



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

“IZTACALA”

CARRERA DE BIOLOGO

EL EFECTO DE LA INOCULACION DE DIFERENTES HONGOS
ENDOMICORRICICOS VESICULAR-ARBUSCULAR (V-A) SOBRE EL
DESARROLLO DE ALGUNAS PLANTAS DE INTERES AGRONOMICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A

JOSE JESUS BOTELLO GALLEGOS

SAN JUAN IZTACALA, MEXICO

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A LAURA ROCIO:

PARA QUE A TRAVES DEL TIEMPO LOGRE FORJAR UNA DISCIPLINA Y CARACTER TAL, QUE SEAN DETERMINANTES EN SU CONSOLIDACION ANTE LA DIFICIL EPOCA QUE LE HA TOCADO VIVIR.

A LA MUJER QUE CONOCE MIS VICISITUDES Y LAS COMPARTE, LAS COMPRENDE Y CON RAZON NO LAS JUSTIFICA.

A MIS PADRES UNA ELEGIA, POR EL POCO APOYO RECIBIDO; NO OBSTANTE, PERSISTE INQUEBRANTABLE SU AFAN DE LLEVAR A BUENA TIERRA A LOS SUYOS.

PARA MIS HERMANOS, CADA UNO CON SU FILOSOFIA DE LA VIDA, QUE -- CONSIGAN TODO AQUELLO CUANTO INTENTEN Y SE SUBLIMEN DIA A DIA. --
¡ SUERTE !

POR LA RESPONSABILIDAD QUE TOCA AL HOMBRE DE ESTE PLANETA, POR CONSERVAR AL HOMBRE MISMO; A ESE, DE TODAS LAS EDADES.

DE TODAS LAS RAZAS,

DE TODOS LOS CREDOS,

DE TODOS LOS TIEMPOS:

AL HOMBRE.

AGRADECIMIENTO

AL DR. RONALD FERRERA-CERRATO POR SU EXTRAORDINARIA DIRECCION Y POR SUS ENSEÑANZAS.

AL DR. FERMIN RIVERA A. POR SUS CONSEJOS, REVISION Y COMPRESION AL TRABAJO.

A LA SRITA. SILVIA RANGEL LOERA POR SU COLABORACION MECANOGRAFICA.

AL Q.B.P. HECTOR FRANCISCO GARCIA SANCHEZ POR SU AMISTAD Y APOYO.

PARA EVITAR OMISIONES INVOLUNTARIAS, AGRADEZCO EN GENERAL A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DIRECTA O INDIRECTAMENTE COLABORARON PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO. SECC. MICROBIOLOGIA CEDAF COLEGIO DE POSTGRADUADOS Y DPTO. MICROBIOLOGIA COTEPER MATEHUALA, S.L.P. MEXICO.

Esta tesis fue realizada en la Sección de Microbiología del Centro de Edafología del Colegio de Postgraduados. Chapingo México-bajo la dirección del Congreso Particular indicado, ha sido aprobado por el mismo y aceptado como requisito parcial para obtener el Título de:

BIOLOGO.

Los Reyes Iztacala 1984.

Consejo:

DIRECTOR: DR. RONALD FERRERA-CERRATO.

ASESOR: DR. FERMIN RIVERA AGUERO.

* Forma parte del Proyecto Conacyt SECTOR SOCIAL

IVT-AP-NAL-83-1981

CONTENIDO

Pags.

I	INTRODUCCION.....	1
1.1	Distribución de la Endomicorriza V-A.....	3
1.2	Taxonomía de las Endoganaceas.....	3
1.3	Morfología de la Endomicorriza V-A.....	5
1.4	Fisiología de la Endomicorriza V-A.....	7
1.4.1	Función de los Arbúsculos.....	10
1.4.2	Función de las Vesículas.....	11
1.4.3	Función de las esporas y esporocarpos.....	11
1.2.1	Factores involucrados en el establecimiento de la - Endomicorriza V-A.....	11
1.2.1.1	Naturaleza del Suelo.....	11
1.2.1.2	Temperatura.....	12
1.2.1.3	Luz.....	13
1.3.1	Dependencia de las plantas a la Endomicorriza V-A..	14
1.4.1	Interacción de la Endomicorriza V-A con los micro-- organismos patógenos.....	15
1.5.1	Interacción de la Endomicorriza V-A con los Micro-- organismos no patógenos.....	16
1.6.1	Efecto de los pesticidas agrícolas sobre la Endomi- corriza V-A.....	17

CONTENIDO

	Pags.
II. OBJETIVOS.....	19
III. MATERIAL Y METODOS.....	28
3.1.1 Fase "A"	28
3.1.2 Fase "B"	33
IV. RESULTADOS.....	36
4.1.1 Resultados Fase "A".....	36
4.1.2. Resultados Fase "B".....	37
4.1.3 Resultados: Cuadros y Figuras.....	39
V. DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	58
VI. LITERATURA CITADA.....	67
VII. APENDICES.....	74

I. INTRODUCCION.

Particularmente el conocimiento de la rizosfera ha provocado - que se estudien diversas formas de relaciones biológicas en el suelo especialmente las que se dan interespecíficamente, destacando la simbiosis ("vivir juntos"), en donde los organismos - asociados son benéficos el uno al otro y en algunos casos sólo de esta manera sobreviven. La relación simbiótica es en esen- cia, diferente al parasitismo unilateral.

La simbiosis que se establece entre las raíces de las plantas superiores y algunos grupos de hongos especializados se llama Micorriza; esta palabra se deriva de los vocablos griegos ---- Mike=hongo y Rhiza=Raíz, literalmente hongo de la raíz. El término micorriza fue usado por primera vez por Frank en 1885 --- quién a la vez diferenció dos tipos: Ectótrofa y Endótrofa. -- Peyronel et al (1969) introduce la terminología, que de común- es utilizada actualmente: Ectomicorriza, Endomicorriza y Ecto- endomicorriza.

Cada uno de los tipos de endomicorriza poseen características- que los distingue entre sí; por un lado, sus patrones morfoló- gicos e histológicos y por otro lado, los grupos de hongos y - las plantas superiores involucradas. En un aspecto general, la Ectomicorriza se establece entre hongos de la Clase de los Ba- sidiomicetos y los miembros de las familias Pinaceae Betula--- ceae y Fagaceae; se caracteriza por contener un manto fúngico- que cubre las raíces laterales de la planta hospedera. El hon- go crece intercelularmente a nivel del tejido cortical, la es- tructura de hifas así formada se le conoce como la Red de Har- tig. La Endomicorriza ha sido dividida en tres categorías, por considerarse a cada una de ellas como grupos bien uniformes y- definitivos (Lewis, 1973; citado por Ferrera-Cerrato, 1977).

- a).- Vesicular-Arbuscular (V-A).
- b).- Ericaceas.
- c).- Orquidáceas.

La endomicorriza V-A recibe este nombre por presentar en su morfología microscópica estructuras llamadas Vesículas y Arbusculos.

Es común que al referirse a los hongos endomicorrícicos se relacione con el grupo Vesicular-Arbuscular, por ser éste el más extenso e importante de los simbioses radicales.

Aunque los primeros estudios de la endomicorriza V-A se ubican por el 1900, la significancia de esta simbiosis ha sido tomada en consideración hasta años recientes. El punto de partida es que la asociación simbiótica de la endomicorriza V-A está directamente involucrada en la absorción y translocación de fósforo y otros nutrientes a la planta hospedera, utilizando fuentes de nutrientes que para un sistema radical no micorrizado no son accesibles. Este proceso es importante en un ecosistema natural, pero la potencialidad práctica está en función de la capacidad de inducir mayor crecimiento y desarrollo en las plantas de los agroecosistemas. Dentro del rango de hospederos de los hongos formadores de endomicorriza V-A se encuentra una cantidad importante de plantas de interés agronómico, encontrándose desde las anuales hasta las perennes. Cuadro 1.

La endomicorriza Vesicular-Arbuscular se plantea como parte de una alternativa en el uso de fertilizantes fosfatados, así como del establecimiento de especies forestales y otros cultivos de importancia económica en suelos de baja fertilidad y sitios degradados.

Actualmente el estudio de la micorriza no se reduce a un simple tema académico, sino que es todo un campo en el contexto de la investigación mundial.

1.1. Distribución de la Endomicorriza V-A.

Geográficamente, la endomicorriza V-A ocurre de los Trópicos - al Artico, el rango de hospederos es muy amplio y su distribución ocupa una gran diversidad de hábitats. La distribución -- descriptiva en el reino vegetal ha sido reportada en Briofitas, Pteridofitas, Gimnospermas y Angiospermas. Son contadas las familias en las que no se reporta, o no se ha reportado, como -- hospederos de los hongos endomicorrícicos V-A; por ejemplo, -- las Fumariaceas, Commeliaceas, Urticaceas, etc. De esta forma, se excluyen también aquellas familias que poseen la ectomicro-- rrizas, estimándose que solamente el 3% de las Phanerógamas la - presentan (Gerdemann, 1968; Ferrera-Cerrato, 1977). De igual - manera, las plantas que presentan formas de simbiosis micorrí-- cica más especializadas como las Ericaceas y Orquidáceas.

1.2. Taxonomía de las Endogonaceas.

La taxonomía de los hongos formadores de endomicorriza V-A pre - senta muy serias dificultades, fundamentalmente provocadas por el hecho de ser hongos simbiontes obligados; esta característi - ca no ha permitido, hasta el momento, que se puedan cultivar - en medios sintéticos. Tomando lo anterior como una necesidad - para conocer el ciclo de vida de tales hongos, la identifica-- ción de los diferentes géneros y especies continúa basándose - en criterios morfológicos fragmentarios (Furlan, 1976). Los -- miembros de la familia Endogonaceae habían carecido de signifi - cado hasta que se conoció su importancia como formadores de en - domicorriza Gerdemann y Trappe (1974) los colocan en definiti - va en dicha familia. De acuerdo al esquema de clasificación -- propuesto por Ulloa y Hanlin (1978), tenemos;

REINO: FUNGI.
 DIVISION: EUMYCOTA.
 CLASE: ZYGOMYCETES.
 ORDEN: MUCORALES.
 FAMILIA: ENDOGONACEAE.

Varios autores asignan a la familia de las endogonaceas siete géneros y 43 especies con 17 de ellas como endomicorrícicas - V-A. En el cuadro 2 se agrupan los géneros y especies de esta familia. El cuadro 3 hace breve descripción de algunas de las características de los géneros que integran a las endogonaceas (Furlan, 1976). En la actualidad, cuatro de los siete géneros son reportados como formadores de micorriza V-A Acaulopora, Gigaspora, Glomus y Sclerocystis. Figura 1. En años anteriores a 1974, mucha de la literatura asignaba al género -- Endogone como endomicorrícico; de acuerdo a la clasificación actual (Gerdemann y Trappe, 1974) muchas de las especies de -- Endogone probablemente no lo sean. De igual forma los géneros Glazfiella y Modicella de los cuales la información, en este -- sentido, es mínima.

La identificación de estos hongos se ha logrado mediante la -- obtención de las esporas por inducción de la simbiosis en hospederos de prueba, estas estructuras son aisladas por tamizado del sustrato (ver apéndice I), donde se les hace crecer. A nivel de campo se usa el mismo sistema de aislamiento y de esta forma se estudian e identifican las poblaciones de hongos-endomicorrícicos indígenas.

La morfología de las esporas es la base de su identificación ya que el estudio de los detalles anatómicos al microscopio de la infección presentan pocas posibilidades de diagnóstico para lograr identificarlos.

1.3. Morfología de la Endomicorriza V-A.

La detección de la endomicorriza V-A es posible solamente con la observación microscópica de raíces infectadas, utilizando métodos de clareo y coloración, la presencia de la simbiosis no induce modificaciones morfológicas externas en las raíces de las plantas hospederas, salvo algunos casos de raíces poco o no lignificadas, en las cuales se presentan una coloración verde limón o café claro que contraste notablemente con el color blanco de las no infectadas, sin embargo, esta característica desaparece cuando la raíz se pone en contacto con la luz, (Gerdemann, 1968). En los métodos empleados para observar al microscopio los detalles de la infección en la raíz, existen varias formulas de coloración las más comúnmente usadas son; Fucsina ácida en Lactofenol y en Lactoglicerol, Azul de algodón, Azul tripano etc (Kormanik, et al 1980; Furlan, 1976; --- Phillips y Hayman 1980; Kormanik y Mc Graw, 1982).

La morfología externa de una raíz con la endomicorriza V-A, -- está contenida en una red de hifas fúngicas que se desarrollan en la rizosfera de la planta; esta red es muy variable en extensión y densidad y depende de la combinación hongo hospedero. Las hifas presentan irregularidad en tamaño, tienen un diámetro de 15 μm , con paredes delgadas de 3 μm y ramificaciones de 2 a 3 μm en diámetro; se ha comprobado que la actividad fisiológica de las hifas se extiende a 7-10 cm de la raíz (Rhodes y Gerdemann, 1978), no obstante, diversos autores hablan de distancias mayores o menores para la extensión y la actividad de las hifas.

Característicamente las hifas son cenocíticas, sin embargo,-- pueden formar septos cuando existen condiciones adversas o el hongo está declinando en el proceso de la vida (Gerdemann, -- 1974). Cuando la asociación micorrícica alcanza su estado de madurez, las hifas producen esporas, las cuales poseen formas variables: siendo estas globosas, subglobosas, redondas y de-ovoides a elípticas. Pueden ocurrir individualmente, en esporocarpos o en ambos, esto, dependiendo de la especie de hongo asociado.

Presentan colores variables de acuerdo al estado de madurez y su tamaño es de hasta 500 μm de diámetro. Los propágulos de la endomicorriza V-A en la rizosfera incluyen clamidosporas, azigosporas y vesículas de acuerdo a la especie.

El proceso de infección es iniciado cuando las hifas se ponen en contacto con las células epidérmicas o con los pelos radicales en la raíz, en este momento se forma un apresorio de penetración dándose una rápida colonización a nivel del tejido cortical. El crecimiento de las hifas puede ser inter o intracelular o los dos, partiendo de los puntos de penetración. No obstante, la colonización por las hifas nunca invaden la región meristemática, las células del endodermo, aquellas que contienen pigmentos y el sistema conductor de la raíz (Carling y Brown, 1981).

Inmediatamente después de la colonización, se desarrollan las estructuras fúngicas que caracterizan a la endomicorriza V-A, las vesículas y los arbusculos. Los arbusculos analogados en forma con los haustorios de los hongos patógenos del grupo de los Biotróficos, se forman intracelularmente cuando una hifa penetra la pared celular invaginando la membrana de la célula del hospedero, ya en el interior su base se engruesa y se ramifica dicotómicamente hasta ocupar gran parte del citoplasma, al desarrollarse el arbusculo aumenta el volumen celular siendo un proceso reversible cuando éste degenera.

Los arbusculos son estructuras de vida funcional muy corta, - sus finas ramificaciones terminales pueden ser menores a 1 μm de diámetro e intervienen en el intercambio de nutrientes entre el hongo y el hospedero. Por muchos años se pensó que los arbusculos eran digeridos por la célula aprovechando el fósforo contenido en ellos; sin embargo, estudios ultraestructurales realizados por Tinker y Cox (1976; citado por Safir, --- 1980) sugieren que el mecanismo de translocación del fósforo requiere del hongo vivo, ocurriendo la transferencia a través de las membranas.

El ciclo del arbusculo es de 4 a 15 días (Carling y Brown, -- 1981) lapso en el cual alcanza un máximo funcional para luego colapsarse formando una masa amorfa y ser digerido por la célula hospedera.

En el momento en que la asociación micorrícica está bien establecida, se forman las vesículas; estas estructuras contienen gotas lipídicas y se les considera como órganos de reserva. - Son inter o intracelulares, su forma y tamaño son variables, - generalmente son terminales, las hay esféricas, ovaladas o de forma irregular su tamaño es de 50 μm o menores. El esquema - que ejemplifica los elementos estructurales de la micorriza - V-A se pueden observar en la Fig. 2.

1.4. Fisiología de la Endomicorriza V-A.

A la luz de los conocimientos actuales, es difícil establecer de una forma integral los mecanismos fisiológicos que rigen - a la simbiosis de la micorriza Vesículo-Arbuscular, dado que este tipo de hongos poseen la característica de ser simbiotes obligados y esta particularidad no ha permitido cultivarlos sintéticamente. Los estudios realizados hasta el presente se fundamentan en observaciones indirectas, es decir, la - inducción de la infección sobre hospederos de prueba en condi

ciones de sustratos fumigados estériles para su crecimiento, para posteriormente auxiliarse de la microscopía, los análisis histoquímicos así como del empleo de elementos isotópicos como el ^{32}P , ^{45}Ca , ^{15}N , ^{35}S , ^{65}Zn (Cooper y Tinker, 1978).

