

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFECTO DE LOS HONGOS
MICORRIZICOS ARBUSCULARES
NATIVOS EN EL CRECIMIENTO DE
UN CRIOLLO Y DOS VARIEDADES DE MAIZ**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO**

PRESENTA:

SONIA ALEJANDRA ALVAREZ SANTIAGO

A mis padres y hermanas con todo mi cariño.

"Lo peor que puede sucedernos
está más relacionado con el amor
que con el tiempo y la muerte...
Lo peor es querer y no ser querido".
J.L. Borges

AGRADECIMIENTOS

A la M. en C. Lucía Varela. Por su apoyo, asesoramiento y múltiples consejos durante mi formación académica. Por ser más que mi asesora.

Al Dr. Felipe García-Oliva. Sin él no se habría concluido esta tesis. Por su asesoría en los análisis estadísticos e interpretación de resultados, en fin, por todos los momentos compartidos.

Al M. en C. Arturo Estrada Torres. Por sus comentarios y ayuda, no sólo durante la tesis sino durante toda mi formación académica.

A los sinodales M. en C. Margarita Villegas, Biól. Rosario Vásquez y al Biól. Jaime Gutiérrez, cuyas recomendaciones me han ayudado.

Al Biól. Rodrigo Nava. Muy en especial por su cariño y amistad, además de los múltiples favores que me ayudaron a que llegara a feliz término todo este trabajo.

Al Prof. Ricardo Aguilar. Por sus comentarios y análisis químicos de azúcares y proteínas. Y además haberme ofrecido su amistad y ayuda durante la carrera y todo este tiempo.

A la M. en C. Mayra Gavito. Quien me presentó con Lucía y me enseñó las técnicas básicas de micorrizas, no sin antes decir: Gracias por tu amistad y compañía.

Al Biól. Enrique Solís. Por su asesoría y comentarios en la interpretación de los análisis químicos de fósforo.

Al Mtro. Nazario Félix, a la QBP Norma Pescador y al M. en C. Teodoro Gutiérrez C. Por habernos ayudado y recibido tan calurosamente en su laboratorio, donde se realizó la mayor parte de la tesis.

Al M. en C. Ricardo Valenzuela. Por el apoyo durante mi corta estancia en el laboratorio de Micología.

Y al IPN, que ha sido mi segunda **alma mater.**

A los laboratorios:

Ecología Microbiana de Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

Micología del Departamento de Botánica, ENCB, IPN.

Fisiología Vegetal del Depto. de Botánica, ENCB, IPN.

Y finalmente a la Dirección de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPI) del Instituto Politécnico Nacional. Por el apoyo al proyecto # 916404, que se tituló: "Micorriza vesículo-arbuscular: Efecto del genoma de la planta y de los hongos asociados". Con él cual se financió parte de la tesis.

RESUMEN

El presente trabajo es un estudio experimental cuyo objetivo fue determinar el efecto de la población nativa de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares (VA) en el desarrollo de tres variedades de maíz con diferentes niveles de fertilización.

El experimento se llevó a cabo en condiciones controladas de invernadero, con el siguiente diseño experimental: 3 variedades de maíz (Criollo, VS-22 y H-34), tres niveles de fertilización fosfatada (0, 40 y 80 kg ha⁻¹) y dos niveles de inoculación (presencia y ausencia) con hongos micorrízico VA nativos de suelo de las faldas del Volcán La Malinche, Tlaxcala.

El peso seco de las plantas se incrementó con los niveles de fertilización. Sin embargo, las plantas con la presencia del hongo VA presentaron menor biomasa. Las plantas con micorrizas presentaron mayor concentración de fósforo foliar que las no micorrizadas. Se encontraron diferencias entre variedades en la relación azúcares-fósforo y porcentajes de infección. Se concluye que el Criollo en condiciones sin fertilización se vio más beneficiado por la asociación. En cambio, las variedades mejoradas respondieron a la fertilización.

CONTENIDO

| | | |
|-------------------|--|----|
| INTRODUCCION | | |
| | Antecedentes | 1 |
| | Marco teórico | 2 |
| | Zona de estudio | 6 |
| OBJETIVOS | | 9 |
| METODOLOGIA | | |
| | Muestras de suelo | 10 |
| | Fertilización | 11 |
| | Semillas | 11 |
| | Montaje del experimento | 12 |
| | Evaluación de resultados | |
| | Biomasa | 12 |
| | Fósforo, azúcares y proteínas | 13 |
| | Porcentaje de infección | 14 |
| | Dependencia micorrízica | 16 |
| RESULTADOS | | |
| | Biomasa | 17 |
| | Concentración de fósforo, azúcares y proteínas | |
| | Fósforo | 25 |
| | Azúcares | 30 |
| | Proteínas | 30 |
| | Relación azúcares-fósforo | |
| | Criollo | 38 |
| | Variedad H-34 | 40 |
| | Variedad VS-22 | 42 |
| | Porcentaje de infección | 44 |
| | Dependencia micorrízica | 51 |
| DISCUSION | | 52 |
| CONCLUSIONES | | 58 |
| APENDICE | | 59 |
| LITERATURA CITADA | | 60 |

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

Las micorrizas juegan un papel importante en las plantas, influyendo en su sobrevivencia como un factor de mejoramiento en la captación de recursos como nutrimentos y agua. Mediante muchos estudios, actualmente se conoce que los hongos micorrízicos vesículo-arbusculares (MVA) pueden aumentar considerablemente la captura de fosfatos, además de otros minerales como sulfatos, potasio, zinc y calcio (Janos, 1987).

Uno de los cultivos de mayor importancia en México es el maíz (Zea mays L.), el cual es poco dependiente de la asociación micorrízica en suelos con altos contenidos de fósforo. Sin embargo, la mayor superficie dedicada a la producción del maíz se presenta en suelos marginales con fuertes restricciones de nutrimentos y disponibilidad de agua.

En México existen pocos estudios sobre la importancia de las micorrizas en la producción del maíz. En general, los estudios del maíz han sido orientados a buscar variedades mejoradas en condiciones óptimas de fertilización y riego. Un ejemplo de este tipo de estudios fue comprendido en el Plan Puebla-Tlaxcala realizado en 1976 por el CIMMYT para desarrollar, probar y refinar una estrategia para aumentar los rendimientos del maíz, y adiestrar a los campesinos y técnicos para el empleo de dicho plan. Pero se llegó a la conclusión, de que al menos en la zona maicera del Valle de Puebla, persistía el uso excesivo de fertilizantes convirtiéndose en una producción no sostenible, por lo cual no fue posible implantar esta nueva estrategia. Uno de los limitantes del enfoque de este estudio, es que no tomó en cuenta el efecto de las micorrizas.

Los pocos trabajos hechos en México con esta asociación, sólo evalúan el efecto de los hongos micorrízicos de cepas exóticas (i.e. Palacios-Mayorga et al., 1987), por lo que es necesario realizar estudios en donde se conozcan las poblaciones nativas de hongos micorrízicos arbusculares de México y su comportamiento frente a las prácticas agrícolas.

Los estudios del comportamiento de la micorriza deben tener una etapa experimental y una etapa de implementación en condiciones de campo. La primera permite demostrar la importancia de los hongos MVA. Para ello se requiere de comparaciones entre plantas micorrizadas con plantas no micorrizadas, en condiciones controladas (Sieverding, 1987). De esta manera, podría demostrarse la dependencia micorrízica de un cultivo y el efecto de la fertilización tanto sobre la población nativa, como sobre cepas específicas de hongos MVA.

El presente trabajo tiene como objetivo conocer experimentalmente en condiciones controladas, el efecto de la presencia de hongos micorrízicos nativos en el comportamiento del maíz nativo y dos variedades mejoradas, con relación a distintos niveles de fertilización con fósforo.

MARCO TEORICO

La utilización de fertilizantes químicos requiere de inversiones elevadas de dinero y energía. Por lo anterior, es necesario encontrar alternativas de uso de biofertilizantes o de organismos que mejoren la captación de nutrimentos del suelo (Menge, 1983). Se ha demostrado ampliamente que la asociación micorrízica le confiere beneficios a los cultivos. Es ésta tal vez, la mejor alternativa para el ahorro y la conservación de recursos.

La reintroducción de los hongos es posible solamente en 3 condiciones agrícolas: i) sitios perturbados, ii) suelos fumigados y iii) en invernadero (Menge, 1983). Por lo anterior, el uso de hongos MVA en condiciones agrícolas normales, debe ser in situ y con las cepas nativas. Es por esto que se hace necesario conocer el comportamiento de las cepas nativas.

La presencia de la asociación micorrízica en las plantas es común, a excepción de algunas familias como son la Cruciferae y la Chenopodiaceae. La mayoría de las familias de plantas de mayor importancia económica son micorrízicas incluyendo a las Leguminosae, Solanaceae, Rosaceae y Gramineae (Hayman, 1987). Cultivos como Cassava, leguminosas tropicales, frutas y árboles de

interés forestal, no pueden prosperar sin la asociación micorrízica y otros cultivos como el frijol o el maíz pueden rendir muy poco en suelos deficientes de fósforo (Sierverding, 1987).

Los hongos micorrízicos se asocian generalmente a hospederos autótrofos y poseen poca capacidad de producir enzimas capaces de degradar polímeros complejos de carbohidratos, como pectina o celulosa, incluso ya asociados a las raíces. La ausencia de dichas enzimas es característica de hongos biotróficos (Harley & Smith, 1983), por lo que el hongo micorrízico está obligado a dicha asociación para obtener sus recursos. El incremento de biomasa micelial presumiblemente depende del aporte de carbohidratos a través de la raíz. Además, la raíz de la planta le aporta hormonas y factores de crecimiento (Harley & Smith, 1983). Por lo tanto, la asociación conlleva un costo al hospedero.

Por su parte, la planta se beneficia de la asociación obteniendo una mayor captación de nutrimentos (Mosse, 1973), resistencia a la sequía (Allen & Boosalis, 1983; Hardie & Leyton, 1981; Hardie, 1985) e incremento en los procesos de intercambio de gases (Augé et al., 1986). Estas ventajas se expresan en un incremento de la biomasa aérea de la planta (Mosse, 1973), siendo más evidente en suelos con deficiencia de fósforo (Jackson et al., 1972).

Experimentos con poro (Allium porrum L.) han demostrado que la fertilización incrementa el peso de la raíz y del tallo, disminuye la formación de puntos de entrada, limitando así la tasa de colonización (Amijee et al. 1989). Por otro lado, se ha encontrado que generalmente existe una relación negativa entre el crecimiento de la planta, la proporción del suelo de campo usado como inóculo en invernadero, y el porcentaje de colonización del hongo MVA (Clapperton & Reid, 1992), lo cual hace que la asociación sea compleja en sus respuestas.

En algunos casos los beneficios de la asociación no son tan claros. La biomasa de plantas micorrizadas pueden ser menor que la de plantas no micorrizadas, debido a una mayor demanda de fotosintetatos por parte del hongo (Amijee et al., 1989). La alta

demanda de los fotosintetatos puede ser debido a: 1) disminución de la fotosíntesis, 2) aumento de la respiración de la planta, 3) aumento del transporte de carbono a hifas extra-matriciales o a cuerpos frutíferos del hongo, que no son incluidos en la estimación de la biomasa de la planta hospedera (Harley & Smith, 1983).

Los beneficios de la asociación se reducen, cuando aumentan los niveles de disponibilidad de fósforo (P) en el suelo (Stribley et al., 1980; Abbott & Robson, 1984; Amijee et al. 1989). Se ha demostrado, que las concentraciones altas de fósforo disponible en el suelo mediante las fertilizaciones, disminuyen e incluso llegan a anular los efectos benéficos de la asociación. También se ha observado que la fertilización afecta la presencia de arbusculos y por tanto la habilidad de intercambio y funcionamiento de la micorriza (Clapperton & Reid, 1992).

La asociación micorrízica puede variar entre diferentes especies de plantas. Por ejemplo, se ha encontrado que el poro (Allium porrum L.) es más susceptible a la colonización que el trébol (Trifolium parviflorum Ehrh.), ya que aún con la edad de las raíces, el trébol sigue siendo resistente a la infección (Hepper, 1985). Esta variación puede encontrarse también entre variedades de una misma especie. Rajapakse et al. (1989) trabajando con cultivares de Cajanus cajan (L.) Millsp., encontraron que la triple interacción de inoculación, niveles de fósforo y variedad, fue significativa para los pesos secos, y concluyen que existe una gran variedad de respuestas entre variedades. Por ejemplo, existe una correlación negativa entre fósforo añadido y el porcentaje de infección y esta respuesta fue diferente para cada una de las variedades. Este mismo resultado fue reportado para distintos genotipos de mijo (Pennisetum americanum L. Leeke) por Krishna et al. (1985) y distintas variedades de Citrus (Menge et al., 1978).

En el caso del maíz, distintas variedades responden diferente a la asociación. Las variedades resistentes a patógenos son susceptibles a baja colonización, mientras que las variedades susceptibles a enfermedades tuvieron niveles significativamente altos de colonización, maduraron más rápidamente y tuvieron

sistemas de raíces pequeños (Toth et al., 1990).

Utilizando maíz y tomate con diferentes niveles de fertilización de P se ha encontrado una amplia variación en el desarrollo de la micorriza y en su respuesta evaluada por el crecimiento de la planta (Daft & Nicolson, 1969).

Jackson et al. (1972) encontraron en un experimento de fertilización con cultivos de maíz, que las plantas tenían concentraciones extremadamente bajas de P en ausencia de los hongos nativos MVA, lo cual indica que las plantas poseían dificultad para utilizar P del suelo. Observaciones en campo han mostrado que altas dosis de fertilización no necesariamente suprimen la colonización de hongos MVA. Una adición suplementaria de N es aparentemente esencial y necesaria en el desarrollo de las poblaciones nativas de hongos MVA (Gryndler et al. 1989). Sin embargo, el maíz es considerado como una planta con baja dependencia micorrízica (Smith, 1985), por lo que muy frecuentemente la asociación tiene efectos negativos en el hospedero a dosis altas de P.

En México, en un estudio experimental con cultivos de maíz bajo diferentes tipos de manejo, Gavito & Varela (1990) mostraron que las cepas nativas de hongos MVA tienen un efecto negativo en el crecimiento de maíz. Sin embargo, ellas concluyen que la asociación se mantiene, debido a que puede representar ventaja al hospedero en suelos con presencia de gran cantidad de patógenos (i.e. nemátodos y hongos fitopatógenos).

ZONA DE ESTUDIO

El Estado de Tlaxcala se localiza en la parte central de la República Mexicana. Limita con los Estados de Puebla, Hidalgo y el Estado de México.

La superficie total del Estado de Tlaxcala es de 406,100 ha; donde 259,900 ha (63.8 %) son susceptibles de uso agrícola, de las cuales se encuentran en explotación agrícola 248,400 ha. De éstas, en 1983 se sembró el 98.3 %, de las cuales el 11% estuvo bajo riego. Existe un área de aproximadamente 40% (160,000 ha) con diversos grados de erosión.

En la producción agrícola destaca el maíz, que cubre alrededor de las dos terceras partes del total cosechado. En 1983, la superficie cosechada de maíz durante el ciclo Primavera-Verano fue de 14,197 ha por riego y 120,373 ha de temporal. De éstas se fertilizaron 3,935 ha, existiendo una tendencia a aumentar el número de hectáreas para fertilizar en los últimos años. El volumen de producción agrícola para es mismo año/ciclo fue de 154,117 t de maíz, por lo que el rendimiento anual por superficie fue de 1.14 t ha⁻¹ (INEGI, 1985).

