

Artículo científico

Rendimiento frutal de tres variedades de *Fragaria ananassa* en relación con el grado de colonización por micorrizas arbusculares y otros endófitos fúngicos, Tucumán, Argentina. Respuesta histológica radical a la interacción

Fruit yield of three varieties of *Fragaria ananassa* related to degree of colonization by arbuscular mycorrhizae and other fungal endophytes, Tucumán, Argentina. Radical histological response to the interaction

S.V. Lizarraga¹; G.A. Perez²; A.I. Ruiz¹; S.M. Salazar^{2,3}; J.C. Díaz Ricci⁴; P.L. Albornoz^{1,5*}

¹ Instituto de Morfología Vegetal, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (T4000JFE), Tucumán, Argentina.

² Estación Experimental Agropecuaria Familia, INTA, Tucumán, Argentina.

³ Cátedra de Horticultura, Facultad de Agronomía y Zootecnia, UNT.

⁴ Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO, CONICET-UNT).

⁵ Cátedra de Anatomía Vegetal, Facultad de Ciencias Naturales e IML, Universidad Nacional de Tucumán, Miguel Lillo 251, (T4000JFE), Tucumán, Argentina. UNT. *E-mail: albornoz@csnat.unt.edu.ar

Resumen

La provincia de Tucumán aporta el 60 % de su producción de frutilla al Mercado Central de Buenos Aires. En el sistema radical de las plantas se encuentran hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y otros hongos como los oscuros septados (DSE) que se asocian simbióticamente y se relacionan con la producción. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar el rendimiento frutal de las variedades Camarosa, Sabrosa y Ventana, en relación con el grado de colonización por HMA, DSE y por otro hongo septado desconocido (HSD); cuantificar y caracterizar la colonización radical entre las variedades; y analizar la respuesta histológica radical de la interacción, durante dos campañas de cultivo. Las raíces fueron tratadas según técnicas convencionales. Para las tres variedades se cuantificó el rendimiento y la colonización por HMA, DSE y HSD. El análisis de rendimiento evidenció que la variedad Camarosa fue la de mayor potencial productivo en las dos campañas. En la campaña 2011 se observó el más alto incremento en los rendimientos de frutos totales para las tres variedades y el menor porcentaje de colonización micorrícica; esto podría relacionarse con el elevado contenido de fósforo (44 ppm) en el suelo. Las células del parénquima cortical evidenciaron colonización por HMA (*Arum* y *Paris*), por DSE y por HSD, en las tres variedades. El crecimiento primario evidenció estela diarca y tetraarca en la variedad Camarosa, diarca en Sabrosa y diarca a pentarca en Ventana. La co-ocurrencia de HMA, DSE y HSD, en las variedades de frutillas, crea interrogantes sobre la relación funcional de la asociación.

Palabras clave: Rendimiento frutal; Micorrizas arbusculares; Hongos oscuros septados; Frutilla; Anatomía raíz.

Abstract

The province of Tucumán contributes 60 % of its strawberry production to the Central Market of Buenos Aires. In the root system of plants there are arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and fungi such as dark septate endophyte (DSE) that are symbiotically associated and related to production. The objectives of this work were to evaluate fruit performance of Camarosa, Sabrosa and Ventana varieties, related to the degree of colonization by AMF, DSE and another unknown septate fungus (USF); to quantify and characterize the radical colonization among the varieties; and to analyze the radical histological response of the interaction, during two crop seasons. Roots were treated according to conventional techniques. For the three varieties, yield and colonization by AMF, DSE and USF were quantified. Yield analysis showed that Camarosa variety had the highest productive potential in the two seasons. In the 2011 campaign, the highest increase in total fruit yield for the three varieties and the lowest percentage of mycorrhizal colonization were observed; this could be related to a high phosphorus content (44 ppm) in the soil. Cells of the cortical parenchyma showed colonization by AMF (*Arum* and *Paris*), DSE and USF in all three varieties. Primary growth evidenced diarch and tetrarch stela in Camarosa variety, diarch in Sabrosa and diarch to pentarch in Ventana. The co-occurrence of AMF, DSE and for USF, in strawberry varieties, raises questions about the functional relationship of the association.

Keywords: Fruit yield; Arbuscular mycorrhizae; dark septate endophyte fungi; Strawberry; Root anatomy.

Recibido 17/09/18; Aceptado 12/12/18.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Introducción

La frutilla comercial, *Fragaria ananassa*, es un híbrido octoploide de mejor calidad y productividad que las especies silvestres diploides emparentadas con la frutilla comercial (Angulo Carmona, 2009). La alta variabilidad y capacidad de adaptación de este híbrido permitió la extensión de su cultivo en diversos países (Hancock, 1990; Larson, 1994; Harrison *et al.*, 1997). En Argentina, la superficie cultivada de frutilla abarca unas 1.660 ha y se lleva a cabo en 9 provincias, siendo Tucumán y Santa Fe las principales productoras de esta fruta fina. Ambas provincias proveen el 60 % de la frutilla fresca al Mercado Central de Buenos Aires (Kirschbaum y Hancock, 2000; Kirschbaum *et al.*, 2017). En la provincia de Tucumán el cultivo abarca unas 350 ha, con cosechas periódicas de junio a noviembre (Kirschbaum y Mamana, 2008). El espectro varietal que se cultiva en Tucumán permite tener fruta fresca todo el año, pero requiere ajustes en las prácticas de manejo y conocimiento del potencial productivo de las mismas (Agüero y Kirschbaum, 2013).