A lo largo de las distintas experiencias, es claro que la micorriza V-A interviene en el crecimiento y desarrollo de las plantas con los que se asocia proporcionando mayor eficacia en la absorción y translocación de nutrientes, fundamentalmente el fósforo Calcio, Cobre, Manganeso, Magnesio, Nitrógeno - Azufre y Zinc etc. (Mosse, 1973, Furlan, 1976; Gerdemann. --- 1968; Cooper y Tinker, 1978).

Se han propuesto algunos modelos para explicar los mecanismos responsables de la eficiencia y mayor capacidad de absorción de nutrientes por medio de este sistema radical, cuando está en asociación con hongos micorrícicos V-A. El modelo más aceptado para explicar las ventajas fisiológicas que confieren a los hongos que conforman la endomicorriza V-A a las plantas superiores, es con base a la red de hifas externas que se desarrollan en la rizosfera de la raíz micorrizada, las que proporcionan un considerable aumento en la superficie de contacto explorando un volumen mayor de suelo por superficie de área (Sanders y Tinker, 1973).

En suelos de baja fertilidad el sistema radical micorrizado aprovecha las fuentes de nutrientes disponibles por muy limitadas que estas sean, gracias a la mayor extensión proporcionada por la red, para una raíz no infectada estas fuentes de nutrientes no son accesibles.

La habilidad para absorber y traslocar el fósforo va a depender de la especie de planta así como del hongo en la asociación. La hipótesis general está dada en el sentido que cuando el suelo presenta fuentes de nutrientes limitadas, la red de hifas funciona como un translocador adicional. Es posible que sean diferentes los mecanismos de absorción del hongo para --

distintos nutrientes y que las diversas cepas de endofitos - pueden tener características fisiológicas que confieren mayor o menor capacidad de absorción. La zona alrededor de la raíz - estará directamente relacionada con los beneficios aforados - que recibe la planta por la infección micorrícica. Cuando los nutrientes móviles están presentes en bajas concentraciones, - el sistema radical micorrizado es más eficiente que el no micorrizado.

Hayman y Mosse (1972) han demostrado que la endomicorriza V-A no aumenta la absorción de fósforo por solubilización de los complejos insolubles, sino que la absorción se ejerce de los compuestos de P excedentes de la fracción soluble y liberados por su propia constante de disociación. Un trabajo realizado por Bowen et al (1975) citado por Safir (1980), ha confirmado que las raíces micorrizadas absorben más fósforo de una solución acuosa en comparación con un sistema radical sin la presencia del hongo simbiote. Mediante el marcaje radioactivo - con ^{32}P se ha estudiado la naturaleza de la absorción de fósforo en plantas con la presencia de la micorriza V-A; Rhodes y Gerdemann (1973), probaron en plantas micorrizadas, sus resultados indican que la cantidad de ^{32}P translocado hacia la raíz, tallo y hojas fue de 160 veces mayor en plantas con la micorriza V-A que las plantas control.

El conocimiento de los mecanismos exactos por los cuales se - realiza la translocación del fósforo del hongo al hospedero - son entendidos en forma relativa.

Diversas observaciones (Azcón y Barea, 1980) han mostrado que un modelo de translocación, consiste de ciclosis o corrientes citoplásmicas bidireccionales en el interior de la hifa del - hongo este modelo ha sido completado mediante trabajos histo - lógicos, en donde se ha puesto de manifiesto la presencia de - gránulos de polifosfatos en las vacuolas de hifas y arbúscu--

los. Con base en estas observaciones proponen que el ión fosfato es translocado como gránulos de polifosfatos; este mecanismo se asegura mediante la presencia simultanea de vacuolas en hifas y arbusculos conteniendo fosfatasa alcalina, lo que indica que el comportamiento vacuolar está implicado en el fenómeno de transporte activo de fósforo proveniente del exterior -- del sistema radical.

Gianinazzi-Pearson (1982), utilizando la técnica de gel de --- acrilamida, demuestran que la actividad de la fosfatasa alcalina es específica de la asociación micorrícica Vesículo-arbuscular. De aquí que el sistema enzimático de una planta hospedera difiera de una planta no infectada en relación al metabolismo del fósforo.

1.4.1. Función de los Arbusculos.

La transferencia del fósforo del hongo endomicorrícico V-A. al hospedero se admite en general, que se realiza a nivel de los arbusculos, la interfase localizada entre las finas ramificaciones terminales de los arbusculos y el plasmolema de las células del hospedero es el sitio de transferencia del fósforo, - este proceso de transporte activo está gobernado por la actividad de las ATP-asas plasmolémicas. La funcionalidad integrada de esta zona interfásica consiste de una transferencia bidireccional de nutrientes (Carling y Brown, 1981; Gianinazzi, 1982). De manera tal que, el hongo transfiere el fósforo que proviene del exterior de la raíz y las sustancias nutritivas sintetizadas por el hospedero, principalmente compuestos de carbono, -- son transferidas al hongo. De aquí que los arbusculos mantengan una dualidad funcional y vital en la relación simbiótica - de la endomicorriza Vesículo-Arbuscular.

1.4.1. Función de las Vesículas.

La función de las vesículas no se ha establecido definitivamente, por el momento se les atribuye el papel de órganos de reserva de metabolitos, principalmente gotas lipídicas, además de que se habla de funciones de reproducción (Mosse, 1973). Mc. Lennan (1926) citado por Furlan (1976) demostró que los lípidos son las principales sustancias que se acumulan en las vesículas en el curso de la infección. Estas estructuras son fuertemente radioactivas si se alimenta al hospedero con CO_2 marcado.

Tales reservas pueden ser utilizadas por la planta hospedera mediante la lisis de la pared de la vesícula.

1.4.3. Función de las esporas y de los esporocarpos.

Las esporas y los esporocarpos fundamentalmente son estructuras con funciones de reproducción. Y su estudio morfológico es utilizado por los investigadores para la identificación de los hongos que forman la micorriza V-A además de servir de inóculo para inducir la simbiosis sobre hospederos en condiciones controladas.

1.2.1. Factores involucrados en el establecimiento de la Endomicorriza V-A.

1.2.1.1. Naturaleza del suelo.

Dentro de las diversas condiciones requeridas para el establecimiento de la endomicorriza V-A, existen algunas que promueven la formación de la simbiosis y otras que la limitan o la inhiben. Los suelos con alta fertilidad, generalmente retardan o inhiben la micorrización. Los suelos con moderada o ---

baja fertilidad son los más propios para que prospere la micorriza V-A. A suelos que se les ha adicionado fósforo, nitrógeno o una fertilización completa reduce en una gran medida la infección.

En macetas de cultivo agregando altas dosis de fósforo, la micorriza V-A se vio deprimida (Mosse, 1975). Los altos niveles de P son detectados por el hongo de manera indirecta, es decir, por mediación del "status" nutricional de la planta; Sander (1975) citado por Safir (1980), reporta que la fertilización foliar con P en plantas de cebolla, provocó una considerable reducción en la infección por la micorriza V-A.

La humedad del suelo relacionada con la endomicorriza V-A no se ha caracterizado del todo; sin embargo, esta relación depende del tipo de suelo (textura), el hongo y el hospedero. La humedad extrema del suelo, así como una deficiencia de ésta, son factores que intervienen en el establecimiento de la simbiosis.

Mosse (1973), encontró que el número de esporas en la rizosfera de una planta micorrizada fue mucho más alto después de riegos diarios y se redujo a 10 y 25% con riegos semanales y doble riego diario, respectivamente.

1.2.1.2. Temperatura.

Moawad (1979) citado por Ferrera-Cerrato y Furlan (1982), señala que la temperatura del suelo puede afectar la actividad fisiológica de las micorrizas. Las plantas no micorrizadas no absorben el fósforo regularmente entre 20 y 35°C, mientras que las plantas micorrizadas absorben mucho más a temperatura de 20 y 30°C y menos de 35°C. La absorción de P bajo diferentes temperaturas, depende de la forma del fósforo en el suelo (soluble o insoluble), de la especie de planta y

aun del endofito. El hecho de alternar la temperatura diurna con una temperatura nocturna más baja, favorece la actividad metabólica de la endomicorriza.

Con una elevación de la temperatura la infección y la producción de esporas es estimulada, el crecimiento de la planta -- inoculada con la micorriza V-A fue muy superior a plantas no inoculadas.

Por el contrario, una baja temperatura no estimuló el crecimiento y la infección fue negativa así como el número de esporas (Furlan y Fortin, 1975).

Los cambios estacionales son responsables de la fluctuación en la intensidad de producción de esporas recolectadas en campo (Furlan, 1976).

1.2.1.3. La Luz.

La Luz ocupa una particular importancia en el desarrollo de la endomicorriza V-A. Las primeras observaciones fueron realizadas por Peyronel en 1940 (Furlan, 1976) quien observó un máximo de infección en lugares soleados y determinó un paralelismo entre la baja intensidad luminosa y una disminución en el porcentaje de infección. Boullard (1958) notó que en algunas especies, la infección es más elevada con fotoperíodo de 12 a 15 horas comparativamente con uno de 8 horas.

Con reducción del 50% de la intensidad luminosa en tabaco se observó una disminución del 85 al 31% de infección. Plantas que fueron defoliadas parcialmente presentaron solamente el 15% de infección. La baja intensidad luminosa en los invernaderos durante el invierno puede reducir la infección por la micorriza V-A (Gerdemann, 1968). Un cultivo inoculado y bajo un fuerte sombreado reduce la formación de esporas en un 80% (Mosse, 1973).

1.3.1. Dependencia de las plantas a la Endomicorriza V-A

En años recientes algunos investigadores han manejado el término "Dependencia micorrícica", refiriéndose a la necesidad de algunas especies de plantas, que en ausencia de la micorriza V-A presentan severos síntomas de deficiencia de nutrientes y pobre crecimiento. Kleinschmidt y Gerdemann (1972) notaron -- que las plantas de cítricos creciendo en suelos fumigados de vivero, presentaban síntomas muy marcados de deficiencia de nutrientes y aspecto clorótico además de que su crecimiento era muy lento. En una serie de ensayos agregaron suelo que no había sido tratado con fumigantes y notaron cierta mejoría; esta respuesta se interpretó como debido a la presencia de esporas de hongos endomicorrícicos V-A en la rizosfera de las plantas de los cítricos ya que los síntomas de clorosis y enanismo desaparecieron parcialmente.

De esta experiencia, plantearon la inoculación de plántulas de cítricos con hongos endomicorrícicos V-A en suelos fumigados; notaron que las plantas inoculadas no presentaban síntomas de deficiencia de nutrientes y su aspecto era sano en relación a los controles sin la micorriza; concluyeron que las plantas de cítricos son dependientes en alto grado de la condición micorrícica V-A para expresar su máximo crecimiento.

En otros trabajos Menge y Lembright (1977), compararon plantas de algunas especies de cítricos micorrizadas contra plantas no micorrizadas a las que aplicaron diferentes dosis de fertilizante fosfatado; encontraron que la dosis de fósforo necesaria en las plantas sin la micorriza fue de 560 Kg/ha para igualar el crecimiento de las plantas con la micorriza V-A.

Baylis (1975) reporta que las especies con un pobre desarrollo o carencia de pelos radicales en su raíz son más dependientes de la simbiosis micorrícica V-A, comparativamente con aquellos sistemas radicales con una amplia cobertura de pelos radicales

y por consecuencia no dependen totalmente de la simbiosis.

1.4.1. Interacción de la Endomicorriza V-A con los microorganismos patógenos.

Las investigaciones sobre la micorriza frente a los patógenos no ha producido soluciones concretas ni explicaciones satisfactorias. En numerosos casos estudiados, la presencia de los hongos de la endomicorriza V-A ha aumentado, disminuido o bien permanecido sin variación frente a los patógenos. Comparando 38 estudios en relación simbiosis-patógeno, se señalan 7 casos de incremento de daño patogénico, 22 casos de disminución y 9 en los que no se presentaron cambios (Schenck y Kellam, 1978). Las diferentes especies de plantas y las distintas cepas de hongos endomicorrícicos V-A pueden tener variadas respuestas en cuanto a los efectos de los patógenos, es decir, la micorriza puede promover o inhibir el desarrollo de las enfermedades. En apariencia, este hecho parece contradictorio, pero se puede explicar mediante: 1). La endomicorriza V-A provoca alteraciones en la rizosfera en beneficio o detrimento de los organismos patógenos; 2). Los cambios fisiológicos en la planta hospedera de la micorriza benefician u obstaculizan el desarrollo de la infección de los patógenos.

Algunos artículos establecen que cambios sutiles en el "status" de nutrientes o del agua en el suelo pueden afectar la germinación, el crecimiento, la supervivencia y virulencia de muchos microorganismos del suelo (Lockwood, 1977; citado por Safir, 1980).

Los exudados radicales pueden estimular la acción de los patógenos proporcionando la energía necesaria para la infección. La colonización de la raíz por los hongos simbiotes puede, en un momento dado, competir por muchos de los nutrientes, además

de reducir el aporte disponible para organismos patógenos limitando así la posibilidad de infección.

Becker (1976) citado por Safir (1980), encontró que aquellos segmentos colonizados por los hongos micorrícicos V-A son menos susceptibles al patógeno. Esto sugiere que altos niveles de colonización por el simbionte aumentan los niveles de resistencia al organismo patógeno.

Baltruschat (1973) citado por Safir (1980), reporta una disminución en la producción de clamidosporas de Thielaviopsis basicola en plántulas de tabaco micorrizadas. Extractos de esta raíz inhibieron la propagación de éste patógeno en pruebas "in vitro", dando como explicación que en los extractos de la raíz micorrizada existían altas concentraciones de arginina, siendo éste el factor que inhibió la producción de clamidosporas. El mismo autor menciona que la colonización por hongos endomicorrícicos V-A inhibieron el establecimiento del nemátodo Meloidogyne incognita (Kofoid y White) en plantas de tabaco. Fox y Spasoff (1972) citado por Safir (1980), demostraron que Heterodera solanacearum (Miller) fue inhibido por la micorriza V-A. Más recientemente Schenk y Kinlock (1974) citado por Safir (1980) encontraron en campos de Florida que altas concentraciones de nemátodos (Meloidogyne hapla y Heterodera glycines) fueron, invariablemente, asociados con una baja población de hongos endomicorrícicos V-A. De aquí se confirma que la colonización micorrícica actúa como antagonista manteniendo bajas poblaciones de nemátodos y se concluye que la reacción de resistencia y susceptibilidad a los nemátodos depende de la especie del hongo endomicorrícico.

1.5.1. Interacción de la Endomicorriza V-A con los microorganismos no patógenos.

La composición de los exudados radicales de una planta micorri

zada puede alterar la población de microorganismos de la rizosfera y se ha visto que proporciona elementos para el establecimiento de Rhizobium en las leguminosas (Crush, 1974).

La inoculación con la endomicorriza V-A en soja infectada con Rhizobium ejerce un efecto de sinergismo en la fijación del nitrógeno (Furlan, 1976).

Además se ha observado que la absorción de fósforo por una leguminosa micorrizada estimula la formación de nódulos por Rhizobium, aumenta la concentración de leghemoglobina y el rendimiento de proteínas (Daft y El-Giahmi, 1974).

Los nódulos de las raíces de plantas no leguminosas formadas por actinomicetos se asocian íntimamente con la endomicorriza V-A.

Estas dobles simbiosis pueden verse como ventajosas para el establecimiento de especies vegetales en suelos poco fértiles. Voigt (1971) citado por Furlan (1976), contempla la posibilidad de que la micorriza pueda influenciar la fijación no simbiótica por microorganismos tales como: Azotobacter, Beijerinckia o Clostridium.

Khan (comunicación personal con Furlan, 1976), ha observado -- una fuerte actividad de Pseudomonas precedentes a la infección micorrícica; lo que le permite suponer que la actividad enzimática de estas bacterias prepara la penetración del endofito, degradando los compuestos pécticos y proteínicos de la pared celular del hospedero.

1.6.1. Efecto de los pesticidas agrícolas sobre la Endomicorriza V-A.

Un aspecto muy importante inherente al uso de la endomicorriza V-A, es el que se relaciona con el efecto de la aplicación de los pesticidas en aquellos cultivos susceptibles de ser inoculados. Algunos estudios indican que el efecto está en relación

directa con el tipo de químico, así como de la especie de hongo endomicorrícico V-A. Cuadro 4.

Los nematicidas y los insecticidas han mostrado que tienen un efecto adverso sobre los sistemas micorrícicos. Con respecto a los fungicidas, los de contacto afectan primariamente a la germinación de las esporas micorrícicas inhibiendo el inicio de la infección; la aplicación foliar reduce la infección simbiótica. Los fungicidas sistémicos tienen un efecto variable, por ejemplo, Benomyl es un inhibidor de la micorriza V-A, --- mientras que el Vitavax no afecta la micorrización (Safir, -- 1980).

