

ARTICULO BREVE

Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical

Marta Rivas ¹, Jorge Warner ², Mariela Bermúdez ³

¹ Centro de Investigación General, Universidad Estatal a Distancia, E.mail: mrvivas@arenal.uned.ac.cr

² Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica, Apdo. 1031-7050 Cartago, Costa Rica.

³ Museo Nacional de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Recibido 20-II-1997. Corregido 10-XI-1997. Aceptado 14-I-1998

Abstract: Mycorrhizal occurrence was tested in roots of 24 terrestrial and epiphytic orchid species growing at the Lankester Botanical Gardens (Cartago, Costa Rica). Standard staining and light microscopy were used to search for pelotons. Roots in contact with the substrate harbor extensive mycorrhizal fungi. There may be a wide distribution and density of the fungal flora in the secondary forests of the site, this could explain the high natural regeneration of orchids on the garden.

Key words: Mycorrhizae, Orchidaceae, cultivated plants, occurrence.

El término micorriza se refiere a la relación simbiótica entre un hongo y las raíces de una planta vascular. En la mayoría de las asociaciones micorrícicas, el hongo que coloniza la raíz se beneficia con los productos de la fotosíntesis mientras que la planta incrementa la absorción de agua y nutrientes, principalmente fósforo (Harley y Smith 1983, citados por Lesica y Antibus 1990). En algunos casos las plantas se benefician digiriendo el hongo y aprovechando sus productos.

De acuerdo con la localización de las hifas con respecto a las células, las micorrizas se clasifican en ectomicorrizas y endomicorrizas. Las hifas de las ectomicorrizas forman un manto alrededor de las raíces sin penetrar las células. En las endomicorrizas el hongo crece dentro de las células corticales de la raíz y forma estructuras características (Currah 1991). Existen dos tipos de endomicorrizas, el grupo más común se dis-

tingue por presentar hifas aseptadas, vesículas y estructuras ramificadas que le confieren el nombre de micorrizas vesículo-arbusculares. Estos hongos son probablemente táxones primitivos relacionados con Zygomycota y sus aliados. Aproximadamente 90% de las dicotiledóneas y la mayoría de las monocotiledóneas presentan este tipo de micorriza (Currah 1991).

El segundo grupo está constituido por hongos con hifas septadas que invaden las células de la raíz sin romper la membrana plasmática y crecen dentro de la célula formando estructuras globosas conocidas como pelotones (Richardson *et al.* 1993). Sus cultivos puros han dado como resultado hongos basidiomicetes y hongos imperfectos, especialmente miembros del complejo *Rhizoctonia*. Este tipo de micorriza es menos común y se encuentra solamente en las familias Ericaceae y Orchidaceae (Hadley 1982).

A pesar de que la mayoría de los miembros de la familia Orchidaceae son epífitas tropicales y subtropicales, la presencia de micorrizas ha sido poco investigada. El grupo mejor estudiado es el de las orquídeas terrestres, particularmente las especies nativas de Norteamérica (Currah *et al.* 1987), Europa (Marchisio *et al.* 1985), parte de Asia (Hadley y Williamson 1972, Hadley 1985, Tsutsui y Tomita 1986, Uetake *et al.* 1992,) y Australia (Warcup y Talbot 1967, 1971, 1980, Warcup 1981, 1985, Ramsay *et al.* 1986).

La mayoría de las especies de zonas templadas están siempre infectadas con micorrizas, pero los estudios hechos con orquídeas tropicales han mostrado grados variables de asociación (Alexander 1987). Algunos autores han escrito que la infección de micorrizas en zonas tropicales es esporádica o menos común que en orquídeas terrestres de zonas templadas (Hadley y Williamson 1972, Hadley 1986, Lesica y Antibus 1990) y otros han informado lo contrario (Benzing y Friedman 1981, Benzing 1982, Alexander 1987, Bermudes y Benzing 1989, Goh *et al.* 1992).

A pesar de que el inventario más reciente indica que en Costa Rica existen más de 1400 especies de orquídeas (Mora-Retana y García 1992), son muy pocos los estudios hechos sobre las relaciones micorrícicas en esta familia (Lesica y Antibus 1990, Richardson *et al.* 1993).

El propósito de este trabajo fue estudiar la presencia de micorrizas en orquídeas epífitas y terrestres, nativas de Costa Rica, establecidas en forma natural en los bosques secundarios del Jardín Botánico Lankester.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 24 especies de orquídeas, epífitas y terrestres, nativas de Costa Rica; 12 introducidas y 12 establecidas en forma natural

en los bosques secundarios del Jardín Botánico Lankester, localizado en la provincia de Cartago a 1400 m.s.n.m., con una temperatura diaria promedio de 18-24° C y una precipitación anual de 1200 mm. De cada especie se seleccionaron y marcaron de una a cinco plantas adultas distribuidas en diferentes partes del bosque. Luego se cortaron raíces de apariencia sana, de 2 a 5 cm de longitud, tomando como referencia el ápice, y que estuvieran en contacto con el sustrato. En las especies *Epidendrum radicans* y *Huntleya burtii*, también se estudiaron muestras de raíces aéreas. La recolección se realizó durante todo el año, aunque las terrestres se recolectaron durante la estación lluviosa de julio a diciembre.