Entre las variedades que se cultivan en Tucumán, se encuentran Camino Real, Camarosa, Sabrosa y Ventana. El sistema radical de estas variedades es adventicio, con raíces que emergen de la base del tallo y llegan hasta los 30 cm de profundidad. En este sistema es frecuente encontrar diferentes tipos de hongos: micorrízico-arbusculares (HMA), pertenecientes al Phylum Mucoromycota, subphylum Glomeromycotina, y hongos septados oscuros (DSE, del inglés Dark Septate Endophytes), del Phylum Ascomycetes anamorfos dematiáceos (Wang y Qiu, 2006; Spatafora *et al.*, 2016). Los HMA forman asociaciones simbióticas que van desde el mutualismo al parasitismo (Johnson *et al.*, 1997; Jumpponen, 2001; Barrow y Aaltonen, 2001; Barrow, 2003; Schulz y Boyle, 2005). Se caracterizan porque el hongo coloniza intracelularmente las células corticales y epidérmicas de la raíz, formando estructuras denominadas arbusculos (Harrison *et al.*, 1997; Harley y Smith, 1983). De acuerdo con sus características morfológicas se diferencian dos tipos principales de colonización: *Arum* y *Paris* (Gallaud, 1905; Kubota *et al.*, 2005; Selvaraj y Chellappan, 2006; Smith y Read, 2008). Los DSE se caracterizan por presentar hifas septadas melanizadas y microesclerocios (Peterson *et al.*, 2004), que colonizan inter e intracelularmente sobre todo el parénquima cortical, aunque tam-

bién han sido encontrados en la epidermis (Currah y Tsuneda, 1993; Jumpponen y Trappe, 1998; Jumpponen, 2001; Barrow y Aaltonen, 2001; Barrow, 2003; Newsham, 2011). Pocas veces, estos hongos se hallan en tejidos vasculares; y en este caso, son considerados patógenos con distinto grado de virulencia (Fernando y Currah, 1996; Peterson *et al.*, 2008). Algunos autores consideran que los hongos DSE pueden formar hifas hialinas septadas, en ciertas condiciones, tejidos y/o etapas fenológicas del hospedante (Barrow y Aaltonen, 2001; Mandyam y Jumpponen, 2005) y éstas han sido observadas asociadas a hifas melanizadas o a microesclerocios (Haselwandter y Read, 1982; Newsham, 1999; Yu *et al.*, 2001). Inclusive, otros autores han propuesto referirse a ellos sólo como endofitos septados (O'Dell *et al.*, 1993).

Brundrett *et al.* (1985) y Brundrett y Kendrick (1988) al referirse a las modificaciones anatómicas del sistema radical debido a asociaciones micorrízicas arbusculares, citan la presencia de canales de aire longitudinales en el parénquima cortical en la morfología tipo *Arum*. Brundrett *et al.* (1985) se refiere a estos canales como las estructuras que favorecen el desarrollo de hifas dentro de la raíz.

Los antecedentes sobre los HMA en *Fragaria ananassa* se relacionan principalmente con la inoculación de estos hongos para promover el crecimiento y desarrollo de la planta; sin embargo, los resultados son variables y dependen de la especie de hongo inoculado, de la variedad de frutilla utilizada y de las condiciones de cultivo (Niemi y Vestberg, 1992; Williams *et al.*, 1992; Rivera-Chávez *et al.*, 2012; Salgado-Barreiro *et al.*, 2012).

En la provincia de Tucumán se realizaron ensayos a campo en las variedades Camino Real, Camarosa y Florida Festival inoculadas con *Azospirillum brasilense*, en combinación con brasinoesteroides (hormona reguladora de crecimiento), con el propósito de evaluar la respuesta agronómica y el rendimiento frutal. En todos los casos se observó un crecimiento vegetativo más vigoroso con incremento en el rendimiento promedio total de fruta en relación con las plantas controles (Salazar *et al.*, 2012; Lovaisa *et al.*, 2015; Lovaisa *et al.*, 2016; Salazar *et al.*, 2016). En otro estudio realizado por Lizarraga *et al.* (2015), se cuantificó y describió la morfología de los HMA, se citó a los DSE y otro hongo septado intracelular y se caracterizó la anatomía del sistema radical en la variedad Camino Real en dos campañas de cultivo. Se evidenció un mayor porcentaje de co-

lonización por HMA y DSE en el primer año en concordancia con los menores niveles de fósforo en el suelo.

El objetivo de este trabajo fue extender los resultados obtenidos previamente a otras variedades de frutilla. Específicamente se propuso evaluar el rendimiento frutal de las variedades Camarosa, Sabrosa y Ventana en relación con el grado de colonización por micorrizas arbusculares y otros endófitos fúngicos, caracterizar la colonización radical de las variedades y analizar la respuesta histológica radical a la interacción durante dos campañas de cultivo.

Materiales y métodos

Análisis del suelo

Previo a la implantación del ensayo, se realizó un análisis del suelo del campo experimental en la Estación Experimental Agropecuaria Famailá, del INTA, en Tucumán, Argentina (27°03'S; 65°25' W, 363 m.s.n.m.). Para cada período evaluado se extrajeron 8 muestras de suelo de los primeros 20 cm de profundidad, las que se almacenaron en bolsas plásticas etiquetadas. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un análisis fisicoquímico donde se evaluaron las siguientes variables: pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), nitrógeno, potasio intercambiable, fósforo soluble, arcilla, limo, arena y clase textural. Las plantas fueron cultivadas en suelos sin desinfección. Dicho suelo tuvo como cultivo antecesor sorgo durante el período estival, rotando frutilla-sorgo-frutilla (Renjifo-Flores *et al.*, 2012).

Material vegetal, diseño experimental y plantación

Para los ensayos, se utilizaron plantas frescas de frutilla de las variedades Camarosa, Sabrosa y Ventana provenientes de viveros comerciales de Los Antiguos en la provincia de Santa Cruz, Argentina. El diseño estadístico para el ensayo de rendimiento fue completamente aleatorizado, con cinco repeticiones. Se usaron 40 plantas/repetición/variedad, ubicadas en 10 camellones de 0,50 m de ancho en la mesada y 0,80 m en la base, distanciados a 1,30 m entre sí. Dentro de cada camellón, cubiertos por acolchado plástico, se plantó a doble hilera a tresbolillos, a 0,30 m entre hileras y 0,35 m entre plantas. La plantación se realizó del 24 al 28 de abril en 2010 y 2011. Se consideró una

densidad de plantación de 50.000 plantas/ha.