La zona se encuentra en el municipio de Ixtenco y se localiza a los 19° 19' N y 98° O, entre los 2500 y 2700 msnm (Fig. 1). Presenta un clima C(w₀ w" ₁) (w) b (e) g, templado subhúmedo con lluvias en verano. La precipitación promedio anual es de 670 mm y la temperatura promedio anual es de 15.5 °C (García, 1980).

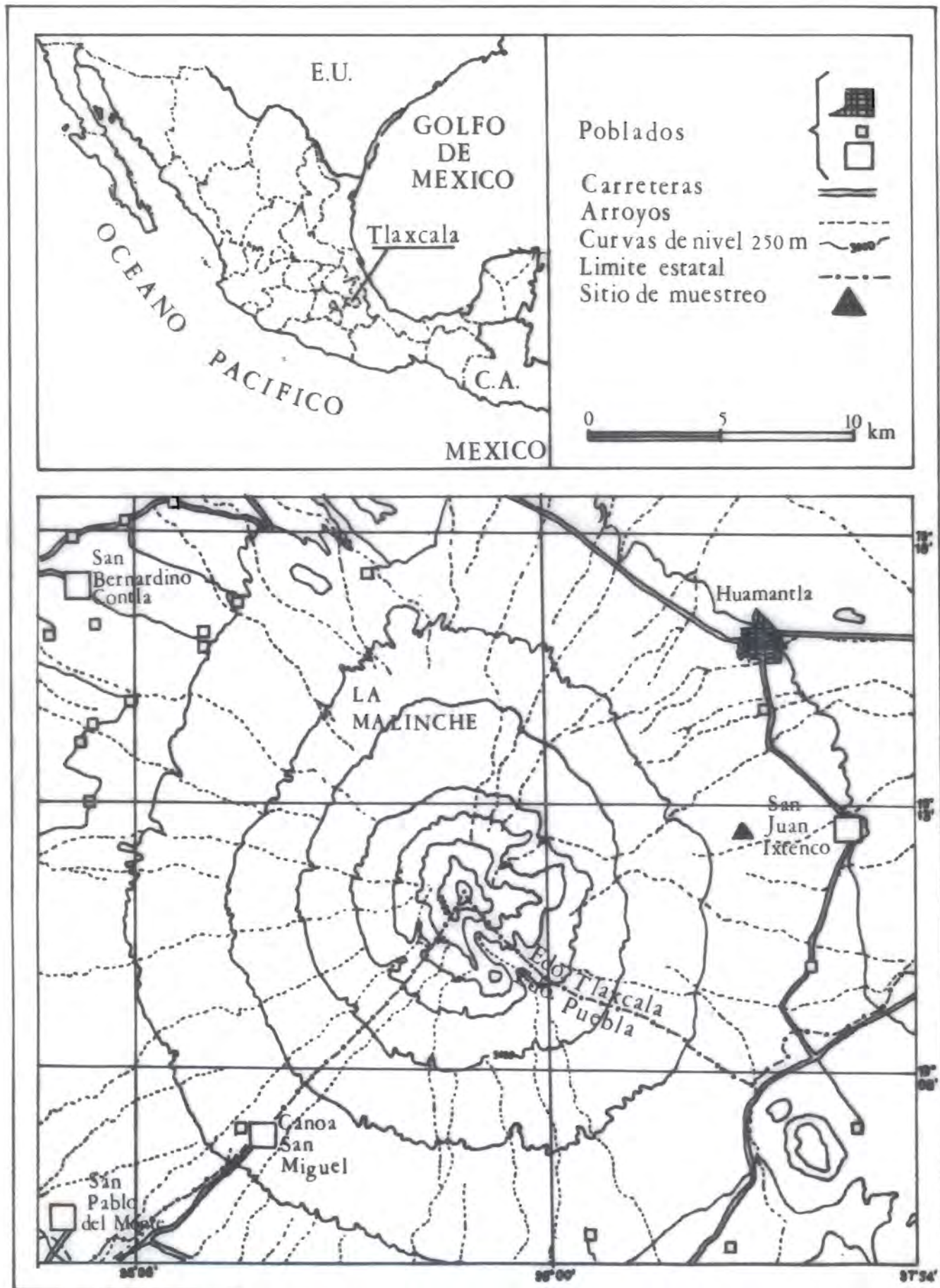
El suelo es fluvisol, que se caracteriza por ser de textura migajón arcillo-arenoso. El pH va de ligero a medianamente ácido, sufriendo pequeñas variaciones durante el año. En cuanto al contenido de fósforo disponible se considera de medio a alto, pero también existen cambios de concentración durante el año. Existe un aumento en el periodo de lluvias, siendo tal vez el mes de julio el periodo donde se encuentra más alta ésta concentración.

El contenido de nitrógeno es bajo, a pesar que se aplican cerca de 100 kg ha⁻¹ o más de fertilizantes. Gavito (1991) señaló que la rotación de cultivos de maíz con leguminosas que se realizan

en la zona, puede de algún modo contrarrestar la falta de este elemento.

En general, el uso de semilla de variedades mejoradas no es utilizada en esta zona, por lo que se utiliza la semilla seleccionada de la cosecha anterior. La agricultura de la zona es tradicional.

FIG 1. LOCALIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO.



OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la población nativa de hongos micorrízicos arbusculares en el desarrollo de 3 variedades de maíz con diferentes niveles de fertilización fosfatada.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar si existe una respuesta diferente entre las variedades mejoradas de maíz y el maíz criollo ante los distintos niveles de fertilización y/o ante la inoculación con hongos micorrízicos nativos.

Evaluar el efecto de la asociación micorrízica en la captación de fósforo, por medio de la cuantificación de la concentración de fósforo foliar.

Evaluar de que manera influye la fertilización fosfatada en la infección micorrízica.

Evaluar si la transformación de los valores del porcentaje de infección es la más indicada para ajustar los datos a una respuesta normal.

METODOLOGIA

El experimento se montó en el invernadero que se encuentra en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. a cargo del laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Botánica. El diseño experimental de éste presentó tres factores: 1) tres variedades de maíz, 2) inoculación y 3) fertilización.

Se fertilizó con 2 niveles diferentes de fósforo: 40 y 80 kg ha⁻¹. Estas dosis corresponden, la primera a la dosis recomendada para la zona y la segunda al doble de ésta. La inoculación presentó dos niveles: presencia y ausencia. Se tuvieron 5 repeticiones para cada tratamiento dando un total de 90 macetas. La unidad experimental fue una planta sembrada en cada maceta y éstas se distribuyeron con arreglo al azar en el invernadero.

MUESTRAS DE SUELO

El suelo que se utilizó para el presente estudio fue recolectado antes de la cosecha en parcelas de cultivos de maíz que se localizan en las laderas Este y Noreste del volcán Malintzin, Tlaxcala durante el mes de agosto de 1990. Dichas muestras se recolectaron de la zona rizosférica de los primeros 20 cm de profundidad, considerando 5 puntos en forma diagonal, formando finalmente una muestra compuesta. Una vez recolectado el suelo se pasó por un tamiz de 5 mm de abertura.

Para montar un testigo y eliminar los hongos micorrízicos parte del suelo se esterilizó en autoclave a vapor en dos ocasiones, durante 1 hora, con un lapso de 24 horas, permitiendo su aereación. Para observar que la respuesta se debe al efecto de los hongos micorrízicos y no a la ausencia de otros microorganismos, al suelo esterilizado se le reincorporó la población microbiana (sin hongos micorrízicos) haciendo filtrados de una muestra no esterilizada del suelo del mismo sitio, mediante un tamizado húmedo (proporción 1:2 suelo:agua) obteniendo así una solución acuosa del suelo que se hace pasar por una malla de 2 micras de abertura, que sólo permite el paso de bacterias y hongos no micorrízicos. Una vez

incorporada la población microbiana para su propagación, se incubó el suelo 15 días en un cuarto-estufa a 28°C con bolsa cerrada y 15 días con la bolsa abierta para evitar anaerobiosis.

La inoculación del lote experimental con hongos micorrízicos se hizo con suelo del sitio de trabajo. Las macetas se prepararon con 2 kg de suelo, el 10% fue con suelo sin esterilizar y el 90% con suelo esterilizado. El lote testigo se hizo preparando macetas con 2 kg de suelo esterilizado al que se le reincorporo la comunidad microbiana sin hongos micorrízicos como se describió anteriormente.

FERTILIZACION

La fertilización fosfatada se realizó con una solución acuosa de KH_2PO_4 al momento de la preparación de la macetas y antes del transplante de las plántula. La solución contenía por cada 50 ml de agua destilada 0.174 g (40 kg ha^{-1}) y 0.348 g (80 kg ha^{-1}) del reactivo.

Para evitar que una deficiencia en nitrógeno afectara el desarrollo del maíz y los resultados no se debieran al efecto del fósforo, se fertilizó con nitrógeno, esto es, se aplicó una solución acuosa de sulfato de amonio al momento del transplante. Pero debido a que un exceso de nitrógeno o un desbalance en la relación N/P puede afectar negativamente la relación micorrízica se aplicó la mitad de la dosis recomendada de nitrógeno (100 kg ha^{-1}) para esta misma zona, esto es, con 50 kg ha^{-1} a todos las macetas.

SEMILLAS

Las semillas de maíz se obtuvieron de dos sitios. La criolla o razas nativas de las parcelas de la zona de estudio. Las variedades de maíz correspondieron a las recomendadas por el CIFAP-Tlaxcala para esta zona, la VS-22 y la H-34.

Las semillas se esterilizaron antes de que germinaran con hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos, luego se enjuagaron con agua destilada y se pusieron a germinar en vermiculita esteril y a los 8 días de germinadas se trasplantó una plántula por maceta.

MONTAJE DEL EXPERIMENTO

Este experimento se montó en invernadero bajo condiciones no controladas de luz y temperatura el 28 de enero de 1991. Las plantas se regaron diario para mantener siempre humedecida la superficie del suelo. Aproximadamente hubo 12 horas de radiación solar y la temperatura promedio fue de 20° C. Se hizo una cosecha final a los 70 días de crecimiento, esto es el 8 de abril de 1991.

EVALUACION DE RESULTADOS

BIOMASA

Se evaluó altura de la parte aérea en todas las plantas midiendo con una cinta métrica desde el cuello hasta el último nudo del tallo, antes de ser separada de la raíz.

Posteriormente se separó la parte aérea de cada una, se colocó en una bolsa de papel de estrasa, y se secó en un horno marca Precision Thelco modelo 17 entre 60° y 70° C durante 5 días hasta obtener peso seco constante.

El peso seco de la parte aérea se estimó en una balanza analítica Mettler H31AR. Luego se separó el tallo, éste se pesó. Y el peso seco de hojas se estimó por la diferencia entre peso seco total y peso seco del tallo.

Para determinar el efecto de los tres tratamientos: variedad (V), fertilización (F) e inoculación (I), se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) factorial balanceado (Montgomery, 1984), que presentó la siguiente fórmula:

$$y = \mu + V_i + F_j + I_k + V * F_{ij} + V * I_{ik} + F * I_{jk} + V * F * I_{ijk} + e_{ijkz}$$

donde e_{ijkz} es igual al error aleatorio y tiene un NID (0, σ), V_i es el efecto de la variedad con tres niveles, F_j es el efecto de la fertilización con tres niveles e I_k es el efecto de la inoculación con dos niveles.

Para determinar las diferencias entre medias de cada nivel para cada factor se aplicó un análisis de Tukey a una $p = 0.05$ (Montgomery, 1984). Estos análisis se aplicaron por separado a la

altura, peso seco total, peso seco hojas y peso seco de tallo.

FOSFORO, AZUCARES Y PROTEINAS

Las hojas secas se molieron hasta un tamaño aproximado de 1-0.5 mm en un molino pequeño marca Molinex.

La concentración de fósforo se determinó en hojas, por medio de colorimetría (Technicon Industrial System, 1977). Para ello se pesaron 0.5 g del molido de hojas en tubos digestores. Se les agregó 7 ml de H_2SO_4 y 1 g de mezcla digestora (Na_2SO_4 y $CuSO_4$, a una proporción 1:10 de Cu:Na). Se realizó la digestión por 4 horas a 375 °C. Posteriormente se le agregó 2 ml de agua oxigenada al 30 % y se filtró. Con los filtrados se determinó la concentración de fósforo total en el autoanalizador Mod. Technicon Autoanalyzer II. Con estos resultados se calculó el peso de fósforo total en hojas mediante el producto de la concentración de fósforo y el peso en gramos de las hojas.

De la muestra pulverizada se tomó 1 gramo de hoja seca y se molió en mortero finamente con 5 ml de agua destilada hasta homogenizarla durante 5 minutos. Esta se filtró y del filtrado se determinaron las aldohexosas reductoras (azúcares) por el método de Nelson-Somogy y las proteínas por espectrofotometría (Segel, 1976).

El método de Nelson-Somogy consiste en agregar 2 ml de H_2SO_4 (2 N) a 2 ml del filtrado. Esta mezcla se pone 5 minutos a ebullición, después que haya enfriado se agrega 1 ml de NaOH (4 N). Se toma 1 ml de esta última y se añade 1 ml del reactivo A (ver apéndice), se deja ebullicir otros 15 minutos y cuando ha enfriado se agrega 1 ml del reactivo B (ver apéndice). Se afora a 10 ml y se leyó a 560 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21.

Para determinar proteínas, se tomaron 10 μ l del filtrado y se agregó 1.99 ml de NaOH (0.01 N) y se leyó a 215 nm. Para poder comparar las lecturas y sacar la concentración de proteínas, se realiza una curva patrón con diferentes concentraciones.

El análisis estadístico se realizó con el mismo modelo utilizado en la biomasa y se le aplicó por separado a la

concentración de fósforo foliar (ppm), peso de fósforo foliar (g), azúcares foliares ($1 \cdot 10^{-3}$ M) y proteínas foliares ($\mu\text{g/ml}$). Las comparaciones múltiples se realizaron con la prueba de Tukey a una $p = 0.05$.

Para determinar las diferencias entre variedades de maíz del costo de metabolitos (azúcares) en la obtención de fósforo, se realizó una ordenación en dos ejes: contenido de azúcares y peso de fósforo foliar. Para determinar si los grupos formados en esta ordenación coincidían con los grupos esperados por los tratamientos de fertilización e inoculación, se realizó para cada uno de los ejes un análisis de varianza simple balanceado (Montgomery, 1984), con la siguiente fórmula:

$$Y = \mu + T_i + e_{ij}$$

donde, e_{ij} tiene un NID $(0, \sigma)$ y T_i es igual al efecto de los grupos. Los grupos preestablecidos fueron: inoculado sin fertilización (MO), no inoculado sin fertilización (NO), inoculado con 40 kg ha^{-1} (M40), no inoculado con 40 kg ha^{-1} (N40), inoculado con 80 kg ha^{-1} (M80) y no inoculado con 80 kg ha^{-1} (N80).

Para determinar las diferencias entre las medias de los grupos se aplicó un análisis de Tukey a una $p = 0.05$.

PORCENTAJE DE INFECCIÓN

De las raíces se extrajo una muestra durante la cosecha para después teñirlas con azul de tripano (Phillips & Hayman, 1970). Esto es, se lavaron las raíces para eliminar partículas de suelo y materia orgánica. Luego se aclararon con hidróxido de potasio (KOH) al 10 % hasta que las raíces se pusieron suaves, después se enjuagaron con agua en 3 ocasiones para eliminar el KOH. Posteriormente se acidificaron con ácido clorhídrico al 5 % (HCl) durante 5 ó 10 minutos, éste se decantó y se añadió la solución del colorante (ver apéndice).