Las raíces se lavaron y se cortaron en segmentos de aproximadamente 1 cm de longitud, se digirieron en KOH al 10% (p/v) por una hora a 90° C. Posteriormente se decantaron y lavaron varias veces en agua destilada para luego neutralizarlas con ácido clorhídrico al 1% por una hora a 90° C. Después de decantar y lavar en agua destilada, los tejidos se tiñeron con una solución de "azul directo" (Catálogo SIGMA, año 1996, producto 2535) en ácido láctico (0.5 g/l) por una hora a 90° C y se fijaron en glicerol. Se realizaron cortes longitudinales y se observaron al microscopio de luz para determinar la presencia de pelotones de hongos micorrícicos.

RESULTADOS

En todas las especies estudiadas se detectaron micorrizas en las células corticales de las raíces. Las hifas eran septadas y estaban organizadas en pelotones (Figs. 1, 2). En las orquídeas terrestres, las micorrizas se encontraron en todos los individuos examinados. En las epífitas se encontraron individuos sin micorrizas. No se observaron diferencias en la presencia de micorrizas entre especies introducidas o establecidas en forma natural (Cuadro 1).

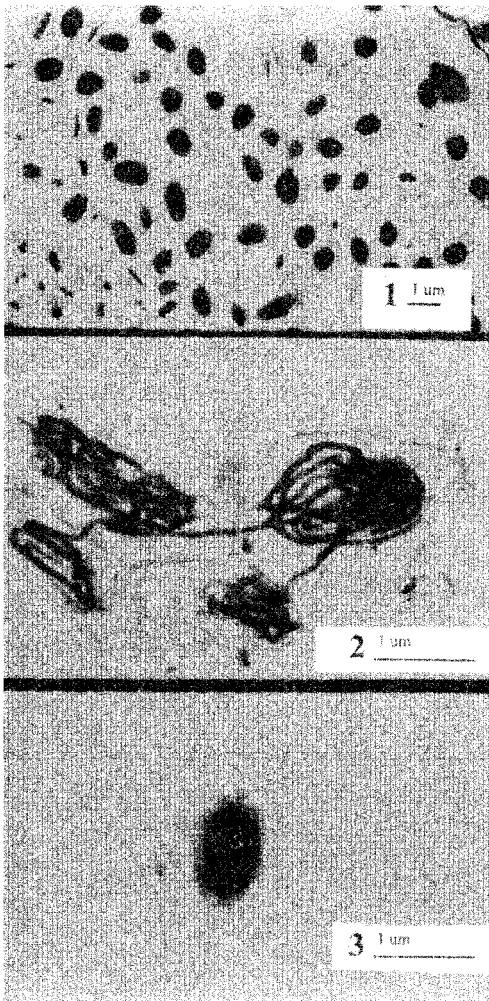


Fig. 1. Células radicales de *Sarcoglottis* sp. con pelotones.

Fig. 2. Células radicales de *Lockhartia amoena* con hifas interconectadas en células vecinas.

Fig. 3. Células radicales de *Sarcoglottis* sp. con pelotones parcialmente digeridos.

En las especies epífitas *Epidendrum radicans* y *Huntleya burtii*, no se encontraron micorrizas en las raíces aéreas, únicamente en las que estaban en contacto con el sustrato.

En todas las muestras de raíces en las que se detectaron micorrizas, la infección fue discontinua.

En las raíces de algunas especies la cantidad de células infectadas con hongos fue alta (Fig. 1). Se observaron hifas arregladas en pelotones en dos estados: uno en el que las hifas formaron ovillos y se pudieron distinguir las conexiones con las células adyacentes, además de los septos (Fig. 2), y otro con una masa amorfa de hifas en proceso de digestión (Fig. 3).

DISCUSION

El grado de infección micorrícica de las orquídeas costarricenses, epífitas o terrestres, establecidas en forma natural o introducidas en los bosques del Jardín Botánico Lankester es muy alto.

