

**MÁSTER PROPIO EN AGROECOLOGÍA,
SOBERANÍA ALIMENTARIA, ECOLOGÍA URBANA Y
COOPERACIÓN AL DESARROLLO RURAL**

**Potencialidades de las especies canarias de *Artemisia* bajo manejo
agroecológico**

CURSO 2020-2021

Alumno/a: Marta Selma Garzón Molina

Tutor/a: María del Carmen Jaizme-Vega

Cotutor/a: Mónica González González

La Laguna, noviembre 2021



RESUMEN

Título: Potencialidades de las especies canarias de *Artemisia* bajo manejo agroecológico

Resumen:

Artemisia es un género de plantas que se distribuye principalmente en zonas áridas y que comprende alrededor de unas 350 especies, muy estudiadas por sus conocidas propiedades medicinales. Así, se ha descrito que distintas especies de *Artemisia* poseen, entre otras, actividad antiviral, antioxidante, fúngica, herbicida, insecticida y antimicrobiana, lo que explica su amplio uso tradicional en todas las partes del mundo. Sus propiedades terapéuticas están relacionadas con su contenido en distintos metabolitos secundarios, tales como terpenos, lactonas sesquiterpénicas, flavonoides, cumarinas, esteroides, etc. Debido a estas importantes propiedades terapéuticas, se considera de interés evaluar su potencial a nivel agronómico y en concreto su capacidad para formar simbiosis con microorganismos benéficos de la rizosfera (hongos micorrícicos). A pesar de la intensa investigación desarrollada en los últimos años en diferentes especies de *Artemisia*, no existen estudios científicos sobre el potencial agronómico y terapéutico de las especies endémicas y nativas de *Artemisia* de las Islas Canarias. El objetivo de este trabajo de investigación es hacer una primera aproximación al estudio de la potencialidad agroecológica de las tres especies de *Artemisia* endémicas o nativas de Canarias. Los resultados del estudio avalan la potencialidad de estas especies para entrar en simbiosis con estos hongos benéficos de la rizosfera, invitando a profundizar en esta línea de investigación tan poco desarrollada.

Palabras clave: Micorrizas arbusculares, agroecología, especies endémicas, incienso canario.

Autora: Marta Selma Garzón Molina

Localidad y fecha: La Laguna, noviembre 2021

Tutora: M^a del Carmen Jaizme-Vega

Cotutora: Mónica González González

D/Dña María del Carmen Jaizme-Vega, Profesora del Máster Propio en Agroecología, Soberanía Alimentaria, Ecología Urbana y Cooperación al Desarrollo Rural de la Universidad de La Laguna

D/Dña Mónica González González, Cotutora del Proyecto Fin de Máster del Máster Propio en Agroecología, Soberanía Alimentaria, Ecología Urbana y Cooperación al Desarrollo Rural de la Universidad de La Laguna

CERTIFICA/N:

Que la presente memoria, titulada "Potencialidades de las especies canarias de *Artemisia* bajo manejo agroecológico", corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por D/Dña. Marta Selma Garzón Molina, para su presentación como Trabajo Fin de Máster en el Máster Propio en Agroecología, Soberanía Alimentaria, Ecología Urbana y Cooperación al Desarrollo Rural de la Universidad de La Laguna.

Y para que conste firma/n el presente certificado en La Laguna, a 26 de octubre de 2021.

JAIZME VEGA
MARIA DEL
CARMEN -
42046232R

Firmado digitalmente
por JAIZME VEGA
MARIA DEL CARMEN -
42046232R
Fecha: 2021.10.26
21:32:20 +01'00'

Fdo. Clic para escribir

GONZALEZ
GONZALEZ
MONICA -
43794316
Q

Firmado
digitalmente por
GONZALEZ
GONZALEZ
MONICA -
43794316Q
Fecha: 2021.10.27
10:49:13 +01'00'

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES	6
1.1.1. Origen.....	6
1.1.2. Tipos de micorrizas (MA)	6
1.1.3. Formación y funcionamiento de las simbiosis micorrícica	8
1.1.4. Efectos de las MA en el sistema suelo-planta.....	10
1.1.5. Aplicaciones de los hongos micorrícicos en agroecología	10
1.2. ARTEMISIA	12
1.2.1. Taxonomía y generalidades.....	12
1.2.2. Principales especies de <i>Artemisia</i> a nivel mundial	12
1.2.3. Principales especies de <i>Artemisia</i> en la Península Ibérica y Canarias.....	14
1.2.4. Interacción de los hongos micorrícicos con <i>Artemisia annua</i>	16
2. OBJETIVO	18
3. MATERIAL Y MÉTODOS	19
3.1. MUESTREO DE SUELO Y PLANTA	19
3.2. FASE DE SEMILLERO Y DE ENDURECIMIENTO EN MACETAS	22
3.2.1. Material vegetal	22
3.2.2. Sustratos	23
3.2.4. Hongo MA e inoculación	24
3.2.5. Condiciones de cultivo y duración del ensayo.....	25
3.3. FASE DE CAMPO	26
3.3.1. Trasplante.....	26
3.3.2. Diseño experimental	27
3.3.3. Condiciones de cultivo y duración del ensayo.....	29
3.4. PARÁMETROS A EVALUAR	30
3.4.1. Colonización de las raíces por hongos micorrícicos.....	30
3.4.2. Propiedades físico-químicas de los suelos	31
3.4.3. Propiedades químicas de las plantas.....	35
3.4.4. Variables experimentales referidas al desarrollo de la planta.....	36
3.4.5. Análisis estadístico	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. EVALUACIÓN DE LA COLONIZACIÓN MICORRÍCICA DE ESPECIES DE ARTEMISIA EN SU HÁBITAT NATURAL	39
4.1.1. Muestreo de raíces y suelo	39

4.1.2. Muestreo de parte aérea.....	43
4.2. EFECTO DE LOS HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN CONDICIONES CONTROLADAS	43
4.2.1. Variables experimentales referidas al desarrollo de la planta.....	43
4.2.2. Parámetros químicos de los foliares	49
4.2.3. Parámetros químicos de los suelos	53
5. CONCLUSIONES	56
6. BIBLIOGRAFIA	57



1. INTRODUCCIÓN

1.1. HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES

1.1.1. Origen

Albert B. Frank, botánico y patólogo alemán, describió en 1885 por primera vez la estructura y el funcionamiento de una asociación entre las raíces de un árbol y una especie de hongo del suelo (Frank y Trappe, 2005). Hoy sabemos que la mayoría de las especies vegetales que cubren la tierra, tienen su sistema radical colonizado por un hongo del suelo, con los que establecen una simbiosis mutualística denominada “micorriza” (Smith y Read, 1997). Etimológicamente la palabra deriva de los términos griegos *Mycos* (hongo) y *Rhiza* (raíz) (Harley y Smith, 1983).

La importancia de esta asociación mutualista radica en el hecho de que el micelio del hongo infecta la corteza radical a modo de endófito y proyecta sus hifas tanto al interior como al exterior de la raíz, lo que se traduce en un aumento de la absorción de nutrientes minerales por parte de la raíz, jugando un papel elemental en la translocación de iones fosfato hacia la planta. Este hecho convierte en esencial la actividad micorrícica, sobre todo en aquellos suelos con niveles bajos en fósforo asimilable, algo típico en los suelos agrícolas. Al mismo tiempo, el hongo obtiene compuestos carbonatados procedentes de la fotosíntesis de la planta hospedadora (Harley y Smith, 1983; Azcón-Aguilar y Barea, 1995) y lo resguarda de fenómenos antagónicos microbianos de la rizosfera (Barea *et al.*, 2005).

Las micorrizas pueden encontrarse en todos los ecosistemas terrestres bien sean bosques, selvas tropicales, desiertos, lagos, etc., y en agrosistemas productivos excepto en comunidades vegetales tempranas y campos de cultivo intensivo enriquecidos en fosforo. Se sabe que su presencia garantiza la salud de la planta y la calidad del suelo (Jaizme-Vega, 2019).

1.1.2. Tipos de micorrizas (MA)

De modo general las micorrizas se clasifican, según su estructura y morfología en tres grandes grupos (Figura 1):

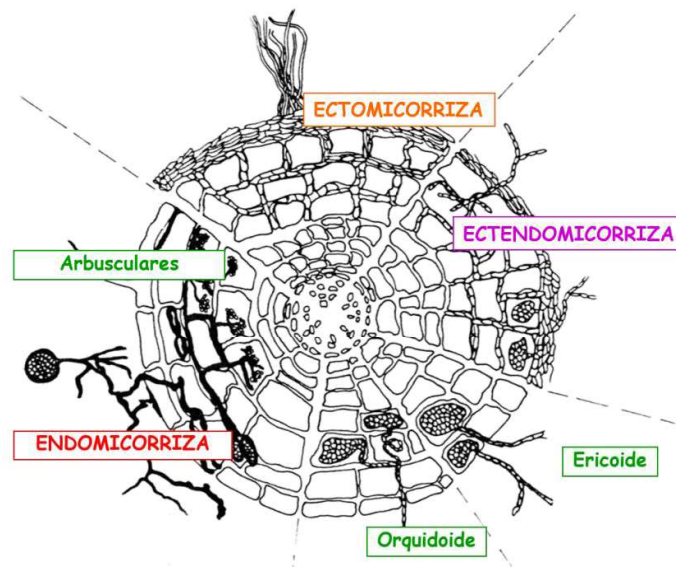


Figura 1. Tipos de Micorrizas (Barea, 2009; modificado por Jaizme-Vega, 2019).

- Ectomicorrizas

Este tipo está presente en el 3% de las plantas superiores, principalmente en plantas forestales y leñosas de zonas boreales y templadas. En esta simbiosis la hifa no penetra en el interior de las células corticales de la raíz, solo avanza de modo intercelular (red de Hartig) y se desarrolla a modo de manto fácilmente visible alrededor de las raíces más finas (Harley y Smith, 1983). Son cultivables de manera axénica en medios de cultivo sintéticos. Los hongos que las generan son en su mayoría Basidiomycetes y Ascomycetes (trufas) algunos de ellos comestibles.

- Endomicorrizas

Es el tipo de micorriza más extendido en la naturaleza y el que forman las plantas con interés agronómico. No forman manto fúngico sobre la raíz y las hifas del endófito crecen inter e intracelularmente. Para observarlas precisamos técnicas de tinción del tejido radical y su posterior montaje para el microscopio óptico. Son simbioses obligados, por lo que es difícil su cultivo de modo aislado y axénico en ausencia de hospedador vegetal. Dentro de este grupo hay tres tipos que se describen en la Tabla 1:



Tipo de Endomicorrizas	Hongos responsables	Plantas implicadas
Orquidoides	Basidiomycetes	Orquidáceas
Ericoides	Ascomycetes	Ericales
Micorrizas Arbusculares	Glomeromycetes	Más del 80% de las plantas existentes

Tabla 1. Diferentes tipos de Endomicorrizas.

Las más importantes son las **micorrizas arbusculares (MA)**, ya que el 96% de las especies forman esta asociación simbiótica. Se encuentran presentes en todos los climas y ambientes ecológicos que permiten el desarrollo vegetal y la forman la mayoría de las plantas de interés agrícola e industrial (Smith y Read, 1997). El hongo es capaz de formar estructuras intercelulares llamadas “arbúsculos” y órganos de reserva conocidos como “vesículas”, elementos morfológicos característicos de esta infección.

- Ectendomicorrizas

Este tercer grupo, presenta formas intermedias entre los dos grupos anteriores, es decir forman manto, pero también pueden desarrollarse de modo intracelular. La forman algunos subgrupos de Pinaceae y de Ericales como los géneros *Arbustus* y *Monotropa* (Harley y Smith, 1983; Siquiera y Franco, 1988). Este tipo de micorrizas tiene especial significado en situaciones de estrés abiótico (incendios, sequías, inundaciones, contaminación por metales pesados, etc.) (Honrubia, 2009).

1.1.3. Formación y funcionamiento de las simbiosis micorrícica

Los hongos micorrícicos se mantienen en el suelo bien en forma de esporas, redes de micelio, en el interior de raíces activas o en fragmentos de raíces colonizadas, Cualquiera de estas estructuras es capaz de reproducir el hongo y se conocen como propágulos. Para que se inicie la simbiosis es necesario que una hifa del hongo parta de un propágulo y establezca un diálogo con la planta hospedadora que inhibe sus mecanismos de defensa y le facilita al hongo la entrada. A partir del contacto de la hifa con la superficie de la raíz, el hongo se diferencia formando un “apresorio” que entra en la raíz y se desarrolla en su interior. Una vez dentro, coloniza inter e intracelularmente las células de la corteza radical, dividiéndose en el



interior celular de manera dicotómica y formando una estructura arborescente (arbusculo) de paredes muy finas, donde se produce el intercambio de nutrientes y señales entre la planta y el hongo (Figura 2) (Jaizme-Vega, 2019).

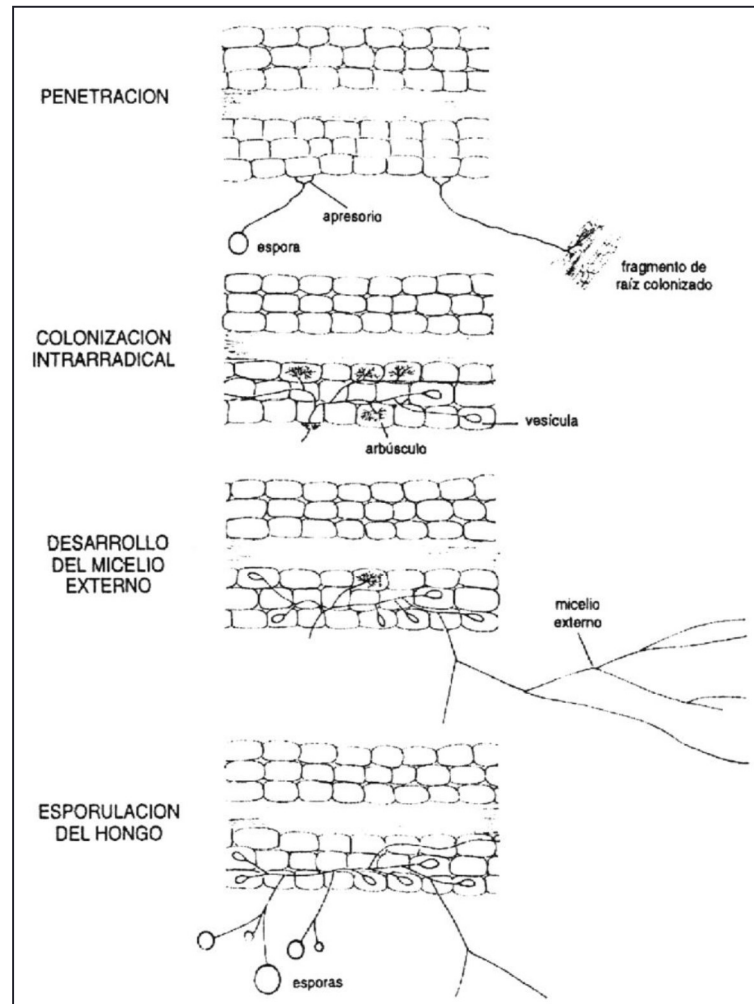


Figura 2. Proceso infeccioso de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (Guerrero, 1996).