Una vez teñidas las raíces se determinó el porcentaje de infección del hongo micorrízicos en las raíces por medio del método

de intersección (Giovanetti & Mosse, 1980). Se tomaron aproximadamente 200 segmentos o más de 1 centímetro de longitud y se colocaron al azar en una caja petri con una cuadrícula de 0.5 pulgadas por lado, luego se observaron en el microscopio estereoscópico. Se calculó el porcentaje de infección mediante la relación del total de raíces y las que presentaban infección. Se hicieron los conteos en 2 ocasiones para cada planta.

Para tener una idea de la variación entre conteos de una misma planta, se estimó el error entre submuestras con la siguiente expresión:

$$e = (2(A-B) / A+B) * 100$$

donde e es el error en porcentaje, A es la primera lectura y B la segunda lectura.

El nivel de infección micorrízica tiene una respuesta binomial que se expresa generalmente en porcentaje. Las respuestas binomiales corresponden a fenómenos medidos con escalas binarias: presencia y ausencia. El modelo más utilizado en la prueba de hipótesis es el ANOVA, el cual supone que el error se distribuye normalmente y la varianza es homogénea. Datos con respuesta binomial (como el porcentaje de infección) generalmente violan estos dos supuestos y por lo tanto, la aplicación de este análisis no es válido. Una alternativa, es la transformación de los datos de porcentaje a arcoseno para obtener la normalidad y aplicar el ANOVA (Sokal & Rohlf, 1980). Sin embargo, la transformación de los datos no asegura los supuestos de la prueba, por lo que es necesario realizar pruebas de normalidad. La solución que se utilizó al análisis de este tipo de datos, es la aplicación del modelo de regresión logística, el cual supone que la distribución del error es binomial (Dobson, 1983).

Para poder aplicar el modelo de regresión logística es necesario obtener las frecuencias totales de intersecciones y de las frecuencias de las raíces infectadas. Esto es, de las raíces que interseccionaron la cuadrícula se contaron cuales presentaron

infección (ya sea con micelio, vesículas, arbusculos y/o esporas) y cuantas no la presentaron, la suma de ambos tipos corresponden a la frecuencia total de intersecciones.

El modelo de regresión logística con distribución binomial Bernoulli se realizó en el programa GLIM (Aitkin et al., 1989). Dicho modelo tuvo las siguientes características:

i) los datos estuvieron agrupados en dos factores: fertilización y variedad.

ii) la variable de respuesta fue la frecuencia de infección, la cual tuvo un error binomial.

iii) la "link function" fue logística:

$$n = \log[p/(1-p)].$$

Sin embargo, con el objetivo de comparar las diferencias con la regresión logística, se aplicó el ANOVA y la prueba de Tukey. Los porcentajes de infección transformados al arcoseno de su raíz cuadrada se sometieron a la prueba de normalidad de Kruskal-Wallis (Sokal & Rohlf, 1981).

DEPENDENCIA MICORRÍZICA

La dependencia micorrízica se calculó con la fórmula de Planchette et al. (1983), que tiene la siguiente expresión:

$$\frac{PSM-PSNM}{PSM}$$

PSM

donde PSM es el peso seco total de las planta micorrizada y PSNM es el peso seco total de las plantas no micorrizadas.

RESULTADOS

ALTURA

La inoculación presentó diferencias significativas (tabla 1). Las plantas no inoculadas fueron 10% mayor respecto a las inoculadas. Con el objeto de mostrar si el efecto de inoculación es similar en cada uno de los niveles de fertilización se compararon por separado. Las diferencias antes mencionadas se encontraron en los niveles 0 y 40 kg ha⁻¹ (fig 2).

PESO SECO HOJAS

Como puede observarse en la figura 3 se encontraron diferencias significativas entre los niveles de fertilización. El nivel 0 fue menor que 40 y 80, siendo éstos últimos similares, en promedio las plantas fertilizadas fueron 20% mayores que las plantas testigo. El factor inoculación fue otro de los factores que explicará en mayor proporción el modelo (tabla 1), donde se encontraron diferencias significativas entre plantas inoculadas y plantas no inoculadas. La plantas no inoculadas fueron 10% mayores que las plantas micorrizadas (fig. 3).

PESO SECO TALLO

El peso seco del tallo aumentó significativamente al fertilizar, siendo las plantas fertilizadas 40% mayores que las plantas sin fertilización, siendo similares en los niveles de 40 y 80 kg ha⁻¹. A pesar que no hay diferencias significativas ($P=0.19$) entre plantas no inoculadas e inoculadas existe la misma tendencia que en los demás parámetros evaluados, esto es que las plantas sin micorrizas fueron mayores que las micorrizadas (tabla 1, fig. 4).

PESO SECO TOTAL

En todos los casos las plantas no micorrizadas presentaron pesos secos totales mayores (28%) que las micorrizadas (fig. 5). Las diferencias fueron significativas al fertilizar, ya que aumentó el peso seco en promedio un 10%, al igual que en hojas. En los niveles de 40 y 80 kg ha⁻¹ no hubo diferencias.

BIOMASA

En la tabla 2 se observan los niveles de significancia y los coeficientes de determinación para cada una de las fuentes de variación de los análisis de varianza. Los modelos que tuvieron mejor ajuste fueron los de peso seco de hojas ($R^2=46$) y peso seco total ($R^2=45.3$); en cambio, el ajuste del modelo de altura fue malo ($R^2=19$). Por lo que los pesos secos reflejaron mejor el efecto de los tratamientos. Para los casos de pesos secos, los niveles de fertilización presentaron altos niveles de significancia y además explicaron la mayor parte de la varianza total del modelo. En estos casos, el efecto de la inoculación también fue significativo pero tuvo una menor importancia en el modelo. En cambio, la inoculación solamente fue significativa en el caso de la altura.

A pesar que pudiera considerarse que las variedades deberían comportarse de manera diferente, el factor variedad posee los coeficientes de determinación más pequeños y para ninguno de los factores analizados fue significativo. Tampoco ninguna de las interacciones fueron significativas.

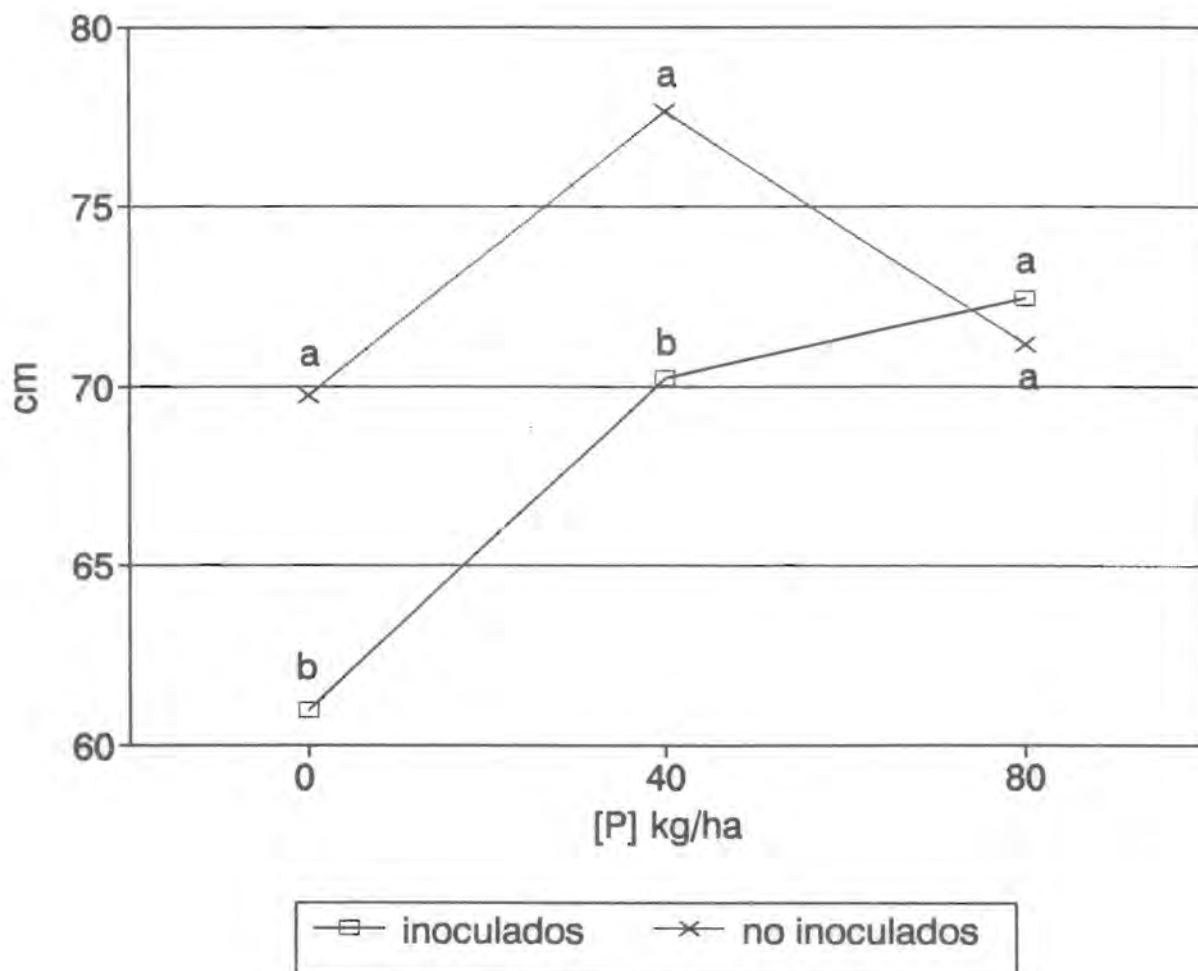


Fig. 2. Promedios de la altura (cm) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre el nivel de inoculación hacia el interior de cada nivel de fertilización.

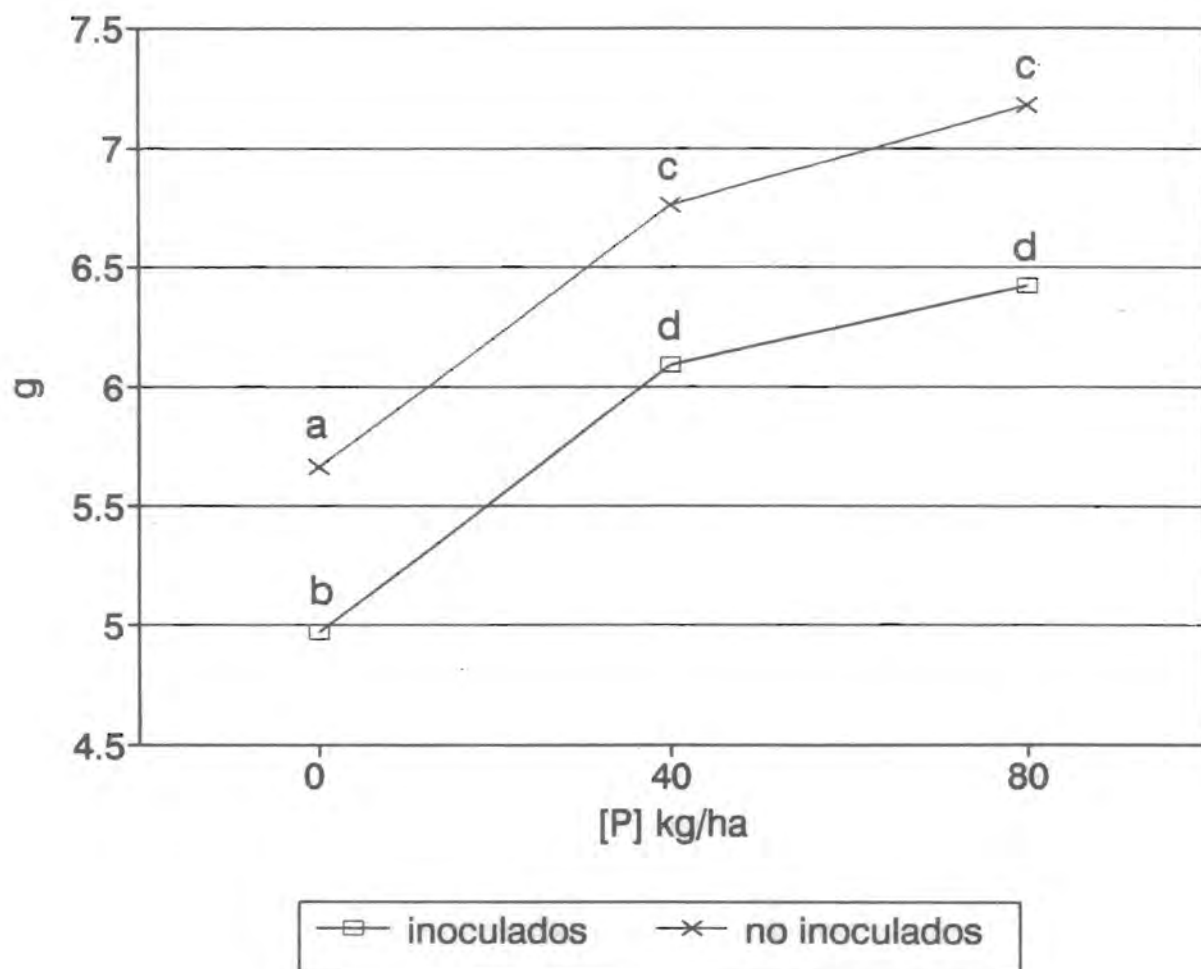


Fig. 3. Promedios del peso seco de las hojas (g) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización hacia el interior de la inoculación.

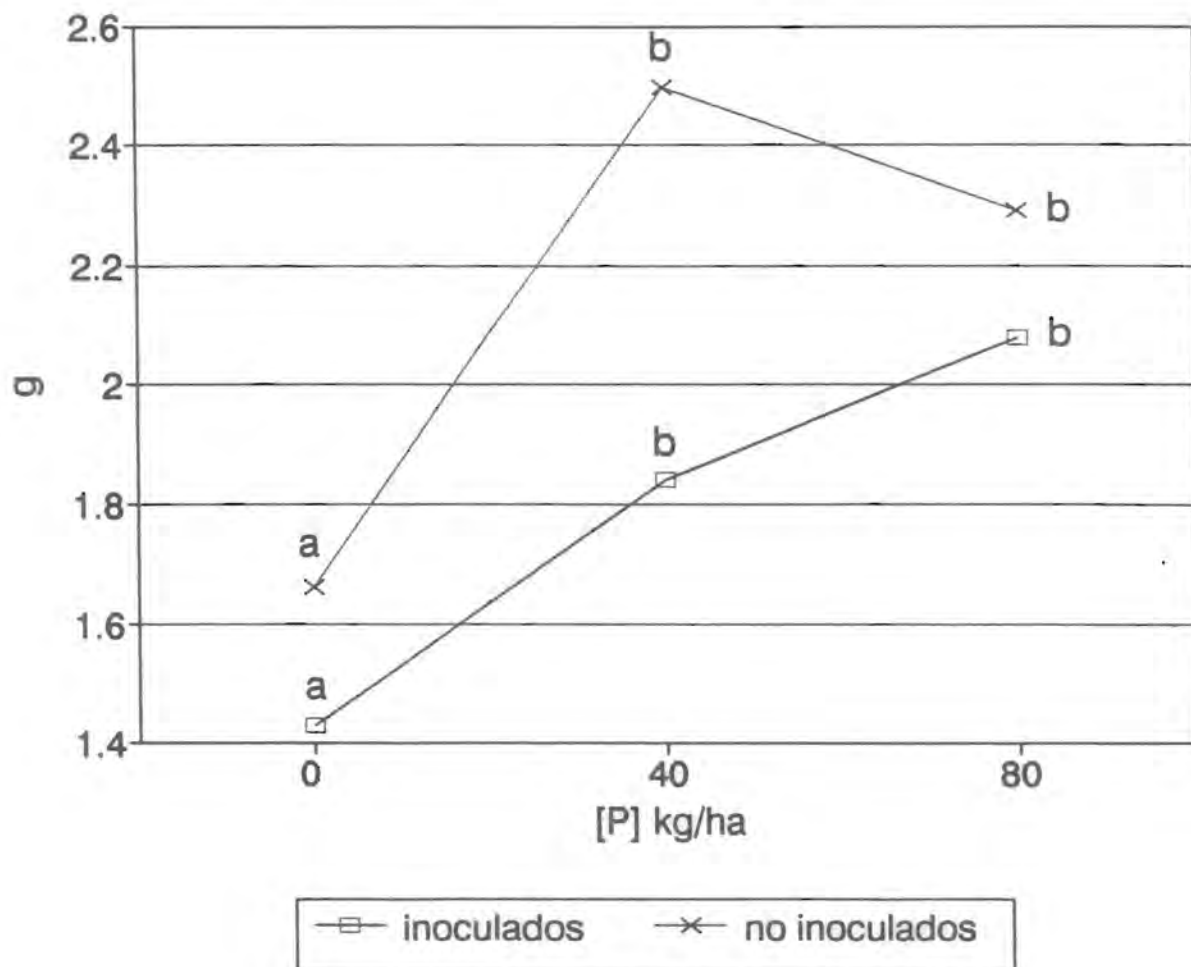


Fig. 4. Promedios del peso seco del tallo (g) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización hacia el interior de la inoculación.