Esta observación contrasta con resultados obtenidos en estudios realizados en diversas áreas tropicales (Hadley y Williamson 1972, Hadley 1986, Lesica y Antibus 1990), incluyendo estudios realizados en los bosques lluviosos de Monteverde y la Selva en Costa Rica por Lesica y Antibus (1990) y por Richardson y colaboradores (1993) quienes encontraron incidencias de infección inferiores al 50%. Por el contrario, nuestros resultados apoyan las investigaciones que sostienen que la incidencia de infección en las orquídeas terrestres y epífitas tropicales puede ser tan alta como la observada en orquídeas terrestres de climas templados (Benzing y Friedman 1981, Benzing 1982, Alexander 1987, Bermudes y Benzing 1989, Goh *et al.* 1992).

La ausencia de micorrizas en las raíces aéreas de dos especies así como la infección discontinua, también observada en otras especies (Hadley y Williamson 1972, Benzing 1982, Goh *et al.* 1992) refuerza la importancia del papel del sustrato para el establecimiento de la infección micorrícica. En las orquídeas terrestres la infección en las nuevas raíces ocurre rápidamente mediante propágulos existentes en el suelo o por raíces infectadas o muertas el año anterior (Bridge 1979). En la mayoría de

CUADRO 1

Presencia de micorrizas en orquídeas cultivadas en el Jardín Botánico Lankester

Especie	Hábito (*)	Origen (**)	Nº individuos estudiados	Nº individuos con micorrizas
<i>Cattleya skinneri</i> Batem.	E	I	5	1
<i>Cochleanthes discolor</i> (Lindl.) Schultes & Garay	E	I	3	3
<i>Comparettia falcata</i> Poepp. & Endl.	E	N	5	5
<i>Encyclia cordigera</i> (H.B.K.) Dressler	E	I	5	4
<i>Encyclia ochracea</i> (Lindl.) Dressler	E	N	5	4
<i>Epidendrum ciliare</i> L.	E	I	5	5
<i>Epidendrum radicans</i> Pav. ex Lindl.	E	N	3	3
<i>Gongora</i> sp.	E	I	4	4
<i>Govenia liliacea</i> (Llave & Lex.) Lindl.	T	N	4	4
<i>Huntleya burtii</i> Rchb.f.	E	I	5	5
<i>Leochilus labiatus</i> (Sw.) Ktze.	E	N	5	5
<i>Lockhartia amoena</i> Endres & Rchb.f.	E	I	5	4
<i>Malaxis</i> sp.	T	N	2	2
<i>Myrmecophila tibiscinis</i> (Batem.) Rolfe	E	I	5	1
<i>Oerstedella centradenia</i> Rchb.f.	E	N	5	4
<i>Oncidium</i> sp.	E	N	5	5
<i>Ornithocephalus</i> sp.	E	N	5	5
<i>Sobralia</i> sp.	T	I	1	1
<i>Sobralia</i> sp.	T	I	1	1
<i>Sobralia</i> sp.	T	I	1	1
<i>Sobralia</i> sp.	T	I	1	1
<i>Sarcoglottis</i> sp.	T	N	5	5
<i>Sarcoglottis</i> sp.	T	N	5	5
<i>Sarcoglottis</i> sp.	T	N	3	3

* E = epífita, T = terrestre** I = introducida, N = establecida naturalmente.

las epífitas la infección es necesaria para la germinación de las semillas; después de la diferenciación de los tejidos el hongo se restringe a la zona cortical e inicia el contacto con el substrato mediante hifas que salen de las raíces y absorben nutrimentos (Bridge 1979, Harley y Smith 1983).

La abundancia de micorrizas encontradas en las orquídeas nativas, epífitas y terrestres evaluadas en este estudio, contribuye a explicar la alta regeneración natural que se observa en los bosques secundarios del Jardín Botánico Lankester. Las semillas y plántulas de orquídeas son micótrofas obligadas que dependen del suministro de carbohidratos para germinar y crecer durante los primeros estadios (Arditti

1992). Las plantas adultas se pueden considerar micótrofas facultativas que se aprovechan de las hifas para obtener nutrientes en solución y compuestos orgánicos cuando digieren las hifas (Hadley y Williamson 1972, Benzing y Friedman 1981, Hadley 1982).

Dado que la infección micorrícica depende de la distribución y densidad de la flora fúngica en el ambiente, nuestros resultados sugieren que en los bosques naturales del Jardín Botánico Lankester existe una amplia distribución de los hongos asociados usualmente con la formación de micorrizas en la familia Orchidaceae, principalmente hongos imperfectos y derivados del complejo *Rhizoctonia* (Warcup y Talbot 1971, 1980, Warcup 1981, 1985).

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se desarrolló con la colaboración del Centro de Investigación General de la Universidad Estatal a Distancia, la Universidad de Costa Rica y el Museo Nacional de Costa Rica. Agradecemos el apoyo económico de la Universidad Estatal a Distancia y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, mediante el proyecto 814-96-557. Agradecemos a Jaime Aguilar por su ayuda técnica en el laboratorio y a Fabio Blanco por permitir el uso de equipo óptico.