Una vez colonizada la raíz, las hifas se desarrollan hacia el exterior formando en torno a la raíz un micelio tridimensional muy ramificado que alcanza en el suelo mayores distancias que los pelos radicales y que incrementa considerablemente la capacidad de absorción de la planta (un centímetro de raíz puede sustentar un metro de hifas externas). Este micelio está capacitado para absorber nutrientes más allá de la zona de depresión en fósforo que rodea la raíz, reduciendo la distancia entre la planta y dicho nutriente. Esta habilidad de las hifas es la principal razón que justifica el beneficio de esta simbiosis en suelos deficientes en fósforo. Además de este macronutriente, la simbiosis micorrízica aporta a la planta amonio, nitrato,



cobre, cinc y otros microelementos y facilita la captación de agua por la planta. Una vez iniciada la infección, tras unas semanas el hongo puede producir esporas, proceso que se ve favorecido por el estrés hídrico. Una vez consolidada la colonización, ambos organismos (planta y hongo), inician su vida en común funcionando de manera simbiótica y modulados por las condiciones ambientales (Jaizme-Vega, 2019).

1.1.4. Efectos de las MA en el sistema suelo-planta

La formación de las micorrizas en el conjunto suelo-planta ejerce múltiples acciones positivas como la mejora del crecimiento de las plantas, potenciación de la captación de agua y nutrientes protegiendo a las plantas frente a sequías y salinidad, protección frente a agentes patógenos del suelo, metales pesados y plagas y enfermedades siendo capaz de incrementar la producción de compuestos implicados en actividades de defensa tales como fitoalexinas, argininas, quitinasas, isoflavonoides, etc. (Pozo *et al.*, 2013) y mejora de la estructura y conservación del suelo debido a implicación de las hifas en la formación de agregados estables del mismo (Jaizme-Vega, 2019). Los hongos micorrícicos pueden, por lo tanto, contemplarse como: biofertilizantes, biorreguladores y bioprotectores.

1.1.5. Aplicaciones de los hongos micorrícicos en agroecología

Casi todos los cultivos agrícolas tienen un hábito micotrófico considerable, es decir que son capaces de beneficiarse de la simbiosis micorrícica. Se puede esperar, por lo tanto, mejorar su desarrollo y su salud si existieran en los sistemas de producción hongos MA, funcionalmente compatibles y disponibles para colonizar el sistema radical de las plantas.

Tanto los cultivos anuales como los cereales y legumbres herbáceas, como los cultivos de hortalizas, árboles o arbustos frutales de zonas templadas, cultivos de plantaciones tropicales, ornamentales, aromáticas, cultivos forestales, etc., son susceptibles de beneficiarse de la micorrización. Algunas de estas plantas suelen mostrar un grado considerable de micotrofia y su óptimo desarrollo depende por tanto de un pronto establecimiento de la simbiosis MA.

Cuando las primeras fases de desarrollo de los cultivos se realizan en condiciones de vivero es factible inocular durante la siembra o el estaquillado, o en los primeros momentos de la fase post vitro si se trata de plantas micropropagadas, garantizando así que la plántula se beneficie de la micorrización desde los primeros momentos y que posteriormente puede seguir desarrollando la simbiosis durante la fase de campo.



Solo cuando las poblaciones de hongos simbioses no estuvieran presentes de modo natural, por haber sido eliminadas por prácticas agrícolas o cuando la que permanezca sea poco efectiva, se debe considerar la posibilidad de introducir un hongo seleccionado. En estos casos, antes de aplicar cualquier inoculante habría que considerar las características del suelo y de los cultivos a desarrollar y plantearse las razones de la pérdida de potencial micorrícico del agrosistema. Para ello, es oportuno realizar un análisis para determinar el potencial micorrícico natural y los contenidos en fósforo asimilable del suelo de destino para confirmar que la inoculación MA es aconsejable y garantizar alguna posibilidad de éxito en la introducción de nuevas cepas.

Las ventajas del uso de micorrizas no se limitan al ámbito de la producción vegetal, sino que deben tenerse en cuenta los beneficios ambientales que pueden generar, tales como el control de erosión o la regeneración de la cobertura vegetal en suelos degradados (Jaizme-Vega, 2019). En la Figura 3, se resumen las actividades agrícolas y medioambientales, donde pueden ser incluidos estos hongos benéficos.

Actividades agrícolas y medioambientales donde pueden ser utilizados los hongos micorrícicos
Producción de plántulas micorrizadas en vivero
Horticultura de alta productividad, apoyada en criterios de sostenibilidad y reducción de insumos contaminantes
Endurecimiento de plantas <u>micropropagadas</u>
Producción de árboles forestales y cultivos perennes en vivero y campo
Agricultura en suelos fumigados
Recuperación de suelos afectados por incendios
Restauración con cubiertas vegetales de suelos degradados por erosión
Restauración de áreas degradadas por actividades mineras
Recuperación de especies vegetales en peligro de extinción

Figura 3. Potencial del uso agrícola y medioambiental de la inoculación y manejo de los hongos micorrícicos (Jaizme-Vega, 2019).



1.2. ARTEMISIA

1.2.1. Taxonomía y generalidades

El género *Artemisa* contiene aproximadamente 350 especies descritas y aceptadas. Son nativas de los continentes de Europa, Asia y del Norte de África. Es una planta herbácea de la familia de las compuestas o asteráceas, la cual puede alcanzar una altura que oscila entre uno a dos metros. Sus hojas van de subenteras a divididas, de color verdinegro por el haz y blanquecinas por el envés, a causa del vello que las recubre. Capítulos pequeños reunidos en panículas con 7-10 flores, de aproximadamente 5 mm de longitud, simétricas y de colores amarillos o rojos y generalmente crecen durante el verano (Bremer, 1994).

Florecen principalmente entrado el verano, por norma general en el mes de julio, sus flores permanecen hasta mitad o finales de septiembre, dependiendo de la climatología.

Debido a que las especies del género *Artemisia* suelen ser plantas aromáticas o con compuestos amargos, muchas de ellas se utilizan localmente, tanto como plantas medicinales como en la preparación de licores o en perfumería. Se ha estudiado la composición química de unas 260 especies de este género, revelando la presencia de muchas clases de metabolitos secundarios, incluyendo terpenos, flavonoides, cumarinas, esteroides y poliacetilenos. Algunos de estos metabolitos secundarios tienen actividad antimalárica, antiviral, antitumoral, antipirética, antihemorrágica, anticoagulante, antioxidante, antihepatotóxica, antiulcerogénica, antiespasmódica y/o son inductoras del interferón (Tan *et al.*, 1998). Además, varias de las lactonas sesquiterpénicas que producen tienen propiedades fungicidas, herbicidas, antimicrobianas o insecticidas, y podrían ser una buena fuente de nuevos pesticidas no sintéticos (Duke *et al.*, 1988).

Sus propiedades medicinales son ampliamente conocidas desde épocas antiguas. Esta planta fue una de las utilizadas por el hombre al comienzo de las primeras poblaciones de la humanidad. Desde entonces, las flores, los tallos y las hojas de las *Artemisias* han sido empleados en la medicina natural para elaborar diferentes remedios caseros.

1.2.2. Principales especies de *Artemisia* a nivel mundial

Es difícil hacer referencia a las principales especies de *Artemisia*, debido al gran número de especies descritas, a su amplia distribución geográfica y a la variedad de usos tradicionales de las mismas por las distintas comunidades. Sin embargo, de entre todas ellas



quizás cabe destacar la importancia a nivel mundial de dos: *Artemisia pontica* y *Artemisia annua*.

- *Artemisia pontica*

A esta planta (Foto 1) se le ha denominado comúnmente ajeno menor y entra a formar parte de la composición de los licores de absenta. Se utiliza en herboristería como aromatizante y para la preparación de otras bebidas amargas. En farmacia, se utiliza por sus propiedades estomacales, estimulantes y sedantes (Todorova *et al.*, 1996). En su composición química cabe destacar la santonina, razón por la cual se ha utilizado durante más de 100 años como antihelmíntico. Su uso se ha visto desplazado por nuevos compuestos más efectivos con menores efectos secundarios. Su contenido en lactonas sesquiterpénicas ha sido caracterizado (Arnold *et al.*, 1991).



Foto 1. Detalle de hojas y flores de *A. pontica* (Ethnoplants, 2021).

- *Artemisia annua*

Ampliamente distribuida en la región euroasiática. Posee una lactona sesquiterpénica, la artemisinina, a la que recientemente se le han atribuido propiedades antimaláricas muy efectivas, así como contra la leishmaniosis, además de antibacterianas, antiinflamatorias, alelopáticas y antitumorales. *A. annua* se considera una de las contribuciones más importantes de la medicina tradicional china (Foto 2). Hay que resaltar que, en ningún otro país, las medicinas herbal tradicional y occidental están tan compenetradas en su práctica cotidiana, complementando sus efectos y siendo tan universalmente aceptadas; esto demuestra el valor de la tradicional búsqueda y utilización de plantas con efectos medicinales existentes en la flora del planeta (Bremer, 1994).



Foto 2. Detalle de hojas y flores de *A. annua* (Ethnoplants, 2021).

1.2.3. Principales especies de *Artemisia* en la Península Ibérica y Canarias

Según se recoge en el Sistema de información sobre las plantas de España Anthos (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2012), existen 31 especies del género *Artemisia* registradas en la zona geográfica que comprende la Península Ibérica, Baleares y Canarias. Entre ellas, siete especies son endémicas de la Península Ibérica: *Artemisia barrelieri*, *A. caerulescens* subsp. *gargantae*, *A. chamaemelifolia* subsp. *cantabrica*, *A. granatensis*, *A. lucentica*, *A. pedemontana* subsp. *assoana* y *A. umbelliformis* subsp. *umbelliformis*, y tres son endémicas de las Islas Canarias: *A. ramosa*, *A. reptans* y *A. thuscula*.

Debido a la importancia del género *Artemisia* como fuente potencial de compuestos medicinales y fármacos (Abad *et al.*, 2012; Bessada *et al.*, 2015), es de gran interés el estado de conservación de algunas de las especies más vulnerables. Así, algunas de las especies utilizadas en la medicina tradicional están en situación vulnerable o en peligro de extinción debido a la presión humana o por tener hábitats restringidos. Dentro de la Península Ibérica, las especies que se declaran en peligro de extinción son *A. armeniaca*, *A. alba* y *A. granatensis*. En 2008, *Artemisia armeniaca* se declaró como especie amenazada en la Lista Roja 2010 de la Flora Vascular Española (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2010). Esta planta, que se ha descrito que contiene cumarinas y flavonoides, solo está presente en una pequeña población en la Sierra de Gúdar en Teruel (Sanz *et al.*, 1994; Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2010). En 2010, *Artemisia alba* Turra, que se distribuye en la parte norte y noreste de la Península Ibérica, fue declarada en peligro de extinción (Bañares *et al.*, 2011). *Artemisia granatensis* Boiss es endémica de las montañas de Sierra Nevada (Hernández-Bermejo *et al.*, 2004); esta especie fue declarada en peligro en 2011 en el Catálogo Español de Especies Amenazadas (Ministerio



de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, 2011), debido a una drástica disminución de la población, estimada en más del 50% entre 1994 y 2003. En la caracterización de compuestos fitoquímicos de esta especie se ha descrito la presencia de monoterpenos, lactonas sesquiterpénicas y espiroacetales poliacetilénicos (Barrero *et al.*, 2013). *Artemisia chamaemelifolia* subsp. *cantabrica* M. Laínz también conocido como *A. cantabrica* se considera una planta endémica de la Cordillera Cantábrica (norte de la Península Ibérica), distribuyéndose también en zonas de Asturias, León y Palencia. Esta especie se ha utilizado como antimicrobiano, antifúngico, antitumoral y como antihelmíntico para niños, debido a su contenido en alcaloides, saponinas, flavonoides y polifenoles (Ghasemi-Pirbalouti *et al.*, 2013) y está considerada como vulnerable en la Lista Roja 2010 de la Flora Vasculare Española (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2010).

