arbuscular mycorrhizal studies in *Aloe vera*. Wudpecker Jurnal of Agricultural Research. Vol. 2(1), pp. 039-042, Enero 2013. Departamento de Botánica, Universidad de Peshawar, Pakistan. Disponible en: <http://pakacademicsearch.com/pdffiles/agr/194/3942%20Vol%202%20issue%201%20January%202013.pdf> consultado el 30 de Octubre de 2017.