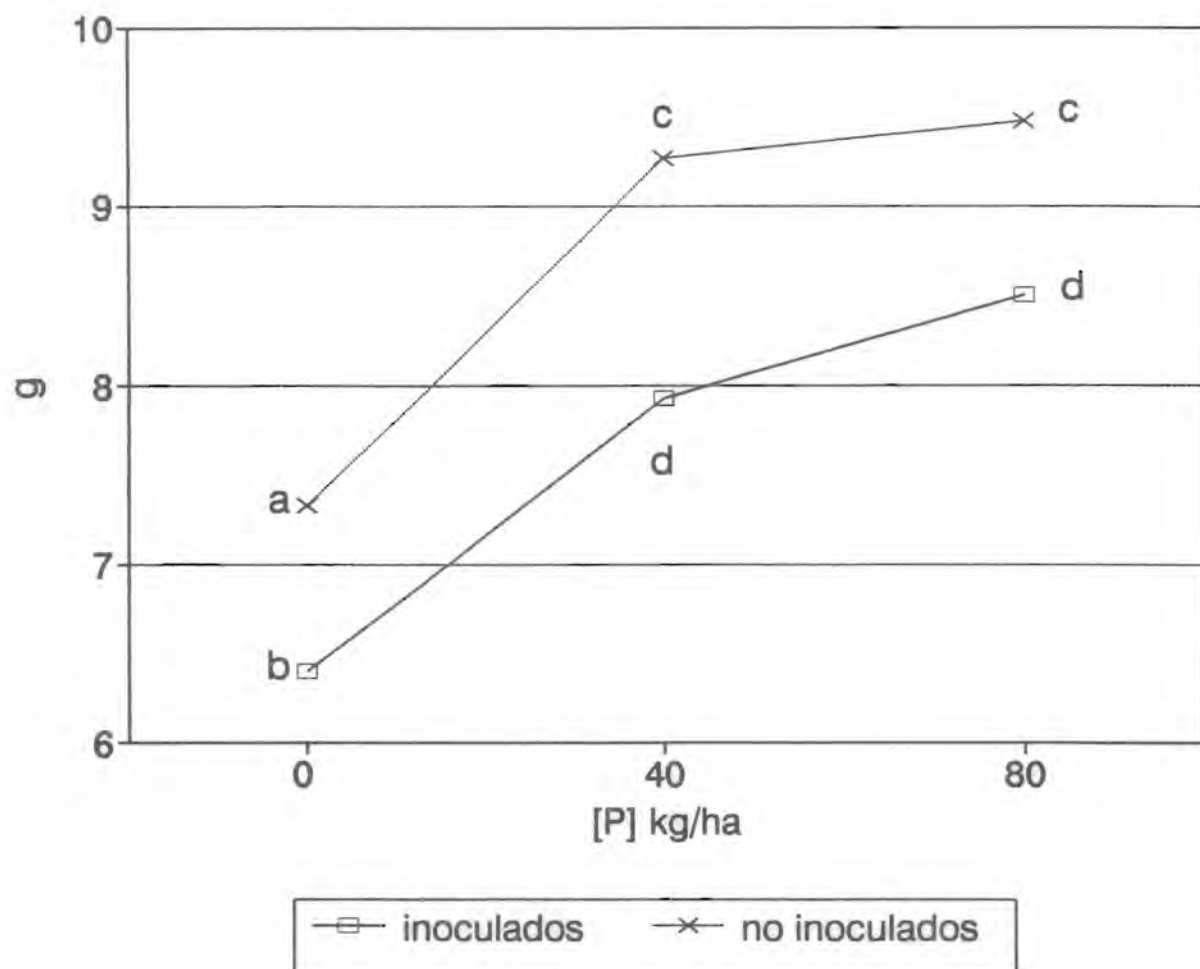


Fig. 5. Promedios del peso seco total (g) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización hacia el interior de la inoculación.

TABLA 1. Promedios de los resultados de los diferentes elementos de biomasa analizados. Entre paréntesis se dan las desviaciones estándar.

| PLANTA | [P] kg/ha | INOCU- LACION | ALTURA (cm) | PESO SECO HOJAS (g) | PESO SECO TALLO (g) | PESO SECO TOTAL (g) |
|--------------|--------------|------------------|----------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| CRIO- LLO | 0 | M | 63.0 (3.77) | 4.8 (0.14) | 1.3 (0.12) | 6.10 (0.25) |
| | | NM | 69.9 (2.17) | 5.8 (0.22) | 1.5 (0.18) | 7.30 (0.35) |
| | 40 | M | 73.4 (6.66) | 5.7 (0.22) | 1.6 (0.20) | 7.30 (0.32) |
| | | NM | 81.3 (5.59) | 6.7 (0.46) | 2.4 (0.17) | 9.10 (0.56) |
| | 80 | M | 70.5 (6.22) | 6.7 (0.56) | 2.1 (0.44) | 8.80 (0.99) |
| | | NM | 70.6 (4.60) | 7.0 (0.20) | 2.3 (0.22) | 9.30 (0.39) |
| H-34 | 0 | M | 61.7 (3.50) | 4.8 (0.21) | 1.4 (0.11) | 6.20 (0.25) |
| | | NM | 71.9 (5.73) | 5.4 (0.13) | 1.7 (0.25) | 7.10 (0.36) |
| | 40 | M | 70.0 (3.84) | 6.4 (0.20) | 2.1 (0.09) | 8.50 (0.28) |
| | | NM | 76.0 (3.64) | 6.4 (0.17) | 2.5 (0.25) | 8.90 (0.27) |
| | 80 | M | 77.7 (1.97) | 6.3 (0.38) | 2.1 (0.15) | 8.40 (0.52) |
| | | NM | 69.6 (4.19) | 6.8 (0.20) | 2.3 (0.08) | 9.10 (0.19) |
| VS-22 | 0 | M | 58.1 (6.53) | 5.4 (0.12) | 1.6 (0.22) | 7.00 (0.32) |
| | | NM | 67.5 (3.83) | 5.8 (0.30) | 1.7 (0.30) | 7.50 (0.59) |
| | 40 | M | 67.2 (2.77) | 6.2 (0.23) | 1.8 (0.15) | 8.00 (0.36) |
| | | NM | 75.6 (6.37) | 7.2 (0.28) | 2.6 (0.18) | 9.80 (0.31) |
| | 80 | M | 69.1 (2.61) | 6.3 (0.39) | 2.1 (0.28) | 8.40 (0.65) |
| | | NM | 73.2 (6.63) | 7.7 (0.29) | 2.2 (0.19) | 9.90 (0.29) |

TABLA 2. Coeficiente de determinación (R^2) y nivel de significancia (P) para cada una de las fuentes de variación del análisis de varianza para altura (cm), peso seco hojas (g), peso seco tallo (g) y peso seco total (g).

| FUENTE DE VARIACION | ALTURA | | PESO HOJAS | | PESO TALLO | | PESO TOTAL | |
|---------------------|--------|-------|------------|-------|------------|-------|------------|-------|
| | R^2 | P | R^2 | P | R^2 | P | R^2 | P |
| VARIEDAD (V) | 0.4 | 0.805 | 0.7 | 0.624 | 0.4 | 0.784 | 2.9 | 0.832 |
| FERTILIZACION (F) | 5.3 | 0.103 | 32.5 | 0.000 | 23.7 | 0.000 | 33.4 | 0.000 |
| INOCULACION (I) | 5.9 | 0.025 | 6.5 | 0.004 | 1.7 | 0.196 | 5.1 | 0.013 |
| V*F | 1.5 | 0.849 | 1.2 | 0.808 | 0.5 | 0.967 | 0.3 | 0.983 |
| V*I | 0.1 | 0.936 | 0.9 | 0.553 | 0.1 | 0.955 | 0.5 | 0.699 |
| F*I | 4.7 | 0.148 | 0.1 | 0.966 | 3.9 | 0.141 | 0.5 | 0.691 |
| V*F*I | 1.3 | 0.874 | 4.5 | 0.213 | 0.6 | 0.954 | 2.6 | 0.507 |
| TOTAL | 19.2 | | 46.4 | | 30.9 | | 45.3 | |

CONCENTRACION DE FOSFORO Y DETERMINACION DE PROTEINAS Y AZUCARES.

CONCENTRACION DE FOSFORO FOLIAR

El promedio de las plantas no micorrizadas presentaron concentraciones de fósforo más bajas que las plantas micorrizadas en los niveles 0 y 40 kg ha⁻¹ (en un 80% y 20% respectivamente, fig. 6). En cambio, a 80 kg ha⁻¹ presentaron el nivel más alto de concentración de fósforo, siendo un 40% mayor que las micorrizadas (tabla 4).

Se encontraron diferencias significativas entre todos los niveles de fertilización en las plantas no micorrizadas, aumentando la concentración de fósforo foliar conforme aumentó la fertilización. En cambio, las plantas micorrizadas a 80 kg ha⁻¹ fueron 16% mayores que las de 40 kg ha⁻¹, mientras que el testigo no difirió significativamente de ambos. Por lo anterior, la presencia de la asociación modifica la respuesta a la fertilización.

CANTIDAD TOTAL DE FOSFORO FOLIAR

En cuanto a los resultados obtenidos al cuantificar la cantidad total de fósforo foliar por planta se encontraron diferencias entre los promedios de las plantas micorrizadas sin fertilizar, ya que, presentaron concentraciones similares de fósforo que las no micorrizadas a 40 kg ha⁻¹ y superiores que las no micorrizadas sin fertilizar (fig. 7). No se encontraron diferencias significativas entre las plantas micorrizadas y las no micorrizadas en 40 kg ha⁻¹ y tuvieron mayor concentración de fósforo foliar a 80 kg ha⁻¹. Por lo que la ausencia de la asociación micorrízica hace más marcada la respuesta a la fertilización (tabla 4).

FOSFORO

En la tabla 3 se observa el nivel de significancia y el coeficiente de determinación para la concentración de fósforo foliar (ppm) y el peso de fósforo total en hojas (g). Ambos modelos poseen buenos ajustes, esto es un 65.5 % para la concentración de fósforo foliar y un 66.3 % para peso de fósforo total. La fertilización

explicó un mayor porcentaje para ambos casos (39.9 y 47.2 % respectivamente) y presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$). La interacción fertilización-inoculación ($F \cdot I$) fue significativa y representa la segunda fuente de variación. En la concentración de fósforo esta interacción explicó 16.5 % y en el peso de fósforo total con un 13 %. La triple interacción ($V \cdot F \cdot I$) también resultó significativa, pero tuvo un ajuste pobre (<6%) dentro del modelo. Por lo anterior, no se consideró dentro del análisis.

TABLA 3. Coeficiente de determinación (R^2) y nivel de significancia (P) para cada una de las fuentes de variación de los análisis de varianza de la concentración de fósforo foliar (ppm) y cantidad de fósforo foliar (g).

| FUENTE DE VARIACION | [P] PPM | | [P] g | |
|---------------------|---------|-------|-------|-------|
| | R^2 | P | R^2 | P |
| VARIEDAD (V) | 0.2 | 0.846 | 0.1 | 0.897 |
| FERTILIZACION (F) | 39.9 | 0.000 | 47.2 | 0.000 |
| INOCULACION (I) | 1.6 | 0.101 | 0.2 | 0.519 |
| V*F | 1.3 | 0.702 | 0.7 | 0.821 |
| V*I | 0.1 | 0.911 | 0.1 | 0.949 |
| F*I | 16.5 | 0.000 | 13.2 | 0.000 |
| V*I*F | 5.9 | 0.056 | 4.8 | 0.046 |
| TOTAL | 65.50 | | 66.30 | |

TABLA 4. Promedios de la concentraciones de fósforo foliar y cantidad de fósforo foliar. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar.

| VARIEDAD | FERTILIZACION | INOCULACION. | [P] PPM | [P] mg |
|----------|---------------|--------------|---------------|-----------------|
| CRIOLLO | 0 | M | 1837 (158) | 8.78 (0.76) |
| | | NM | 969 (68) | 5.61 (0.39) |
| | 40 | M | 1408 (347) | 7.98 (1.97) |
| | | NM | 1466 (178) | 9.85 (1.19) |
| | 80 | M | 1869 (339) | 12.43 (2.25) |
| | | NM | 2039 (177) | 14.36 (1.25) |
| H-34 | 0 | M | 1580 (169) | 7.51 (0.80) |
| | | NM | 747 (69) | 4.82 (0.65) |
| | 40 | M | 1697 (60) | 10.90 (0.38) |
| | | NM | 1038 (76) | 7.68 (1.25) |
| | 80 | M | 1578 (127) | 9.90 (0.80) |
| | | NM | 2661 (494) | 18.13 (3.36) |
| VS-22 | 0 | M | 1393 (130) | 7.47 (0.70) |
| | | NM | 953 (623) | 5.48 (0.37) |
| | 40 | M | 1502 (126) | 9.27 (0.78) |
| | | NM | 1331 (139) | 9.53 (0.62) |
| | 80 | M | 1926 (143) | 12.13 (0.89) |
| | | NM | 2176 (226) | 16.69 (1.28) |