Además de las especies vulnerables o en peligro de extinción enumeradas anteriormente, hay cinco especies endémicas más, ubicadas en la Península Ibérica. *Artemisia baerrelieri* crece principalmente en el sur de la Península Ibérica. En el estudio fitoquímico de una población de Alicante se aislaron varios eudesmanos y lactonas sesquiterpénicas (Villar *et al.*, 1983a, b; Marco *et al.*, 1991 a, b). *Artemisia caerulescens* subsp. *gargantae* crece en Lleida y en 2007 fue declarado un taxón de especial atención. En ella, se ha descrito la presencia de dos cetonas de eudesmanos y un eudesmanólido (Sanz y Marco, 1990a, b, c). *A. pedemontana* subsp. *assoana*, es otra especie endémica que crece en Aragón. Existen pocos estudios sobre los metabolitos producidos por esta planta, y no existen estudios sobre su bioactividad; sin embargo, se han descrito en ella dos lactonas sesquiterpénicas aisladas a partir de sus partes aéreas, así como distintas flavonas, cumarinas, enol-éteres y p-cumaratos a partir de sus raíces (Martinez *et al.*, 1987). *Artemisia umbelliformis* subsp. *umbelliformis* es una especie alpina, que crece en Los Pirineos en las zonas de Girona y Huesca. No existen informes sobre la composición fitoquímica de las poblaciones ibéricas; sin embargo, las poblaciones distribuidas en Los Alpes, Los Cárpatos y Los Balcanes han sido ampliamente estudiadas, al utilizarse para la producción del conocido licor genepi, que juega un papel importante en la medicina popular de estas zonas (Voillamoz *et al.*, 2015). *Artemisia lucentica* crece en el sureste de la Península Ibérica (Alicante y Murcia), localizándose algunas poblaciones en el sur de la Península. De esta especie endémica se han aislado varios flavonoides, fenoles y sesquiterpenos (Marco *et al.*, 1988; Sanz *et al.*, 1989; Marco *et al.* 1997a, b).

En cuanto a las especies de las Islas Canarias, *Artemisia thuscula*, anteriormente nombrada *A. canariensis*, es un endemismo canario frecuente en zonas costeras y medias de todas las islas del Archipiélago Canario (Valera-Molina y Santos-Guerra, 2002). De sus partes



aéreas se han aislado varios eudesmanólidos y una lactona sesquiterpenica (González *et al.*, 1983; Bretón *et al.*, 1985; Mansilla y Palenzuela, 1999). *Artemisia ramosa* es un endemismo que ha sido encontrado en Gran Canaria y Tenerife (Valera-Molina y Santos-Guerra, 2002), aunque en 1985 también se describió una población en Marruecos. En el único estudio que se ha encontrado sobre la composición fitoquímica de esta especie endémica se describió la presencia, en las partes aéreas, de las lactonas sesquiterpénicas finitina y α -santonina, y de las cumarinas umbeliferona, escopoletina e isofraxidina (González *et al.*, 1975). *Artemisia reptans* ha sido declarada vulnerable Lista Roja 2010 de la Flora Vasculare Española (Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico, 2010) y como especie de gran interés para los ecosistemas de las Islas Canarias en el Catálogo Canario de Especies Protegidas (Presidencia del Gobierno de Canarias, 2010). Además de en las Islas Canarias, se ha descrito también una población en Marruecos. En sus partes aéreas se han descrito lignanos, sesquiterpenos acíclicos, achillín y espatulenol entre otros (Marco *et al.*, 1994).

1.2.4. Interacción de los hongos micorrícicos con *Artemisia annua*

Se han llevado a cabo varios estudios en los que se analiza el efecto de los hongos micorrícicos en la producción de artemisinina en *A. annua*, encontrándose una relación entre la colonización de las raíces de la planta por especies de *Glomus* y un aumento en compuestos bioactivos tales como la artemisinina y otros terpenos (Rapparini *et al.*, 2007). Además, en este estudio se concluyó que aquellas plantas colonizadas por distintas especies de *Glomus* (*G. mosseae*, *G. intraradices*, y *G. viscosum*) asociadas con bacterias del suelo mostraron un mayor incremento en la longitud y la biomasa de la parte aérea, en el número de hojas y en el peso seco del tallo y de las raíces, comparado con las plantas colonizadas con una única especie de estos hongos. Domokos *et al.* (2018) describieron que el mutualismo entre *A. annua* y el hongo micorrícico arbuscular *Glomus intraradices* incrementó de forma significativa la biomasa de la planta, el número de tricomas, la producción de artemisinina y la actividad de la guaiacol peroxidasa.

En relación a la interacción de distintas especies de *Glomus* con *A. annua*, se han descrito resultados no concluyentes. Así, Kapoor *et al.* (2007) encontraron que las plantas inoculadas con *Glomus fasciculatum* tuvieron un mejor rendimiento que las inoculadas con *Glomus macrocarpum* o que las que solamente fueron fertilizadas con fósforo. Además, las plantas colonizadas con *G. fasciculatum* presentaron un contenido más alto en artemisinina y se vieron inafectadas por la fertilización con fósforo. El efecto contrario fue descrito por Chaudhary *et al.* (2008) quienes concluyeron que las plantas colonizadas con *G.*



macrocarpum produjeron más artemisinina que las colonizadas con *G. fasciculatum*; aunque, la infección por ambas especies fúngicas condujo a un aumento en el peso seco de la planta, en el contenido en nutrientes y en la concentración de artemisinina en la parte aérea.

Mandal *et al.* (2014) exploraron el mecanismo por el que se produce un incremento de metabolitos secundarios en las plantas de *A. annua* colonizadas por hongos micorrícicos. El estudio sugirió que el incremento en artemisinina, que se produce, está relacionado con el incremento en la densidad de los tricomas glandulares y el incremento en los niveles de ácido jasmónico que controla los patrones de transcripción. En este estudio también se concluyó que las micorrizas arbusculares aumentaron el desarrollo de terpenos al estimular la ruta del metileritritol fosfato.



2. OBJETIVO

Este trabajo Fin de Máster tiene como objetivo general realizar una primera aproximación al estudio de las potencialidades de las especies canarias de *Artemisia* bajo manejo agroecológico. Para llevar a cabo este objetivo, se plantean dos objetivos específicos:

- Evaluación de la colonización micorrícica en *A. thuscula*, en vertiente sur y norte, *A. ramosa* y *A. reptans*, en su hábitat natural, y su posible relación con las propiedades físico-químicas de los suelos en los que crecen y las partes aéreas de las plantas.
- Efecto de los hongos formadores de micorrizas arbusculares, en condiciones controladas, sobre *A. thuscula* especie endémica canaria y *A. annua* como especie control de *Artemisia* de importancia a nivel mundial.



3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación, se recolectaron raíces, suelos y partes aéreas en las distintas zonas donde se encuentran las tres especies de *Artemisia* en la isla de Tenerife, tal y como se describe en el apartado 3.1. Asimismo, una segunda parte del trabajo experimental se desarrolló en las instalaciones de la Unidad de Protección Vegetal y de la Unidad de Laboratorios del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) en Tenerife: cultivo en condiciones controladas (apartados 3.2. Fase de semillero y de endurecimiento en macetas y 3.3. Fase de campo). En el apartado 3.4 se describen los parámetros a analizar (apartado 3.4) para la evaluación de la potencialidad de las *Artemisias* de Canarias bajo manejo agroecológico.

3.1. MUESTREO DE SUELO Y PLANTA

Se llevaron a cabo una serie de muestreos de suelos naturales y de partes aéreas, previa obtención de los permisos correspondientes para la prospección de flora vascular, por parte del Área de Gestión del Medio Natural y Seguridad del Cabildo de Tenerife, de las 3 especies de *Artemisia* de Tenerife [*A. thuscula* (en vertiente sur y norte), *A. ramosa* y *A. reptans*] en los siguientes puntos:

1. Las Vegas en Granadilla de Abona (*A. thuscula*). En este lugar las poblaciones se encuentran cercanas a huertas abandonadas. Se tomaron muestras de la zona rizosférica y de la parte aérea de 3 plantas (Foto 3).



Foto 3. Aspecto de una planta de *A. thuscula* en la vertiente sur.

2. El Portezuelo en Tegeste (*A. thuscula*). En este lugar se muestreó en zonas cercanas a huertas y laurisilva. Se tomaron muestras de la zona rizosférica y de la parte aérea de 3 plantas (Foto 4).



Foto 4. Aspecto de una planta de *A. thuscula* en la vertiente norte.

3. Malpaís de Rasca en Arona (*A. ramosa*). Se tomaron muestras de la zona rizosférica y de la parte aérea de 3 plantas, en la zona cercana al malpaís (Foto 5).



Foto 5. Aspecto de una planta de *A. ramosa*.

4. Montaña Roja en el Médano (*A. reptans*). En este lugar se localizan muy pocos ejemplares (menos de diez). Se tomaron muestras de la zona rizosférica y de parte aérea de 3 plantas (Foto 6).



Foto 6. Aspecto de una planta de *A. reptans*.



Los datos y emplazamientos de los puntos de muestreo se detallan en la Figura 4 y en la Tabla 2.

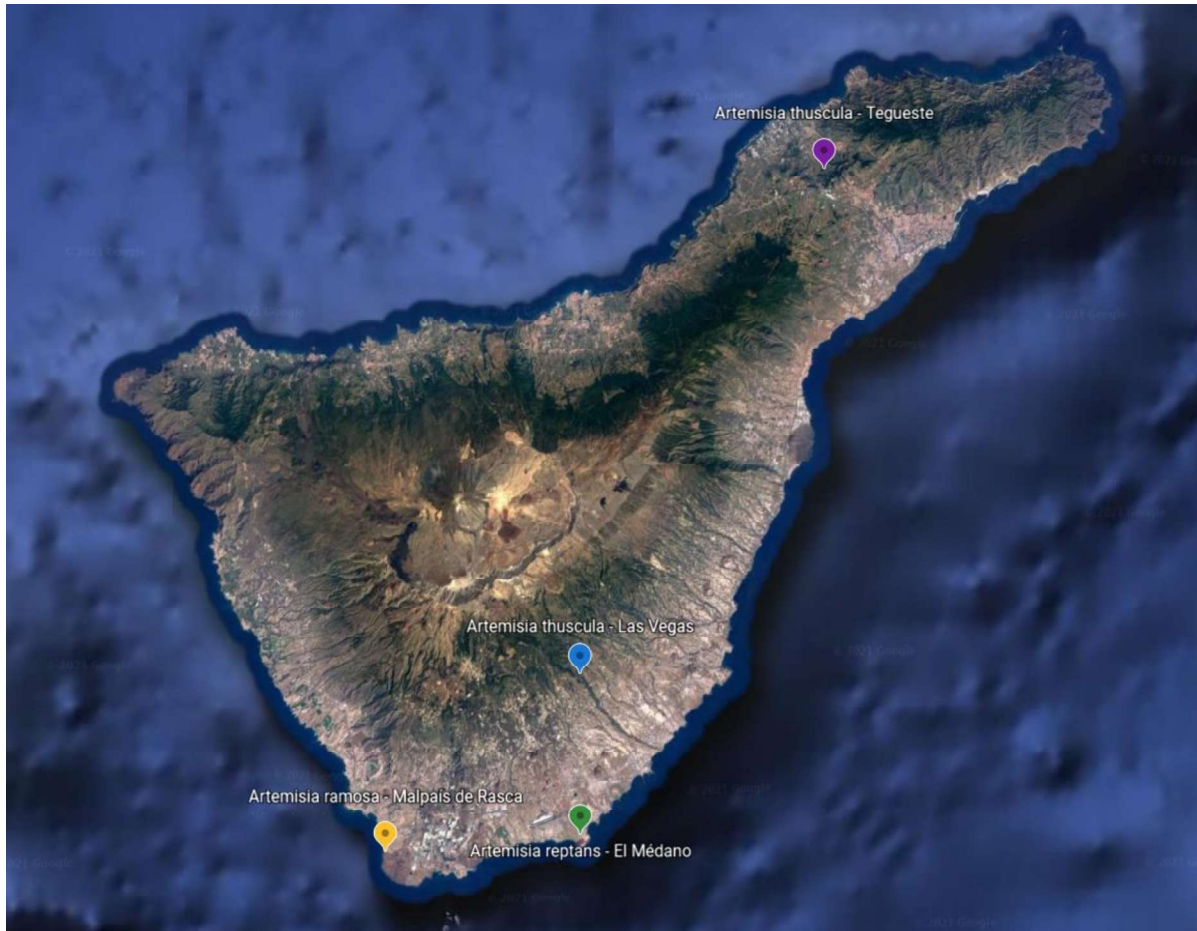


Figura 4. Localización de las diferentes especies de *Artemisia*.

Geolocalización de cada planta (n=3)	Tipo de muestra	Municipio	Especie
28°08'53.3"N 16°32'49.4"W 28°08'53.5"N 16°32'49.2"W 28°08'53.9"N 16°32'49.4"W	Suelo	Las Vegas	<i>A. thuscula</i>
28°30'16.6"N 16°21'05.2"W 28°30'16.5"N 16°21'05.2"W 28°30'16.6"N 16°21'05.1"W	Suelo	Tegueste	<i>A. thuscula</i>
28°01'15.7"N 16°42'13.8"W 28°01'16.2"N 16°42'14.1"W 28°01'16.2"N 16°42'14.1"W	Suelo	Malpaís de Rasca	<i>A. ramosa</i>
28°02'01.5"N 16°32'49.7"W 28°02'00.9"N 16°32'49.9"W 28°02'01.9"N 16°32'50.2"W	Suelo	El Médano	<i>A. reptans</i>
28°08'53.3"N 16°32'49.4"W 28°08'53.5"N 16°32'49.2"W 28°08'53.9"N 16°32'49.4"W	Foliar	Las Vegas	<i>A. thuscula</i>



Geolocalización de cada planta (n=3)	Tipo de muestra	Municipio	Especie
28°30'16.6"N 16°21'05.2"W 28°30'16.5"N 16°21'05.2"W 28°30'16.6"N 16°21'05.1"W	Foliar	Tegueste	<i>A. thuscula</i>
28°01'15.7"N 16°42'13.8"W 28°01'16.2"N 16°42'14.1"W 28°01'16.2"N 16°42'14.1"W	Foliar	Malpaís de Rasca	<i>A. ramosa</i>
28°02'01.5"N 16°32'49.7"W 28°02'00.9"N 16°32'49.9"W 28°02'01.9"N 16°32'50.2"W	Foliar	El Médano	<i>A. reptans</i>

Tabla 2. Identificación de las muestras.

El periodo de muestreo se extendió desde finales de mayo hasta mediados de junio de 2021. Las tres submuestras, tanto de suelo a 25 cm de profundidad como de parte aérea, de cada especie se geolocalizaron y muestrearon empleando una sonda de muestreo y realizando un zig-zag por la zona a muestrear, debido a la escasez de material vegetal en alguna de ellas.

3.2. FASE DE SEMILLERO Y DE ENDURECIMIENTO EN MACETAS

Se realizó un ensayo en condiciones controladas donde se compararon plantas micorrizadas y controles en dos especies de *Artemisia*, una endémica del Archipiélago Canario y otra comercial.