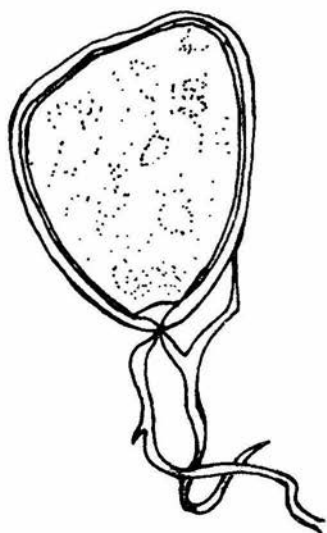
En conclusión, los fungicidas pueden en cierto grado, retardar pero no eliminar la micorrización.

En otro aspecto, los fumigantes son especialmente tóxicos; el Bromuro de metilo, Vapam, Cloropicrina, Formaldehído, Mylone y el Vorlex eliminan por completo cualquier forma de propágulos de la endomicorriza V-A. Un estudio realizado por Menge y Lembright (1977) indica que una concentración de 12,000 p.p.m de Bromuro de metilo con una exposición de siete horas mata totalmente a los hongos endomicorrícicos Vesículo-Arbuscular. De esta breve síntesis de trabajos sobre el efecto de los pesticidas sobre esta simbiosis se puede concluir que el uso de los pesticidas agrícolas, proporciona un margen aceptable de posibilidades en cuanto a la incorporación de la inoculación con hongos formadores de endomicorriza V-A en los agroecosistemas.

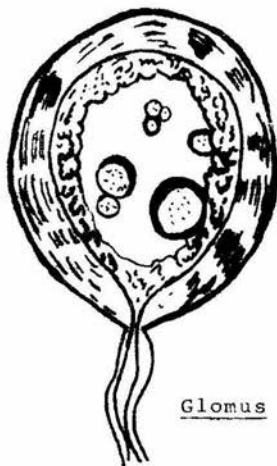
Dada la importancia de ésta asociación simbiótica y su potencial en el manejo de viveros para la producción de plantas de importancia agrícola se estudian los siguientes objetivos.

II. OBJETIVOS.

- 1.- Inducir la simbiosis micorrícica por medio de la inoculación con hongos formadores de endomicorriza Vesículo-Arbuscular (V-A) en plantas de interés agronómico; evaluando la susceptibilidad, el grado de infección y la efectividad.
- 2.- Realizar una selección de cepas de hongos endomicorrícicos V-A, así como de hospederos de prueba susceptibles y eficientes en la producción de inoculante.
- 3.- Evaluar la respuesta de Citrus aurantium L. (naranja agria) a la inoculación con hongos endomicorrícicos V-A utilizando diferentes niveles de inóculo. Determinando el potencial del inoculante en función del criterio inoculación -- nivel-respuesta.



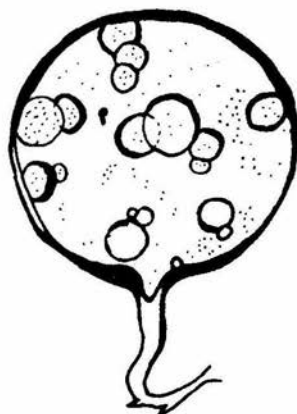
Gigaspora sp.
100x



Glomus fasciculatus.
200x



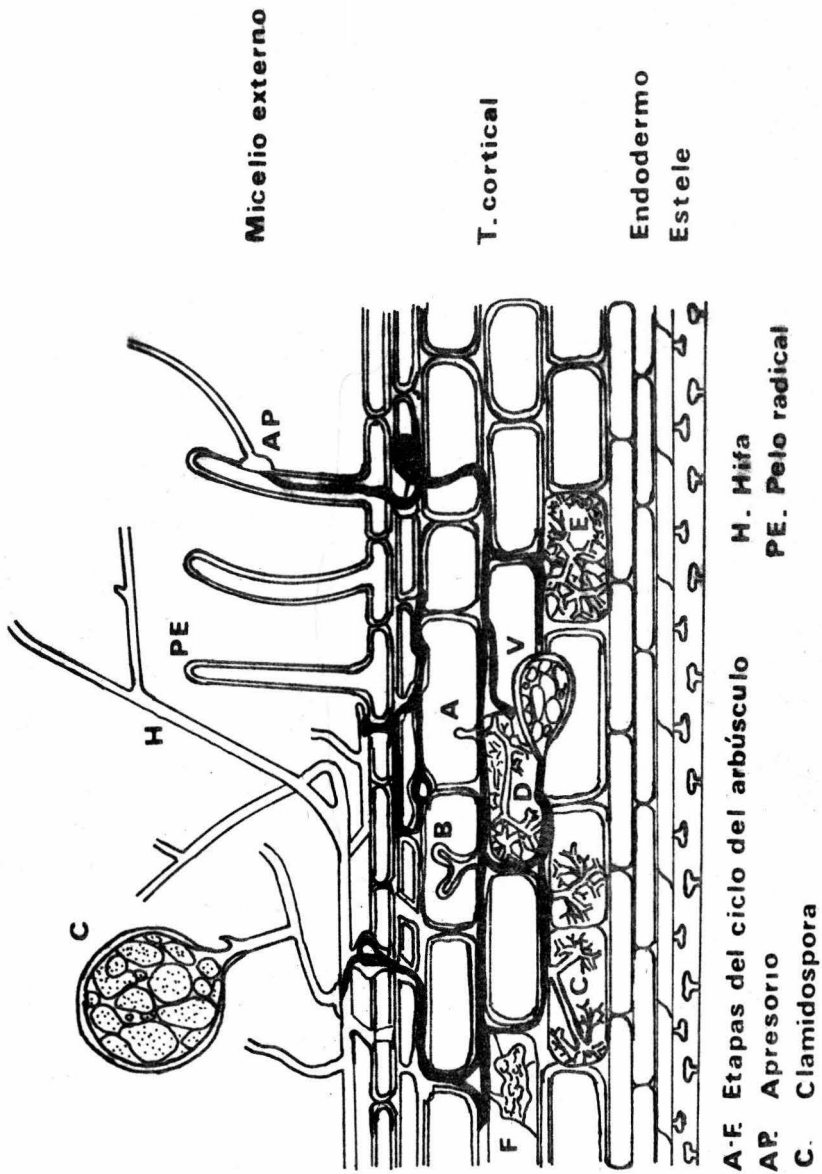
Acaulospora sp. 100x



Glomus mosseae. 500x

Figura 1. Secciones transversales de esporas mostrando características para su identificación.
Tomado de Trappe y Schenck, 1982.

Figura 2. Esquema general de la morfología de la endomicorriza V-A



A-E Etapas del ciclo del arbusculo

H. Hifa

AP. Aprosorio

PE. Pelo radical

C. Clamidospora

CUADRO 1.

CULTIVOS ANUALES Y PERENES DE INTERES AGRONÓMICO QUE SE ASOCIAN
CON LA MICORRIZA V-A.

LEGUMINOSAS

Acacia spp.
Arachis hypogaea
Cicer arietinum
Eysenhardtia polystachya
Lolium spp.
Mendicago sativa
Pisum sativum
Phaseolus spp.
Trifolium spp.

GRAMINEAS

Hordeum vulgare
Oryza sativa
Paspalum notatum
Saccharum officinarum
Sorghum vulgare
Triticum aestivum
Zea mays

FRUTALES

Ananas comusus
Citrus spp.
Fragaria vesca
Juglans spp.
Malus comunis
Mangifera indica
Melon cucumis
Persea americana
Prunus persica
Pyrus malus

F a m i l i a

Bromeliaceae
Rutaceae
Rosaceae
Juglandaceae
Rosaceae
Anacardiaceae
Cucurbitaceae
Lauraceae
Rosaceae
Rosaceae

SOLANACEAS

Capsicum spp.
Lycopersicon esculentum
Nicotiana tabacum
Solanum tuberosum

LILIACEAS

Allium cepa
Allium spp.

Continua.....

CONTINUACION DEL CUADRO 1.

ESPECIES DE DIVERSAS FAMILIAS

<u>Atriplex canences</u>	Chenopodiaceae
<u>Carica</u> spp.	Cariaceae
<u>Cocos nucifera</u>	Palmae
<u>Coffea arabica</u>	Rubiaceae
<u>Euphorbia</u> spp.	Ruforibiaceae
<u>Gossypium</u> spp.	Malvaceae
<u>Hevea brasiliensis</u>	Euphorbiaceae
<u>Lavandula spica</u>	Labiatae
<u>Liquidambar styraciflua</u>	Hamamelidaceae
<u>Olea cuspidata</u>	Oleaceae
<u>Parthenium argentatum</u>	Compositae
<u>Phoenix dactylifera</u>	Palmae
<u>Podocarpus</u> spp.	Podocarpaceae
<u>Theobroma cacao</u>	Esterculaceae
<u>Vitis vinifera</u>	Vitaceae

CUADRO 2.

GENEROS Y ESPECIES DE LA FAMILIA ENDOGONACEAE

<u>ENDOGONE</u>	* <u>GLOMUS</u>	* <u>CAULOSPORA</u>
<u>ACROGENA</u>	<u>BOREALIS</u>	<u>ELEGANS</u>
<u>ALBA</u>	<u>CALEDONIUS</u>	<u>LEAVIS</u>
<u>FLAMMICORONA</u>	<u>CANADENSIS</u>	
<u>INCRASSATA</u>	<u>CONVOLUTUS</u>	* <u>SCLEROCYSTIS</u>
<u>LACTIFLUA</u>	<u>FASCICULATUS</u>	<u>COCCOGNAA</u>
<u>MULTIPLEX</u>	<u>FLAVISPORUS</u>	<u>COREMIODES</u>
<u>OREGONENSIS</u>	<u>FRAGILES</u>	<u>DUSSII</u>
<u>PSIFORMIS</u>	<u>FUEGIANUS</u>	<u>RUBIFORMIS</u>
<u>STRATOSA</u>	<u>FULVIS</u>	
<u>TUBERCULOSA</u>	<u>MACROCARPUS</u>	
<u>VERRUCOSA</u>	VAR. <u>GEOSPORUS</u>	<u>GLAZIELLA</u>
	<u>MACROCARPUS</u>	
	VAR. <u>MACROCARPUS</u>	<u>AURANTIACA</u>
* <u>GIGASPORA</u>	<u>MELANOSPORUS</u>	
<u>CALOSPORA</u>	<u>MICROCARPUS</u>	<u>MODICELLA</u>
<u>CORALLOIDES</u>	<u>MONOSPORUS</u>	<u>MALLEOLA</u>
<u>GIGANTEA</u>	<u>MOSSEAE</u>	<u>RENIFORMIS</u>
<u>GILMORE</u>	<u>PUBENSSENS</u>	
<u>HETEROGAMA</u>	<u>PULVINATUS</u>	
	<u>RADIATUS</u>	
	<u>VISICULIFER</u>	

* FORMADORES DE ENDOMICORRIZA VESICULO-ARBUSCULAR

Tomado de Furlan 1976.

CUADRO 3. GENEROS DE ENDOGONACEAS: SUMARIO DE LAS PRINCIPALES CARACTERISTICAS

GENEROS	FRUCTIFICACIONES	TIPOS DE ESPORAS	GERMINACION DE ESPORAS	TIPO DE MICORRIZA
<u>ENDOGONE</u>	ESPOROCARPOS	ZYGOSPORAS	DESCONOCIDO	ECTOMICORRIZA O DESCONOCIDO
* <u>GIGASPORA</u>	ESPORAS INDIVI DUALES	AZYGOSPORAS	ATRAVES DE LA PARED	ARBUSCULAR
* <u>ACAULOSPORA</u>	ESPORAS	AZYGOSPORAS	ATRAVES DE LA PARED	VESICULAR ARBUSCULAR
* <u>GLOMUS</u>	ESPOROCARPOS Y ESPORAS INDIVI DUALES	CLAMIDOSPORAS	RECRECIMIENTO DE LAS HIFAS	VESICULAR ARBUSCULAR
* <u>SCLEROCYSTIS</u>	ESPOROCARPOS	CLAMIDOSPORAS	RECRECIMIENTO DE LAS HIFAS	VESICULAR ARBUSCULAR
<u>GLAZIELLA</u>	ESPOROCARPOS	CLAMIDOSPORAS	DESCONOCIDO	DESCONOCIDO
<u>MODICELLA</u>	ESPOROCARPOS	ESPORANGIOSPORAS	ATRAVES DE LA PARED	DESCONOCIDO

* FORMADORES DE ENDOMICORRIZA VESICULO-ARBUSCULAR

Tomado de Furlan 1976.

CUADRO 4. RESUMEN DE LOS EFECTOS DE ALGUNOS PESTICIDAS SOBRE LA INFECCION EN LA RAIZ O DESARROLLO DE CLAMIDOSPORAS POR HONGOS VESICULO-ARBUSCULAR

PESTICIDA	HOSPEDERO	EFFECTO DEL PESTICIDA SOBRE LA INFECCION - DE LA RAIZ POR MICO-RRIZA V-A	EFFECTO DEL PESTICIDA SOBRE EL DESARROLLO- DE CLAMIDOSPORAS POR MIC. V-A.	REFERENCIA
CLOROPICRINA	ALGODON	REDUCE	REDUCE	HURLIMANN (1974)
1,3-D (TELONE)	CITRICOS	INCREMENTA	REDUCE	D'BANNON Y NEMEC (1980) BIRO <u>et al</u> (1974)
D.B.C.P.	SOYA SORGO	INCREMENTA A NO AFEC. INCREMENTA A NO AFEC.	NO AFECTA INCREMENTA	BIRO <u>et al</u> (1974) KCHENCK (1978)
DIBROMURO DE ETILENO	CITRICOS	NO AFECTA	REDUCE A NO AFECTA	O'BANNON Y NENEC (1978)
FORMALDHEIDO	TRIGO	INCREMENTA A NO AFEC.	REDUCE	HAYMAN (1970)
BROMURO DE METILO	CITRICOS	REDUCE	REDUCE	O'BANNON Y NENEC (1978)
	SORGO	REDUCE	REDUCE	MENGE (1978)
VAPAM	CITRICOS	REDUCE	REDUCE	TIMMER (1978)
<u>NO SISTEMICOS</u>				
CAPTAN	MAIZ	REDUCE		NESHEIM Y LINN (1969)
	TRIGO	NO AFECTA	NO AFECTA	JALALI Y DOMSCH (1976)

CUADRO 4. . . Continuación

PESTICIDA	HOSPEDERO	EFFECTO DEL PESTICIDA SOBRE LA INFECCION - DE LA RAIZ POR MICO- RRIZA V-A	EFFECTO DEL PESTICIDA SOBRE EL DESARROLLO- DE CLAMIDOSPORA POR- MIC. V-A	REFERENCIA
	CEBOLLA	NO AFECTA		
	CITRICOS	NO AFECTA		DE BERTOLDI <u>et al</u>
SULFATO DE COBRE	CITRICOS		NO AFECTA	TIMNER (1978) NEMEC (1980)
MANEB	TRIGO	NO AFECTA	NO AFECTA	JALALI (1978)
<u>SISTEMICOS</u>				
BANROT	CHICHARO		NO AFECTA A REDUCE	STEWART (1977)
BENOMYL	ALGODON	NO AFECTA	-	HURLIMANN (1978)
	TRIGO	REDUCE	-	JALALI (1976)
	FRIJOL	REDUCE	-	SUTTON (1976)
	CEBOLLA	REDUCE		DE BERTOLDI (1977)
	FRESA	REDUCE		BOATMANN <u>et al</u> (1978)
	CITRICOS	REDUCE		NEMEC (1980)
	CEBADA	REDUCE A AFECTA		OCAMPO Y HYAMAN (1980)

Tomado de Menge 1981.

III.- MATERIAL Y METODO.

Para cubrir los objetivos de este trabajo, la metodología se dividió en Fase A y Fase B.

3.1.1. FASE "A"

Procedimiento 1:

En total se utilizaron 7 especies de hongos endomicorrícicos Vesículo-Arbuscular de la Familia Endogonaceae. A cada una de las especies se le asignó una clave para fines de localización en la distribución en los bancales del invernadero.

E S P E C I E	C L A V E
<u>Gigaspora calospora</u> (Nicol. y Gerd.) Gerd. y Trappe.	Gg.
<u>Glomus epigaeus</u> Daniels y Trappe.	Ge.
<u>Glomus macrocarpus</u> Gerd. y Trappe.	Gm.
<u>Glomus monosporus</u> Gerd. y Trappe.	Gn.
<u>Glomus</u> sp. Frene	Gf.
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	Gl.
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	Gs.

Inicialmente estos hongos fueron propagados en la sección de Microbiología del Suelo del Colegio de Postgraduados - Chapíngo, México, utilizando como hospedero a Allium cepa L., - Para obtener inoculante (Ferrera-Cerrato y Macedo, 1981). El inoculante consiste de suelo + esporas + raíces infectadas.