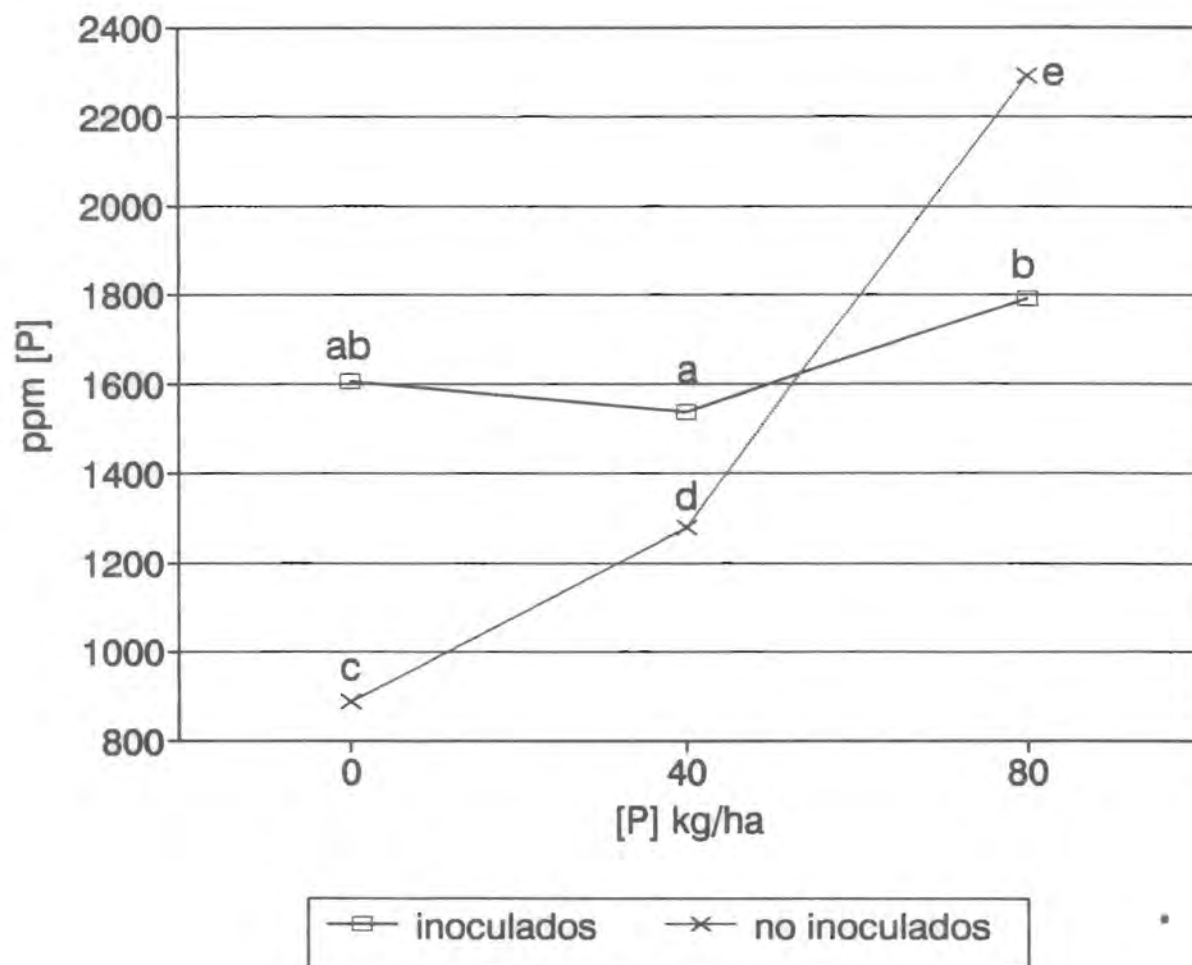


Fig. 6. Promedios de la concentración de fósforo foliar (ppm) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización y de inoculación.

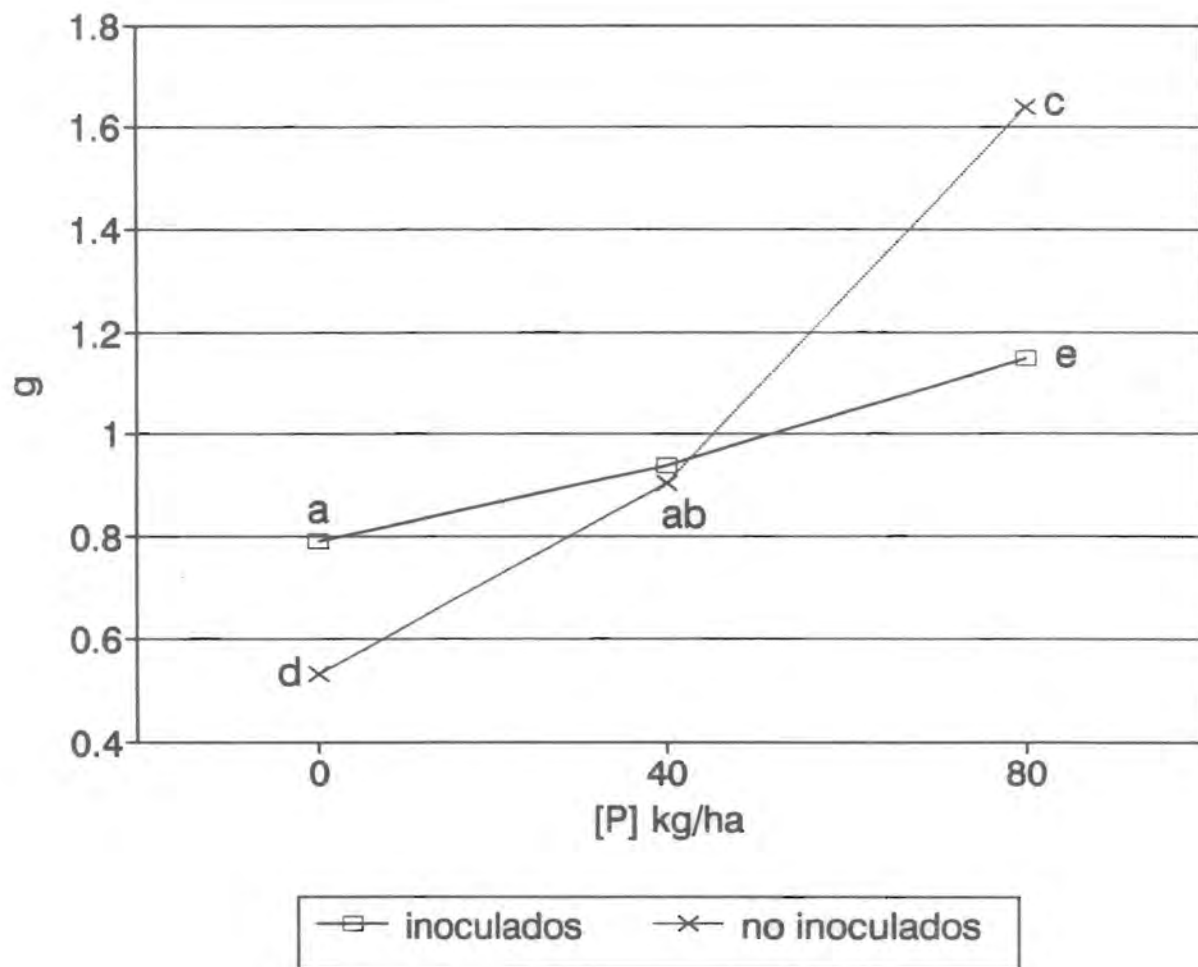


Fig. 7. Promedios de la cantidad de fósforo total en hojas (g) de las plantas inoculadas y las no inoculadas. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización y de inoculación.

AZUCARES

En la tabla 5 se presentan los coeficientes de determinación y los niveles de significancia para cada una de las fuentes de variación del análisis de varianza para la concentración de azúcares en hojas. El modelo presentó un buen ajuste ($> 96 \%$) en donde se puede ver que la primera fuente de variación es la interacción variedad-inoculación (48%) seguido por la fertilización (35%). La variedad, la interacción fertilización-inoculación y la triple interacción tuvieron malos ajustes ($<1 \%$).

En la figura 8 podemos observar que las variedades se comportaron diferentes según el nivel de inoculación. El criollo y la variedad VS-22 presentaron una concentración menor de azúcares cuando tenían la asociación micorrízica, en cambio, la variedad H-34 inoculada presentó una mayor concentración de azúcares. La variedad VS-22 inoculada presentó la menor concentración de azúcares, representando 60% de la variedad H-34 y 77% del maíz criollo. En cambio, cuando no poseían la asociación micorrízica, la variedad VS-22 presentó el nivel más alto de concentración de azúcares, un 28% mayor que el criollo y 70% mayor que la variedad H-34 (tabla 6). El criollo y la variedad VS-22 tuvieron concentraciones mayores sin inoculación, 31% y 91% en relación a los micorrizados, respectivamente. Por otro lado, la variedad H-34 inoculada fue 47% mayor que la no inoculada.

En la figura 9 observamos como afectó la fertilización a la concentración de azúcares según cada variedad. Tanto las variedades, como el maíz criollo aumentaron sus concentraciones conforme se incrementó la concentración de fósforo añadido.

PROTEINAS

En la tabla 5 se presentan los niveles de significancia y los coeficientes de determinación para cada una de las fuentes de variación para proteínas. Se puede ver que el modelo

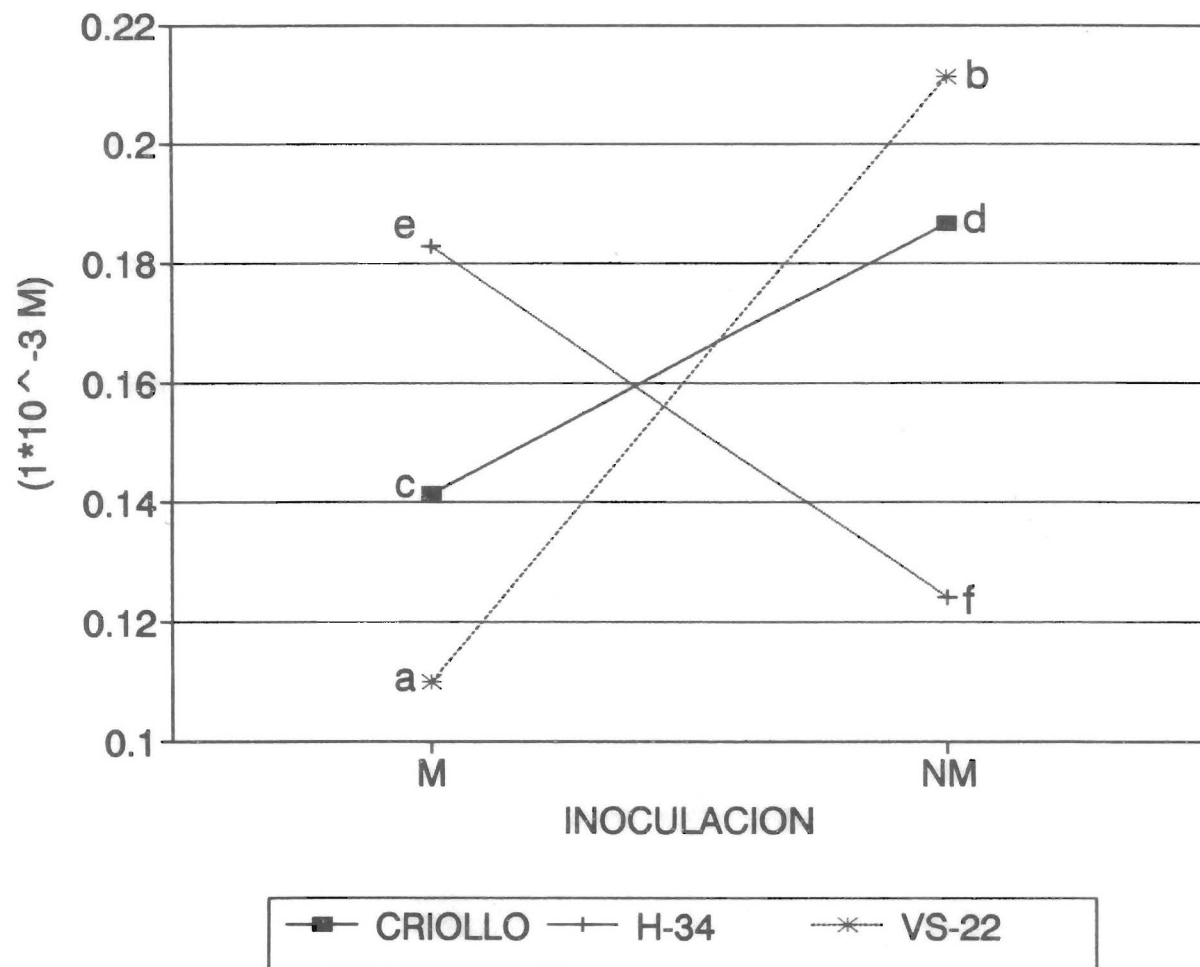


Fig. 8. Promedios de la concentración de azúcares ($1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) en hojas de cada variedad. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de inoculación.

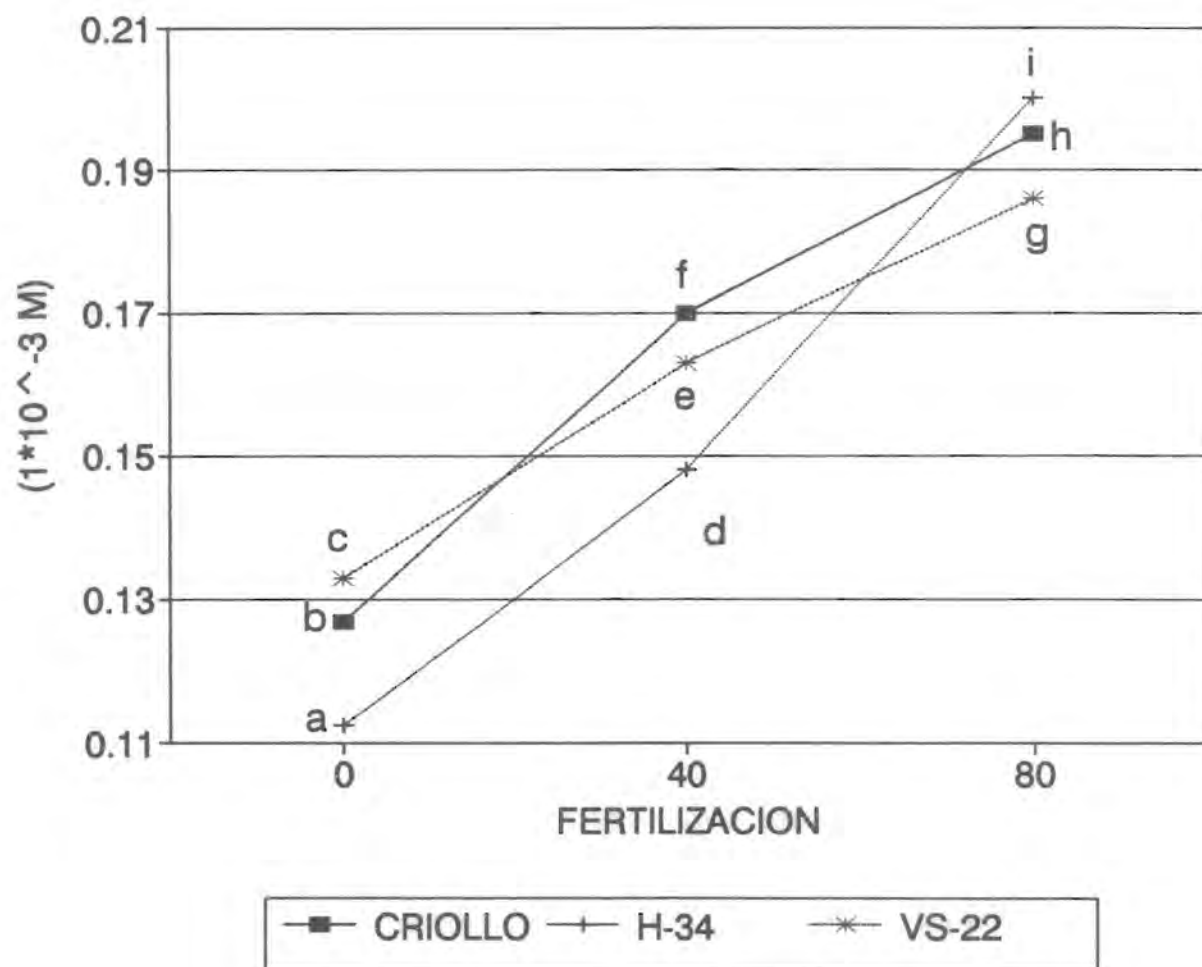


Fig. 9. Promedios de la concentración de azúcares ($1 \cdot 10^{-3} M$) en hojas de cada variedad. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización y variedades.

presentó un buen ajuste (98 %). Todas las fuentes de variación fueron significativas, las dos primeras fueron la interacción variedad-fertilización (>40 %) y la fertilización (>35 %). En la tabla 6 se observan los resultados de concentración de azúcares por variedad, fertilización e inoculación.