3.2.1. Material vegetal

Se llevaron a cabo varios ensayos previos para comprobar la viabilidad de las semillas de las diferentes especies recogidas en los muestreos, y semillas cedidas por el Jardín Canario de Gran Canaria (*A. thuscula* y *A. ramosa*), sembrándolas en semilleros. Tras comprobar que el poder germinativo de dichas semillas era muy bajo, se decidió sembrar semillas de 2 especies: *Artemisia thuscula*, identificadas y cedidas por Jorge Alfredo Reyes Betancort, Director del Jardín de Aclimatación de La Orotava e investigador de la Unidad de Botánica y Recursos Fitogenéticos del ICIA (Foto 7), y *Artemisia annua*, identificadas y cedidas por la empresa Artennua.



Foto 7. Aspecto de semillas de *A. thuscula*.

3.2.2. Sustratos

Se empleó un sustrato formado por una mezcla de suelo, dos de picón y dos de turba sin enriquecer (S:P:T, 1:2:2, v:v:v), cuyas características químicas se muestran en la Tabla 3, cernido a través de un tamiz con 1 cm de luz de malla y tindalizado en caldera de vapor Ygnis 60/4 (Foto 8).



Foto 8. Proceso de esterilización del sustrato en caldera de vapor Ygnis 60/4.



Parámetros	Sustrato 1:2:2
pH agua 1:5	6,32
pH KCl 1:5	4,98
CE (mS/cm)	0,14
N (%)	0,12
P (mg/kg)	18,0
M.O. (%)	8,75
Na (meq/100 g)	12,4
K (meq/100 g)	11,5
Ca (meq/100 g)	127
Mg (meq/100 g)	54,3

Tabla 3. Características químicas del sustrato empleado para los semilleros y macetas.

CE, conductividad eléctrica; N, nitrógeno; P, fósforo; M.O., materia orgánica oxidable; Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio.

3.2.3. Contenedores

Los semilleros se realizaron en bandejas multipots de PE rígido de 15 alveolos. Para cada variedad se sembraron un total de 8 multipots (4 controles y 4 MA). Cada lóculo se rellenó en sus 2/3 partes con el sustrato, se procedió a dar un riego, luego se añadió 6 ml de inóculo (sólo en los tratamientos con MA) y se completó nuevamente con el sustrato. Para finalizar, se colocaron las semillas dejándolas lo más superficial posible.

El trasplante se llevó a cabo en macetas de polietileno negro de 2,5 litros, con el mismo sustrato empleado para la fase de semillero.

3.2.4. Hongo MA e inoculación

La inoculación con los hongos formadores de micorrizas se realizó en el momento de la siembra (Foto 9). Se utilizó un "inóculo bruto", compuesto por una mezcla de suelo rizosférico y raíces de sorgo (*Sorghum bicolor* var. Sudanense) colonizadas por el hongo formador de micorrizas arbusculares (MA) *Glomus mosseae*, con un 72% de colonización y una riqueza de 1 espora/g de suelo. Se aplicaron 6 ml de inóculo/planta. Este aislado procede de suelo de una finca ecológica de la zona norte de Tenerife y está registrado en el Banco Europeo de Glomales (BEG) con el código 234. El inóculo es reproducido de forma rutinaria en la Unidad de Protección Vegetal del ICIA.



Foto 9. Inoculación con *Glomus mosseae* en la fase de semillero.

3.2.5. Condiciones de cultivo y duración del ensayo

El ensayo consistió en 2 tratamientos (micorriza y control) de 4 repeticiones cada uno, teniendo un total de 120 plantas por variedad estudiada, tanto en la fase de semillero como de endurecimiento en maceta.

Las plantas permanecieron durante la fase de enraizamiento unos 2 meses, en bandejas multipots en cama caliente a unos 25° C aproximadamente, hasta el momento del trasplante (Foto 10).



Foto 10. Semilleros durante la fase de enraizamiento en cama caliente.

La fase de endurecimiento en macetas (Foto 11) duró aproximadamente 1 mes hasta el momento del levante y pase a campo. Durante este periodo las plantas de *Artemisia* se distribuyeron en mesas de crecimiento de forma aleatoria en bloques al azar. Permanecieron en condiciones de invernadero con cubierta de policarbonato y malla de sombreo, cuyas condiciones ambientales fueron:

- Temperaturas medias diurnas: 26-32° C



- Temperaturas medias nocturnas: 15-20° C
- HR: 60-80%



Foto 11. Vista general del ensayo en el invernadero, con detalle de macetas durante la fase de endurecimiento bajo umbráculo.

Durante todo el ensayo, el riego se realizó en función de las necesidades hídricas del cultivo y la fertilización se realizó usando una solución nutritiva (Hewit, 1966), enriquecida moderadamente en P (0,272 g/l de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$) a razón de 30 ml/planta tres veces por semana.

3.3. FASE DE CAMPO

3.3.1. Trasplante

Finalizada la fase de maceta, se procedió al trasplante a campo en dos parcelas ubicadas en el ICIA a unos 290 msnm. (huerta 1 para *A. thuscula* y huerta 7 para *A. annua*) El suelo antes del cultivo fue analizado en la Unidad de Laboratorios, dando las siguientes características químicas (Tablas 4 y 5 respectivamente).



Parámetros	Huerta 1
pH agua 1:5	7,39
CE (mS/cm)	1,45
P (mg/kg)	84
M.O. (%)	3,00
Na (meq/100 g)	1,90
K (meq/100 g)	5,10
Ca (meq/100 g)	12,2
Mg (meq/100 g)	7,60

Tabla 4. Características químicas del suelo de la huerta 1 donde se dispusieron las plantas de *A thuscula*.

CE, conductividad eléctrica; P, fósforo; M.O., materia orgánica oxidable; Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio.

Parámetros	Huerta 7
pH agua 1:5	8,18
CE (mS/cm)	0,24
P (mg/kg)	110
M.O. (%)	2,71
Na (meq/100 g)	15,2
K (meq/100 g)	24,3
Ca (meq/100 g)	106
Mg (meq/100 g)	56

Tabla 5. Características químicas del suelo de la huerta 7 donde se dispusieron las plantas de *A annua*.

CE, conductividad eléctrica; P, fósforo; M.O., materia orgánica oxidable; Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio.

3.3.2. Diseño experimental

Artemisia thuscula:

Se montó una sola línea de riego de 20 m, con goteros de 2 l/h dispuestos a 30 cm, distribuidos como se muestra en las Foto 12 y 13 La separación entre bloques (control y micorrizado) es de 1 m, sembrando unas 16 plantas de cada tratamiento.



Foto 12. Vista general de la parcela con el riego instalado.



Foto 13. Vista general de la parcela con las plantas sembradas.

Artemisia annua:

Se montaron 4 líneas de riego de 20 m, con goteros de 2 l/h dispuestos a 30 cm, distribuidos como se muestra en las Fotos 14 y 15. La separación entre bloques (control y micorrizado) es de 2 m y entre las mangueras de cada bloque de 60 cm.



Foto 14. Vista general de la parcela con el riego instalado.



Foto 15. Vista general de la parcela con las plantas sembradas.

3.3.3. Condiciones de cultivo y duración del ensayo

Las plantas permanecieron en campo desde el momento del trasplante. Durante el periodo de ensayo, las plantas de *Artemisia* se regaron dos veces a la semana, siendo las condiciones ambientales:



- Temperaturas medias diurnas: 21-26° C
- Temperaturas medias nocturnas: 11-14° C
- HR: 76 %

3.4. PARÁMETROS A EVALUAR

En las muestras procedentes de los muestreos en su hábitat natural se analizó:

- Colonización de las raíces por hongos micorrícicos
- Granulometría, textura, pH, conductividad eléctrica, cationes intercambiables, fósforo, materia orgánica y nitrógeno, en suelos
- Macro y micro elementos, fósforo y nitrógeno, en foliares

En el momento del levante y pase a campo (3 meses después de la siembra) se analizaron 12 plantas/tratamiento, con el fin de verificar el efecto de la inoculación con hongos MA sobre el desarrollo de las plántulas. Los parámetros experimentales medidos, fueron los siguientes:

- Peso fresco y seco aéreo, radical y total
- Longitud de la parte aérea y de la raíz
- Diámetro del tallo
- Colonización micorrícica de las raíces

De estas 12 plantas/tratamiento que se evaluaron en el momento del levante y pase a campo, se hicieron 3 réplicas de 4 plantas cada una y en esas 3 réplicas se hicieron los siguientes análisis químicos:

- pH, conductividad eléctrica, cationes intercambiables, fósforo, materia orgánica y nitrógeno, en suelos
- Macro y micro elementos, fósforo y nitrógeno, en foliares

3.4.1. Colonización de las raíces por hongos micorrícicos

Para el estudio de la **colonización micorrícica** producida en el interior de la raíz, se tomaron muestras de raíz, aproximadamente un 10% del peso radical y se conservaron en tubos de ensayo, con etanol al 50%, para detener el crecimiento radical. Para llevar a cabo la tinción se siguió el protocolo descrito por Phillips y Hayman (1970) y modificado por Koske y Gemma



(1989); dicha técnica consiste en clarificar las raíces calentándolas 1 hora a 70 °C en KOH al 2,5% y tras enjuagar con agua, remojar durante 24 horas en HCl al 1% a temperatura ambiente para posteriormente teñir las raíces con Trypan-blue al 0,05% en glicerol acidificado, siendo después aclaradas y conservadas en glicerol acidificado.

El porcentaje de colonización micorrícica se determinó a partir de 10 trozos de raíz teñida de aproximadamente 1 cm de largo, montados sobre un porta-objetos y fijados con ácido láctico, observándolos al microscopio óptico según el método descrito por Brundett *et al.* (1985) (Foto 16).

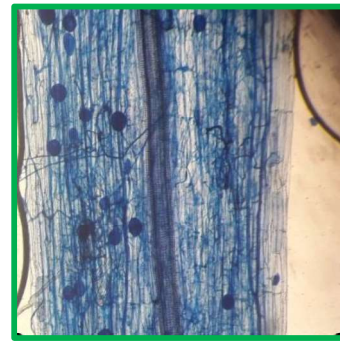


Foto 16. Preparaciones de raíces micorrizadas para la posterior observación al microscopio óptico y aspecto al microscopio óptico de una raíz colonizada con *Glomus mosseae*.

3.4.2. Propiedades físico-químicas de los suelos

Antes de proceder a su caracterización, las muestras de suelos se secaron a temperatura ambiente. Sólo en las muestras procedentes de los muestreos en el hábitat natural de las *Artemisias* se analizó la granulometría. Posteriormente, los suelos se pasaron por un tamiz de 2,5 mm de luz de malla y se homogeneizaron (Foto 17) para poder llevar a cabo una serie de determinaciones específicas que se detallan a continuación.



Foto 17. Muestra seca y homogeneizador.

- **Granulometría (%)**. El contenido de arenas y elementos gruesos se realizó mediante cribado en tamices con diferentes diámetros (25 : 20 : 16 : 12,5 : 10 : 8 : 6,3 : 5,6 : 2,8 : 2 : 1,4 : 1 mm de luz de malla) (Foto 18) según el método basado en la Norma UNE-EN 130101:1995 (AENOR, 1995)



Foto 18. Nido de tamices y contenido tamizado en cada uno de ellos.

- **Textura**, evaluada mediante el método descrito en la norma UNE-EN 103102:1995 (AENOR,1995), en el cual el contenido de arenas (%), arcillas (%) y limos (%) se determinó con el densímetro de Boyoucos (Foto 19). La clase textural se determinó a partir de la composición granulométrica de acuerdo a los criterios de la División de Agronomía de EEUU (*USDA*) (Schoeneberger *et al.*, 2002)



Foto 19. Aspecto de las muestras dispuestas en probetas para analizar la textura.

- **pH en agua y en KCl en extracto 1:5 (v:v)**, determinado con electrodo combinado según el método basado en la Norma UNE-ISO 10390:2012 (AENOR, 2012)
- **Conductividad eléctrica en extracto 1:5 (v:v)** (mS/cm), mediante conductímetro (Foto 20), con el método basado en la Norma UNE-EN 77308:2001 (AENOR, 2001)



Foto 20. Momento de la lectura de conductividad eléctrica en el conductímetro.

- **Cationes cambiabiles del suelo** (meq/kg): calcio, magnesio, potasio y sodio, extraídos con acetato amónico neutro 1 N y determinados mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama (Bower *et al.*, 1952) (Foto 21)



Foto 21. Extracción de cationes para su posterior lectura en espectrofotometría de absorción atómica.



- **Fósforo asimilable** (mg/kg), siguiendo el método colorimétrico descrito por Olsen *et al.* (1954) (Foto 22)



Foto 22. Método Olsen para la determinación de fósforo asimilable.

- **Nitrógeno total** (%), por el método Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982) (Foto 23)



Foto 23. Tubos de digestión y valoración ácido - base de nitrógeno en suelos.

- **Materia orgánica oxidable** (%), mediante la oxidación con dicromato potásico en medio ácido y valorado con la sal de Mohr (Foto 24), a partir del cual se determinó el contenido en materia orgánica (Walkley y Black, 1934)



Foto 24. Valoración oxidación- reducción para el cálculo de la materia orgánica oxidable.

- **Materia orgánica total (%)**, mediante la calcinación y medida por gravimetría de la pérdida de peso de la materia orgánica como dióxido de carbono (método basado en la Norma UNE-EN 13039:2012, 2012)

3.4.3. Propiedades químicas de las plantas

Antes de proceder a su caracterización, las muestras de parte aérea fueron secadas a temperatura ambiente, molidas en molino impulsor con anillo abrasivo FOSS Cyclotec 1093 y congeladas a temperatura ambiente hasta el momento del análisis, momento en el que las muestras se calcinaron en una mufla a 250 °C durante 1 hora y a 500 °C durante 3 horas para realizar las siguientes determinaciones (Foto 25):



Foto 25. Molino y mufla con las muestras de foliares para ser calcinadas.