Riego y fertilización

El nivel de riego se ajustó mediante una cinta de goteo, con 5 goteros por metro en un caudal de 1l/h, por camellón para el aporte de agua. La frecuencia de riego fue de 4 a 5 veces por semana, aportando la cantidad de agua necesaria para mantener el suelo a capacidad de campo. La fertilización nitrogenada fue de 120 kg N/ha en una relación N:P₂O₅:K₂O:CaO:MgO (1:0,7:2:0,4:0,2), que se aplicó a través del riego por goteo y la fertilización de base se realizó durante el armado de los camellones con triple 15 (N:P:K).

Evaluación del rendimiento frutal

La frecuencia de cosecha de frutos fue de dos a tres veces por semana, a lo largo del ciclo productivo, desde junio hasta noviembre inclusive. En cada cosecha se determinó el peso y número de frutos maduros, clasificándolos en frutos de calidad comercial (> a 10 g) y frutos de descarte (≤ a 10 g, deformes o podridos). Los resultados obtenidos se expresan en kilogramos por planta teniendo en cuenta el número de plantas por parcela.

Muestreo y tratamiento del sistema radical

Los sistemas radicales completos, pertenecientes a un total de 75 individuos (25 de cada variedad estudiada) fueron recolectados en la etapa de máxima fructificación a partir de plantas de origen estolonífero por lo que son adventicios. Para determinar los hongos asociados al sistema radical, las raíces correspondientes a 60 individuos (20 de cada variedad estudiada) fueron tratadas según la técnica de Phillips y Hayman (1970) y teñidas con azul de tripán en glicerina al 0,05 %. La cuantificación de los hongos en raíz se realizó siguiendo el método de intersección (McGonigle *et al.*, 1990), utilizando un microscopio óptico Olympus con aumento de 200x. En cada sistema radical se seleccionaron al azar 30 fragmentos de 1 cm de longitud y en cada fragmento se examinaron 5 intersecciones (150 intersecciones por cada individuo). Para el estudio de la anatomía radical se trabajó con el sistema completo de 5 individuos de cada variedad. Se realizaron cortes transversales a mano alzada, coloreados con una tinción doble de azul astra-safranina y montados en agua-glicerina (1:1) (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Las observaciones se realizaron en microscopio estereoscópico (Olympus) y óptico (Zeiss, Axios-

tar Plus). Las fotografías se tomaron con cámara digital Canon A620 (Power Shot 7,1 MP) y Olympus SP-350 (8MP). Los preparados de referencia fueron depositados en la histoteca del Instituto de Morfología Vegetal de la Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.

Análisis estadístico

Rendimiento frutal. Para el análisis del rendimiento de cada variedad en las dos campañas analizadas, se utilizó el programa Statistix (Analytical Software, 1996) para Windows y aplicó un análisis de la varianza seguido de prueba LSD de Fisher ($\alpha = 0,05$).

Colonización radical por HMA, por DSE y por HSD. El porcentaje de colonización por HMA (hifas, arbuscúlos y vesículas), por DSE y por HSD entre campañas se comparó mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann Whitney (Quinn y Keough, 2002). Los análisis se realizaron con el software InfoStat versión 2016 (Di Rienzo *et al.*, 2016).

Correlación rendimiento-colonización. La relación entre el rendimiento frutal y el grado de colonización de los hongos se determinó mediante un análisis de correlación. Para ello se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman de rangos ordenados (Quinn y Keough, 2002). Como variables dependientes se consideraron el peso promedio de fruta obtenida por planta y por parcela y el número de frutos promedio por planta y por parcela; mientras que las variables independientes fueron el porcentaje de colonización por HMA, DSE y HSD. A su vez, se consideraron tres variables *dummy*: una para captar el efecto del año del tratamiento (2010 y 2011) y las otras dos para captar el efecto de la variedad (Camarosa, Ventana y Sabrosa). Se trabajó con el paquete estadístico Stata (Stata software, 2012).

Resultados

Análisis del suelo

Los parámetros del suelo analizados, durante las campañas 2010-2011, se muestran en la Tabla 1.

Evaluación del rendimiento frutal

Peso de frutos maduros. En la campaña 2010, el peso total de frutos en la variedad Camarosa fue mayor que el registrado para Sabrosa y Ventana, no observándose diferencias significativas entre

estas últimas (Tabla 2). En la campaña 2011, se observó la misma tendencia, la variedad Camarosa presentó mayor rendimiento que las variedades Sabrosa y Ventana (Tabla 2).

Tabla 1. Características del suelo previo a la implantación. Para cada período evaluado se extrajeron 8 muestras de suelo de los primeros 20 cm de profundidad.

Variable analizada	Campaña 2010	Campaña 2011
pH	5,9	5,9
Conductividad eléctrica (dS/m)	1,8	1,1
Materia orgánica (%)	2,9	2,6
Nitrógeno total (%)	0,2	0,1
Fósforo soluble (ppm)	32,3	44
Potasio intercambiable (meq/100 g)	0,9	1,4
Arcilla (%)	15,6	16,6
Limo (%)	39,8	41,3
Arena (%)	44,5	42,1
Clase textural	Franco limoso	Franco limoso

Tabla 2. Rendimiento frutal en *Fragaria ananassa* var. Camarosa, var. Sabrosa y var. Ventana, bajo condiciones de campo en Famaillá (Argentina) durante las campañas 2010 y 2011.

Variedad	Rendimiento total (kg/ha)	
	2010	2011
Camarosa	48,6 ± 2,43 a	60,0 ± 3,00 a
Sabrosa	23,0 ± 1,38 b	26,0 ± 1,56 b
Ventana	25,7 ± 1,03 b	29,0 ± 1,45 b

Medias ± error estándar. Valores con letras iguales en una misma fila no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba LSD ($p > 0,05$).

Frutos de descarte. El incremento en el peso de fruto observado en la variedad Camarosa se vio acompañado de una mayor cantidad de fruta descartada para ambas campañas. La variedad Sabrosa tuvo valores similares a Camarosa sólo en la campaña 2010 (Tabla 3). La causa de descarte fue el número de frutos chicos (≤ 10 g) (Tabla 3). No se observaron diferencias significativas en cuanto al número de frutos deformes o podridos entre las variedades analizadas durante las dos campañas (Tabla 3).