REFERENCIAS

- Alexander, C. E. 1987. Mycorrhizal infection in adult orchids, p. 324-327. *In* D.M. Sylvia, I. Hung & J.H. Graham (eds.). Mycorrhizae in the Next Decade, Practical Applications and Research Priorities. University of Florida, Gainesville.
- Arditti, J. 1992. Fundamentals of Orchid Biology. Wiley. Nueva York. 544 p.
- Atwood, J.T. Jr. 1986. The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of epiphytic orchids. *Selbyana* 9: 171-186.
- Benzing, D.H. 1982. Mycorrhizal infections of epiphytic orchids in southern Florida. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 51: 618-622.
- Benzing, D. H. & W.H. Friedman. 1981. Mycotrophy: its occurrence and possible significance among epiphyte Orchidaceae. *Selbyana* 5: 243-247.
- Bermudes, D. & D.H. Benzing. 1989. Fungi in neotropical epiphyte roots. *BioSystems* 23: 65-73.
- Bridge, W.C. 1979. The ecology of fungus. CRC, Boca Raton, Florida, p.187-190.
- Currah, R.S. 1991. Taxonomic and developmental aspects of the fungal endophytes of terrestrial orchid mycorrhizae. *Lindleyana* 6: 211-213.
- Currah, R.S., L. Singl & S. Hambleton. 1987. New records and taxa of fungi from the mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. *Canad. J. Bot.* 65: 2473-2482.
- Goh, C.J., A. A. Sim & G. Lim. 1992. Mycorrhizal association in some tropical orchids. *Lindleyana* 7: 13-17.
- Hadley, G. 1982. Orchid mycorrhizae. p. 83-118. *In* J. Arditti (ed.). *Orchid Biology: reviews and perspectives II*. Cornell University, Ithaca, Nueva York.
- Hadley, G. 1985. Mycorrhiza in tropical orchids, p.154-159. *In* A. N. Rao (ed). *Proceedings of the 5th Asian Orchid Congress Seminar*, Singapur., Parks and Recreation Department, Ministry of National Development. Singapur.
- Hadley, G. 1986. Mycorrhiza in tropical orchids, p.154-159. *In* A. N. Rao (ed.). *Proceeding of the 5th Asian Orchid Congress Seminar*, Singapur. Park and Recreation Department, Ministry of National Development, Singapur.
- Hadley, G. & B. Williamson. 1972. Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. *New Phytol.* 71: 1111-1118.
- Harley, J.L. & S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic, Londres, p.268-295.
- Lesica, P. & R. Antibus. 1990. The occurrence of mycorrhizae in vascular epiphytes of two Costa Rican Rain Forest. *Biotropica* 22: 250-258.
- Marchisio, V.F., G. Berta, A. Fontana & F.M. Mannina. 1985. Endophytes of wild orchids native to Italy: their morphology, caryology, ultrastructure and cytochemical characterization. *New Phytol.* 100: 623-64
- Mora-Retana, D.E & J.B. García. 1992. Lista actualizada de las orquídeas de Costa Rica. *Brenesia* 37: 79-124.
- Ramsay, R.R., K. Sivasithamparam & K.W. Dixon. 1987. Anastomosis groups among *Rhizoctonia* like endophytic fungi in southwestern Australian *Pterostilis* species (Orchidaceae). *Lindleyana* 2: 161-166.
- Richardson, K.A., R.S. Currah & S. Hambleton. 1993. Basidiomycetous endophytes from the roots of Neotropical epiphytic Orchidaceae. *Lindleyana* 8: 127-137.
- Tsutsui, K. & M. Tomita. 1986. Symbiotic germination of *Spiranthes sinensis* Ames associated with some orchid endophytes. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* 62: 440-452.
- Uetake, Y., K. Kobayashi & A. Ogoshi. 1992. Ultrastructural changes during the symbiotic development of *Spiranthes sinensis* (Orchidaceae) protocorms associated with binucleate *Rhizoctonia* anastomosis group C. *Mycol. Res.* 96: 199-209.

- Warcup, J.H. 1981. The mycorrhizal relationships of Australian orchids. *New Phytol.* 87: 371-381.
- Warcup, J.H. 1985. *Rhizanthella gardneri* (Orchidaceae), its endophyte and close association with *Melaleuca uncinata* (Myrtaceae) in Western Australia. *New Phytol.* 70: 99-273-280.
- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1967. Perfect states of Rhizotonia associated with orchids. *New Phytol.* 66: 631
- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1971. Perfect states of Rhizotonia associated with orchids II. *New Phytol.* 70: 35-40.
- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1980. Perfect states of Rhizotonia associated with orchids.III. *New Phytol.* 86: 267-272.