- **Micro y macro elementos:** calcio, magnesio, sodio, potasio, hierro, manganeso, zinc, cobre y molibdeno, mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1986)



- **Nitrógeno total** (g/kg), por el método Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982)
- **Fósforo total** (g/kg) mediante espectrofotometría de absorción molecular UV-Visible, siguiendo el método del molibdovanadato (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1986) (Foto 26)



Foto 26. Método molibdovanadato para el análisis de fósforo en foliares.

3.4.4. Variables experimentales referidas al desarrollo de la planta

Las variables experimentales de **peso** (g) se determinaron con la ayuda de una balanza analítica (Foto 27).



Foto 27. Determinación del peso fresco de las plantas en el momento del levante.

Para determinar el **peso seco**, se procedió al secado de las plantas en una estufa Heraeus (Kelvitron ® t) Kendro Laboratory Products Typ UT 6760, a 70 °C (Foto 28) durante un periodo de 24 h. Posteriormente se llevaron a cabo las labores de pesado.



Foto 28. Proceso de secado de las muestras.

Las **longitudes de la parte aérea y radical** (cm) se realizaron mediante una regla de un metro de largo según el Sistema Internacional de Unidades (Foto 29). Para la medición de la parte aérea se situó el cuello de la planta de *Artemisia* en el cero de la regla y se midió hasta el último brote; para la raíz, se procedió a medir la raíz principal.



Foto 29. Medida de la longitud de la parte aérea y radical.

Para el **diámetro** (mm) de la planta se midió el cuello usando un pie de rey (Foto 30).



Foto 30. Medida del diámetro del tallo.



3.4.5. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en las fases de semillero y endurecimiento en maceta (levante; apartado 4.2) fueron analizados estadísticamente mediante análisis de la varianza (ANOVA), usando el programa estadístico Statgraphics 18. Las medias se compararon mediante el test de rango múltiple de LSD (*Least significant difference*) de Fisher ($p \leq 0,0500$).

En relación al muestreo de suelo y parte aérea de especies de *Artemisia canarias*, en su hábitat natural, se decidió no realizar un análisis estadístico de los resultados obtenidos en el mismo, al considerarse que un único muestreo de 3 plantas de cada una de las especies es una primera aproximación a la caracterización de estas y no es suficiente para comparar las especies entre ellas.



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE LA COLONIZACIÓN MICORRÍCICA DE ESPECIES DE ARTEMISIA EN SU HÁBITAT NATURAL

Con el objetivo de evaluar el potencial agronómico de las especies canarias de Artemisia se procedió en primera instancia a medir la colonización micorrícica de dichas especies en su hábitat natural. A continuación, se presentan los resultados obtenidos del muestreo de raíces, suelo y foliares.

4.1.1. Muestreo de raíces y suelo

El mayor porcentaje de colonización por hongos micorrícicos lo presentaron *A. thuscula* muestreada en Las Vegas y *A. reptans*, con porcentaje de colonización medios del 44 y 30%, respectivamente. Sin embargo, esta colonización no fue tan significativa en *A. thuscula* muestreada en Tegeste y *A. ramosa* (Tabla 6).

Parámetros	<i>A. thuscula</i> - Las Vegas	<i>A. thuscula</i> - Tegeste	<i>A. ramosa</i>	<i>A. reptans</i>
Colonización MA (%)	44,2 ± 40,1	11,8 ± 9,3	10,2 ± 9,0	29,2 ± 22,0
pH agua 1:5	6,85 ± 0,36	6,06 ± 0,06	8,70 ± 0,17	9,37 ± 0,21
pH KCl 1:5	5,96 ± 0,51	4,24 ± 0,17	7,49 ± 0,09	8,19 ± 0,10
CE (mS/cm)	0,199 ± 0,032	0,119 ± 0,009	0,234 ± 0,024	0,399 ± 0,105
N (%)	0,283 ± 0,146	0,288 ± 0,087	0,080 ± 0,037	0,022 ± 0,006
P (mg/kg)	60 ± 23	53 ± 18	35,2 ± 11,8	n.d.
M.O. (%)	7,89 ± 2,53	6,33 ± 1,53	1,02 ± 0,42	0,450 ± 0,284
M.O.T. (%)	16,3 ± 4,0	20,5 ± 1,7	9,47 ± 0,97	3,81 ± 0,40
Na (meq/100 g)	12,5 ± 1,2	19,8 ± 5,0	55 ± 19	147 ± 18
K (meq/100 g)	77 ± 10	27,4 ± 1,8	64 ± 10	111 ± 37
Ca (meq/100 g)	166 ± 57	110 ± 23	220 ± 9	157 ± 13
Mg (meq/100 g)	57 ± 16	96 ± 6	93 ± 8	37,7 ± 6,8

Tabla 6. Propiedades químicas de los suelos, en hábitat natural, de *Artemisia*.

Los valores son medias ± desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo y al menos 2 réplicas de laboratorio. N, nitrógeno; P, fósforo; M.O., materia orgánica oxidable; M.O.T., materia orgánica total; Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio; MA, micorrizas.



Las dos localizaciones de *A. thuscula* se corresponden con zonas que se encuentran cercanas a huertas, considerándose una zona más agrícola, mientras que las otras dos especies se encuentran en zonas más naturales o que no han sido cultivadas desde hace mucho tiempo. Los resultados de este estudio podrían indicar que la *A. thuscula* es una planta con alta capacidad micorrícica; sin embargo, la diferencia encontrada en la colonización en las dos localizaciones podría indicar que existe una fuerte influencia por el tipo de suelo y su manejo.

Respecto a los parámetros químicos estudiados, los suelos muestreados de *A. ramosa* y *A. reptans* mostraron unos valores de pH y CE más elevados a los de *A. thuscula* en las dos vertientes, así como también un mayor contenido en sodio, pudiendo ser consecuencia de la cercanía de estas plantas a la costa. Por otro lado, los suelos de *A. thuscula* contienen mayor contenido en materia orgánica (6,3-7,9 %) que puede estar relacionado con el aumento en la cantidad de fósforo en esas mismas muestras (50-60 mg/kg). Además, se observa que, del total de materia orgánica del suelo, en *A. thuscula* entre el 30 y el 50% se encuentra como materia orgánica oxidable, disponible para la planta, mientras que en *A. ramosa* y *A. reptans* esta se encuentra en torno al 10%.

Los suelos en los que crecen las plantas muestreadas presentan propiedades físicas muy diferentes entre sí, lo que podría influir en las diferencias encontradas en el potencial micorrícico de estas en las distintas localizaciones. Así, el suelo en el que crece la *A. thuscula* tiene una textura diferente en Las Vegas con un 67% de arena y 3% de arcilla, y en Tegueste con un 39% de arena y 41% de arcilla (Tabla 7). El porcentaje de arena en los suelos en que crece *A. thuscula* en Las Vegas y *A. reptans* está entre el 67 y el 88%, y el de arcilla entre el 3 y 8%. Mediante granulometría (Figuras 5-8) se determina que las fracciones de suelo entre 2 y 25 mm son alrededor del 35% en los dos de *A. thuscula*, del 8% en *A. reptans* y del 26% en *A. ramosa*.

Granulometría	<i>A. thuscula</i> - Las Vegas	<i>A. thuscula</i> - Tegueste	<i>A. ramosa</i>	<i>A. reptans</i>
Arena 2 – 0,05 mm (%)	67	39	43	88
Limo 0,05 – 0,002 mm (%)	30	20	40	5
Arcilla < 0,002 mm (%)	3	41	17	8
Clasificación USDA	Franco arenosa	Franco arcillo arenosa	Franco	Arena

Tabla 7. Textura y Clasificación de los suelos muestreados de *Artemisia*.

Los valores son resultado de una sola muestra de laboratorio, resultado de la mezcla de 3 réplicas independientes de campo. USDA, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

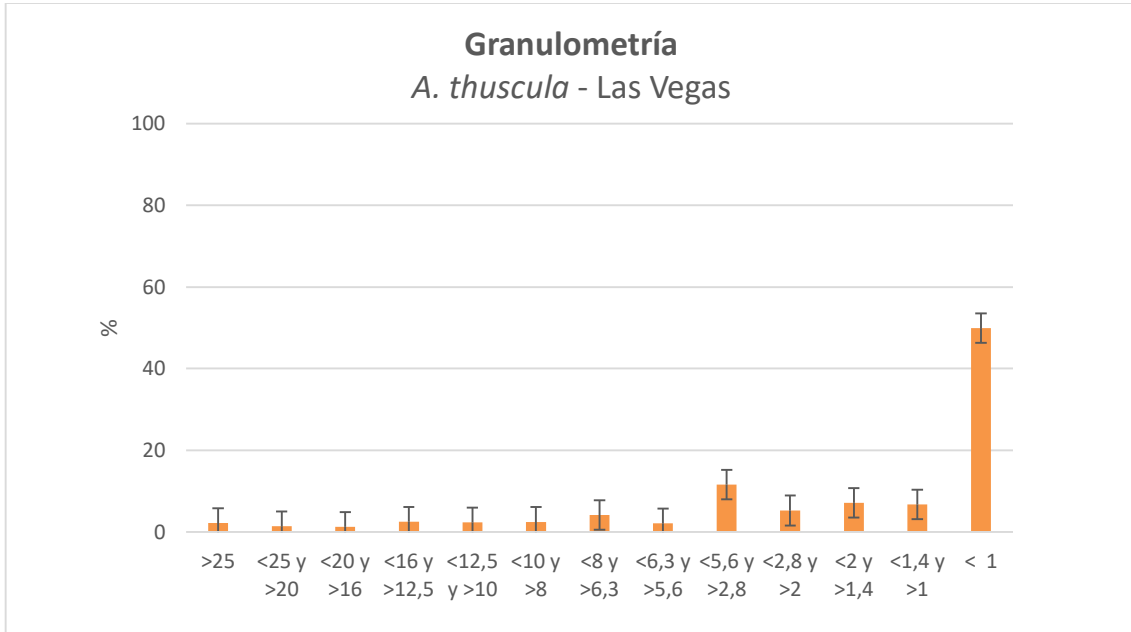


Figura 5. Granulometría del suelo de *A. thuscula* muestreado en Las Vegas.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo.

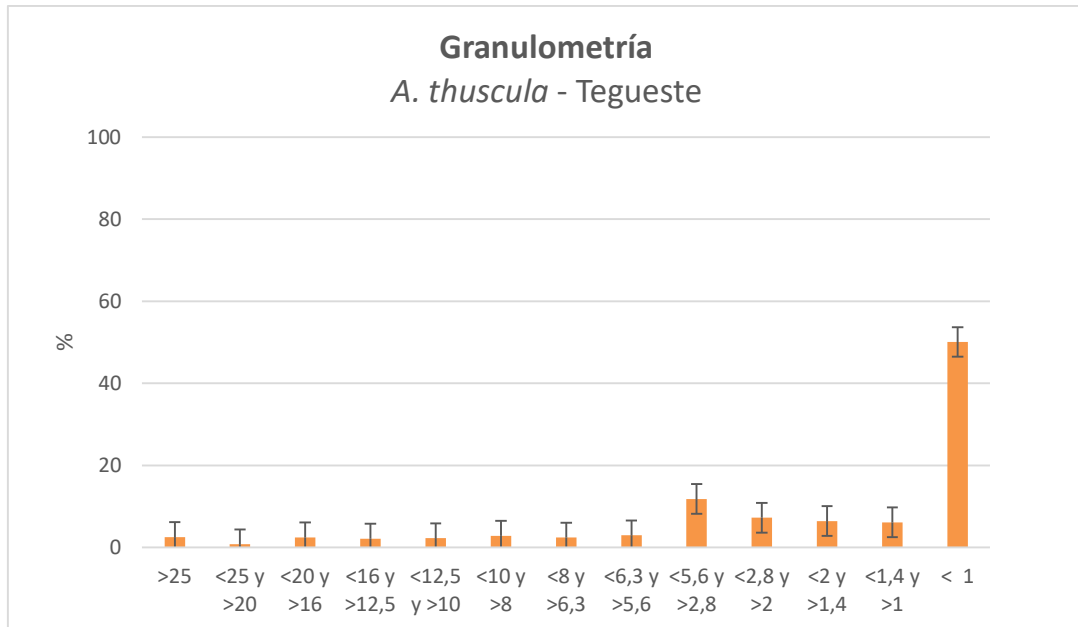


Figura 6. Granulometría del suelo de *A. thuscula* muestreado en Tegueste.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo.

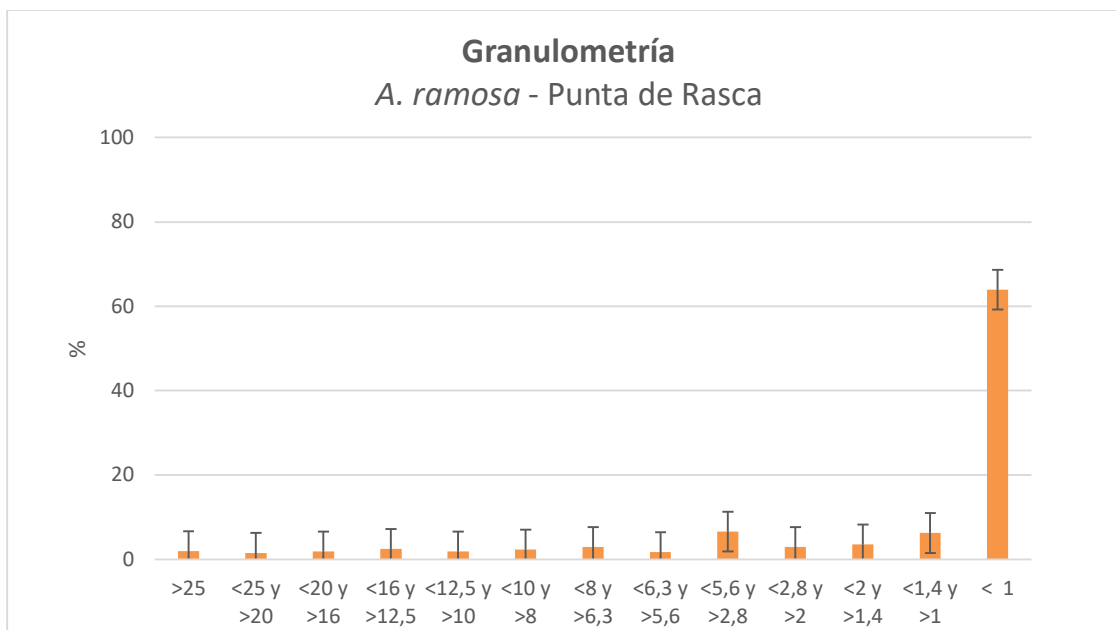


Figura 7. Granulometría del suelo de *A. ramosa* muestreado en Punta de Rasca.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo.