HMA, DSE y HSD asociados a la raíz

Los sistemas radicales de las variedades Camarosa, Sabrosa y Ventana presentaron colonización por HMA, DSE y HSD. En todos los casos se observó a los hongos colonizando las células del parénquima cortical.

Los HMA evidenciaron dos tipos morfológicos: *Arum* y *Paris*. La morfología *Arum* fue la de mayor frecuencia (97 % en Camarosa, 70 % en Sa-

Tabla 3. Frutos de descarte de *Fragaria ananassa* var. Camarosa, var. Sabrosa y var. Ventana, bajo condiciones de campo en Famaillá (Argentina) durante las campañas 2010 y 2011.

Variedad	Frutos descartados (kg/ha)		Frutos chicos por planta (N)		Frutos deformes (N)		Frutos podridos (N)	
	2010	2011	2010	2011	2010	2011	2010	2011
Camarosa	10,3 ± 0,51 a	11,4 ± 0,79 a	17,9 ± 1,25 a	29,6 ± 2,37 a	3,0 ± 0,12 a	0,3 ± 0,02 a	6,3 ± 0,44 a	2,3 ± 0,16 a
Sabrosa	8,9 ± 0,53 ab	6,3 ± 0,31 b	13,7 ± 0,68 a	17,3 ± 0,86 b	0,4 ± 0,02 a	1,0 ± 0,05 a	1,2 ± 0,06 a	0,9 ± 0,05 a
Ventana	6,5 ± 0,26 b	6,9 ± 0,41 b	14,3 ± 0,86 a	15,0 ± 0,71 b	0,6 ± 0,04 a	0,6 ± 0,40 a	1,4 ± 0,08 a	1,0 ± 0,06 a

Medias ± error estándar. Valores con letras iguales en cada columna no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba LSD ($p > 0,05$).

brosa y 80 % en Ventana), observándose dos tipos de hifas intercelulares: gruesas y finas, estas últimas menos habituales (Figura 1A, 1B).

Las hifas gruesas mostraron estructuras en “H” y arbusculos laterales (Figura 1C). Las hifas finas portaron vesículas terminales de forma elipsoidal en las tres variedades, siendo además intercalares

en la variedad Ventana (Figura 1D, 1E). La morfología *Paris* evidenció hifas gruesas con circunvoluciones intracelulares (Figura 1F).

Los DSE presentaron hifas intercelulares castañas a veces conectadas intracelularmente a microesclerocios (Figura 1G).

El HSD encontrado evidenció hifas septadas,

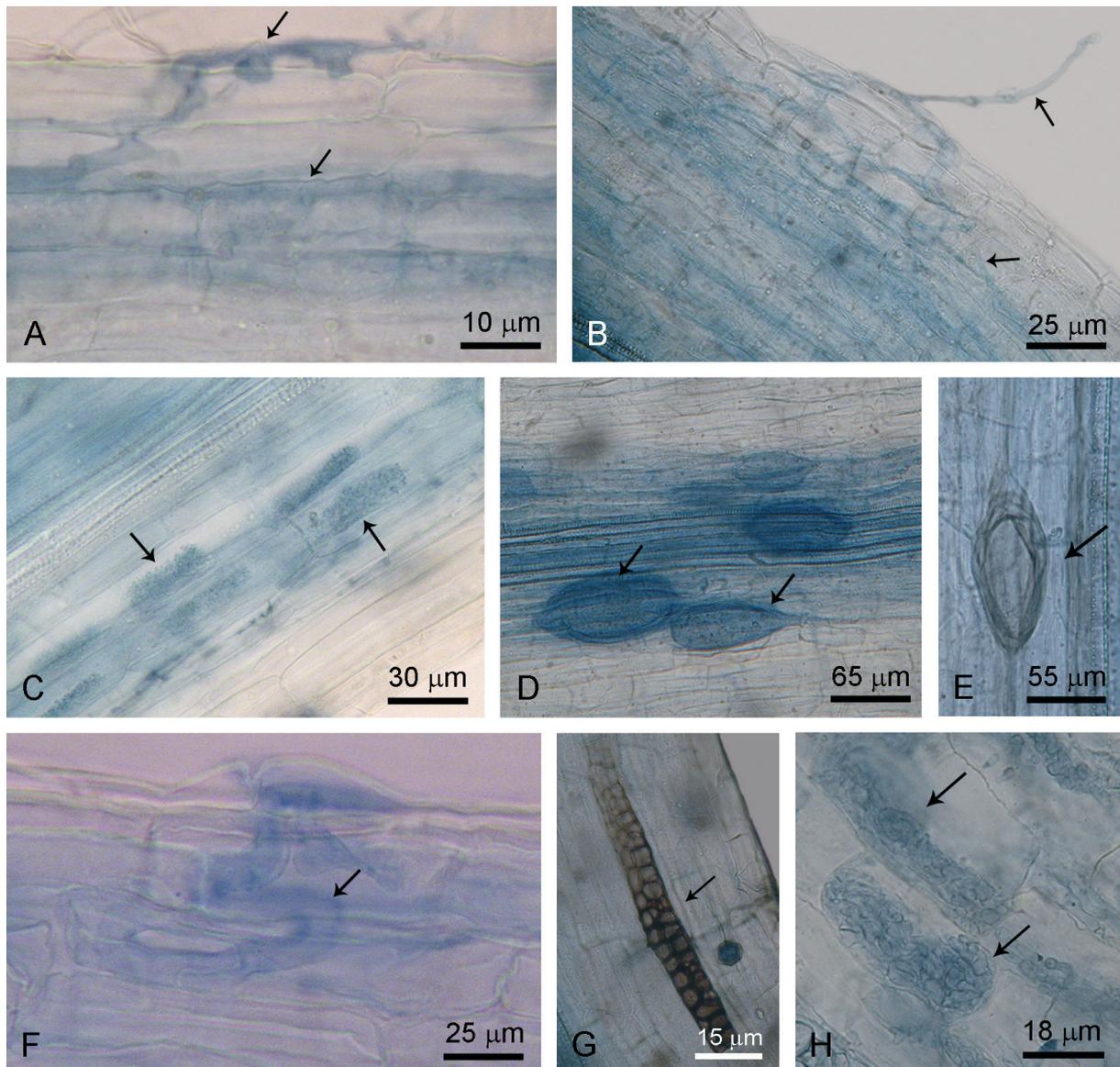


Figura 1. Micorrizas arbusculares, DSE y otro endófito fúngico. A-E: Morfología tipo Arum. A: Hifas intercelulares gruesas. B: Hifas intercelulares finas. C: Arbusculos laterales. D-E: Vesículas elipsoidales terminales e intercalares respectivamente. F: Morfología tipo Paris con circunvoluciones intracelulares. G: Microesclerocio de DSE. H: HSD.