Este inoculante se utilizó para inducir la simbiosis micorrícica en 5 especies de plantas de cultivo común.

N O M B R E C O M U N	E S P E C I E	C L A V E
(Cebolla)	<u>Allium cepa</u> Var. de rabo	Ac.
(Garbanzo)	<u>Cicer arietinum</u> . Var surutato	Ca.
(Cebada)	<u>Hordeum vulgare</u> Var. centinela	Hv.
(Pasto inglés)	<u>Lolium perenne</u> .	Lp.
(Trébol bco.)	<u>Trifolium repens</u> .	Tr.

La mezcla de suelo usada como sustrato consistió de suelo-arena 2:1 (v/v). Esta mezcla se colocó sobre una plancha de concreto desinfectada con formaldehído al 10%, se cubrió una lámina de polietileno de calibre grueso, sellandose los bordos con suelo bien compactado y humedeciendo para evitar cualquier fuga del gas fumigante. Mediante un aplicador especial, la mezcla fué fumigada con una lata de Bromuro de metilo de 453g (1 libra). Despues de 7 días de la fumigación y un período de aereación de 3 días fué usado el material. El suelo usado en la mezcla proviene de la localidad de Lomas de Sn Juan Chapingo y arena fina de río. Se tomó una muestra de la mezcla para el analisis de contenido de fósforo y para la determinación de pH.

Se utilizaron vasos de unicel de 1 lt de capacidad como contenedores de los cultivos, mismos que fueron llenados con el sustrato.

El tratamiento que se le dió a las semillas, consistió en una ligera desinfección, mediante la inmersión en alcohol-etílico durante 10 min., con tres cambios de agua destilada -estéril. Previamente, a cada lote de semillas se les determinó el % de germinación.

METODO DE INOCULACION:

El inóculo permaneció en refrigeración (4°C) hasta el momento de su uso. Previamente a la inoculación se pesaron 50 gr de inóculo y se colocaron en bolsas de polietileno., sellándose y rotulándose. Para realizar la inoculación, se retiraron 5 cm de suelo de la superficie de la maceta, se vació el contenido de cada bolsa y se distribuyó homogéneamente durante la aplicación del inoculante el suelo retirado permaneció en una charola desinfectada con alcohol este suelo fué reintegrado despues de cada inoculación. Hecho lo anterior, se le dió un riego hasta humedecer y se procedió a sembrar equidistante la semilla a una profundidad de dos veces el tamaño de ésta, quedando en total 8 semillas por maceta; al emerger las plántulas se realizó un clareo selectivo (por tamaño), dejando 4 plántulas por vaso. Luego se cubrió la superficie con tezontle esterilizado. El programa de riego incluyó la aplicación de 100 ml de solución de Long Asthon deficiente en fósforo cada siete días. (Apéndice III). Se utilizó diseño completamente al azar bajo condiciones de invernadero. Las claves de los tratamientos se ven en la página 31 .

Procedimiento 2:

La propagación del inoculante es una de las partes importantes dado que la producción de ésta servirá en los siguientes pasos del trabajo. Por esta razón y tomando en consideración que hasta el momento no ha sido posible obtener cultivo de hongos endomicorrícicos V-A en medios de cultivo axénico, la alternativa es la propagación por inducción "in vivo" de la simbiosis en macetas sobre plantas hospederas susceptibles y de rápido crecimiento. Así pues, se utilizarón 24 charolas de plástico (39x8cms) colocándose en cada una 2.5 K de una mezcla de suelo-arena 2;1 (v/V), tratada con -----

TRATAMIENTOS.

31.

CLAVE DE LA CEPA	CLAVE DEL CULTIVO	REPETICIONES
Gg.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Ge.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Gm.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Gn.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Gf.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Gl.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

Gs.	Ac.	3
	Ca.	3
	Hv.	3
	Lp.	3
	Tr.	3
	Testigo	3

T o t a l		120

Bromuro de metilo, como se describe en el procedimiento 1. Para cada especie de hongos endomicorrícicos V-A, es decir por cada tratamiento, se realizan tres repeticiones y su testigo.

Para cada tratamiento se adicionaron las siguientes cantidades de inóculo*.

E S P E C I E	SUELO INOCULO (gr)	RAICES INFECTADAS (gr)
<u>Gigaspora calospora</u>	1248.0	20.0
<u>Glomus epigaeus</u>	203.0	0.0
<u>Glomus macrocarpus</u>	268.3	15.0
<u>Glomus monosporus</u>	667.2	21.5
<u>Glomus</u> sp. Frene	435.0	14.9
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	454.0	0.0
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	493.0	0.0

*Estas cantidades eran el total disponible de inoculante por especie.

Se seleccionó a Allium cepa como hospedero por conocer la gran susceptibilidad. Las semillas recibieron un tratamiento idéntico a las utilizadas en el procedimiento 1; sembrándose 40 semillas de Allium cepa. Al emerger las plántulas se realizó un aclareo selectivo (por tamaño), cubriéndose luego la superficie con tezontle esterilizado. El programa de riego incluye la aplicación de 200 ml de solución de Long Ashton deficiente en fósforo por charola (ver apéndice III).

Procedimiento 3:

Como prueba colateral en la propagación de inoculante, se utilizó inóculo con Glomus fasciculatus cuyo hospedero fue

Leucaena leucocephala material que estuvo en refrigeración desde noviembre de 1979 a 4°C, inoculando con ésta 6 macetas con Allium cepa. Esta prueba tiene la intención de conocer la viabilidad del material inóculo después de un largo período de -- almacenamiento, además de la recuperación de la cepa.

3.1.1. FASE "B"

El material inóculo obtenido del procedimiento No. 2 de la fase A (suelo + esporas + raíces infectadas) servirá en ésta fase.

Se tomó una muestra de raíces infectadas para evaluación del % de infección, usándose el resto como inóculo.

Se emplearon cuatro cepas de hongos formadores de endomiocorriza V-A; Gigaspora calospora (Nicol. y Gerd.). Gerd y Trappe; Glomus epigaeus Daniels y Trappe; Glomus fasciculatus ---- (Taxter) Gerd y Trappe y Glomus sp. Frene. Para la obtención del inóculo todas las cepas se propagaron en Allium cepa L. -- Var. Cabezona. Los componentes de inóculo usado son: suelo de rizosfera con esporas y segmentos de raíces infectadas del hospedero de propagación, ambos en una proporción 10:1 en peso.

Las semillas de naranjo-agrio (Citrus aurantium L.) se germinaron en tezontle fino esterilizado en autoclave 3 hrs/-- 121°C y sembradas en condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar.

El sustrato utilizado consistió de una mezcla de suelo - arena materia orgánica 2:1:1 V/v/v, fumigado con Bromuro de metilo como se indica en el procedimiento 1. La mezcla de suelo permaneció cubierta 72 hrs. y un tiempo equivalente de aereación. Posteriormente se llenaron bolsas de polietileno negro de 26.5 X 35 cm (envases de uso común en los viveros de produc

ción frutícola) desinfectados con alcohol.

Inoculación:

Para facilitar el manejo, el inoculante fue pesado y colocado en bolsas pequeñas de polietileno desinfectadas con alcohol. El inoculante contenido en cada una de las bolsas se depositó en el orificio practicado en la superficie del sustrato para colocar las plántulas de naranjo agrio. La selección de las plántulas se hizo en base a una altura de 5 cm. tallo recto y aspecto sano; luego de la inoculación y el trasplante se cubrió la superficie del sustrato con tezontle grueso estéril.

El cuadro que se presenta a continuación representa los tratamientos del trabajo;

Nivel de Inóculo (gr)	1	10	25	50	Control
	NUMERO DE REPETICIONES				
ENDOMICORRIZA V-A					
<u>Gigaspora calospora</u>	3	3	3	3	3
<u>Glomus epigaeus</u>	3	3	3	3	3
<u>Glomus fasciculatus</u>	3	3	3	3	3
<u>Glomus sp. Frene</u>	3	3	3	3	3
	TOTAL 60				

Se utilizó diseño completamente al azar, bajo condiciones de invernadero. El programa de riego incluyó la aplicación de 200 ml de solución de Long Ashton (ver apéndice III), deficiente en fósforo cada 7 días.

El tiempo de duración fué de 32 semanas. Los parámetros medidos fueron: Altura, Peso seco (hasta un peso constante a 70°C) Volumen Radical, contenido total de fósforo en el follaje (Bray 1) y el Índice de Colonización Radical (% de infección) por los hongos endomicorrícicos V-A, para la tinción de las raíces se utilizó el método de clareo y coloración con Fucsina ácida al 0.05% en Lactoglicerol Kormanik, (1980). Ver Apéndice II.

IV.- RESULTADOS

El reporte de los analisis de suelo (Lab. de Fertilidad de Suelos, Col. Postgraduados, Chap.) utilizados en las macetas de cultivo para este trabajo fue:

IDENTIFICACION	pH	C.E.	p. Olsen.
Mezcla de suelo-arena	7.3	MNHS/cm	P.P.M
2:1 v/v		0.07	5.41

Lo que indica que el sustrato es deficiente en fósforo.

4.1.1. FASE A

Para Allium cepa L. var. rabo inoculada con 7 especies de hongos formadores de endomicorriza V-A, no se observaron diferencias significativas al nivel 1% en la altura final entre tratamientos inoculados con Glomus sp. Luz Sask y Glomus epigaeus, y con este ultimo Glomus sp. Frene y Gigaspora calospora son estadísticamente iguales. Los incrementos en materia seca, de 546.5% en Glomus sp. Frene y de 129.0% para Glomus macrocarpus que es el más bajo, los demas tratamientos presentaron valores intermedios (Cuadro 5). El índice de colonización radical (% de infección) fue alto para las cepas más efectivas (figura 3).

En Cicer arietinum L. var. surutato (Garbanzo Bco) la altura final mayor correspondio al tratamiento con Glomus sp. Frene aunque no hubo diferencias estadísticas con Glomus monosporus (Cuadro 6). Para el peso seco los tratamientos que indujeron mayor cantidad fueron Gigaspora calospora, Glomus sp. Luz Sask Glomus monosporus y Glomus sp. Frene en ese orden. Cabe mencionar que en Glomus macrocarpus el peso seco fue inferior al producido por el control, no obstante el haber presentado una infección del 5.2% (figura 4).

Hordeum vulgare L. Var. centinela, (cebada) se mostró poco receptivo a la colonización a los hongos micorrícicos V-A inoculados, la mayor susceptibilidad de la cebada se encontró para Glomus sp. Frene, el cual indujo mayor altura en las plantas, aunque no mayor rendimiento en peso seco. Glomus monosporus -- resultó con el peso seco más alto, seguido de Glomus sp. Frene. En general no se manifestó ningún efecto inducido por la endomicorriza V-A en este cultivo, tomando en consideración que el control tiene un rango similar a algunos de los tratamientos - (Cuadro 7). En ningún caso el índice de colonización radical fue superior al 50% (figura 5).

La menor respuesta a la inoculación con los hongos micorrícicos V-A se presentó en Lolium perenne (pasto inglés), cada uno de los tratamientos tienen diferencias mínimas entre sí y en algunos casos inferior a los testigos (Cuadro 8). En el índice de colonización radical (% de infección) el nivel superior tiene un 25%, los tratamientos restantes lo presentaron muy por abajo de éste (figura 6).

Para Trifolium repens (trébol blanco) la mejor respuesta a la inoculación en la producción de materia seca se encontró para Glomus monosporus con un incremento de 390%; Gigaspora calospora con 377.41% y Glomus sp. Luz Sask 305.16% con respecto a -- los controles sin inocular (Cuadro 9). Un caso especial para trébol blanco fue el hecho de que Glomus macrocarpus presentó 0.0% de índice de colonización radical, y la producción de materia seca fue inferior al control.

4.1.2. FASE "B"

Todas las cepas de hongos endomicorrícicos Vesicular-Arbuscular produjeron incremento mayor en las plantas de Citrus aurantium L. con relación a los testigos no inoculados, -----

es decir, independientemente de la cepa y el nivel de inóculo aplicado, se presentó respuesta positiva en mayor o menor grado a la inoculación (Figuras 8 a 11).

Para la altura final de las plantas de naranjo agrio, aplicando la prueba de Rango múltiple de Duncan al $P=1\%$ (Cuadro 10), - las cepas de Gigaspora calospora, Glomus epigaeus y G. fasciculatus no presentaron diferencias significativas. Por lo que -- respecta a los niveles de inóculo, no se encontró diferencia -- significativa para la inoculación con los niveles de 1, 10, 25 y 50 gr.

El peso seco de follaje, reportando los promedios acumulados -- de los diferentes niveles de inóculo por cada una de las cepas (Cuadro 11), se tienen incrementos del 1149.09% para Gigaspora calospora; Glomus epigaeus 1127.27% en Glomus fasciculatus de -- 1069.01% y para Glomus sp. Frene 418.18%,

Las plantas inoculadas presentaron un volumen radical de hasta 5 veces mayor que el volumen radical de las plantas de los con -- troles en las cuales estuvo ausente la simbiosis micorrícica -- V-A (Cuadro 12).

El contenido de fósforo en el follaje expresado en porcentaje -- fue con mucho, superior a la combinación de 0.09% reportado -- por Menge y Lembright (1977) como indicadora de deficiencia de este elemento en cítricos (Cuadro 13).

El Índice de Colonización Radical (% de infección), demuestra -- que los hongos inoculados tienen capacidad infectiva y no obs -- tante que los valores encontrados son intermedios, fueron sufi -- cientes para inducir respuesta en crecimiento y a la vez que -- las plantas hospederas son susceptibles de establecer la rela -- ción simbiótica. En la figura 12 se muestran los índices de -- colonización radical, Gigaspora calospora con 55.4% Glomus epi -- gaeus 53.7% para G. fasciculatus 58.8% y en Glomus sp. Frene -- 38.0%.

CUADRO 5. Allium cepa INOCULADA CON 7 ESPECIES DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA V-A.

ENDOMICORRIZA V-A	P A R A M E T R O S M E D I D O S		Incremento en pêso seco (%)	Indice de Co lonización - Radical (%)
	\bar{X} Altura (cm)	\bar{X} Peso seco (gr)		
<u>Gigaspora calospora</u>	50.33bc	3.14 bc	506.5	66.93
<u>Glomus epigaeus</u>	51.33ab	2.75bcd	443.6	45.58
<u>Glomus macrocarpus</u>	31.71	.80	129.0	8.3
<u>Glomus monosporus</u>	45.70	1.53	246.8	74.01
<u>Glomus</u> sp. Frene	50.37bc	3.50a	564.5	94.43
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	53.04a	2.93bc	472.6	56.65
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	43.33	1.92	309.7	94.05
Control	25.83	.62	-	0.00

\bar{X} = CORRESPONDE A TRES REPETICIONES POR TRATAMIENTO.

LOS NUMEROS SEGUIDOS POR LA MISMA LETRA NO SON -

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES CON P=1% (PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN)

CUADRO 6. Cicer arietinum INOCULADO CON 7 ESPECIES DE HONGOS MICORRICICOS V-A.

ENDOMICORRIZA V-A	P A R A M E T R O S M E D I D O S			Indice de Colonización Radical (%).
	\bar{X} Altura (cm)	\bar{X} Peso fresco (gr)	\bar{X} Peso seco (gr)	
<u>Gigaspora calospora</u>	43.23	13.52	4.32a	87.6
<u>Glomus epigaeus</u>	40.0	13.62	4.09	25.08
<u>Glomus macrocarpus</u>	47.66	12.99	3.91	5.2
<u>Glomus monosporus</u>	48.13ab	14.57	4.17bc	94.50
<u>Glomus</u> sp. Frene	48.75a	14.41	4.13bc	78.65
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	48.0	14.28	4.26ab	44.90
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	44.16	13.27	3.99	58.3
Control	45.16	12.69	3.93	0.0

\bar{X} = CORRESPONDE A TRES REPETICIONES POR TRATAMIENTO.

LOS NUMEROS SEGUIDOS POR LA MISMA LETRA NO SON -

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES CON P=1% (PRUEBA DE RANGO MULTIPL DE DUNCAN)

CUADRO 7. Hordeum vulgare INOCULADO CON 7 ESPECIES DE HONGOS MICORRICICOS V-A.