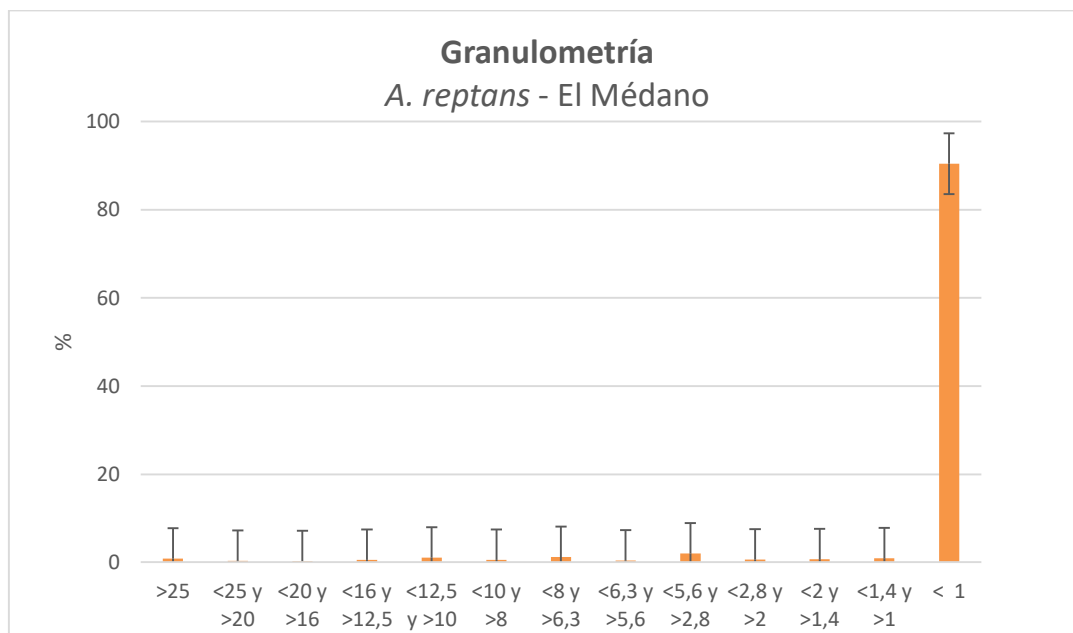


Figura 8. Granulometría del suelo de *A. reptans* muestreado en El Médano.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo.



4.1.2. Muestreo de parte aérea

Los datos obtenidos para los parámetros químicos estudiados en las partes aéreas de las plantas muestreadas fueron los expresados en la Tabla 8.

Parámetro	<i>A. thuscula</i> - Las Vegas	<i>A. thuscula</i> - Tegueste	<i>A. ramosa</i>	<i>A. reptans</i>
N (g/kg)	15,6 ± 2,8	10,6 ± 0,4	13,8 ± 1,7	8,38 ± 0,67
P (g/kg)	2,34 ± 0,35	2,81 ± 0,65	1,84 ± 0,31	1,80 ± 0,36
Na (g/kg)	2,44 ± 0,24	5,40 ± 1,16	8,05 ± 1,18	17,4 ± 0,4
K (g/kg)	23,6 ± 1,5	16,3 ± 6,1	12,6 ± 0,9	8,03 ± 0,66
Ca (g/kg)	8,73 ± 2,52	6,11 ± 0,43	6,47 ± 0,54	10,9 ± 1,3
Mg (g/kg)	2,13 ± 0,33	2,38 ± 0,32	2,73 ± 1,36	5,47 ± 0,96
Fe (mg/kg)	120 ± 7	1253 ± 128	487 ± 80	776 ± 195
Mn (mg/kg)	141 ± 30	195 ± 8	65 ± 9	76 ± 1
Zn (mg/kg)	80 ± 23	49,5 ± 18,5	29,5 ± 5,7	60 ± 20
Cu (mg/kg)	13,8 ± 2,5	25,8 ± 2,7	15,2 ± 1,2	19,3 ± 1,4

Tabla 8. Propiedades químicas de los foliares *Artemisia*, en hábitat natural.

Los valores son medias ± desviación estándar de 3 réplicas independientes de campo y al menos 2 réplicas de laboratorio. N, nitrógeno; P, fósforo; Na, sodio; K, potasio; Ca, calcio; Mg, magnesio; Fe, hierro; Mn, manganeso; Zn, zinc; Cu, cobre.

En general, no parece que haya diferencias importantes en el contenido en los nutrientes analizados en las distintas plantas. Se podría resaltar que, las plantas de *A. reptans* muestran un nivel de nitrógeno, fósforo y potasio inferior, y de calcio, hierro y sodio superior a los del resto de especies de *Artemisia* muestreadas.

4.2. EFECTO DE LOS HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN CONDICIONES CONTROLADAS

4.2.1. Variables experimentales referidas al desarrollo de la planta

Como segundo objetivo de este trabajo se realizaron ensayos en condiciones de controladas, para evaluar el efecto de la micorrización.

Tres meses después de la siembra, las dos especies estudiadas (*A. thuscula* y *A. annua*) respondieron positivamente a la inoculación en la fase de semillero, con los hongos formadores de micorrizas. Las dos especies mostraron dependencia micorrícica en esta fase, con un incremento con respecto al control, de las diferentes variables experimentales relativas al desarrollo estudiadas



como se aprecia en las Tablas 9-10 (*A. thuscula*) y 11-12 (*A. annua*), si bien la colonización de la raíz osciló entre un 3,3 y un 2,4 %, datos muy bajos y que pueden relacionarse con el poco tiempo que permanecieron las plantas en la fase de endurecimiento.

En las siguientes Tablas, Figuras y Fotos, se muestra y se ilustra para cada especie de *Artemisia* el **desarrollo de las plantas** durante la fase de semillero.

- *Artemisia thuscula*

Tratamientos	Peso Fresco (g)			Peso Seco (g)		
	Parte Aérea	Parte Radical	Peso Total	Parte Aérea	Parte Radical	Peso Total
Control	4,5 b*	3,9 b	8,4 b	1,21 b	0,82 b	2,04 b
MA	8,4 a	6,9 a	15,2 a	2,46 a	1,49 a	3,94 a
<i>p</i>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Tratamientos	Longitud (cm)			Diámetro tallo (mm)	Colonización (%)
	Aérea	Radical	Long total		
Control	13,7 b*	33,8 b	17,0 b	3,38 b	0,20 b
MA	20,0 a	39,9 a	23,6 a	4,53 a	2,40 a
<i>p</i>	0,0000	0,0040	0,0000	0,0000	0,0000

Tablas 9 y 10. Efecto de la inoculación sobre el desarrollo de plantas de *A. thuscula*.

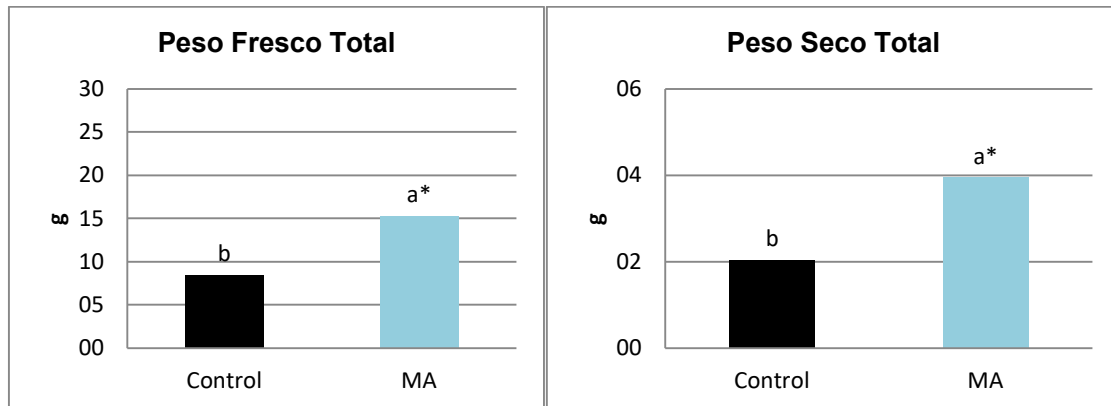
Los valores son medias de 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Foto 31. Efecto de la micorrización en la parte aérea de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.

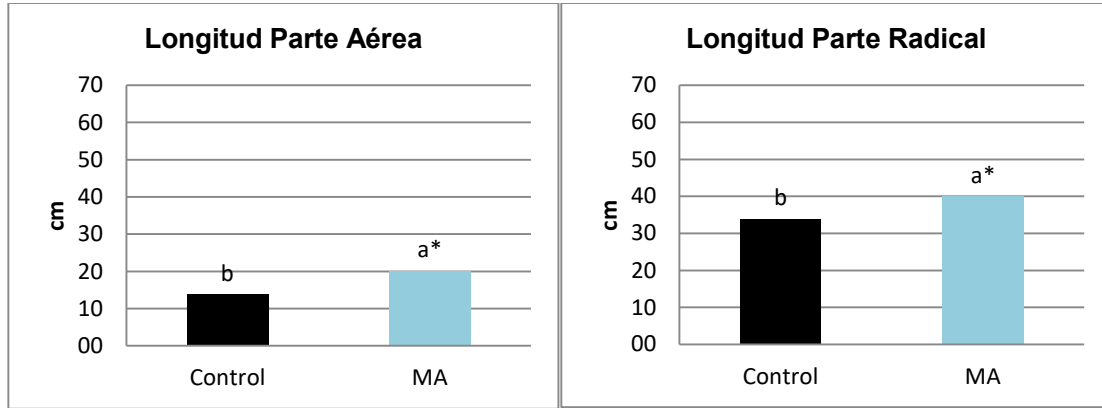


Foto 32. Efecto de la micorrización en las plantas de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.



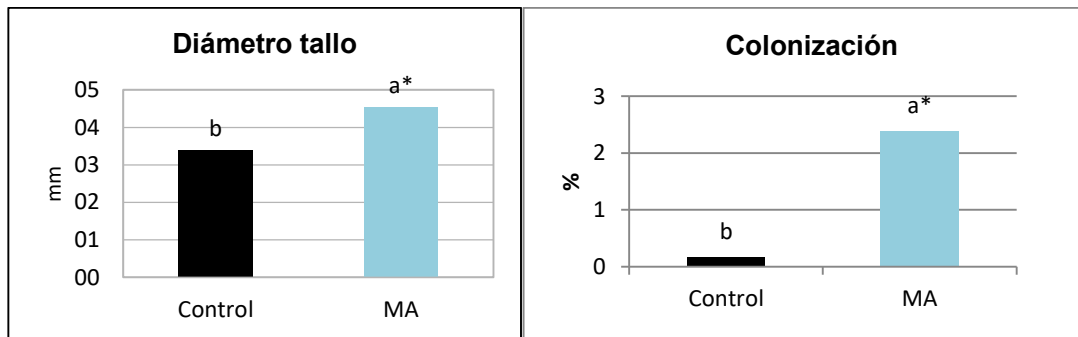
Figuras 9 y 10. Efecto de la inoculación sobre los pesos fresco y seco total de las plantas de *A. thuscula* al finalizar la fase de maceta.

Los valores son medias de 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Figuras 11 y 12. Efecto de la inoculación sobre las longitudes aéreas y radicales de las plantas de *A. thuscula* al finalizar la fase de maceta.

Los valores son medias 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Figuras 13 y 14. Efecto de la inoculación sobre el diámetro del tallo y la colonización de las plantas de *A. thuscula* al finalizar la fase de maceta.

Los valores son medias 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



- *Artemisia annua*

Tratamientos	Peso Fresco (g)			Peso Seco (g)		
	Parte Aérea	Parte Radical	Peso Total	Parte Aérea	Parte Radical	Peso Total
Control	10,1 b*	12,3 a	22,3 a	2,60 b	1,70 a	4,30 b
MA	12,7 a	10,3 a	23,1 a	3,70 a	1,70 a	5,40 a
<i>p</i>	0,0362	0,1776	0,7391	0,0046	0,8994	0,0344

Tratamientos	Longitud (cm)		Diámetro tallo (mm)	% Colonización
	Aérea	Radical		
Control	49,8 b*	52 a	4,20 b	0,0 b
MA	64 a	52 a	4,60 a	3,30 a
<i>p</i>	0,0000	0,8381	0,0450	0,0000

Tablas 11 y 12. Efecto de la inoculación, sobre el desarrollo de las plantas en la especie *A. annua*. Los valores son medias 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Foto 33. Efecto de la micorrización en la parte aérea de *A. annua*, 3 meses después de la inoculación.

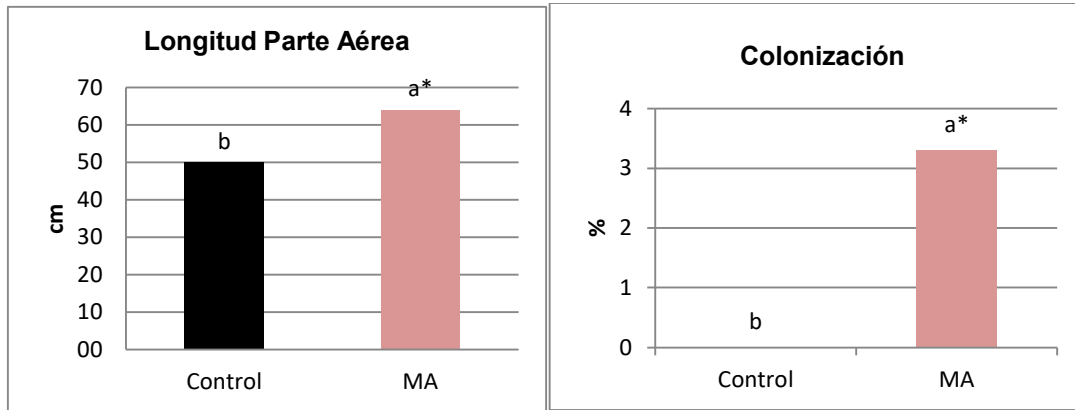


Foto 34. Efecto de la micorrización en las plantas de *A. annua*, 3 meses después de la inoculación.