Tabla 4. Porcentaje de colonización por hongos micorrícicos arbusculares (HMA), por hongo septado oscuro (DSE) y por hongo septado desconocido (HSD) en *Fragaria ananassa* var. Camarosa, var. Sabrosa y var Ventana, en suelos sin desinfección. N = 10.

Variedad	Campaña	% HMA			% DES	% HSD
		Hifal	Arbuscular	Vesicular		
Camarosa	2010	10,7 (6-14) a	4,7 (0-18) a	1,3 (0,7-2) a	0 (0-0) a	0 (0-0,7) a
	2011	0 (0-1,3) b	0 (0-0) b	0,3 (0-2) a	0 (0-0) a	0 (0-0) a
Sabrosa	2010	36,6 (2,6-53,3) a	0 (0-11,3) a	0 (0-15,3) a	0 (0-0) a	0 (0-0,6) a
	2011	1 (0-4,6) a	1 (0-1,3) a	0 (0-0,6) a	0 (0-0) a	0 (0-2) a
Ventana	2010	30,6 (2-58,6) a	1 (0-0) a	2,3 (0-0) a	0 (0-0,6) a	0 (0-0) a
	2011	3 (0-4,6) a	0 (0-34) a	0 (0-0) a	0 (0-0) a	1,3 (0-0,6) a

Mediana (primer y tercer cuartil). Valores con letras iguales en una misma columna, dentro de cada variedad, no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney ($p > 0,05$).

intracelulares, redondeadas a levemente alargadas (Figura 1H).

Para la campaña 2010, el porcentaje de colonización hifal y arbuscular presentó diferencias significativas en la variedad Camarosa; sin embargo, Sabrosa y Ventana mostraron el mayor porcentaje de colonización hifal (Tabla 4). Esto podría deberse a una gran dispersión observada en los porcentajes de colonización para Sabrosa y Ventana ya que los p valores estuvieron cerca de la significancia ($p = 0,06$ y $p = 0,05$ para Sabrosa y Ventana respectivamente). La colonización vesicular, por DSE y por HSD no presentó diferencias en las variedades analizadas en ninguna de las dos campañas (Figura 1D, 1E, 1G, 1H).

En el análisis de correlación para la variedad Sabrosa, se pudo observar una asociación negativa de 0,68 entre el número promedio de frutos y el porcentaje de colonización total y con micorrizas ($p = 0,03$; g.l. = 9). De la misma manera, se encontró una relación negativa de 0,73 entre el peso y el porcentaje de colonización total y con micorrizas ($p = 0,02$; g.l. = 9).

En la campaña 2010, la cual presentó menor disponibilidad de fósforo en el suelo (32 ppm), se observó una relación positiva de 0,43 entre el porcentaje de colonización de septados con ambas variables de rendimiento (peso y número de frutos, p valores 0,02 y 0,03 respectivamente; g.l. = 29 en ambos casos). Este comportamiento fue idéntico en las tres variedades evaluadas.

Anatomía radical

La estructura primaria de la raíz de las tres variedades de frutilla evaluadas, en sección transversal, presentó epidermis unistrata (Figura 2A).

Internamente, únicamente en la variedad Camarosa, se evidenció una exodermis con engrosamientos en las paredes radiales. (Figura 2B). El parénquima cortical de las tres variedades, formado

generalmente por 4-5 estratos de células, mostró canales de aire longitudinales (Figura 2C). En la Figura 2 D se observa micelio intracelular, correspondiente al tercer endófito, en las células corticales de la variedad Camarosa. En esta variedad el parénquima cortical puede llegar a tener 16 capas de células. En las tres variedades se observaron gránulos de almidón compuesto en el parénquima cortical (Figura 2E), como sustancia de reserva. En el límite interno de la corteza, de las tres variedades, se observó la endodermis con bandas de Caspary (Figura 2F). El cilindro vascular presentó periciclo unistrato (Figura 2F); la estela es de tipo diarca y tetrarca en la variedad Camarosa, diarca en Sabrosa y diarca a pentarca en Ventana (Figura 2A, 2F, 2H, 2I). En el xilema primario de la variedad Camarosa se observaron fibras mucilaginosas (Figura 2F). La estructura secundaria de las tres variedades mostró diferentes grados de desarrollo, con restos de epidermis y parénquima cortical (de la estructura primaria) adheridos a la polidermis en formación. El xilema y floema secundarios se observaron continuos debido a la continuidad del meristema cambial (Figura 2G, 2H, 2I, 2J). Los canales de aire longitudinales fueron las únicas modificaciones histológicas observadas en el parénquima cortical de raíces con crecimiento primario.

Discusión

Este trabajo evaluó el rendimiento de las variedades Camarosa, Sabrosa y Ventana en relación con el grado de colonización por hongos asociados a la raíz y analizó la respuesta de la histología radical debido a la interacción.