Las concentraciones de proteínas de las variedades y del maíz criollo respondieron a la fertilización (fig. 10). La variedad H-34 representó 85% de la variedad VS-22 y 95% del criollo. En cambio, en el nivel de 40 kg ha⁻¹ fue 13% mayor que el criollo y la variedad VS-22. En el nivel de 80 kg ha⁻¹, la variedad H-34 también presentó mayores concentraciones de proteínas con respecto al criollo y la variedad VS-22 (9% y 18%, respectivamente, tabla 6).

En la figura 11 se observa como afectó la inoculación a cada una de las variedades de maíz. La interacción variedad-inoculación presentó un mal ajuste (<3 %). La variedad VS-22 y el criollo presentaron concentraciones más bajas en presencia de la asociación. La VS-22 tuvo una respuesta más marcada, ya que el no inoculado fue 90% mayor que el inoculado. En cambio, la variedad H-34 presentó el comportamiento inverso, ya que fue 46% mayor al estar asociado con hongos micorrízicos (tabla 6).

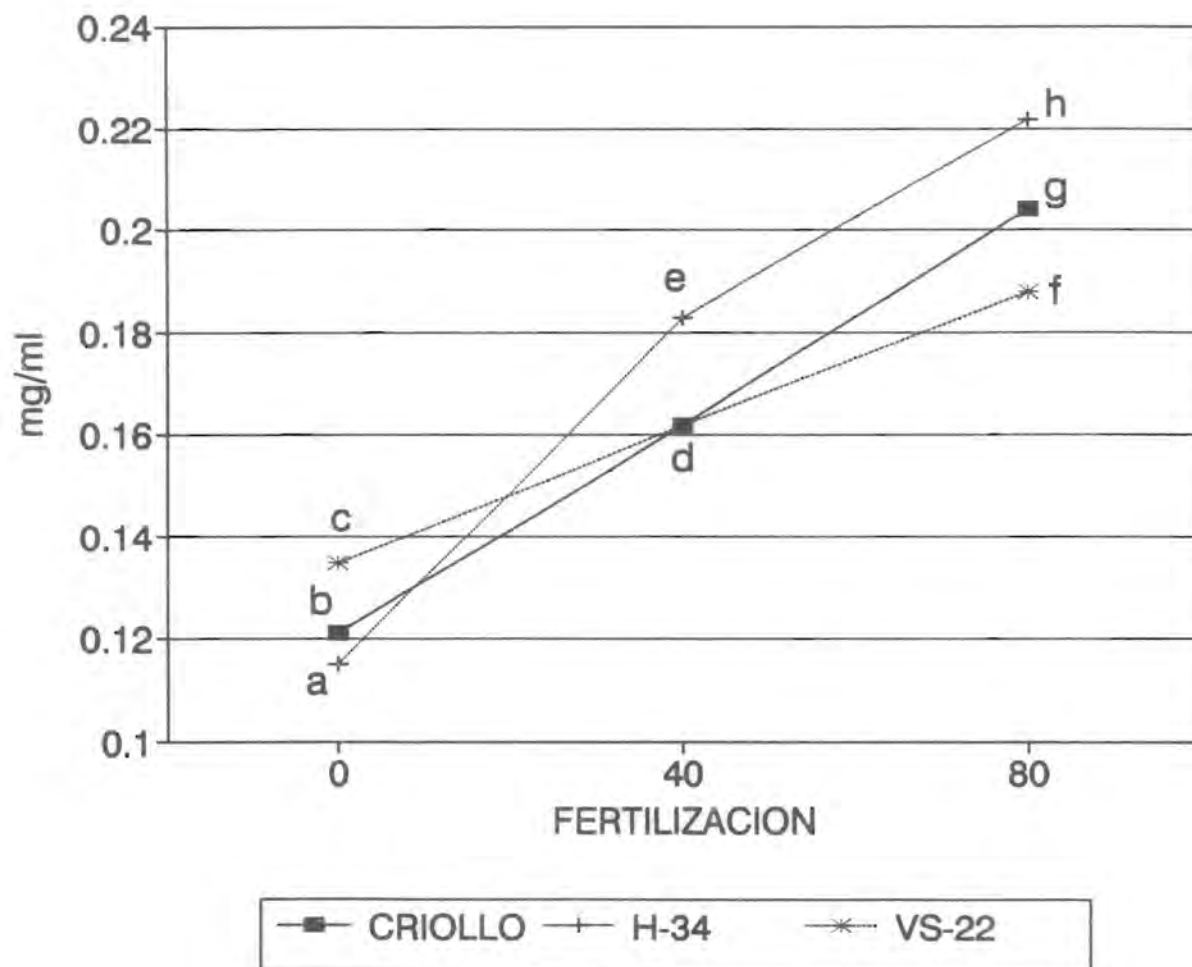


Fig. 10. Promedios de la concentración de proteínas en hojas ($\mu\text{g}/\text{ml}$) de cada variedad. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de fertilización y variedades.

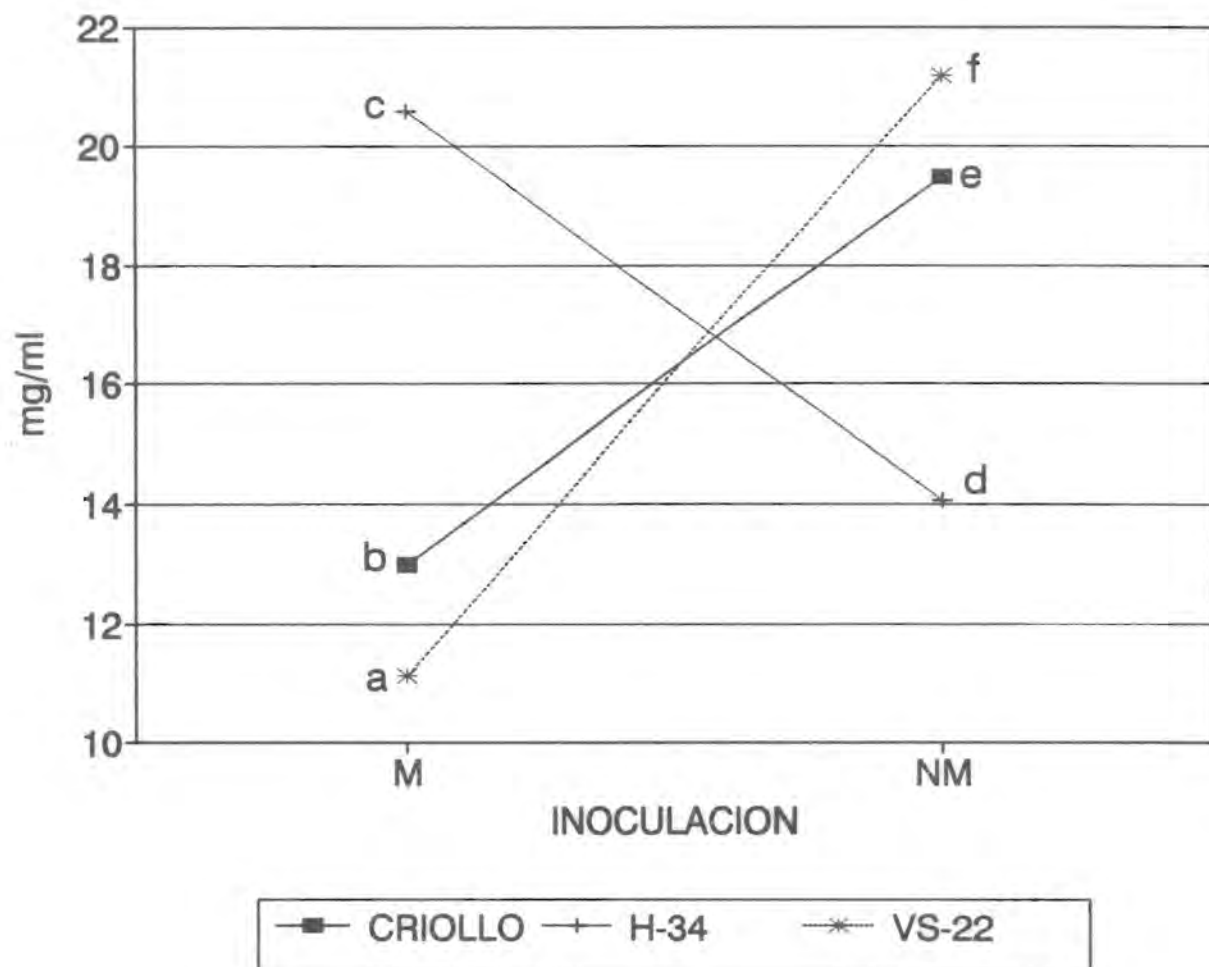


Fig. 11. Promedios de la concentración de proteínas en hojas ($\mu\text{g}/\text{ml}$) de cada variedad. Letras corresponden a los grupos formados con la prueba de Tukey ($P=0.05$). Las comparaciones son entre niveles de inoculación.

TABLA 5. Coeficiente de determinación (R^2) y nivel de significancia (P) para cada una de las fuentes de variación del análisis de varianza de la concentración de azúcares foliares ($1 \cdot 10^{-3}$ M) y concentración de proteínas foliares ($\mu\text{g/ml}$)

| FUENTE DE VARIACION | AZUCARES | | PROTEINAS | |
|---------------------|----------|-------|-----------|-------|
| | R^2 | P | R^2 | P |
| VARIEDAD (V) | 0.9 | 0.000 | 1.0 | 0.000 |
| FERTILIZACION (F) | 35.2 | 0.000 | 35.5 | 0.000 |
| INOCULACION (I) | 9.2 | 0.000 | 8.9 | 0.000 |
| V*F | 1.9 | 0.000 | 40.8 | 0.000 |
| V*I | 48.3 | 0.000 | 2.8 | 0.000 |
| F*I | 0.5 | 0.004 | 0.4 | 0.015 |
| V*I*F | 0.9 | 0.000 | 8.9 | 0.000 |
| TOTAL | 96.90 | | 98.30 | |

Tabla 6. Promedios de los resultados obtenidos para concentración de azúcares y proteínas foliares. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar.

| VARIEDAD | [P] kg/ha | INOCU-L ACION | AZUCARES ($1 \cdot 10^{-3}$ M) | PROTEINAS ($\mu\text{g/ml}$) |
|----------|--------------|------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| CRIOLLO | 0 | M | 0.096 (0.005) | 10.2 (0.374) |
| | | NM | 0.158 (0.004) | 14.0 (0.316) |
| | 40 | M | 0.160 (0.004) | 13.8 (0.200) |
| | | NM | 0.180 (0.003) | 18.6 (0.244) |
| | 80 | M | 0.168 (0.004) | 15.0 (0.316) |
| | | NM | 0.222 (0.004) | 25.8 (0.374) |
| H-34 | 0 | M | 0.137 (0.003) | 11.6 (0.244) |
| | | NM | 0.088 (0.004) | 11.4 (0.244) |
| | 40 | M | 0.178 (0.004) | 22.2 (0.374) |
| | | NM | 0.118 (0.004) | 14.4 (0.244) |
| | 80 | M | 0.234 (0.004) | 28.0 (0.316) |
| | | NM | 0.166 (0.007) | 16.4 (0.244) |
| VS-22 | 0 | M | 0.082 (0.005) | 9.4 (0.400) |
| | | NM | 0.184 (0.005) | 17.6 (0.244) |
| | 40 | M | 0.110 (0.003) | 10.6 (0.244) |
| | | NM | 0.216 (0.002) | 21.8 (0.633) |
| | 80 | M | 0.138 (0.006) | 13.4 (0.244) |
| | | NM | 0.234 (0.002) | 24.2 (0.583) |

RELACION AZUCARES-FOSFORO

CRIOLLO

En la figura 12 se puede observar la ordenación del maíz criollo en función a la concentración de azúcares y peso total de fósforo, encontrándose que existen agrupaciones en función al nivel de fertilización e inoculación. Con el análisis de varianza de cantidad de fósforo foliar se encontraron diferencias significativas entre grupos ($p=0.003$ y $R^2=0.507$, tabla 7), a excepción del grupo con asociación micorrízica sin fertilización (M0) que le proporcionó la misma cantidad de fósforo foliar que al grupo inoculado y al no inoculado fertilizados con 40 kg ha^{-1} (M40 y N40, respectivamente). El grupo no inoculado sin fertilizar (N0) no difirió del micorrizado fertilizado con 40 kg ha^{-1} (M40). Otros grupos que no difirieron fueron los correspondientes a 80 kg ha^{-1} .

En cuanto a la concentración de azúcares el grupo no micorrizado sin fertilización (N0) fue similar al micorrizado con 40 kg ha^{-1} ($p=0.00$ y $R^2=0.956$, tabla 7), por lo que podemos encontrar que existe una relación directa entre la concentración de azúcares y la cantidad de fósforo y ésta depende del nivel de fertilización y del de inoculación. Aquellos grupos que no están inoculados, en general poseen mayor concentración de azúcares con respecto a los inoculados en el mismo nivel de fertilización, pero, las cantidades de fósforo suelen ser similares. El grupo que resultó ser similar tanto en azúcares, como en cantidad de fósforo, fue el no inoculado sin fertilizar con el micorrizado fertilizado a 40 kg ha^{-1} . Por lo que el maíz criollo al estar micorrizado le proporciona las mismas cantidades de fósforo pero con un mayor costo en azúcares.