Figuras 15 y 16. Efecto de la inoculación sobre los pesos fresco y seco de la parte aérea de las plantas de *A. annua* al finalizar la fase de maceta.

Los valores son medias 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Figuras 17 y 18. Efecto de la inoculación sobre la longitud de la parte aérea y la colonización de las plantas de *A. annua* al finalizar la fase de maceta.

Los valores son medias 12 réplicas independientes. * Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).

4.2.2. Parámetros químicos de los foliares

Al finalizar la fase de endurecimiento en maceta y antes del trasplante a campo, se analizó químicamente la parte aérea de las mismas 12 plantas a las que se les estudio el efecto de la micorrización en el desarrollo vegetativo. En *A. thuscua* (Tablas 13-14 y Figuras 19-23), se observó un incremento en la mayoría de los parámetros estudiados en las plantas micorrizadas. Así, los contenidos de sodio, zinc y nitrógeno fueron alrededor de un 15% superiores y en potasio y manganeso entre un 23 y un 29%, en las plantas micorrizadas respecto a los controles. Sin embargo, este efecto no fue tan evidente en *A. annua* (Tablas 15-16 y Figuras 24), donde sólo el contenido en hierro aumentó un 15% respecto a los controles. Esta especie se vio afectada de manera algo negativa por el hongo, no mostrando este su efecto benéfico. Esto podría estar relacionado con la naturaleza de esta planta comercial y el poco tiempo entre la inoculación y el levante.



- *Artemisia thuscula*

Tratamiento	Na	K	Ca	Mg	N (g/kg)	P (g/kg)
	g/kg					
Control	5,02 b*	17,7 b	7,80 a	2,37 a	9,15 b	2,50 a
MA	5,80 a	22,1 a	8,30 a	1,98 a	10,8 a	2,46 a
<i>p</i>	0,0000	0,0000	0,0523	0,0653	0,0000	0,493

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	Cu
	mg/kg			
Control	112 a*	158 b	15,3 b	13,0 a
MA	124 a	222 a	18,0 a	12,7 a
<i>p</i>	0,1940	0,0000	0,0000	0,2535

Tablas 13 y 14. Efecto de la inoculación, sobre las propiedades químicas en parte aérea de *A. thuscula*.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

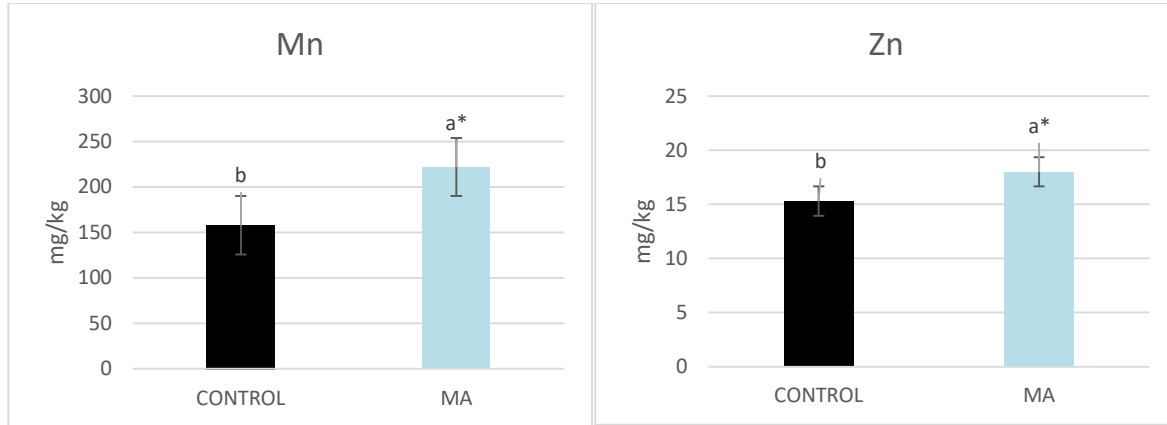
* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA). Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio; N, nitrógeno; P, fósforo; Fe, hierro; Mn, manganeso; Zn, zinc; Cu, cobre.



Figuras 19 y 20. Efecto de la inoculación sobre el contenido en sodio (Na) y potasio (K) en foliares de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 1 réplicas de laboratorio.

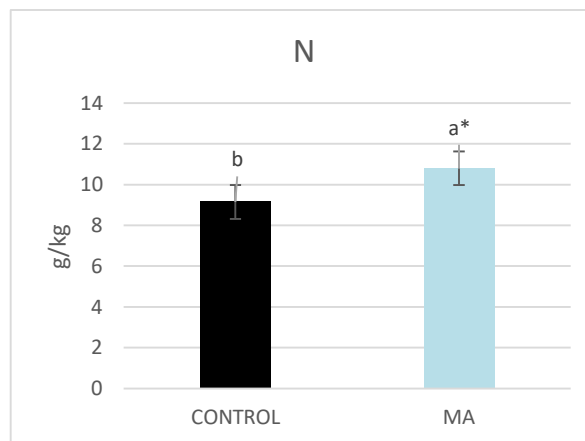
* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Figuras 21 y 22. Efecto de la inoculación sobre el contenido en manganeso (Mn) y zinc (Zn) en foliares de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



Figuras 23. Efecto de la inoculación sobre el contenido en nitrógeno (N) en foliares de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



- *Artemisia annua*

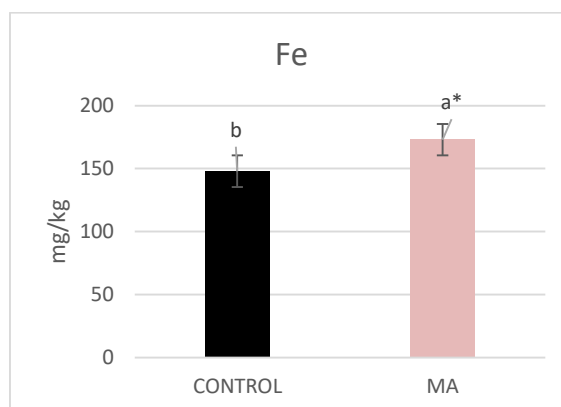
Tratamiento	Na	K	Ca	Mg	N (g/kg)	P (g/kg)
	g/kg					
Control	0,81 a*	22,5 a	9,37 a	3,43 a	10,8 a	2,78 a
MA	0,66 b	17,9 b	7,63 b	2,55 b	9,58 b	2,32 b
<i>p</i>	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0163	0,0001

Tratamiento	Fe	Mn	Zn	Cu
	mg/kg			
Control	148 b*	159 a	17,7 a	15,0 a
MA	173 a	137 b	17,0 a	13,7 a
<i>p</i>	0,0189	0,0327	0,4662	0,0580

Tablas 15 y 16. Efecto de la inoculación, sobre las propiedades químicas en parte aérea de *A. annua*.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA). Na, sodio; K, potasio, Ca, calcio; Mg, magnesio; N, nitrógeno; P, fósforo; Fe, hierro; Mn, manganeso; Zn, zinc; Cu, cobre.



Figuras 24. Efecto de la inoculación sobre el hierro (Fe) en foliares de *Artemisia annua*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



4.2.3. Parámetros químicos de los suelos

Al finalizar la fase de endurecimiento en maceta y antes del trasplante a campo, se analizó químicamente el suelo de las 12 plantas a las que se les estudio el efecto de la micorrización en el desarrollo vegetativo. Al igual que ocurrió con los parámetros químicos en los foliares de las plantas analizadas, algunos de los parámetros de suelo evaluados se vieron incrementados por la presencia de los hongos micorrícicos en las plantas de *A. thuscula* (Tablas 17-18, Figuras 25-26), como por ejemplo, la materia orgánica, el fósforo y el sodio. En *A. annua* se vieron influenciados los niveles de microelementos por esta simbiosis (Tablas 19-20, Figuras 27-28).

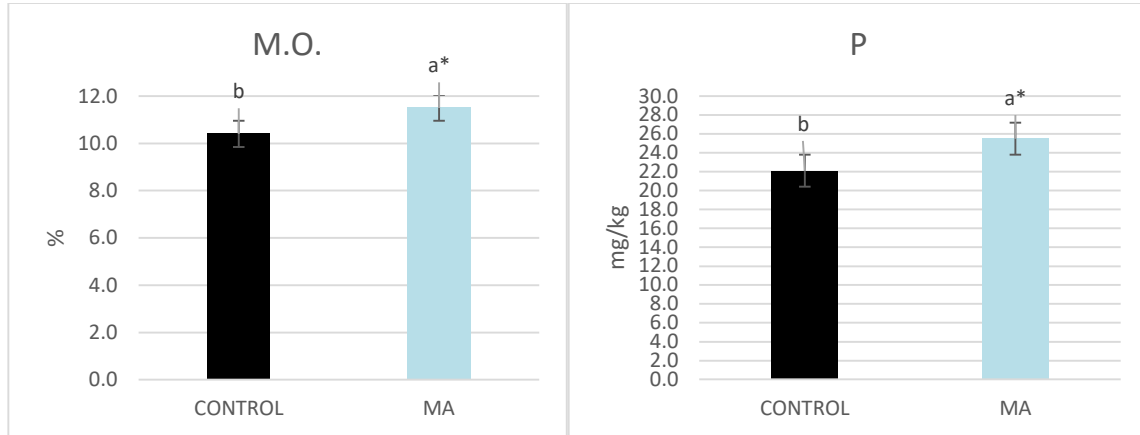
Tratamiento	M.O. (%)	P (mg/kg)	pH en agua 1:5	pH en KCl 1:5	CE (mS/cm)
Control	10,4 b*	22,1 b	6,45 a	5,25 a	0,229 a
MA	11,5 a	25,5 a	6,40 b	5,25 a	0,237 a
<i>p</i>	0,0021	0,0210	0,0222	0,8380	0,1637

Tratamiento	Na	K	Ca	Mg	M.O.T (%)	N (%)
	meq/100 g					
Control	23,4 b*	9,87 a	156 a	75 a	20,8 a	0,157 a
MA	24,5 a	10,0 a	154 a	71 a	19,0 b	0,163 a
<i>p</i>	0,0016	0,3221	0,2370	0,1107	0,0072	0,2675

Tablas 17 y 18. Efecto de la inoculación, sobre las propiedades químicas del suelo de *A. thuscula*.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA). M.O., materia orgánica oxidable; P, fósforo; CE, conductividad eléctrica; Na, sodio; K, potasio; Ca, calcio; Mg, magnesio; M.O.T., material orgánica total, N, nitrógeno.



Figuras 25 y 26. Efecto de la inoculación sobre la materia orgánica (M.O.) y el fósforo (P) en los suelos de *A. thuscula*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias ± desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).

- *Artemisia annua*

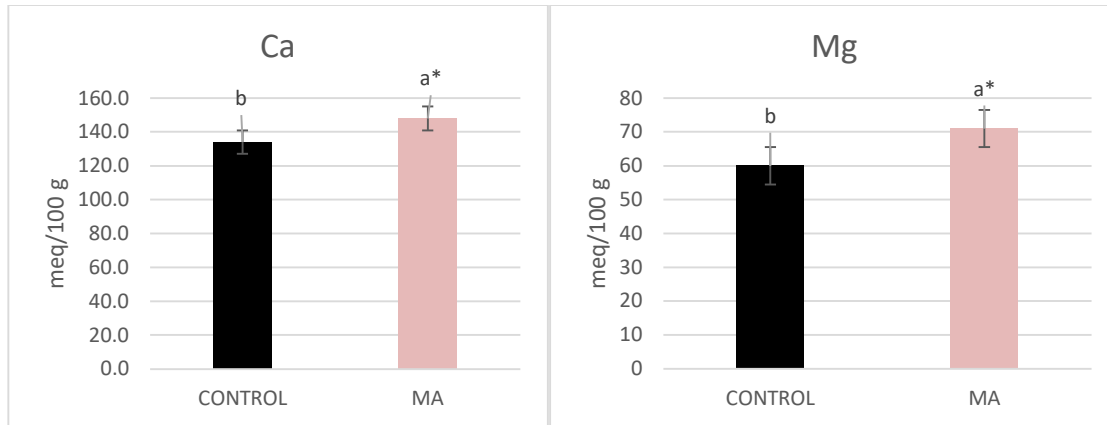
Tratamiento	M.O. (%)	P (mg/kg)	pH en agua 1:5	pH en KCl 1:5	CE (mS/cm)
Control	8,58 a*	29,3 a	6,49 a	5,27 a	0,225 b
MA	9,22 a	28,1 a	6,33 b	5,20 b	0,277 a
<i>p</i>	0,0578	0,5089	0,0000	0,0003	0,0000

Tratamiento	Na	K	Ca	Mg	M.O.T (%)	N (%)
	meq/100 g					
Control	22,7 a*	10,1 b	134 b	60 b	17,5 a	0,153 a
MA	21,7 b	10,5 a	148 a	71 a	17,9 a	0,147 a
<i>p</i>	0,0342	0,0047	0,0000	0,0000	0,0059	0,6501

Tablas 19 y 20. Efecto de la inoculación, sobre las propiedades químicas del suelo de *A. annua*.

Los valores son medias ± desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA). M.O., materia orgánica oxidable; P, fósforo; CE, conductividad eléctrica; Na, sodio; K, potasio; Ca, calcio; Mg, magnesio; M.O.T., materia orgánica total, N, nitrógeno.



Figuras 27 y 28. Efecto de la inoculación sobre el calcio (Ca) y magnesio (Mg) en los suelos de *A. annua*, 3 meses después de la inoculación.

Los valores son medias \pm desviación estándar de 3 réplicas (mezcla de 4 macetas) y al menos 2 réplicas de laboratorio.