ENDOMICORRIZA V-A	P A R A M E T R O S M E D I D O S			Indice de Colonización Radical (%)
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	
	Altura (cm)	Peso fresco (gr)	Peso seco (gr)	
<u>Gigaspora calospora</u>	52.2 ^{ab}	15.91	9.30 ^{abc}	16.27
<u>Glomus epigaeus</u>	49.8	15.65	8.84	15.76
<u>Glomus macrocarpus</u>	49.4	15.65	8.97	12.6
<u>Glomus monosporus</u>	51.3 ^{bc}	17.47	10.06 ^a	18.89
<u>Glomus</u> sp. Frene	58.8 ^{3a}	17.67	9.64 ^{ab}	32.0
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	44.9	15.91	9.03	10.86
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	47.8 ⁶	16.66	9.15	11.66
Control	50.5	16.15	9.01	0.0

\bar{X} = CORRESPONDE AL PRODUCTO DE TRES REPETICIONES POR TRATAMIENTO.
 LOS NUMEROS SEGUIDOS POR LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES CON P=1% (PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN)

CUADRO 8. Lolium perenne INOCULADA CON 7 HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA V-A.

ENDOMICORRIZA V-A	P A R A M E T R O S M E D I D O S		Indice de Colonización Radical (%).
	\bar{x} Peso fresco (gr)	\bar{x} Peso seco (gr)	
<u>Gigaspora calospora</u>	35.67	11.28	10.3
<u>Glomus epigaeus</u>	34.18	11.21	10.83
<u>Glomus macrocarpus</u>	39.91	12.29	19.0
<u>Glomus monosporus</u>	37.28	11.55	25.66
<u>Glomus sp. Frene</u>	41.57	12.58	15.0
<u>Glomus sp. Luz Sask</u>	34.71	10.51	4.33
<u>Glomus sp. St. Jean</u>	39.25	11.92	4.33
Control	35.97	11.24	0.0

\bar{x} = CORRESPONDE TRES REPETICIONES POR TRATAMIENTO;
Y PARA PESO FRESCO Y PESO SECO ES LA MEDIA-----
ACUMULADA DE DOS PODAS.

CUADRO 9. Trifolium repens INOCULADO CON 7 ESPECIES DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZA V-A

ENDOMICORRIZA V-A.	P A R A M E T R O S M E D I D O S			
	\bar{X} Peso fresco (gr)	\bar{X} Peso seco (gr)	Incremento en peso seco (%)	Indice de Colonización Radical (%)
<u>Gigaspora calospora</u>	6.04ab	1.17ab	377.41ab	27.7
<u>Glomus epigaeus</u>	5.12	0.89	288.06	25.5
<u>Glomus macrocarpus</u>	1.81	0.21	-	0.0
<u>Glomus monosporus</u>	6.64a	1.21a	390.32a	75.6
<u>Glomus</u> sp. Frene	5.33	0.78	253.54	45.0
<u>Glomus</u> sp. Luz Sask	5.49	0.94	305.16bc	9.4
<u>Glomus</u> sp. St. Jean	5.23	0.75	241.93	77.76
Control	2.63	.31	-	0.0

\bar{X} = CORRESPONDE A TRES REPETICIONES POR TRATAMIENTO.

LOS NUMEROS SEGUIDOS POR LA MISMA LETRA NO SON -

SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES CON P=1%. (PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN)

CUADRO 10.

ALTURA FINAL (CM) DE PLANTAS DE CITRUS AURANTIUM L.

ENDOMICORRIZA V-A	\bar{X} POR CEPA	\bar{X} POR NIVEL DE INOCULANTE			
		1g	10g	25g	50g
<u>GIGASPORA CALOSPORA</u>	35.3a	36.3	35.7	34.7	34.4
<u>GLOMUS EPIGAEUS</u>	36.9ab	27.0	45.0	39.3	36.3
<u>GLOMUS FASCICULATUS</u>	34.45b	33.0	39.3	32.1	33.4
<u>GLOMUS SP. FRENE</u>	18.45c	9.5	14.8	21.1	28.5
CONTROL	7.35d				
		26.5a	33.7a	31.8a	33.2a

- LA ALTURA FINAL REPORTADA ES LA MEDIA DE 3 REPETICIONES POR NIVEL.
- LOS NUMEROS SEGUIDOS POR LA MISMA LETRA NO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES DE ACUERDO A LA PRUEBA DE RANGO MULTIPLE DE DUNCAN AL NIVEL $P=1\%$.

CUADRO II.

PESO SECO DE FOLLAJE DE CITRUS AURANTIUM L.

ENDOMICORRIZA V-A	\bar{X} TRATAMIENTO (CEPA) (g)	INCREMENTO (%) CON RES- PECTO A LOS TESTIGOS - NO INOCULADOS
<u>GIGASPORA CALOSPORA</u>	6.32	1149.09
<u>GLOMUS EPIGAEUS</u>	6.20	1127.27
<u>GLOMUS FASCICULATUS</u>	5.88	1069.01
<u>GLOMUS</u> SP. FRENE	2.30	418.18
CONTROL	0.55	- - -

 \bar{X} DE 3 REPETICIONES POR GRADIENTE DE INÓCULO.

CUADRO 12.

VOLUMEN RADICAL (C.C.) DE PLANTAS DE CITRUS AURANTIUM L.

ENDOMICORRIZA	\bar{X} POR CEPA (C.C.)	CANTIDAD DE AUMENTO CON RESPECTO A LOS TESTIGOS
<u>GIGASPORA CALOSPORA</u>	13.9	5.11
<u>GLOMUS EPIGAEUS</u>	11.9	4.4
<u>GLOMUS FASCICULATUS</u>	11.9	4.4
<u>GLOMUS</u> SP. FRENE	8.4	3.0
CONTROL	2.7	---

LA \bar{X} CORRESPONDE A 3 REPETICIONES POR CEPA.

CUADRO 13.
 CONCENTRACION DE FOSFORO (%) EN PLANTAS DE CITRUS AURANTIUM L.

ENDOMICORRIZA V-A	% DE FOSFORO
<u>GIGASPORA CALOSPORA</u>	0,247
<u>GLOMUS EPIGAEUS</u>	0.265
<u>GLOMUS FASCICULATUS</u>	0.282
<u>GLOMUS SP. FRENE</u>	0.217
CONTROL	0.09*

LA \bar{x} CORRESPONDE A 3 REPETICIONES POR CEPA.
 *CONCENTRACION (%) INDICADORA DE DEFICIENCIA DE FOSFORO. DATO TOMADO DE MENGE, 1977, CON FINES COMPARATIVOS.

Figura. 3

Allium cepa var. Cabezona

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1.- Control | 5.- <u>Glomus monosporus</u> |
| 2.- <u>Gigaspora calospora</u> | 6.- <u>Glomus</u> sp. Prene |
| 3.- <u>Glomus epigaeus</u> | 7.- <u>Glomus</u> sp. St. Jean |
| 4.- <u>Glomus macrocarpus</u> | 8.- <u>Glomus</u> sp. Luz Sask |

▨ % ARBUSCULOS
 ■ % VESICULAS
 ■ % TOTAL

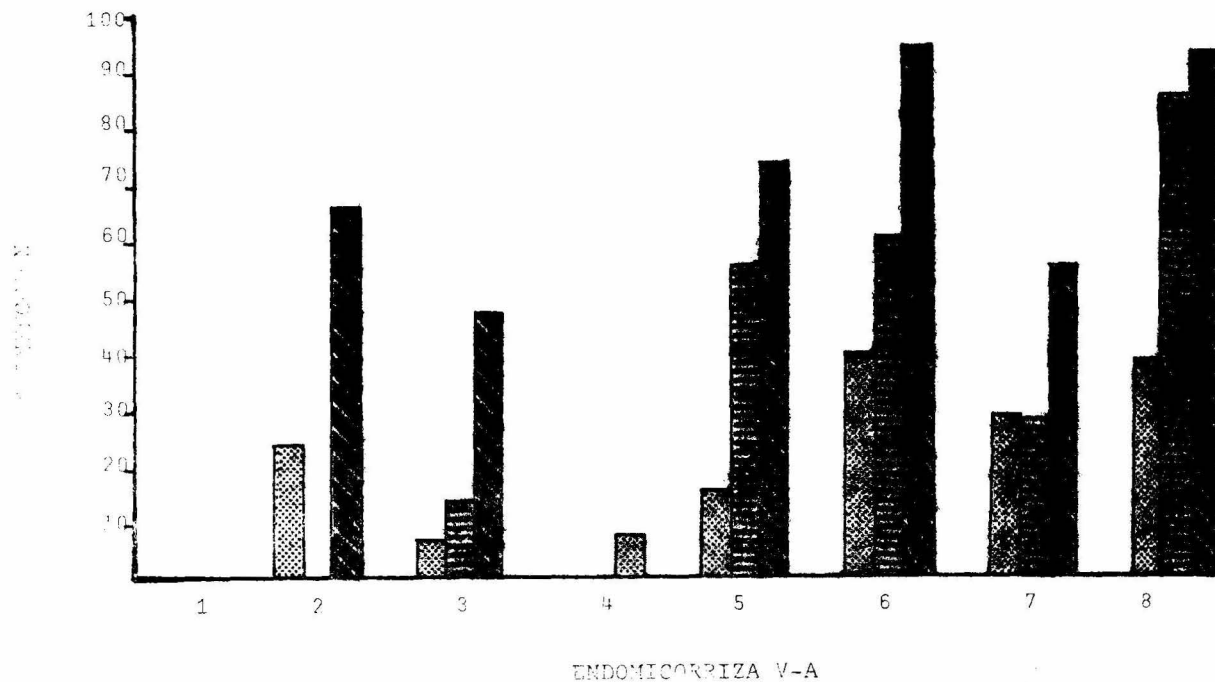


Figura. 4

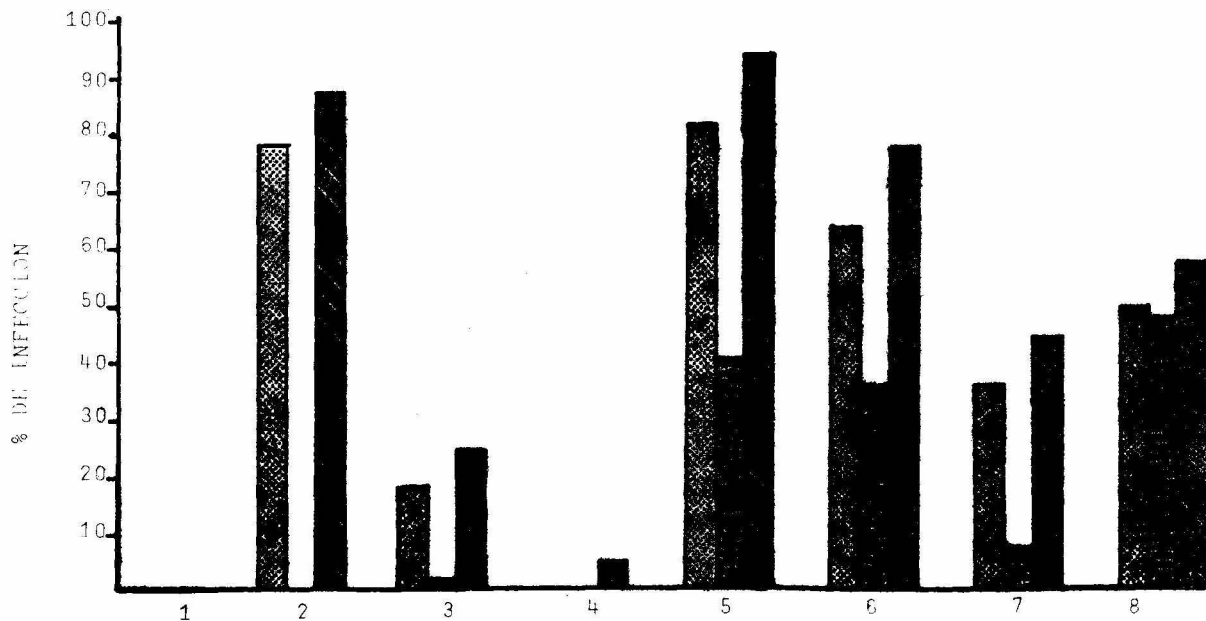
Cicer arietinum var. Surutato

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1.- Control | 5.- <u>Glomus monesporus</u> |
| 2.- <u>Gigaspora calospora</u> | 6.- <u>Glomus</u> sp. Frene |
| 3.- <u>Glomus epigaeus</u> | 7.- <u>Glomus</u> sp. gt. Jean |
| 4.- <u>Glomus macrocarpus</u> | 8.- <u>Glomus</u> sp. Luz Sask |

▨ % ARBUSCULOS

▩ % VESICULAS

■ % TOTAL

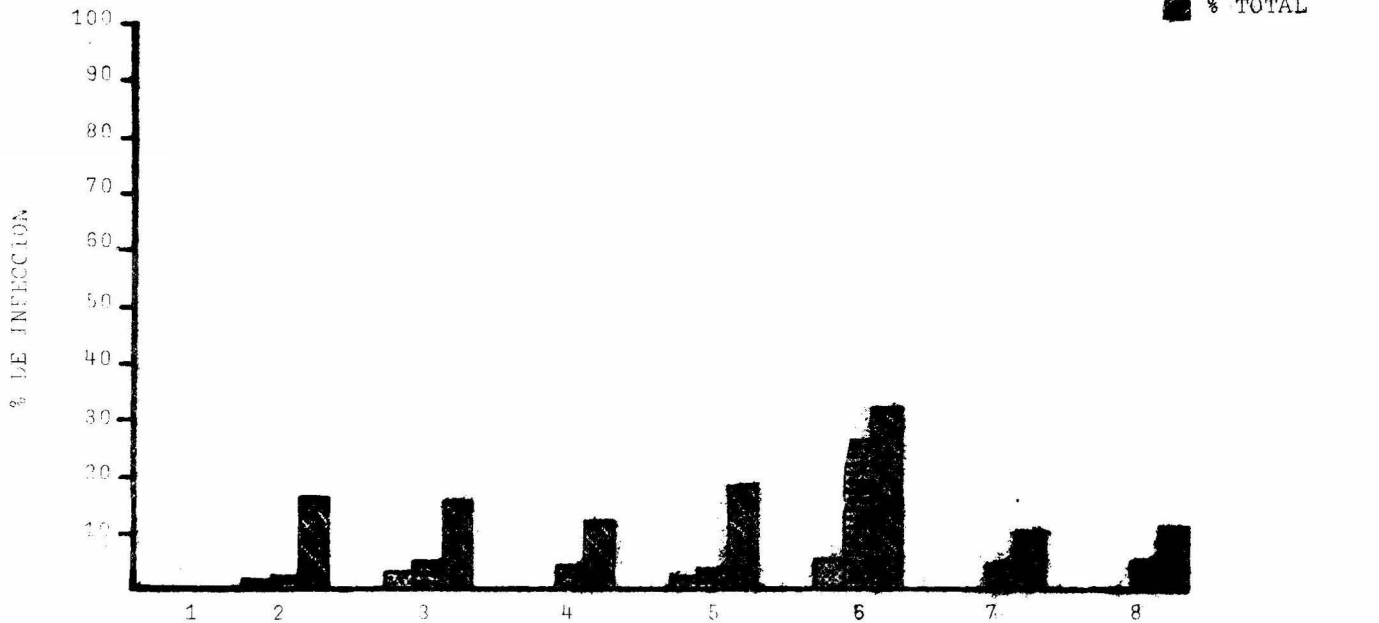


ENDOMICORRIZA V-A

Figura. 5

Hordeum vulgare var. Centinela

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| 1.- Control | 5.- <u>Glomus monosporus</u> | |
| 2.- <u>Gigaspora calospora</u> | 6.- <u>Glomus</u> sp. Prene | |
| 3.- <u>Glomus epigaeus</u> | 7.- <u>Glomus</u> sp. St. Jean | ▨ % ARBUSCULOS |
| 4.- <u>Glomus macrocarpus</u> | 8.- <u>Glomus</u> sp. Luz Sak | ▩ % VESICULAS |