El análisis del rendimiento evidenció que la variedad Camarosa fue la de mayor potencial productivo en las dos campañas. En la campaña 2011 se observó el mayor incremento en los ren-

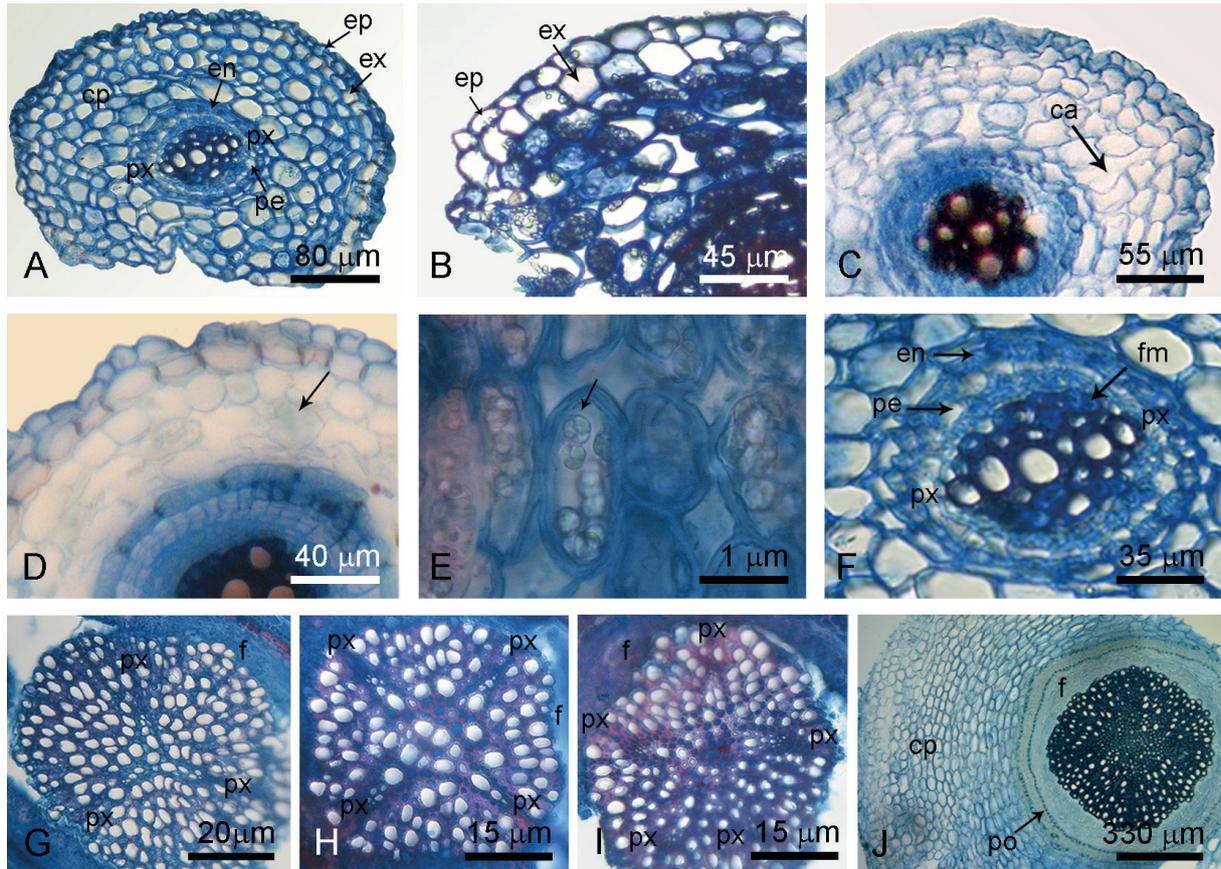


Figura 2. Anatomía radical, secciones transversales. A: Raíz con crecimiento primario. B: Detalle de epidermis y exodermis. C-E: Parénquima cortical. C: Canales de aire longitudinales intercelulares. D: Micelio intracelular correspondiente al tercer endófito. E: Gránulos de almidón compuesto. F: Estela diarca, periciclo unistrato y endodermis. G: Estela triarca. H: Estela tetraarca. I: Estela pentarca. J: Polidermis en formación. ca= canal de aire, cp= corteza parenquimática, en= endodermis, ep= epidermis, ex= exodermis, f= floema, pe= periciclo, fm= fibras mucilaginosas, po= polidermis, px= protoxilema.

dimientos de frutos totales para las tres variedades y un menor porcentaje de colonización micorrícica, lo que podría estar relacionado con el mayor contenido de P (44 ppm) en el suelo (Agüero y Kirschbaum, 2013). Esto estaría indicando que el costo-beneficio de esta asociación se vería afectado debido a la fertilización del mismo (Johnson *et al.*, 1997; Jumpponen, 2001; Barrow y Aaltonen, 2001; Barrow, 2003; Schulz y Boyle, 2005).

La correlación negativa entre la colonización por hongos en el sistema radical y el rendimiento frutal, en la variedad Sabrosa, podría estar relacionado con el bajo potencial productivo conocido para esta variedad (Kirschbaum, com. pers.). Si bien es sabida la dependencia de los HMA por parte de la planta, esta asociación depende del contenido de fósforo disponible en el suelo (Barea *et al.*, 2002; Read y Pérez Moreno, 2003). Asimismo, Salgado-Barreiro *et al.* (2012) inocularon plantas de la variedad Camino Real con HMA, las que fueron regadas con fertilizantes a distintas concentraciones y demostraron que, si bien la

inoculación promueve el crecimiento, la simbiosis se desarrolla mejor con bajas concentraciones de fertilizantes. En la provincia de Tucumán, las variedades Camino Real y Camarosa inoculadas con *Azospirillum brasilense* y brasinoesteroides evidenciaron un incremento del rendimiento frutal significativo (Lovaisa *et al.*, 2015, 2016; Salazar *et al.*, 2012, 2016). Los resultados obtenidos en este trabajo evidencian que el elevado contenido de fósforo, en ambas campañas, ejerce un efecto negativo en la colonización por HMA. En la campaña 2010 los DSE y el HSD estarían relacionados con el rendimiento frutal significativo, siendo este el primer aporte a campo bajo condiciones normales de producción. Cabe destacar que si bien las condiciones estándares son el uso de fertilizantes fosforados y nitrogenados, estos no fueron limitantes para la colonización micorrícica.

El sistema radical de las tres variedades de frutilla estudiadas presentó la coexistencia de: hongos micorrícicos arbusculares (HMA), DSE y HSD en coincidencia con Lizarraga *et al.* (2015) en la

var. Camino Real. La interacción de HMA, DSE y HSD fue también citada para otras especies vegetales, como *Fragaria vesca*, *Duchesnea indica*, *Potentilla tucumanensis*, especies de *Pedicularis*, *Trithrinax campestris*; *Miconia ioneura* y *Tibouchina paratropica*, Gentianaceae nativas de la Argentina (Urcelay *et al.*, 2005; Li y Guan, 2007; Salvarredi *et al.*, 2010; Lugo *et al.*, 2011; Albornoz *et al.*, 2014).