* Letras diferentes denotan diferencias significativas ($p \leq 0,0500$) entre plantas control y micorrizadas (MA).



5. CONCLUSIONES

- Las especies de *Artemisias* canarias evaluadas en su hábitat natural mostraron características muy diferentes entre ellas. Sin embargo, para poder sacar conclusiones sobre su potencialidad sería imprescindible realizar un muestreo más exhaustivo, con un mayor número de plantas y réplicas de cada una de ellas, así como en distintas estaciones y durante varios años.
- La inoculación temprana del hongo formador de micorrizas *Glomus mosseae*, mejora el desarrollo de las plantas de las dos especies de *Artemisia* inoculadas mostrando un ligero aumento significativo en su desarrollo con respecto a las plantas control. Este efecto fue más evidente en *A. thuscula*.
- Los hongos micorrícicos tuvieron un efecto positivo sobre los parámetros químicos estudiados en los análisis de suelo y de parte aérea en *A. thuscula*.
- La necesidad de redactar este trabajo no permitió profundizar los estudios en situaciones reales de cultivo (fase de campo). Entendemos que estos resultados serían necesarios para completar este trabajo y que la realización de un segundo levante confirmaría los beneficios de la simbiosis con los hongos micorrícicos.



6. BIBLIOGRAFIA

- Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L., Bermejo, P. 2012. The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules* 17:2542–2566.
- AENOR. 1995. Norma UNE-EN 130101:1995. Análisis granulométrico de suelos por tamizado. Madrid.
- AENOR. 1995. Norma UNE-EN 103102:1995. Análisis granulométrico de suelos finos por sedimentación. Método del densímetro. Madrid.
- AENOR. 2001. Norma UNE-EN 77308:2001. Calidad del suelo. Determinación de la conductividad eléctrica específica. Madrid.
- AENOR. 2012. Norma UNE-EN 13039:2012. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación del contenido en materia orgánica y de las cenizas. Madrid.
- AENOR. 2012. Norma UNE-ISO 10390:2012. Calidad del suelo. Determinación del pH. Madrid.
- Arnold, W.N., Dalton, T.P., Loftus, L.S., Canan, P.A. 1991. A search for aantonin in *Artemisia pontica*, the other wormwood of old absinthe. *J. Chem. Educ.*, 68:27-28.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. 1995. Saprophytic growth of arbuscular-mycorrhizal fungi. En: *Mycorrhiza structure function, molecular biology and biotechnology*. B. Hock y A. Varma (Eds.). Springer-Verlag, Heidelberg. pp. 391-407.
- Bañares, A., Blanca, G., Güemes, J., Moreno, J.C., Ortiz, S. (Eds.). 2011. Atlas y libro rojo de la flora vascular amenazada de España. Adenda 2010. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas.
- Barea, J.M., Werner, D., Azcón-Aguilar, C., Azcón, R. 2005. Interactions of arbuscular mycorrhiza and nitrogen-fixing symbiosis in sustainable agriculture. En: *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology and the Environment*. D. Werner and W.E. Newton (Eds.). Springer, Heidelberg. pp. 199-222.



- Barea, J.M. 2009. Mycorrhizas and agricultural Fertility. En: Current Topics in Agriculture. J. Bonilla (Ed.). Studium Press, EE.UU.
- Barrero, A.F., Herrador del Pinoa, M. González-Portero, A., Arteaga-Buróna, P., Arteaga, J.F., Burillo-Alquézard, J., Díaz, C.E., González-Coloma, A. 2013. Terpenes and polyacetylenes from cultivated *Artemisia granatensis* boiss (Royal chamomile) and their defensive properties. *Phytochemistry* 94:192-197.
- Bessada, S.M.F., Barreira, J.C.M., Oliveira, M.P.P. 2015. *Asteraceae* species with the most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Ind. Crop. Prod.* 76:604-615.
- Bower, CA, Reitemeir, R.F., Fireman, M. 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. *Soil Sci.* 73:251-261.
- Bremer, K. 1994. *Asteraceae: Cladistics & classification*. Timber Press, Portland. 752 pp.
- Bremner, J.M., Mulvaney, C.S. 1982 Nitrogen-Total. En: Métodos de análisis de suelos. Parte 2. Propiedades químicas y microbiológicas. A.L. Page, R.H. Miller y D.R. Keeney (Eds.). Sociedad Estadounidense de Agronomía, Sociedad Estadounidense de Ciencias del Suelo, Wisconsin, EE.UU. pp. 595-624.
- Bretón, J.L., Camps, F., Coll, J., Eguren, L., Gavín, J.A., González, A.G., Martorell, X., Miratvilles, C., Molins, E., Torramilans, J. 1985. Isolation and structural elucidation of heliangolidin, a new sesquiterpene lactone from *Artemisia canariensis*. *Tetrahedron* 41:3141-3146.
- Brundett, M.S., Piche, Y., Peterson, R.L. 1985. A development study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Canad. J. Bot.* 63:184-194.
- Chaudhary, V., Kapoor, R., Bhatnagar, A.K. 2008. Effectiveness of two arbuscular mycorrhizal fungi on concentrations of essential oil and artemisinin in three accessions of *Artemisia annua* L. *Applied Soil Ecology* 40(1):174-181.
- Domokos, E., Jakab-Farkas, L., Darkó, B., Biró-Janka, B., Mara, G., Albert, C., Balog, A. 2018. Increase in *Artemisia annua* plant biomass, artemisinin content and guaiacol peroxidase activity using the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Frontiers in Plant Science* 9(478):1-9.



- Duke, S.O., Paul Jr., R.N., Lee, S.M. 1988. Terpenoids from the genus *Artemisia* as potencial pesticides. American Chemical Society Symposium Series 380:318-334.
- Ethnoplants. 2021. <http://www.ethnoplants.com>. Última visita 01 de noviembre de 2021.
- Frank, A., Trappe, J. 2005. On the nutritional dependence of certain trees on root symbiosis with belowground fungi (an English translation of A.B. Frank's classic paper of 1885). *Mycorrhiza* 15:267-275.
- Ghasemi-Pirbalouti, A., Firoznejhad, M., Craker, L., Akbarzadeh, M. 2013. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Rev. Bras. Farmacogn.* 23(6):861-869.
- González, A., Estévez-Reyes, R., Herrera-Velázquez, J. 1975. Sesquiterpene lactones and coumarins of *Artemisia ramosa*. *An. Quim.* 71:437.
- González, A.G., Bermejo, J., Zaragoza, T. 1983. Eudesmanolides from *Artemisia canariensis*. *Phytochemistry* 22(6):1509-1510.
- Guerrero, E. 1996. Micorriza: Fundamentos biológicos y estado del arte. En: *Micorrizas: Recurso biológico del suelo*. E. Guerrero y C. Azcón (Eds.). Fondo FEN Colombia, Bogotá. pp. 31-38.
- Harley, J.L., Smith, S.E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London. 483 pp.
- Hernández-Bermejo, E., Contreras, P., Clemente, M., Prados, J. 2004. *Artemisia granatensis*. En: A. Bañares, G. Blanca, J. Güemes, J.C. Moreno, S. Ortiz (Eds.). *Atlas y libro rojo de la flora vascular amenazada de España*. Dirección General de la Conservación de la Naturaleza, Madrid, pp 124–125.
- Hewitt, E. 1966. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Technical Communication No. 22., Technical Communication No. 22. East Malling, Maidstone, Kent, England: Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops.
- Honrubia, M. 2009. Las micorrizas: Una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 66S1:133-134.
- Jaizme-Vega, M.C. 2019. Las micorrizas, una estrategia agroecológica para optimizar la calidad de los cultivos. *Phytoma*, Valencia. 112 pp.



- Kapoor, R., Chaudhary, V., Bhatnagar, A.K. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza* 17(7):581-587.
- Koske, R., Gemma, J. 1989. A modified procedure for staining root to detect VA mycorrhizas. *Mycol. Res* 92:692.
- Mandal, S., Upadhyay, S., Wajid, S., Ram, M., Jain, D.C., Singh, V.P., Kapoor, R. 2014. Arbuscular mycorrhiza increase artemisinin accumulation in *Artemisia annua* by higher expression of key biosynthesis genes via enhanced jasmonic acid levels. *Mycorrhiza*, 1-13.
- Mansilla, H., Palenzuela, J.A. 1999. Minor eudesmanolides from *Artemisia canariensis*. *Phytochemistry* 51:995-997.
- Marco, J.A., Barberá, O., Rodríguez, S., Domingo, C., Adell, J. 1988. Flavonoids and other phenolics from *Artemisia hispanica*. *Phytochemistry* 27:3155-3159.
- Marco, J.A., Sanz, J.F., del Hierro, P. 1991a. Two eudesmane acids from *Artemisia vulgaris*. *Phytochemistry* 30:2403-2404.
- Marco, J.A., Sanz, J.F., Yuste, A., Carda, M., Jakupovic, J. 1991b. Sesquiterpene lactones from *Artemisia barrelieri*. *Phytochemistry* 30:3661-3668.
- Marco, J.A., Sanz-Cervera, J.F., Sancenón, F., Arnó, M., Vallés-Xirau, J. 1994. Sesquiterpene lactones and acetylenes from *Artemisia reptans*. *Phytochemistry* 37(4):1095-1099.
- Marco, J.A., Sanz-Cervera, J.F., Garcia-Lliso, V., Batlle, N. 1997a. Sesquiterpene lactones from *Artemisia lucentica*. *Phytochemistry* 45(4):755-763.
- Marco, J.A., Sanz-Cervera, J., García-Lliso, V., Vallés-Xirau, J. 1997b. Sesquiterpene lactones and lignans from *Artemisia arborescens*. *Phytochemistry* 44(6):1133-1137.
- Martinez, V., Barberá, O., Sánchez-Parareda, J., Marco, J.A. 1987. Phenolic acetylenic metabolites from *Artemisia assoana*. *Phytochemistry* 26:2619-2624.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1986. Métodos oficiales de análisis. Tomo III. Dirección General de Política Alimentaria. Madrid.



- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2012. Sistema de información sobre las plantas de España Anthos <http://www.anthos.es>. Última visita 30 de septiembre de 2021.
- Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. 2011. Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas. BOE. 46:20912-20951.
- Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. 2010. Lista Roja 2010 de la Flora Vascular Española. https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/listarojaactualizada2010_baja_tcm30-99749.pdf. Última visita 01 de noviembre de 2021.
- Olsen, S., Cole, C., Watanabe, F., Dean, L. 1954 Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular Nr 939., US Gov. Print. Office Washington, EE.UU.
- Phillips, J., Hayman, D. 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.
- Pozo, M., Jung, S., Martínez-Medina, A., López-Ráez, J., Azcón-Aguilar, C., Barea, J. 2013. Root allies: Arbuscular mycorrhizal fungi help plants to COPE with biotic stresses. En: Symbiotic endophytes. R. Aroca (Ed.). Springer-Verlag. Heidelberg. pp. 289-307.
- Presidencia del Gobierno de Canarias. 2010. Ley 4/2010, de 4 de junio, del Catálogo Canario de Especies Protegidas. BOC 112:15200-15225.
- Rapparini, F., Llusà, J., Peñuelas, J. 2008. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) colonization on terpene emission and content of *Artemisia annua* L. Plant Biology 10(1):108-122.
- Sanz, J.F., Barbera, O., Marco, J.A. 1989. Sesquiterpene lactones from *Artemisia hispanica*. Phytochemistry 28:2163-2167.
- Sanz, J.F., Marco, A. 1990a. Two eudesmanolides from *Artemisia caerulescens* subsp. *gargantae*. Plant. Med. 56:236-237.
- Sanz, J.F., Marco, A. 1990b. Sesquiterpene lactones from *Artemisia caerulescens* subsp. *gargantae*. Phytochemistry 29:2913-2917.



- Sanz, J.F., Marco, J.A. 1990c. New eudesmane derivatives from *Artemisia tournefortiana*. Liebigs. Ann. Chem. 1990(6):541-545.
- Sanz, G.M., Fabregat, C., López, S. 1994. Una planta encontrada en Fortanete, novedad para la flora de la Península Ibérica: "La *Artemisia armeniaca* Lam." Anales Jardín Botánico de Madrid 52(1):1-4. http://www.ontejas.org/sec.aspid_link=30&id_up=16.html
- Schoeneberger, P.J., Wysocki, D.A., Benham, E.C., Broderson, W.D. (Eds.). 2002. Field book for describing and sampling soils, version 2.0. Natural Resources Conservation Service, National Soil Survey Center, Lincoln, EE.UU.
- Siqueira, J., Franco, A. 1988. Biotecnología do solo: fundamentos e perspectivas. Brasilia MEC-ESAL-FAEPE-ABEAS, pp.125-177.
- Smith, S.E., Read, D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Cambridge. 605 pp.
- Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang, H.Q. 1998. Biologically active substances from the genus *Artemisia*. Planta Med. 64:295-302.
- Todorova, M.N., Tsankova, E.T., Trendafilova, A.B., Gussev, C.V. 1996. Sesquiterpene lactones with the uncommon rotundane skeleton from *Artemisia pontica* L. Phytochemistry. 41:553-556.
- Valera-Molina, A. y Santos-Guerra, A. 2002. Investigaciones fitoquímicas en plantas canarias. Centro de estudios Ramón Areces S.A., Madrid. pp. 47-48, 251, 257, 259, 321-322, 343-346.
- Villar, A., Calduch, M.L., Zafra-Polo, M.C. 1983a. Aceites esenciales de diversas especies de *Artemisia*. Ars. Pharm. 24:149.
- Villar, A., Zafra-Polo, M.C., Nicoletti, M., Galeffi, C. 1983b Eudesmanolides of *Artemisia barrelieri*. Phytochemistry 22:777-778.
- Voillamoz, J.F., Carlen, C., Taglialatela-Scafati, O., Pollastro, F., Appendino, G. 2015. The genepi *Artemisia* species. Ethnopharmacology, cultivation, phytochemistry and bioactivity. Fitoterapia 106:231-241.
- Walkley, A.J., Black, I.A. 1934 Estimación del carbono orgánico del suelo por el método de valoración del ácido crómico. Ciencia del suelo 37:29-38.