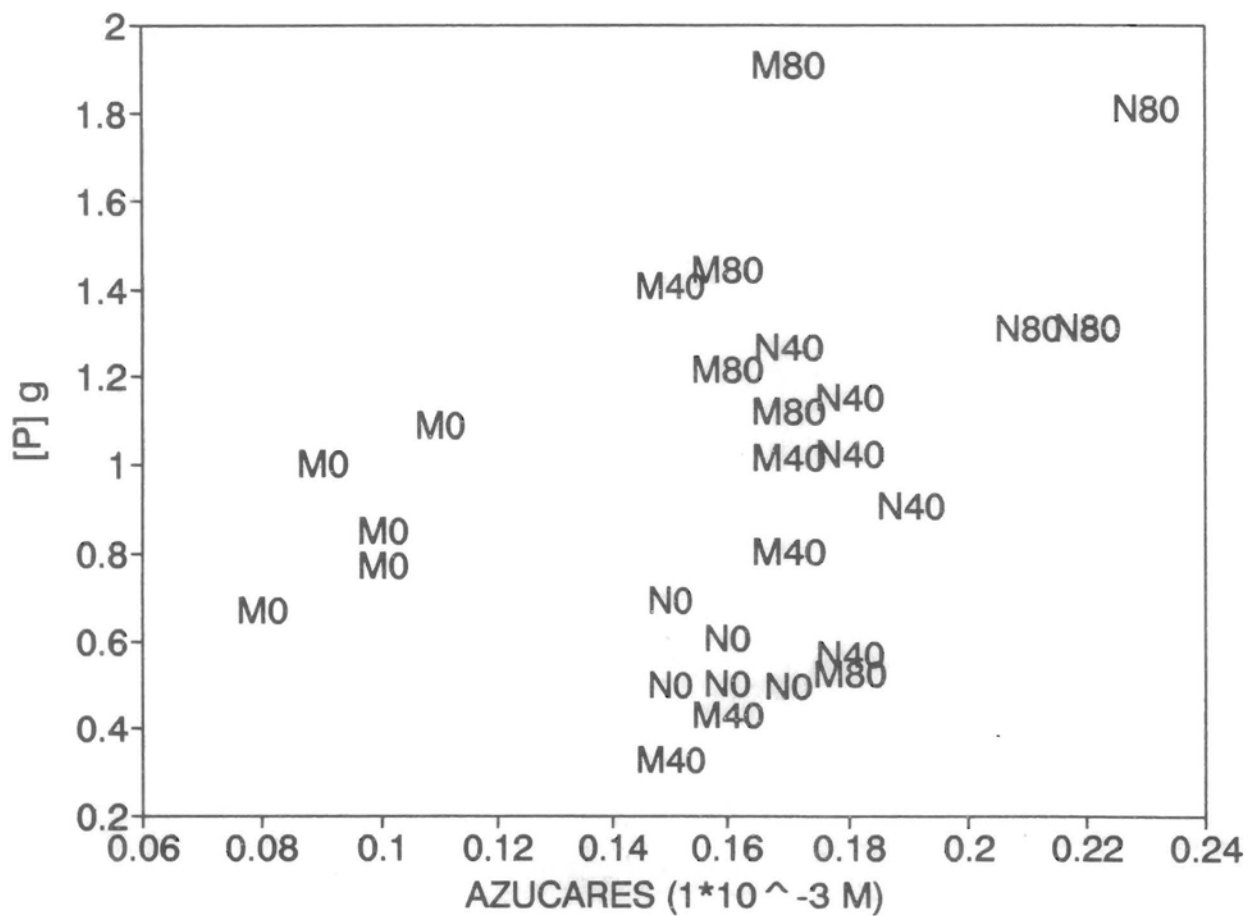


Fig. 12. Grupos formados por la ordenación del maíz criollo en función a la concentración de azúcares y peso total de fósforo.

Tabla 7. Grupos que presentaron diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P=0.05$) para el maíz criollo con relación a la cantidad de fósforo y concentración de azúcares (el = corresponde a aquellos grupos que no presentaron diferencias significativas).

| | | Azúcares ($1 \cdot 10^{-3}$ M) | | | | | |
|--------------------------|-----|---------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|
| CRIOLLO | | M0 | N0 | M40 | N40 | M80 | N80 |
| FOS- FO- RO (g) | M0 | X | | | | | |
| | N0 | | X | = | | | |
| | M40 | = | = | X | | | |
| | N40 | = | | | X | | |
| | M80 | | | | | X | |
| | N80 | | | | | = | X |

VARIEDAD H-34

En la figura 13 se pueden observar los grupos que se formaron en función al nivel de fertilización y al de inoculación para esta variedad. La comparación entre estos grupos, con respecto al fósforo foliar con el análisis de varianza, resultó significativo ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.692$, tabla 10). El grupo inoculado sin fertilizar (M0) fue similar al del inoculado fertilizado con 80 kg ha^{-1} (M80). El no inoculado fertilizado con 40 kg ha^{-1} (N40) no difirió del no inoculado y del micorrizado sin fertilizar. En cuanto la concentración de azúcares todos diferieron entre sí ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.967$, tabla 8). La concentración de azúcares aumentó conforme aumentó el nivel de fertilización y la presencia de la asociación (figura 13). No se encontró relación entre la concentración de azúcares y la cantidad de fósforo foliar. Por lo anterior, con esta variedad la fertilización mejora la producción de azúcares y no se observa que la asociación micorrízica le demande azúcares. Pero la fertilización y la asociación micorrízica no incrementan la cantidad de fósforo foliar.

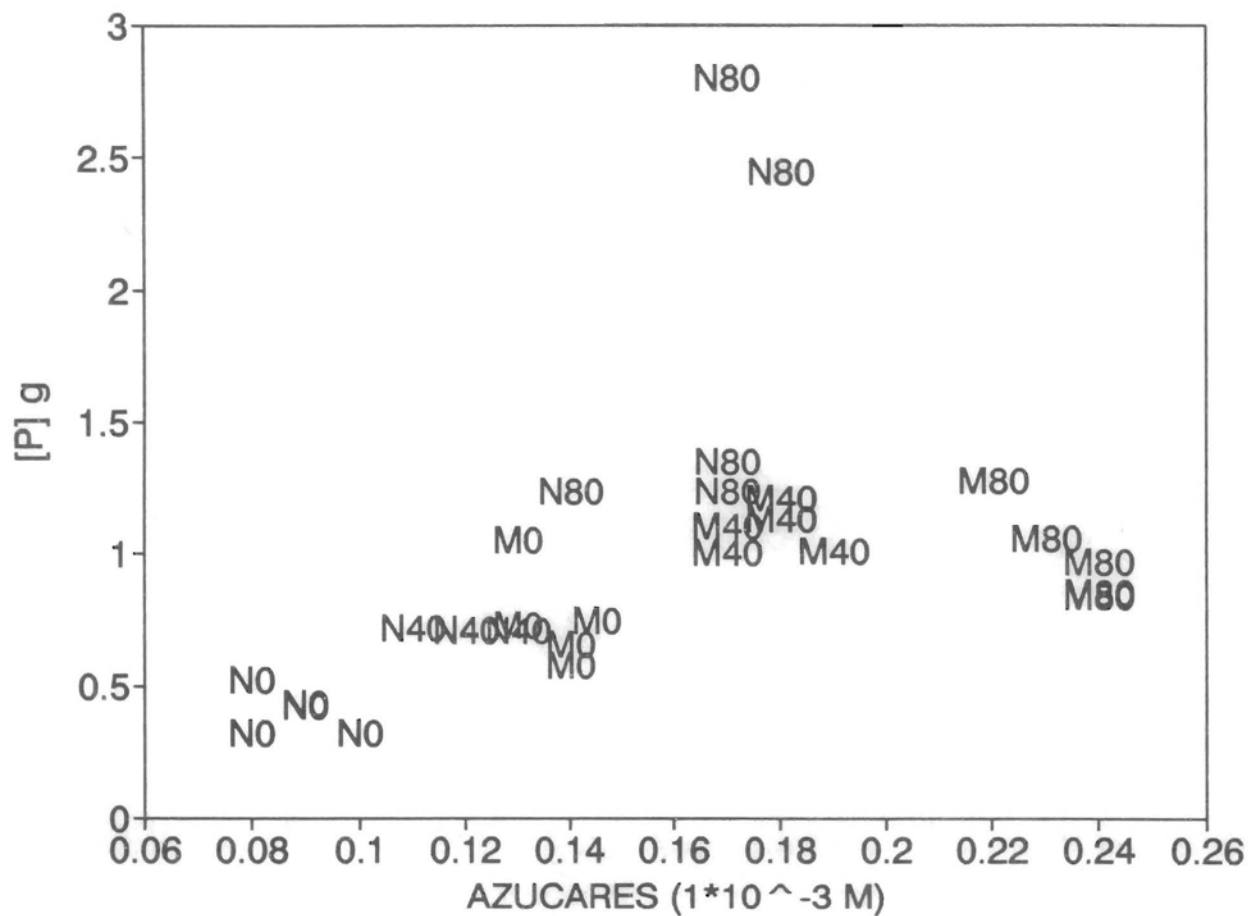


Fig. 13. Grupos formados por la ordenación de la variedad H-34 en función a la concentración de azúcares y peso total de fósforo.

Tabla 8. Grupos que presentaron diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P=0.05$) para la variedad H-34 con relación a la cantidad de fósforo y concentración de azúcares (el = corresponde a aquellos grupos que no presentaron diferencias significativas).

| Azúcares ($1 \cdot 10^{-3}$ M) | | | | | | | |
|---------------------------------|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|
| H-34 | | MO | NO | M40 | N40 | M80 | N80 |
| FOS- FO- RO (g) | MO | X | | | | | |
| | NO | | X | | | | |
| | M40 | | | X | | | |
| | N40 | = | = | | X | | |
| | M80 | = | | = | | X | |
| | N80 | | | | | | X |

VARIEDAD VS-22

La formación de grupos para esta variedad se puede observar en la figura 16. En la tabla 9 se presentan los grupos que tienen diferencia significativas para la cantidad de fósforo foliar ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.824$) y concentración de azúcares ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.824$). El grupo de las plantas no inoculadas fertilizadas con 40 kg ha^{-1} presentó cantidades de fósforo foliar total similar al micorrizado fertilizados con 40 kg ha^{-1} . Existe una relación directa pero no muy clara entre el contenido de fósforo y azúcares, sin embargo, si se separan en dos rectas de acuerdo al nivel de inoculación, la relación directa es más evidente. La fertilización aumentó tanto el contenido de fósforo como el de azúcares. Dicho efecto de fertilización fue más marcado en las plantas sin asociación micorrízica que en las que poseen la asociación (figura 14). Las plantas micorrizadas presentaron un mayor costo de azúcares.

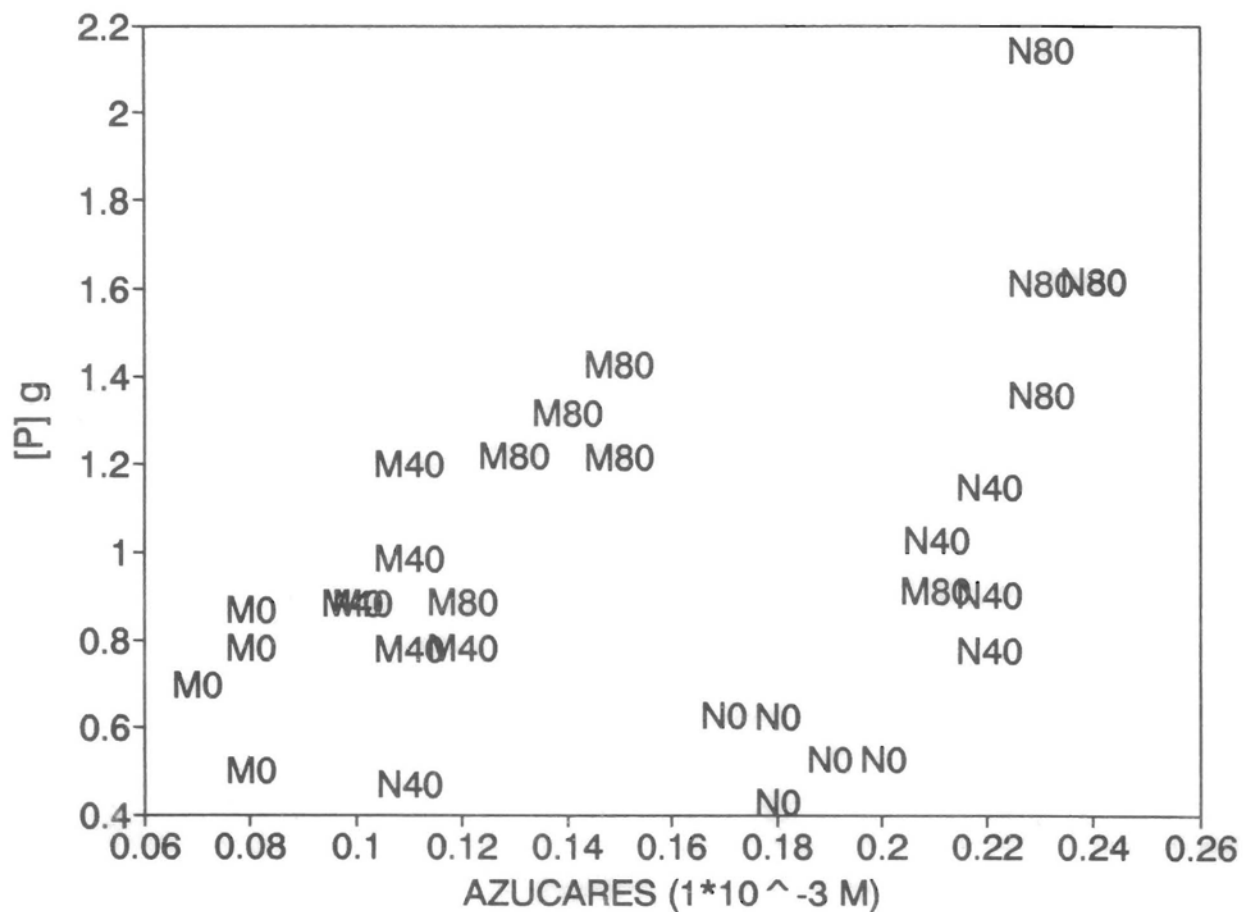


Fig. 14. Grupos formados por la ordenación de la variedad VS-22 en función a la concentración de azúcares y peso total de fósforo.

Tabla 9. Grupos que presentaron diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P=0.05$) para la variedad VS-22 con relación a la cantidad de fósforo y concentración de azúcares (el = corresponde a aquellos grupos que no presentaron diferencias significativas).

| VS-22 | | Azúcares ($1 \cdot 10^{-3}$ M) | | | | | |
|--------------------------|-----|---------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|
| | | M0 | N0 | M40 | N40 | M80 | N80 |
| FOS- FO- RO (g) | M0 | X | | | | | |
| | N0 | | X | | | | |
| | M40 | | | X | | | |
| | N40 | | | = | X | | |
| | M80 | | | | | X | |
| | N80 | | | | | | X |

PORCENTAJE DE INFECCION

La variación de lecturas entre submuestras de una misma planta resultó muy alta (hasta un 118% en algunos casos), asociado al patrón de distribución del hongo en la raíz. En la figura 15 se muestra la media de los errores entre submuestras siendo independiente la variedad y el nivel de fertilización.

Los datos transformados no ajustaron a la distribución normal y se encontraron diferencias significativas con la prueba de bondad de ajuste de Kruskal-Wallis ($p < 0.0001$). Es decir, la distribución de los datos fue diferente a la distribución normal esperada (figura 16). Por esta razón no es posible aplicar el anova.

Debido a que se demostró que no es posible aplicar el anova con los datos transformados, se realizó el análisis con el modelo de regresión logística. Para ello se utilizó la frecuencia de las intersecciones que presentaron infección ponderadas con el total de las intersecciones observadas. Cuando se utiliza la frecuencia de la infección con relación a la frecuencia de puntos no infectados la distribución binomial recibe el nombre de distribución Bernoulli

(Aitkin et al., 1989). En esta distribución, las probabilidades de presencia y ausencia se expresan de la siguiente manera:

$$\Pr(y=1)=p$$

$$\Pr(y=0)=1-p$$

donde p es la probabilidad de presencia y $1-p$ es la probabilidad de ausencia. Esto se puede escribir con la siguiente forma:

$$\Pr(y)=p^y(1-p)^{1-y} \quad y=0,1$$

Esta distribución tiene una media p y varianza $p(1-p)$. Lo anterior quiere decir que la probabilidad de que un valor dado presente o no infección depende de la probabilidad de la infección multiplicado por la probabilidad de la ausencia de infección con relación al total de las frecuencias observadas. De esta manera, no es obligatorio que cada replica tenga un número de frecuencias total observado constante. Gracias a esta característica fue posible juntar las frecuencias de los dos conteos realizados para un sola planta, por lo que, no se perdió información como cuando se utiliza la media de ambos conteos. Esto es importante considerando los altos errores obtenidos entre lecturas.

En la tabla 10 se presentan los niveles de significancia y el porcentaje de la variación parcial (R^2) que explicaron cada uno de los factores ambos modelos. La diferencia más marcada fue en los niveles de significancia, ya que la regresión logística presentó mayores niveles con respecto al anova. A pesar de que el anova tuvo un R^2 total de 41.2%, solamente el 24.5% tuvo una probabilidad significativa, debido a que el nivel de significancia de la variedad y la interacción no fue estadísticamente confiable. En cambio, el 39% de la regresión logística fue significativa.