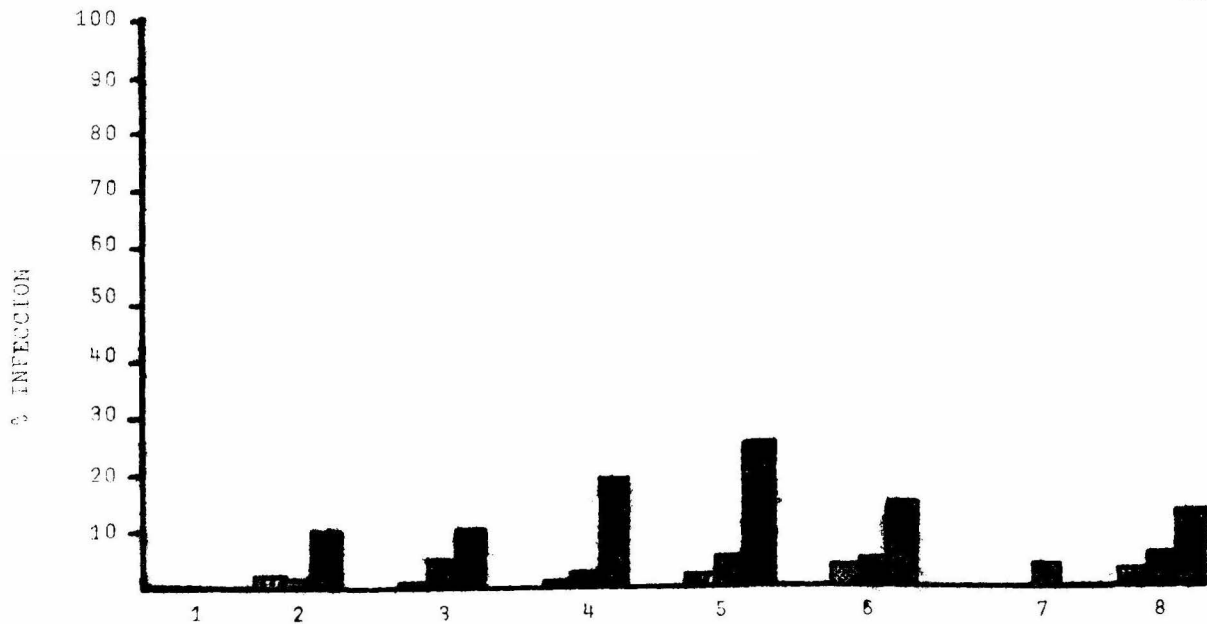


ENDOMICORRIZA V-A

Figura. 6

Lolium perenne

- | | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|----------------|
| 1.- Control | 5.- <u>Glomus monosporus</u> | |
| 2.- <u>Gigaspora calospora</u> | 6.- <u>Glomus</u> sp. <u>Frene</u> | ■ % ARBUSCULOS |
| 3.- <u>Glomus epigaeus</u> | 7.- <u>Glomus</u> sp. <u>St. Jean</u> | ■ % VESICULAS |
| 4.- <u>Glomus macrocarpus</u> | 8.- <u>Glomus</u> sp. <u>Luz Sask</u> | ■ % TOTAL |



ENDOMICORRIZA V-A

Figura. 7

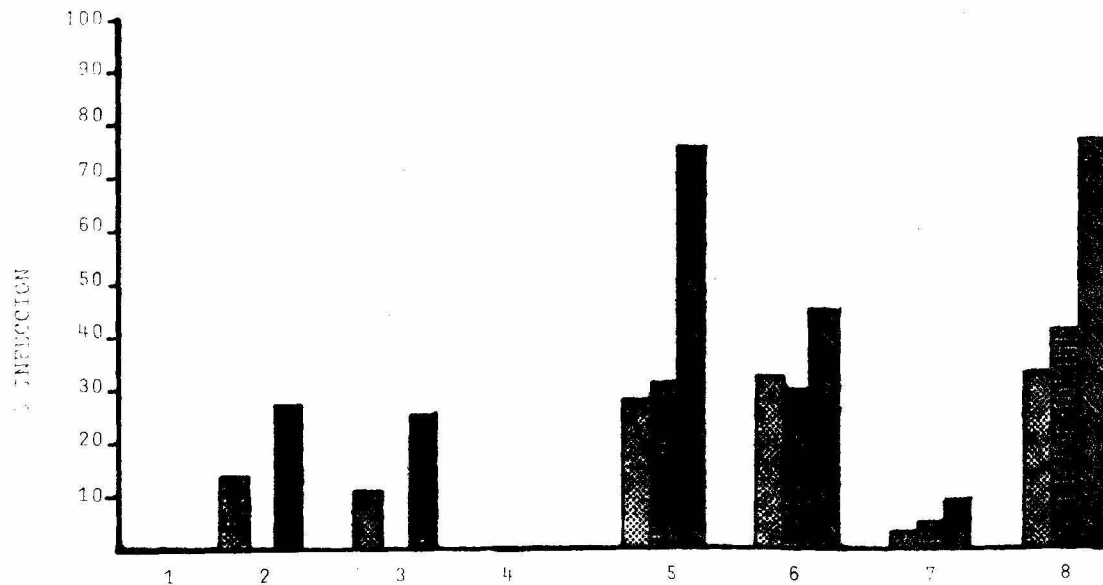
Trifolium repens

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1.- Control | 5.- <u>Glomus monosporus</u> |
| 2.- <u>Gigaspora calospora</u> | 6.- <u>Glomus</u> sp. Prene |
| 3.- <u>Glomus epigaeus</u> | 7.- <u>Glomus</u> sp. St. Jean |
| 4.- <u>Glomus macrocarpus</u> | 8.- <u>Glomus</u> sp. Luz Sask |

▨ % ARBUSCULOS

■ % VESICULAS

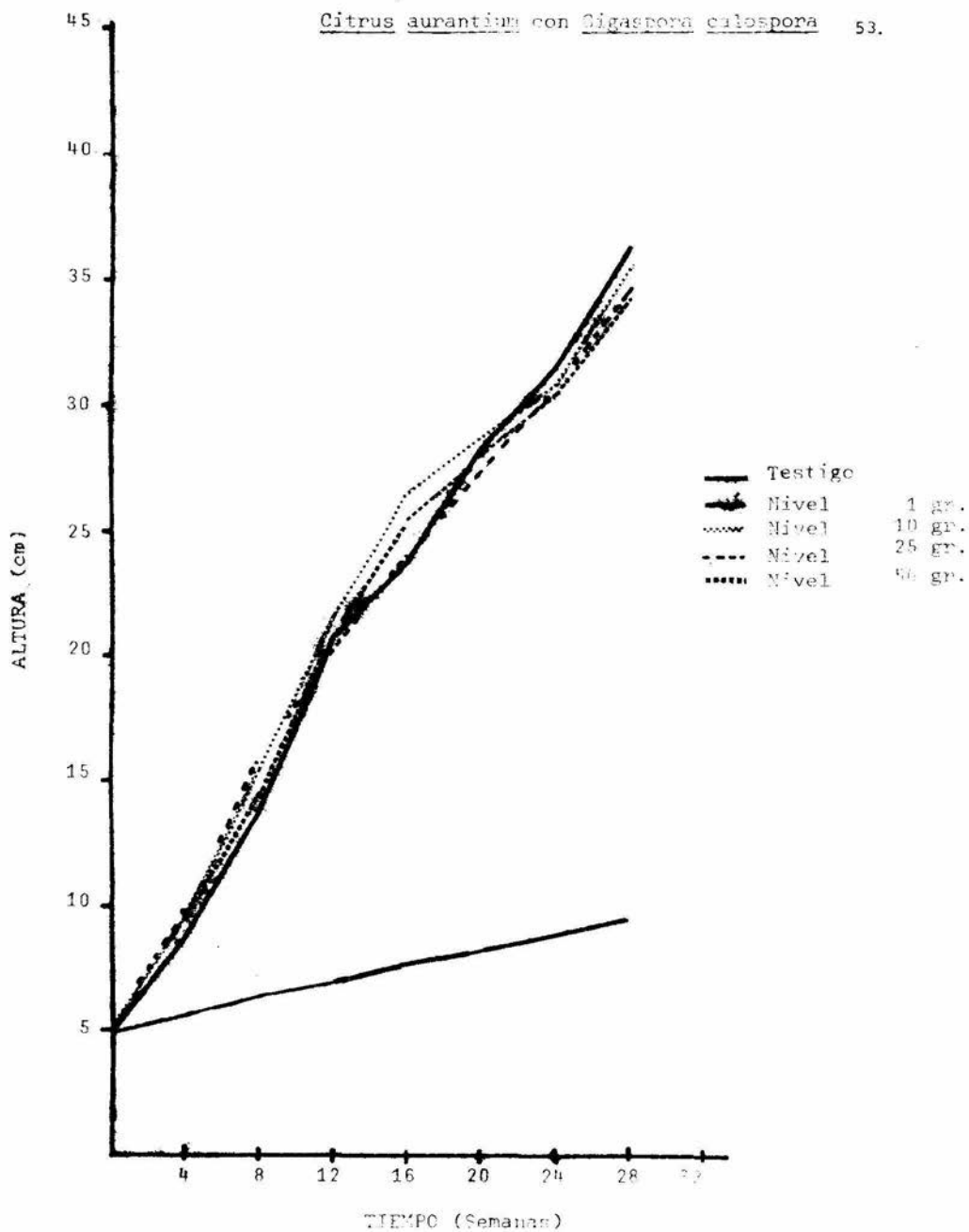
■ % TOTAL



ENDOMICORRIZA V-A

Figura. 8

Citrus aurantium con Gigaspora calospora 53.



Citrus aurantium

Figura. 9

con

Glomus epigaeus

54.

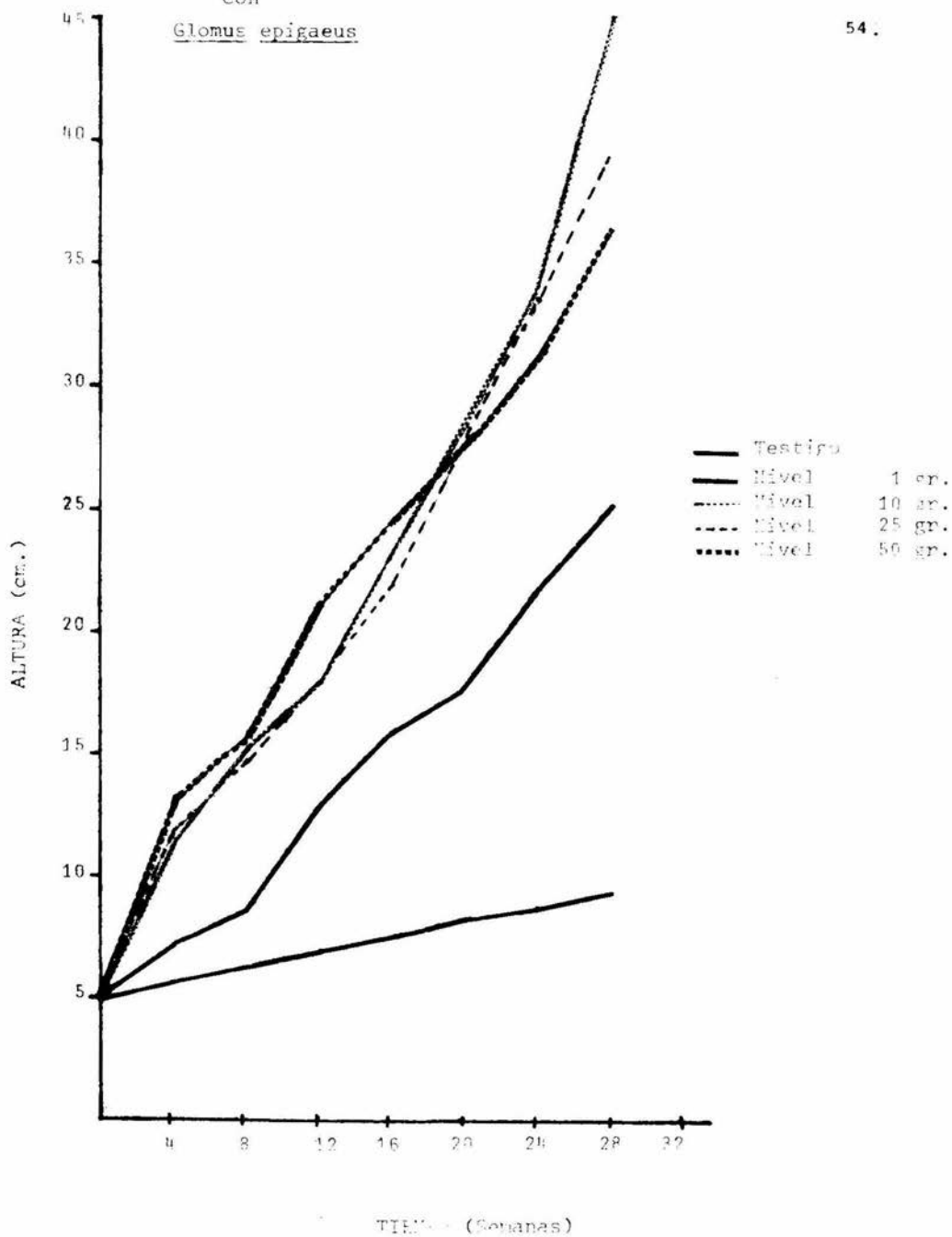


Figura. 10

Citru. aurantium con Glonus fasciculatus

55.

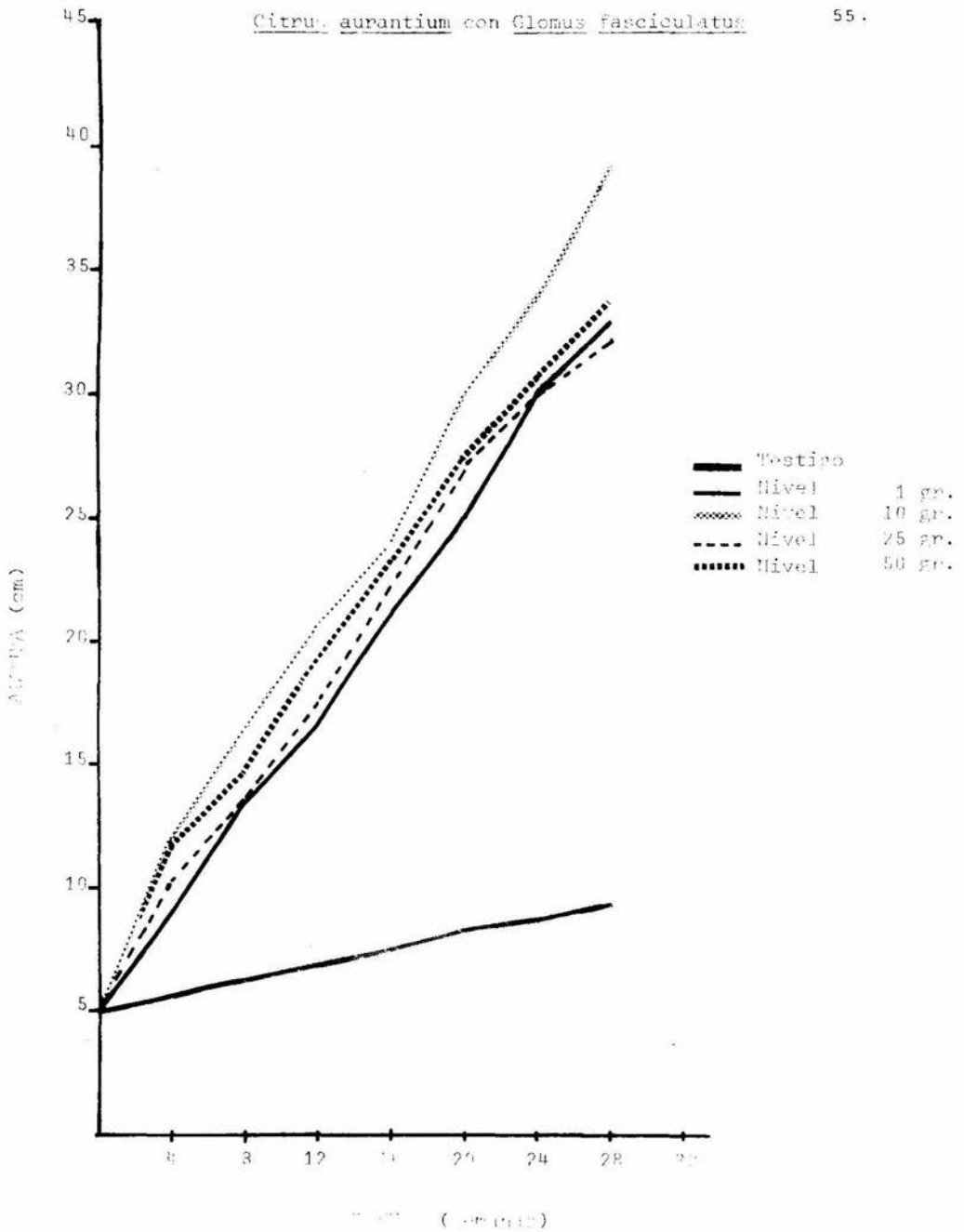


Figura. 11

Citrus aurantium con Glomus sp. Frene

56.