La variabilidad de los tipos de estela de diarca a pentarca, en el crecimiento primario de la raíz, evidencia el origen adventicio del mismo. Las modificaciones estructurales del parénquima cortical debido a la interacción con HMA, evidenció la presencia de canales de aire longitudinales, estos corroboran la presencia de la morfología *Arum*, en las tres variedades. Brundrett *et al.* (1985) se refieren a estos canales como las estructuras que favorecen el desarrollo de hifas dentro de la raíz. En la variedad Camarosa se observó micelio intracelular, evidenciando la morfología *Paris*. Modificaciones estructurales similares fueron también observadas por Albornoz *et al.* (2007) en especies de frutilla silvestre, y Lizarraga *et al.* (2015) en *Fragaria ananassa* var. Camino Real. La presencia de fibras mucilaginosas en el xilema de la variedad Camarosa; polidermis y almidón en las tres variedades son considerados elementos de valor diagnóstico, para la variedad y el género respectivamente; esto último es coincidente con lo observado por Albornoz *et al.* (2007) para *Fragaria vesca*.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo evidencian la co-ocurrencia de HMA, DSE y HSD, en las variedades de frutillas Camarosa, Sabrosa y Ventana. Se citan y describen por primera vez para Argentina los HMA, DSE, y HSD presentes en las tres variedades y se describe la anatomía radical y las modificaciones estructurales causadas por HMA en dichas variedades.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Consejo de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Tucumán (CIUNT), en el marco del programa 26/D544, el INTA a través de los proyectos PN-HFA 061281, 1106073 y Pret TUSGO 1231101 y la Fund. M. Lillo (Miguel Lillo 251, T4000JFE,

Tucumán). Agradecemos a la Fund. M. Lillo por el lugar de trabajo y a la Lic. Lelia Bordón de la sección Iconografía, de la Fund. M. Lillo, por la realización de las figuras.

Referencias bibliográficas

- Agüero J.J., Kirschbaum D.S. (2013). Approaches to nutrient use efficiency of different strawberry genotypes. *International Journal of Fruit Science* 13: 139-148.
- Albornoz P., Arias M., Castagnaro A., Díaz Ricci J.C. (2007). Comparative root anatomy of *Duchesnea indica*, *Fragaria vesca* and *Potentilla tucumanensis* (Rosaceae) in the province of Tucumán, Argentina. *Adansonia* 29: 255-267.
- Albornoz P.L., Varela O., Díaz Ricci J.C. (2014). Micorrizas arbusculares y endófitos septados oscuros en tres especies de Rosáceas de Argentina. *Lilloa* 51 (1): 9-19.
- Angulo Carmona R. (2009). "Frutilla" Cartilla Técnica. Bayer Cropscience S.A., Colombia.
- Analytical software (1996). Statistix, version 2.0. En: <https://www.statistix.com>.
- Barea J.M., Azcón R., Azcón-Aguilar C. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 343-351.
- Barrow J.R., Aaltonen R.E. (2001). Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. Roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity. *Mycorrhiza* 11: 199-205.
- Barrow J.R. (2003). Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands. *Mycorrhiza* 13: 239-247.
- Brundrett M C., Piché Y., Peterson R.L. (1985). A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Canadian Journal of Botany* 63: 184-194.
- Brundrett M., Kendrick B. (1988). The mycorrhizal status, root anatomy, and phenology of plants in a sugar maple forest. *Canadian Journal of Botany* 66: 1153-1173.
- Currah R.S., Tsuneda A. (1993). Vegetative and reproductive morphology of *Phialocephala fortinii* (Hyphomycetes, Mycelium radialis atrovirens) in culture. *Transactions of Mycological Society of Japan* 34: 345-356.
- D'Ambrogio de Argüeso A. (1986). Manual de técnicas de histología vegetal, Editorial Hemisferio Sur S.A., Argentina.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. (2016). InfoStat version 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.