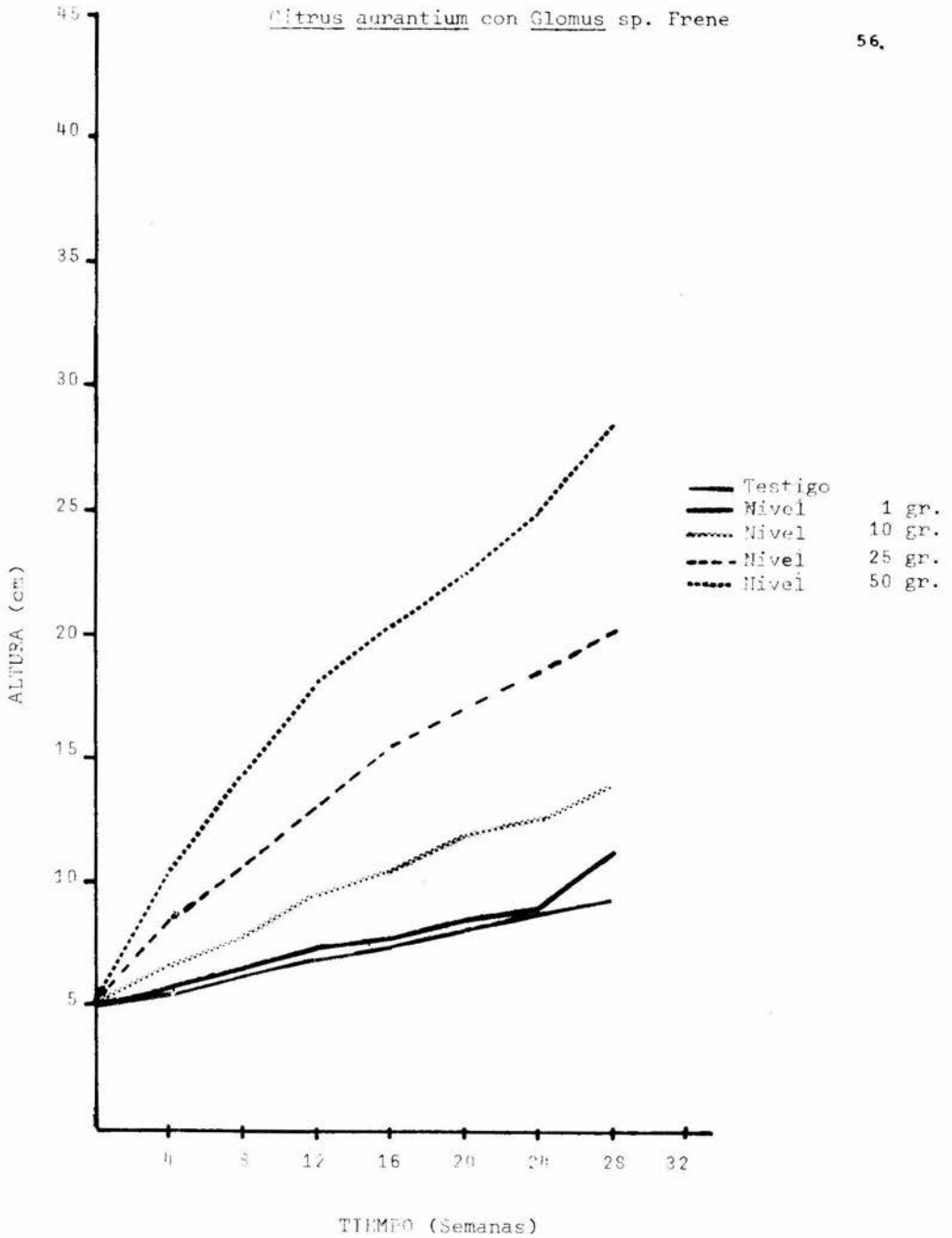
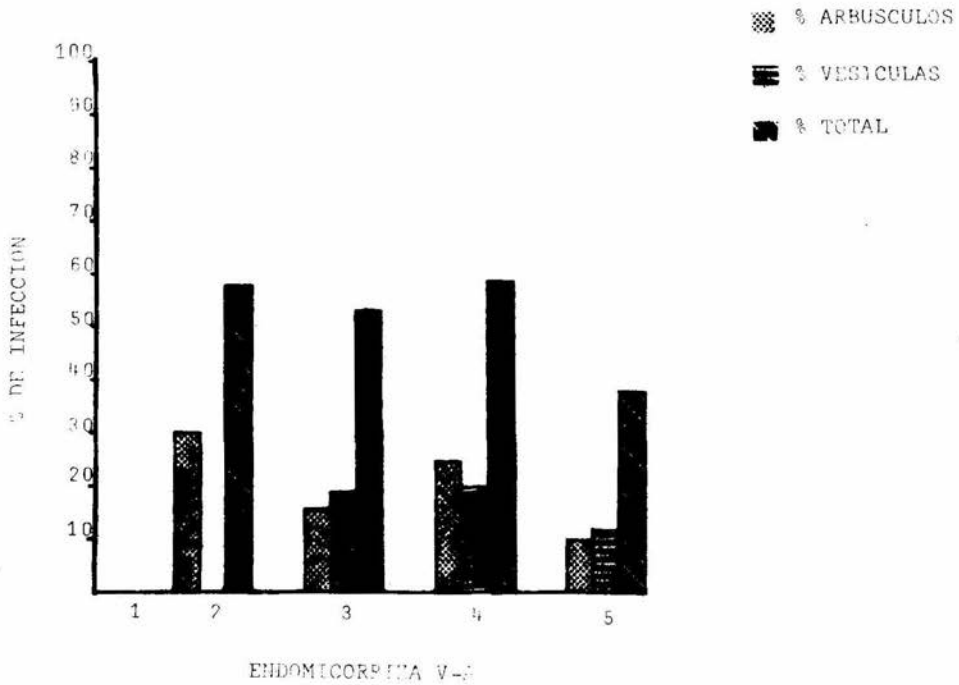


Figura. 12

Indice de colonización radical (% infección)
en Citrus aurantium L.

- 1.- Control
2.- Gigaspora calospora
3.- Glomus epigaeus
4.- Glomus fasciculatus
5.- Glomus sp. Frene



V.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

A la luz de los resultados obtenidos en la primera fase, se tiene que las siete especies de hongos micorrícicos probados en diferentes cultivos mostraron respuestas muy variadas e importantes y que a excepción de Hordeum vulgare y Lolium perenne, los restantes hospederos se mostraron susceptibles a la infección inducida mediante la inoculación con los hongos endomicorrícicos Vesicular-Arbuscular.

Estos resultados proporcionan una serie de criterios de selección tanto a nivel de los hongos como de los hospederos. Sobre estas consideraciones, las características de los hospederos para la propagación son claras: plantas de crecimiento rápido, es decir, ciclo vegetativo corto; que desarrollen un sistema radical amplio con un peso fresco de más de 50gr: que el follaje tenga cobertura mínima, para que la densidad de plantas por unidad de área sea mayor; exigencia moderada en el riego y la condición más importante, que sea altamente susceptible a la colonización por los hongos, en un índice de infección del 50 al 100%. Esto lleva a determinar cuáles son los componentes del inóculo; a).- suelo de rizosfera con propágulos infectivos (esporas e hifas) + fragmentos de raíces infectadas del hospedero.

Muchas investigaciones dan énfasis en la producción de esporas por los hospederos de propagación y obviamente este es un punto crítico en la producción de inoculante, sin embargo, el criterio en este sentido, obedece a que la actividad fisiológica de las raíces infectadas tiene mayor capacidad infectiva. Otro aspecto considerado en el que reporta que las poblaciones de microorganismos del suelo son un factor en la germinación de las esporas y en este caso se empleó un sustrato fumi

gado y por lo tanto la población de microorganismos se ha deprimido.

De esta manera, se tienen los elementos de selección para esta primera etapa de trabajo. Allium cepa L. (cebolla) es un hospedero que se mostró altamente susceptible, además de dependiente de la presencia de la simbiosis, a cada una de las siete especies de hongos, pero especialmente con Gigaspora calospora, Glomus epigaeus, G. monosporus, Glomus sp. St. Jean. Esta gran susceptibilidad a un rango mayor de cinco diferentes especies de hongos le confiere un gran potencial como productor de inoculo, sin embargo, hay que hacer notar que es un cultivo de ciclo relativamente largo llevándose algunos meses en desarrollar su sistema radical a un volumen óptimo para usarse en inoculaciones posteriores.

Otro hospedero que se manifestó con buena respuesta a la inoculación es Cicer arietinum L. (garbanzo blanco), empero el número de especies de hongos micorrícicos V-A que colonizaron su raíz fue menor que en el caso anterior; Glomus monosporus, Gigaspora calospora y Glomus sp. Frene con un índice de infección radical de más del 50% (Cuadro 4).

El garbanzo blanco tiene la ventaja de que su ciclo es corto y su volumen radical aceptable, por lo que se considera como propio de ser tomado como hospedero de propagación.

Trifolium repens L. (trébol blanco) es un hospedero de propagación con posibilidades muy limitadas, así se manifestó en este trabajo; fundamentalmente por haber presentado una infección radical baja y solamente mayor del 50% con Glomus monosporus y Glomus sp. St. Jean (Cuadro 9). Además de poseer un volumen de raíz pequeño.

Finalmente, de los cinco cultivos probados, Hordeum vulgare y Lolium perenne (cebada y pasto inglés) quedan descartados pa

ra fines de producción de inoculante, dado que las respuestas a la inoculación para las siete especies de endomicorrizas V-A de este estudio, fue negativo.

Mucho se ha discutido sobre la probable especificidad de los hongos que conforman la micorriza Vesicular-arbuscular, existe divergencia entre algunos autores en favor o en contra de ella y por la probabilidad de entrar en suspuestos sobre este tema, que necesita estudios específicos, he optado por manejar dos términos más elementales implicados en la fisiología de la simbiosis: 1).- Infectividad y 2).- Efectividad.

1.- La infectividad se refiere principalmente a la capacidad de que se tienen los hongos micorrícicos V-A para infectar y colonizar el sistema radical de la planta hospedera.

2.- La efectividad, esta dada mediante el grado de susceptibilidad del hospedero, para verse beneficiado por la simbiosis en cuanto a las ventajas que confieren los endofitos en la absorción y translocación de nutrientes, repercutiendo en el crecimiento de la planta.

Aparentemente en todas las asociaciones simbióticas estas dos condiciones deberán cumplirse necesariamente, sin embargo, por medio de la interpretación de los resultados, se vio que algunos hongos aquí empleados fueron fuertemente infectivos pero no efectivos.

Para Allium cepa los tratamientos inoculados con Glomus sp. St. Jean observaron un índice de colonización radical de 94.05% y la producción en materia seca fue de 1.92 g. es decir fue altamente infectiva, La cepa más efectiva es Glomus sp. Frene con 3.50 g y una infección de 94.43 %, para esta cepa existe una relación directa entre la infectividad y la efectividad.

Otro ejemplo se observa en el cuadro 6, Cicer arietinum inoculado con Glomus sp. Luz Sask incrementó el peso seco en 4.26g con un índice de colonización radical de 44.90%, mientras que el tratamiento con Glomus monosporus produjo 4.17g en peso seco y una infección de 94.50. Estadísticamente este resultado muestra que no hay diferencia en la efectividad, pero si muy notoria la infectividad entre ambas cepas.

Algo parecido al caso anterior, se dió en Hordeum vulgare, -- Glomus monosporus incrementó el peso seco en 10.06g y el índice de infección fue de 18.89%; en tanto que Glomus sp. Frenetuvo 9,64g y la infección radical fue de 32.0% (Cuadro 7).

En Trifolium repens existe una clara evidencia de que no necesariamente la efectividad y la infectividad estan estrechamente relacionadas, si se comparan los resultados de producción de materia seca contra los del índice de colonización radical (Cuadro 9).

Sin embargo existen casos que se pueden observar, en los que algunas cepas si poseen una correlación entre la efectividad y la infectividad.

Habiendo discutido los aspectos concernientes a la selección de cepas y hospederos, como objetivos principales, es necesario interpretar los resultados que se observan en Hordeum vulgare (cebada) y Lolium perenne (pasto inglés).

En ambos cultivos de hecho, no hubo respuesta significativa a la inoculación comparativamente con los demás cultivos.

En tal caso, es necesario interpretar este comportamiento desde varios puntos de vista.

Por un lado, se puede pensar en que la ausencia de respuesta debe a una probable especificidad de los hongos; sin embar

go, Mosse (1973) reporta que existe discordancia en los estudios realizados con especial atención en el rango de hospederos y para la interacción específica entre hongo-hospedero, -- no obstante, algunos experimentos de inoculación utilizando -- raíces infectadas indican que la mayoría de los hongos mico-- rrícicos V-A pueden ser transferidos de un hospedero a otro y que la efectividad de una cepa parece depender más sobre la -- interacción con las condiciones ambientales de un suelo en -- particular que con el hospedero.

En contra parte a lo anterior, existe una necesidad fundamental de algunas plantas de obtener elementos nutricionales mediante la asociación simbiótica, a este fenómeno se le denomina dependencia a la condición micorrícica o micotrofia. Una probable explicación a este fenómeno se encuentra en la -- hipótesis de Baylis.

Baylis (1975) sugiere que las raíces de las angiospermas primitivas están tipificadas por el Orden Magnoliales, que son -- especialmente dependientes de los hongos endomicorrícicos --- Vesicular-Arbuscular para la absorción de los nutrientes minerales y clasifica a las raíces como tipo magnoloide y tipo -- graminoide, sin que esto ocurra necesariamente en las Magno-- liales y gramíneas. Más bien, refiriéndose a que las raíces -- que presentan ramificaciones terminales ("rootles") gruesas, -- generalmente mayores de 0.5 mm de diámetro y con ausencia de -- pelos radicales; este tipo de raíz magnoloide es fuertemente -- dependiente de la condición micorrícica. Las raíces tipo graminoide, con ramificaciones terminales de menos de 0.1 mm; y -- con una densa cobertura de pelos radicales son menos depen-- dientes de la micorriza V-A. Entre estos dos tipos existen -- raíces con características intermedias. Esta clasificación -- de Baylis, induce a pensar en que el comportamiento de la --

cebada y el pasto inglés ante los hongos simbiotes, es en -- gran medida, a que poseen una raíz que estaría en la catego-- ría de graminoide y por consecuencia la condición micorrícica no es una necesidad para expresar su máximo crecimiento, dado que su morfología radical fibrosa, la cobertura de pelos radi-- cales satisface por sí sola, la absorción y el abasto de nu-- trientes minerales.

Por lo que los hongos se refiere, la inoculación con las siete especies endomicorrícicas V-A, infectaron en un porcentaje mínimo las raíces de cebada y pasto inglés, no obstante, en -- ambos cultivos el efecto de la inoculación no fue notorio si-- no que por el contrario en algunos casos resultó negativo.

Estas observaciones se pueden relacionar con algunos de los -- trabajos de Baylis (1971) y Crusn (1971) citados por Furlan-- (1976) en los que sostienen que una clase de hongos endomico-- rrícicos pueden tener efecto patogénico débil sobre el creci-- miento de ciertas especies. Otro antecedente es el de Mc ---- Luchie y Burge (1932) citado por Furlan (1976) en donde afir-- man que los hongos simbiotes endomicorrícicos tenían un com-- portamiento parasitario al principio de la infección; más tar-- de, la planta hospedera sacaba provecho de esta asociación -- utilizando las sustancias nutritivas aportadas por el hongo.

En este caso en los cultivos de cebada y trébol blanco los -- tratamientos con Glomus macrocarpus tuvieron efecto negativo-- en relación a los controles, (Cuadro 7 y 9); este hongo apa-- rentemente manifestó comportamiento con tendencia parasitaria. Una deducción de esta conducta podría ser interpretada como -- resultado de la combinación hongo-hospedero, dado que no en -- todos los cultivos se presentó el mismo fenómeno.

Los resultados de la Fase B son interesantes para este cítri-- co en particular. Citrus aurantium L. (naranja agrio) es muy-

empleado como porta-injerto de variedades más comerciales. - Demostró, en este caso, que es susceptible y dependiente de la condición micorrícica V-A para expresar su máximo crecimiento y desarrollo (fenomeno conocido como Micotrofia obligada); y es susceptible porque las 4 cepas fueron infectivas. Por otro lado, se constató que no existe especificidad de -- parte del hospedero ni de parte de los hongos micorrícicos - V-A empleados.

El Índice de Colonización Radical (% de infección) se presentó con valores intermedios, dejando ver que la acción más -- eficaz de la asociación simbiótica sobre el crecimiento de - las plantas, no depende de un porcentaje elevado de la infec- ción micorrícica; más bien, el grado óptimo de infección se ría el que permitiese un equilibrio fisiológico bien integra- do en la planta hospedera, a fin de que los asociados pudie- ran obtener el máximo provecho.

Se puede concluir que con base en los resultados de esta fa- se en donde los niveles de inóculo 1 gr son suficientes para inducir respuesta positiva y cualitativamente igual a nive-- les más altos de inoculante, que un gramo de inóculo de las- cepas de Gigaspora calospora; Glomus epigaeus y G. fascicula tus fue suficiente para obtener respuesta estadísticamente - similares en Citrus aurantium L.

La importancia práctica de utilizar diferentes niveles de -- inóculo, es por un lado, conocer el potencial del inoculante para ser definido en términos de densidad de inóculo, lo que se considera como la cantidad mínima en gramos de suelo inó- culo aplicada, ya sea por maceta o por planta, para obtener- respuesta a la simbiosis.

Esto lleva a que con una cantidad menor de inoculante se pue

da inocular un mayor número de plantas. Recordando que, hasta el momento, no ha sido posible cultivar en medios sintéticos - axénicos los hongos formadores de endomicorriza V-A restringiéndose la obtención del inoculante a la inducción de la simbiosis sobre hospederos de propagación.

La respuesta a la inoculación no necesariamente pudiera ser -- igual para otras especies de cítricos; considerando que las especies de hongos micorrícicos V-A pueden diferir grandemente - en su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas, - las características intrínsecas de la combinación hongo-hospedero estando implicadas también las condiciones experimentales. En este trabajo se observó que los controles sin inocular fueron pequeños y cloróticos en comparación con cada uno de los - tratamientos; es posible explicar este comportamiento apoyado - en los estudios realizados por Kleinschmidt y Gerdemann (1972), Menge y Lembright (1977), en las cuales concluyen que los cí-- tricos creciendo en suelos fumigados muestran una alta depen-- dencia de la condición micorrícica V-A para aumentar su capaci-- dad en la absorción y translocación del fósforo y otros nu--- trientes expresándose en su máximo crecimiento. Por otro lado, se puede notar que dadas las características de la raíz del na ranjo agrio, se encuentra de acuerdo con los postulados de Bay lís (1975) que las especies de plantas que poseen un sistema - radical con escasa o nula cobertura de pelos radicales (Tipo - magnoloide) son dependientes en mayor grado del establecimien-- to de la simbiosis endomicorrícica Vesicular-Arbuscular.

En general, existe todavía un campo muy amplio en la investi-- gación, a todos los niveles, para poder concretar en forma ex-- tensiva (tal vez comercial) la producción de inoculantes bioló-- gicos con hongos endomicorrícicos V-A, ya que el caso, por --- ejemplo de Rhizobium (simbiosis entre bacterias del género ---

Rhizobium y las leguminosas) se expende comercialmente.

En la actualidad existe la inquietud de algunas instituciones de investigación que dada la crisis, están recurriendo a este sistema simbiótico para aplicarlo masivamente en la producción vegetal en vivero y/o invernadero. Tomándose desde un punto de vista de rentabilidad económica, se puede pensar en el abatimiento de los costos por concepto de fertilizantes fosfatados (Menge y Lembright, 1977); además de la obtención de plantas sanas y más capacitadas para su establecimiento en la plantación definitiva gracias a la presencia de sistemas biológicos-inducidos, provocando mayor resistencia al "stress" del trasplante.

Fundamentalmente es el aspecto frutícola el renglón sobresaliente para el uso de la endomicorriza V-A, así como de algunas plantas de interés forestal.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1.- ALEXOPULUS, C.J. 1962. Introducción a la micología. Ed. -- EUDEBA, Tercera edición. México.
- 2.- AZCON, C. Y BAREA, J.M. 1980. Micorrizas. Investigación y ciencia. No. 47: 8-16 p.p. España.
- 3.- BAYLIS, G.T.S. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root system derived from it. In: Endomicorrizas - Ed. by F.I. Sanders y P.B. Tinker p.p. 373-389. Academic Press N.Y.
- 4.- BOULLARD; B. 1958. Les Mycorrhizaes. MASSON ET. C. EDITEURS Paris.
- 5.- CARLING, D.E. and BROWN, M.F. 1981. Anatomy and Physiology of Vesicular-Arbuscular and Nonmycorrhizal Roots. Symposium on Mycorrhizae and Plant Disease Research. 73rd Annual Meeting of the Phytopathological Society. New Orleans Louisiana.
- 6.- COOPER, K.M. and TINKER, P.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in V-A micorrizas. II. Uptake and translocation of P. Zn and S. New phytol. 81: 43-53.
- 7.- CRUSH, J.R. 1974. Plant growth response to V-A micorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legume. New Phytol. 73: 743-749.
- 8.- DAFT, M.S. and EL-GIAHMI, A.A. 1974. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. VII. Influence of infection on the growth and nodulation in bean (Phaseolus vulgaris). New Phytol. 65: 343-350.

- 9.- DAFT, M.S. and EL-GIAHMI, A.A. 1975. Effect of Glomus infection on tree legume. In: Endomicorrhizas Ed. by F.E. -- Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker pp. 581-592. ACADEMIC ---- Press. N.Y.
- 10 - DANIELS, B.A. and TRAPPE, J.M. 1980. Factors affecting --- spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal-fungus. Glomus epigaeus. Mycologia. 72 (3) 457-471.
- 11.- FERRERA-CERRATO, R. 1977. Micorriza. Examen Predoctoral -- E.N.C.B., I.P.N. México.
- 12.- FERRERA-CERRATO, R. y MACEDO A. S. 1981. Susceptibilidad - de dos variedades de cebolla (Allium cepa), a 7 especies - de hongos Endomicorrícicos Vesicular-Arbuscular (V-A). --- Memorias del XIV Congreso de la Ciencia del Suelo. S.L.P.- México. 1: 477-484.
- 13.- FERRERA-CERRATO, R. y FURLAN, V. 1982. Endomicorriza (V-A) CEDAF. Colegio de Postgraduados. Chap. Méx. (En prensa).
- 14.- FURLAN, V. 1976. Etude de L' influence de la Temperature, de la lumiere et des fertilizants N-P-K, sur les etapes -- de L'Endomicorrhization et Croissance de L'Allium cepa L. These Present a L' ecole Des gradues de L' universite Laval Pour L'obtention du Grade de Docteur en Sciences.
- 15.- FURLAN, V. and BARTSCHI, H. 1980. Media for density gra--- dient extraction of endomycorrhizal spores. Trans. Br. --- Mycol. Soc. 12 (2) 336-338.

- 16.- FURLAN, V. and FORTIN, J.A. 1975. A Flotation-bubbling system for collecting endogonaceae spores from sieved soil. Soil Naturaliste Can., 102: 663-667.
- 17.- GALLAUD, I. 1905. Etudes sur mycorrhizas endotrophes. Rev. Botan. 17: 5-48.
- 18.- GERDEMANN, J.W. 1968. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza and-plant growth Ann. Rev. of Phytopathology. 6: 397-418.
- 19.- GERDEMANN, J.W. and NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and Decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: (2) ----- 234-244.
- 20.- GERDEMANN, J.W. 1965. Relation of large soil-borne spores to Phycomycetous mycorrhizal infection. Mycologia. 42:(5) 619-632.
- 21.-GERDEMANN, J.W. and TRAPPE, J.M. 1974. The Endogonaceae --- in the Pacific Northwest. Mycologia Memoir No. 5. Published by The N.Y. Botanical Garden. Bronx, New York. 76. p.
- 22.- GERDEMANN, J.W. 1974. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. -- From. The development and function of root. Academic Press London, LTD. 575-591.
- 23.- GIANINAZZI-PEARSON, V. 1982. Physiologie des endomycorrhizes et perspectives offerte par leur utilisation. Academie d'agriculture de France. Extrait du proces-verbal de la Science p.p. 380-389.
- 24.- HALL, I.R. and FISH, B.J. 1979. A. key to the Endogonaceae. Trans. Br. Mycol. Soc. 73 (2). 261-270.

- 25.- HARLEY, J.L. 1975. Problems of mycotrophy. In. Endomycorrhizas. Ed. Sander. F.E. Mosse. B. Tinker, P.B. Academic Press. 1-24. p.p. N.Y.
- 26.- HATTING, M.J. and GERDEMANN, J.W. 1975. Inoculation of - Brazilian Sour orange seed with an endomycorrhizal fungus. Phytopathology. 65: 1013-1016.
- 27.- HAYMAN, D.S. and MOSSE, B. 1972. The Role of Vesicular-- Arbuscular mycorrhiza in the removal of phosphorus from-- Soil by Plant Root. Rev. Ecol. Biol. Sol., T. IX. 3 p.-- 463-470.
- 28.- KLEINSCHMIDT, G.D. and GERDEMANN, J.W. 1972. Stunting of-- Citrus seedling in fumigates nursery soil related to the absence of endomycorrhizae. Phytopathology. 62:1147-1453.
- 29.- KORMANIK, P.P. CRIAG, B.C. and SCHULTZ, R.C. 1980. Procedures and equipment for staining large number of planta-- samples for endomycorrhizal Assay, Can. J. Microbial. 26 536-538.
- 30.- KORMANIK, P.P. and Mc GRAW, A.C. 1982. Quantification of V-A mycorrhizae in plant roots. Metods and principles of mycorrhizal research. Schenck Editor. Univ. de Florida - 37-47. p.p.
- 31.- MARTINEZ, M. 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Ed. Fondo de Cultura Económica. México.

- 32.- MACEDO, A.S. y FERRERA-CERRATO, R. 1981. Infección de la micorriza vesicular-arbuscular (V-A), en diferentes leguminosas de las localidades que forman el Plan Zacapoaxtla. Pueb. México. Memoria del XIV Congreso de la Ciencia del Suelo, S.L.P. México. Vol. 1: 509-517.
- 33.- MEJESTRIK, V.K. 1972. Vesicular-Arbuscular mycorrhizas of the species of a Aolinetum coeruleae. L.I. Association - The Ecology, New Phytol., 71: 883-890.
- 34.- MENGE, J.A. 1981. Effect of soil funigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. Symposium on Mycorrhizae - in Plant Disease Research. 73 rd. Annual Meeting of the - Phytopatological Society. New Orleans Lousiana 73. (8). - 1125-1131.
- 35.- MENGE, J.A. and LEMBRIGHT, H. 1977. Utilization of mycorrhizal fungi in citrus Nurseries. Proc. Int. Soc. Citriculture 1: 129-132.
- 36.- MOSSE, B. and BOWEN, G.D. 1968. A Key to the recognition of some endogone spores types. Trans. Br. Mycol. Soc. 51- (3 and 4). 4969-483.
- 37.- MOSSE, B. HEPPEL, C. 1975. V-A-M. Infection in root organ cultures. Physiological Plant Pathology 5: 215-223.
- 38.- MOSSÉ, B. 1973. Advances in the study of V-A mycorrhiza. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 171-196.
- 39.- NICOLSON, T.H. 1967. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza-A --- Universal Plant Symbiosis. Sci. Prog., Oxf. 55: 561-581.

- 40.- PLANCHETE, C. and FURLAN, V. 1982. Effect of different --
endemicorrhizal fungi of five host plants grown on calcined
montmorillonite clay, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107 --
(4) 535-538.
- 41.- PEYRONEL, B. FASSI, B. FONTANA, A. and TRAPPE, J.M. 1969.
Terminology of mycorrhizal. Mycology. 61: 410-411.
- 42.- PHILLIPS, J.M. and HAYMAN, D.S. 1980. Improved procedures
for clearing root and staining parasitic and Vesicular --
Arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of in--
fection. Trans. Bot. Mycol. Soc. 55 (1) 158-160.
- 43.- RHODES, L.H. and GERDEMANN, J.W. 1978. Hyphal translocat--
ion and uptake of sulfur by VAM of Onion Soil. Biol. Bio
chem. 10: 355-360.
- 44.- RUEHLE, J.L. and MARX, D.H. 1979. Fiber, Food Fuel, and --
Fungal Symbiontes. Science 206: 419-422.
- 45.- SAFIR, C.R. 1980. Vesicular-Arbuscular micorrhiza and ---
crop Productivity. In: The Biology of Crop Productivity.-
Academic Press. Inc. N.Y. 231-256 p.p.
- 46.- SANDERS, F.E. and TINKER, P.B. 1973. Phosphate flow into--
micorrhizal roots. Pestic. Sci. 4: 385-395.
- 47.- SCHONBECK, F. 1979. Endomycorrhiza in relation to plant --
diseases. Soil Borne Plant Pathogens, Eds. Schippers and--
W. Gams, Academic. Press. pp. 271-285. New York.

- 48.- SCHENCK, N.C. and KINLOCH, R.A. 1975. Interaction of endo micorrhizal fungi and root-Knot nematode on soyben. In. - Endomicorrhiza Ed. by F.E. Sander B. Mosse y P.B. Tinker. Academic Press N.Y. 607-617.
- 49.- SCHENCK, N.C. and KELLAM, M.K. 1978. The Influence of Vesicular-Arbuscular mycorrhizae on disease development --- Boullletin (Technical). No. 798. IFAS.
- 50.- TRAPPE, J.M. and SCHENCK, N.C. 1982. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Endoganales). Methods and Principles - of Mycorrhizal Research. Schenck Editor. Univ. of Florida 1-11 p.p.
- 51.- ULLOA, M. y HANLIN, R. 1978. Atlas de Micología Básica -- ED. Concepto, S.A. 158 pp. Primera Edición, México.

APENDICE (I)

TECNICA Y SEPARACION Y CUANTIFICACION DE ESPORAS POR TAMIZADO
EN HUMEDO

- 1.- Se pesan 50 gr o más, dependiendo de la cantidad disponible de suelo. Se colocan en un vaso de precipitado, se -- agrega agua y se disuelven los grumos.
- 2.- Una vez suspendido el suelo, se tamiza colocando en hileras y en orden descendente de abertura seis tamices.
500, 250, 149, 105, 74 y 62 micras
- 3.- A cada una de las fracciones se les da una relavada y con una piceta se bajan a un vaso de precipitado de 50 ml.
- 4.- El contenido de los vasos se suspende en una solución 1:1 de Glicerol-agua y se colocan en una probeta de 500 ml -- por un tiempo de media hora (se usa una bomba de vacío para obtener el sobrenadante y se retamiza).
- 5.- El tamizado se pasa a vasos de precipitados volviendo a -- retamizar cada uno de los tamices correspondientes.
- 6.- Este tamizado se pasa a vasos de precipitados y se agrega un volumen de agua conocido (100 ml).
- 7.- Se colocan los vasos de precipitados de cada una de las -- fracciones en un agitador magnético, se agita durante 1min. y estando en movimiento se toman 3 alícuotas de 10 ml de -- cada uno y se pasan a cajas Petri o a cajas especiales -- cuantificadoras.

8.- Se obtiene la \bar{X} de las 3 alícuotas por muestra y se extra
pola para obtener número de esporas por gr de suelo.

APENDICE (II)

TECNICA DE CLAREO Y COLORACION DE RAICES MICORRIZADAS

- 1.- Las raíces pueden ser frescas o estar fijadas en F.A.A. - Se cortan a 1.5 cm y se agitan en agitador magnético y se toma una muestra de 100 a 200 segmentos.
- 2.- Con una solución de KOH al 10% se autoclavea a 10 lb/10 - min. Cuando la solución está obscura se da otro cambio. - cuando la solución deja de ser eficaz, se enjuagan las -- raíces con agua y se ponen en una solución de Peróxido de Hidrógeno alcalino al 10%, para eliminar los residuos de pigmentos que puedan perjudicar la observación.
- 3.- Colocar los segmentos de raíces en un vaso de precipitado y agregar una solución colorante de Fucsina ácida en Lactoglicerol, 0.01% Autoclavear a 10 lb/10 min.
- 4.- Quitar el exceso de colorante colocando las raíces colo-- readas, por un máximo de 24 hrs. en Lactoglicerol.
- 5.- Las raíces coloreadas se colocan paralelamente, con una - de las extremidades alineadas, sobre el portaobjetos, al- que se le agregan unas gotas de lactoglicerol. De 10 a 20 segmentos se pueden montar por cada portaobjetos, se colo ca el cubreobjetos y con la goma de un lápiz se aprieta - uniformemente para aplastar las raíces generalmente se -- prepara un centenar de segmentos para obtener una buena - media.

6.-La observación se hace en microscopio ordinario, habitualmente a un aumento de 100 X. La estimación del porcentaje de colonización se calcula haciendo por lo menos tres pasajes equidistantes sobre cada segmento. Cuando un segmento de raíz atraviesa el campo óptico del microscopio si contiene hifas, arbuscúlos o vesículas, independientemente del estado de infección, se le da el valor de uno.

APENDICE (III)

SOLUCION MINERAL DE LONG ASHTON MODIFICADA

MACRO-ELEMENTOS	mg/L	g/100 L	
1. KNO_3	808	80.8	
2. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	944	94.4	
3. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	184	18.4	
4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	368	36.8	
OLIGO-ELEMENTOS	mg/L	g/100L	g/1000L
5. $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2.23	0.223	2.23
6. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.025	0.25
7. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.29	0.029	0.29
8. H_3BO_3	3.10	0.310	3.10
9. NaCl	5.90	0.590	5.90
10. $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$		5 ml	50ml
11. Citrato férrico 1% 2 ml/l			
o Citrato Férrico Amoniacal			

FE DE ERRATAS.

Pag. 28. Glomus sp. Frene. Así se habia denominado, Nombre Cientí-
fico actualizado: Glomus intraradices. 6TH. NACOM. BEND-
OREGON. U.S.A. 25-19 de Junio, 1984.

Pag. 38. Dice combinación debe de decir concentración.