- Fernando A.A., Currah R.S. (1996). A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium orchidicola* and *Phialocephala fortinii* (Fungi Imperfecti) on the growth of some subalpine plants in culture. *Canadian Journal of Botany* 74: 1071-1078.
- Gallaud I. (1905). Etudes sur les mycorrhizes endotrophes. *Revue Générale de Botanique* 17: 15-48.
- Hancock J.F. (1990). Ecological genetics of natural strawberry species. *HortScience* 25 (8): 869-871.
- Harrison R., Luby J., Furnier G., Hancock J. (1997). Morphological and molecular variation among populations of octoploid *Fragaria virginiana* and *F. chiloensis* (Rosaceae) from North America. *American Journal of Botany* 84 (5): 612-612.
- Harley J.L., Smith S.E. (1983). Mycorrhizal symbiosis. Academic Press Inc. Gran Bretaña.
- Haselwandter K., Read D.J. (1982). The significance of a root-fungus association in two *Carex* species of high alpine communities. *Oecologia* 53: 352-354.
- Johnson N., Graham J.H., Smith F. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* 135 (4): 575-585.
- Jumpponen A. (2001). Dark septate endophytes-are they mycorrhizal? *Mycorrhiza* 11: 207-211.
- Jumpponen A., Trappe J.M. (1998). Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root colonizing fungi. *New Phytologist* 140: 295-310.
- Kirschbaum D.S., Hancock J.F. (2000). The strawberry industry in South America. *HortScience* 35: 807-811.
- Kirschbaum D.S., Mamana R. (2008). Present and future of the strawberry industry in Argentina. VI Internacional Strawberry Symposium. 3-7 de marzo, Huelva, España. Pp. 429.
- Kirschbaum D.S., Vicente C.E., Cano-Torres M.A., Gambardella M., Veizaga-Pinto F.K., Antunes L.E.C. (2017). Strawberry in South America: from the Caribbean to Patagonia. *Horticulturae* 1156: 947-956.
- Kubota M., McGonigle T.P., Hyakumachi M. (2005). Co-occurrence of *Arum*- and *Paris*-type morphologies of arbuscular mycorrhizae in cucumber and tomato. *Mycorrhiza* 15: 73-77.
- Larson K.D. (1994). Strawberry. En: *Handbook of environmental physiology of fruit crops*. Schaffer B., Andersen P. (Eds.). CRC Press: Boca Raton. EEUU. Pp. 271-297.
- Li A.R., Guan K.Y. (2007). Mycorrhizal and dark septate endophytic fungi of *Pedicularis* species from northwest of Yunnan Province, China. *Mycorrhiza* 17: 103-109.
- Lizarraga S.V., Ruiz A.I., Salazar S.M., Díaz. Ricci J.C., Albornoz P.L. (2015). Micorrizas vesículo-arbusculares, endófitos septados oscuros y anatomía radical en *Fragaria ananassa* var. Camino Real (Rosaceae), en la provincia de Tucumán, Argentina. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 35 (1): 11-17.
- Lovaisa N.C., Guerrero Molina M.F., Delaporte Quintana P.G.A., Salazar S.M. (2015). Response of strawberry plants inoculated with *Azospirillum* and *Burkholderia* at field conditions. *Revista Agronómica de Noroeste Argentino* 35 (1): 33-36.
- Lovaisa N.C., Guerrero Molina M.F., Delaporte Quintana P.G.A., Salazar S.M. (2016). Total and marketable fruit yield of strawberry plants grown under different levels of nitrogen fertility and inoculated with *Azospirillum brasilense* REC3. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 36 (1): 43-46.
- Lugo M.A., Giordano P.G., Urcelay C., Crespo E.M. (2011). Colonización radical por endófitos fúngicos en *Trithrinax campestris* (Arecaceae) de ecosistemas semiáridos del centro de Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 46 (3-4): 213-222.
- Mandyam K., Jumpponen A. (2005). Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology* 53: 173-189.
- McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L., Swan J.A. (1990). A method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 115: 495-501.
- Newsham K.K. (1999). *Phialophora graminicola*, a dark septate fungus, is a beneficial associate of the grass *Vulpia ciliata* ssp. *ambigua*. *New Phytologist* 144: 517-524.
- Newsham K.K. (2011). A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytologist* 190 (3): 783-793.
- Niemi M., Vestberg M. (1992). Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 144: 132-142.
- O'Dell T.E., Massicotte H.B., Trappe J.M. (1993). Root colonization of *Lupinus latifolius* Agardh. and *Pinus contorta* Dougl. by *Phialocephala fortinii* Wang & Wilcox. *New Phytologist* 124: 93-100.
- Peterson R.L., Wagg C., Pautler M. (2008). Associations between microfungi endophytes and roots: do structural features indicate function? *Canadian Journal of Botany* 86: 445-456.
- Peterson R.L., Massicotte H.B., Melville L.H. (2004). *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press, Canada.
- Phillips J.M., Hayman D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Quinn G., Keough M. (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, Gran Bretaña.
- Read D.J., Pérez Moreno J. (2003). Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems-a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 475-492.
- Renjifo-Flores B.E., Kirschbaum D.S., Meneguzzi, N.

- (2012). Biofumigación con brócoli como alternativa a la desinfección química de suelo en lotes de frutilla. Argentina. San Miguel de Tucumán. XXIX Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán. 17-19 de octubre, Horco Molle, Tucumán, Argentina. P-037.
- Rivera-Chávez F.H., Vázquez-Gálvez G., Castillejo-Álvarez L.E., Angoa-Pérez M.V., Oyoque-Salcedo G., Mena-Violante H.G. (2012). Efecto de hongos micorrícicos arbusculares y extracto acuoso de Vermicompost sobre calidad de fresa. *Ra Ximhai* 8: 119-130.
- Salazar S.M., Lovaisa N.C., Guerrero Molina M.F., Ragout A.L., Kirschbaum D.S., Díaz-Ricci J.C., Pedraza R.O. (2012). Fruit yield of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense* RLC1 and REC3 under field conditions. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 32 (1-2): 63-66.
- Salazar S.M., Coll Y., Viejobueno J., Coll F. (2016). Response of strawberry plants to the application of brassinosteroid under field conditions. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 36 (1): 37-41.
- Salgado-Barreiro C.S., Bravo-Patiño A., Wang E.T., Cárdenas-Navarro R. (2012). Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria* 2: 171-179.
- Salvarredi L.A., Crespo E.M., Menoyo E., Filippa E.M., Barboza G.E., Lugo M.A. (2010). Micorrizas arbusculares y endófitos septados oscuros en Gentianaceae nativas de la Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 45 (3-4): 223-229.
- Schulz B., Boyle C. (2005). The endophyte continuum. *Mycological Research* 109: 661-686.
- Selvaraj T., Chellappan P. (2006). Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. *Journal of Central European Agriculture* 7 (2): 349-358.
- Smith S.E., Read D.J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, EEUU.
- Spatafora J.W., Chang Y., Benny G.L., Lazarus K., Smith M.E., Berbee M.L., Bonito G., Corradi N., Grigoriev I., Gryganskyi A., James T.Y., O'Donnell K., Roberson R.W., Taylor T.N., Uehling J., Vilgalys R., White M.M., Stajich J.E. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108: 1028-1046.
- Stata software (2012). Stata, version 12. En: <https://www.stata.com>.
- Urcelay C., Tecco P.A., Chiarini F. (2005). Micorrizas arbusculares del tipo Arum y Paris y endófitos radicales septados oscuros en *Miconia ioneuira* y *Tibouchina paratropica* (Melastomataceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40: 151-155.
- Wang B., Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16 (5): 299-363.
- Williams S.C.K., Vestberg M., Uosukaine M., Dodd J.C., Jeffries P. (1992). Effects of fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry. *Agronomie* 12: 851-857.
- Yu T., Nassuth A., Peterson R.L. (2001). Characterization of the interaction between the dark septate fungus *Phialocephala fortinii* and *Asparagus officinalis* roots. *Canadian Journal of Microbiology* 47: 741-753.