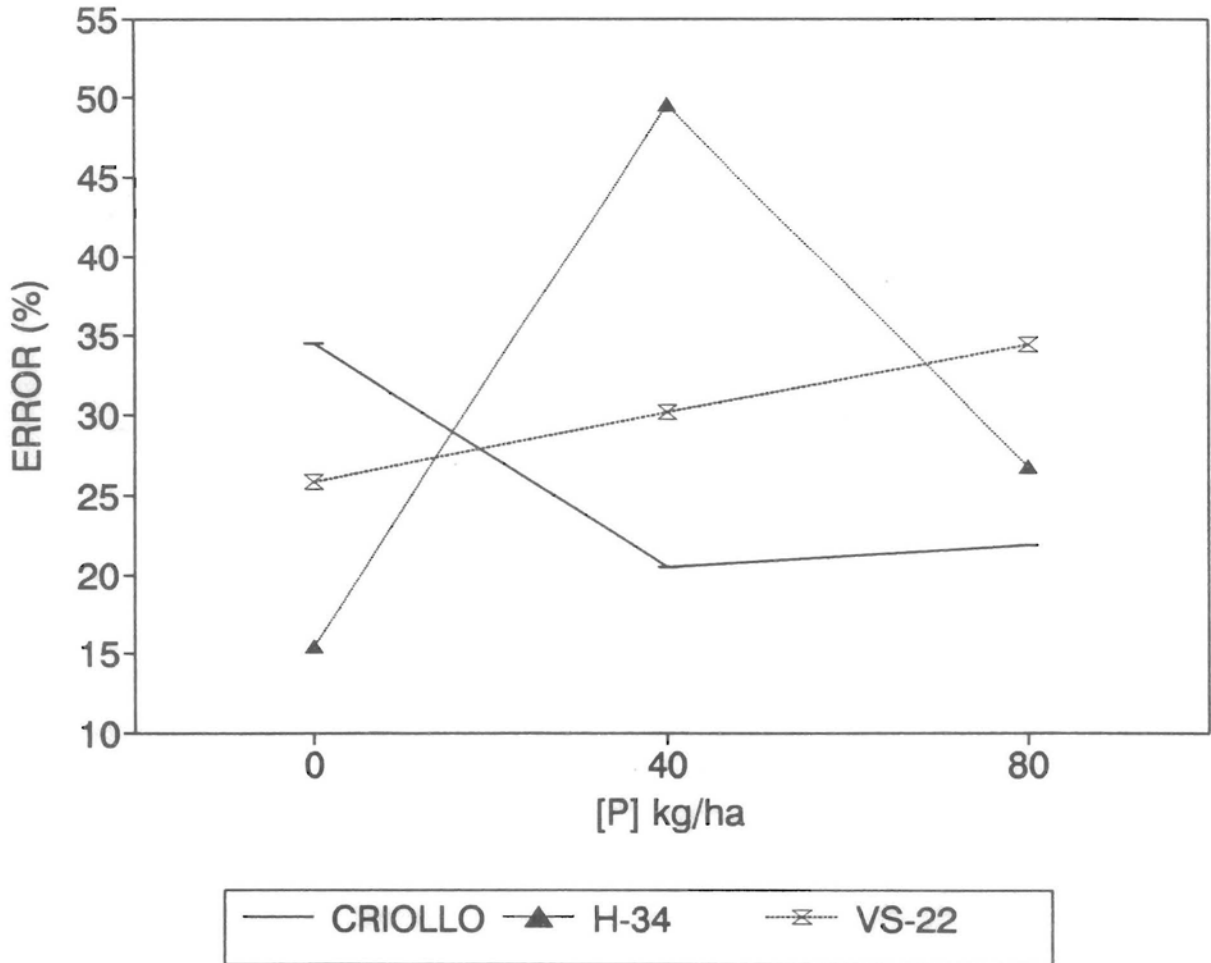


Fig. 15. Promedios de los porcentaje de error de las réplicas de los conteos hechos para las tres variedades de maíz en los 3 niveles de fertilización.

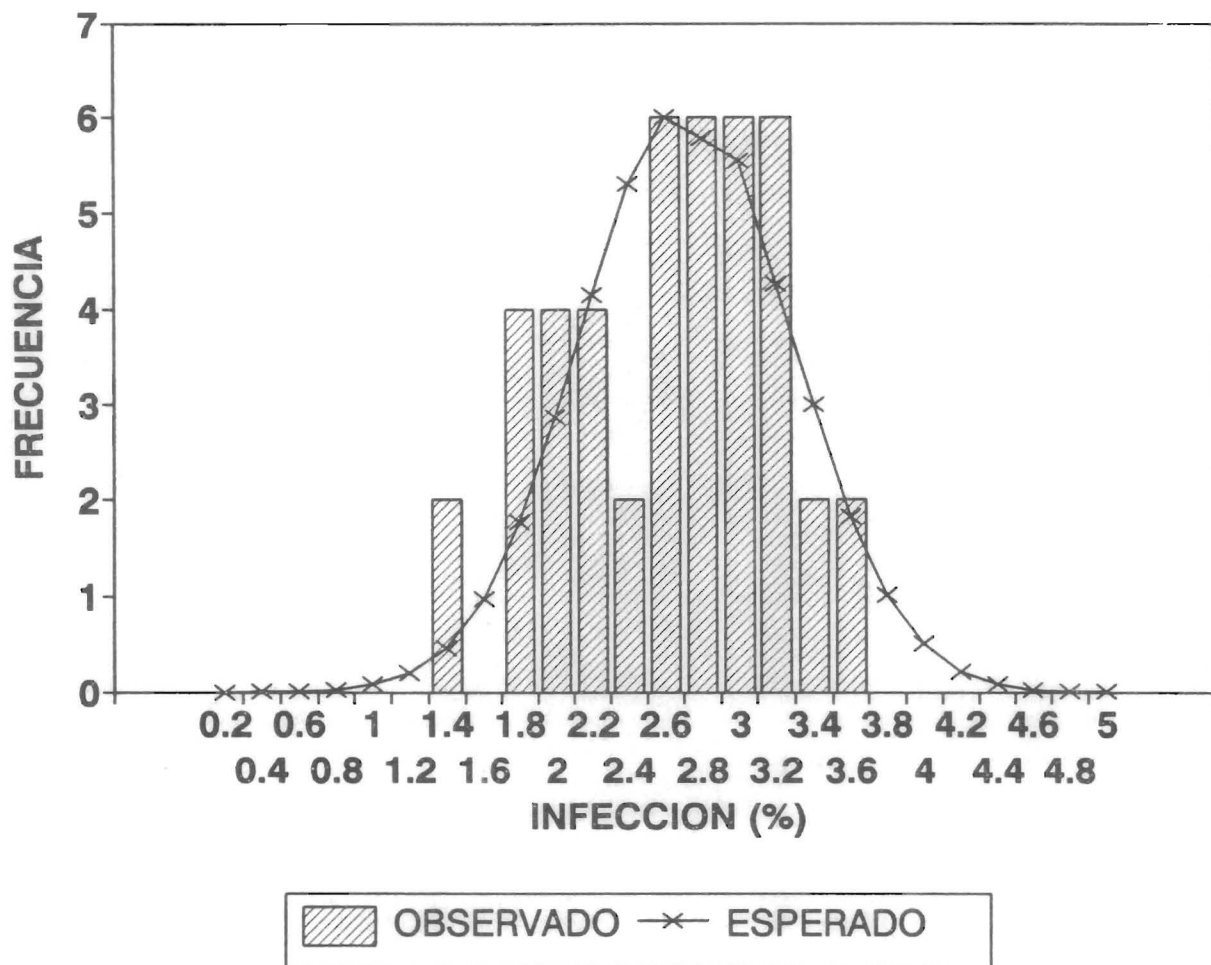


Fig. 16. Ajuste a la distribución normal de los datos transformados del porcentaje de infección.

TABLA 10. Nivel de significancia y coeficiente de determinación (R^2) en los modelos utilizados.

| FUENTE DE VARIACION | A N O V A | | REGRESION LOGISTICA | |
|---------------------|-----------|-------|---------------------|--------|
| | R^2 | P | R^2 | P |
| FERTILIZACION | 24.5 | 0.002 | 24.4 | <0.001 |
| VARIEDAD | 10.1 | 0.061 | 8.1 | <0.001 |
| INTERACCION | 6.7 | 0.418 | 2.5 | <0.001 |
| TOTAL | 41.2 | | 39.0 | |

En la tabla 11 se presentan las comparaciones de las medias entre tratamientos con ambas pruebas. Con la prueba de tukey sólo se encontraron diferencias entre los niveles de fertilización sin importar el factor variedad de maíz y la interacción. Con la regresión logística se expresaron las diferencias debido a todos los factores. El nivel de infección del hongo micorrízico decreció con el aumento de la fertilización. Sin embargo, la diferencia mas interesante fue en la comparación entre variedades. En los dos primeros niveles de fertilización (0 y 40) la variedad H-34 presentó porcentajes de infección significativamente menores que las otras dos variedades. En contraste, las dos variedades mejoradas presentaron significativamente menor porcentaje de infección que el maíz criollo en el nivel más alto de fertilización. Esto último se expresó en la interacción.

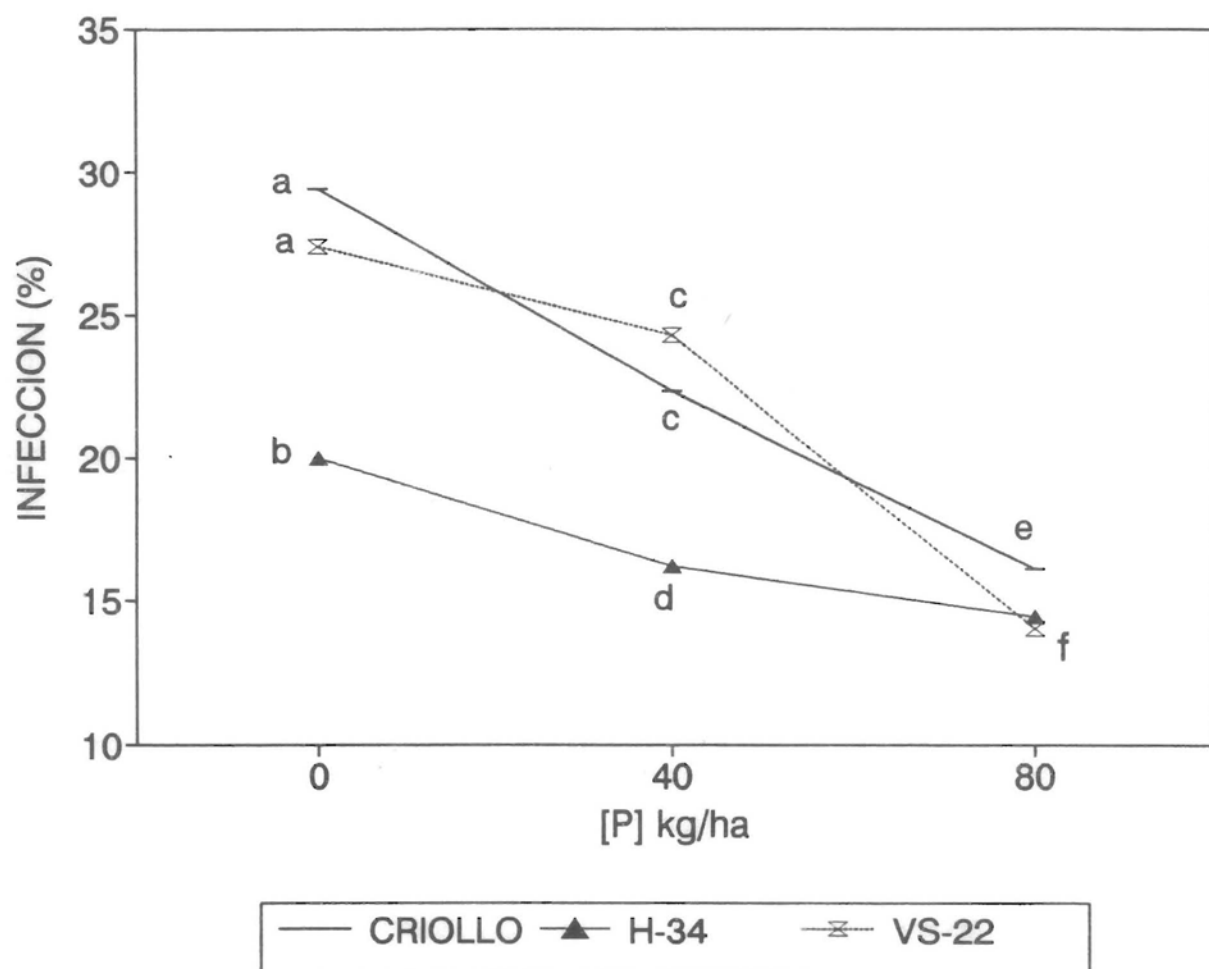


Fig. 17. Porcentaje de infección. Efecto de los niveles de fertilización en el porcentaje de infección de las tres variedades de maíz. Las letras representan los grupos formados con el análisis de regresión logística.

TABLA 11. Comparaciones de las medias de cada uno de los tratamientos. Para los datos transformados se utilizó la prueba de tukey ($P = 0.05$) y la regresión logística a partir de los estimados del modelo. Las letras en parentesis representan los grupos formados entre tratamientos.

| VARIEDAD | FERTILIZACION (kg ha ⁻¹) | | | PROMEDIO |
|---------------------|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 40 | 80 | |
| TUKEY | | | | |
| CRIOLLO | 29.41 (a) | 22.32 (b) | 26.11 (c) | 22.61 (a) |
| H-34 | 19.99 (a) | 16.24 (b) | 14.42 (c) | 16.88 (a) |
| VS-22 | 27.38 (a) | 24.27 (b) | 14.05 (c) | 21.90 (a) |
| PROMEDIO | 25.59 (a) | 20.94 (b) | 14.86 (c) | |
| REGRESION LOGISTICA | | | | |
| CRIOLLO | 29.41 (a) | 22.32 (c) | 26.11 (e) | 22.61 (a) |
| H-34 | 19.99 (b) | 16.24 (d) | 14.42 (f) | 16.88 (b) |
| VS-22 | 27.38 (a) | 24.27 (c) | 14.05 (f) | 21.90 (a) |
| PROMEDIO | 25.59 (a) | 20.94 (b) | 14.86 (c) | |

En el análisis de la regresión logística se encontraron diferencias significativas de los dos factores (fertilización y variedad) y la interacción, donde la fertilización explicó casi todo el modelo ($R^2 = 24.4$, tabla 10). En la tabla 11 se muestra que la variedad VS-22 y el maíz criollo presentaron porcentajes de infección similares a 0 y 40 kg ha⁻¹. En los dos primeros niveles de fertilización (0 y 40) la variedad H-34 presentó porcentajes de infección menores que las otras dos variedades. En contraste, las dos variedades mejoradas presentaron significativamente menor porcentaje de infección que el maíz criollo, en el nivel más alto de fertilización. Esto último se expresó en la interacción (fig. 17).

DEPENDENCIA MICORRIZICA

En la tabla 12 se presentan los resultados de dependencia micorrizica donde se observa que el maíz no es dependiente de la asociación, ya que, tanto el criollo como las variedades presentaron valores negativos. A pesar de ello, el maíz criollo presentó la menor dependencia micorrizica, muy similar a la variedad VS-22. La variedad H-34 fue la "más" dependiente de la asociación. En términos generales, el criollo y la variedad H-34 presentaron dependencias mayores a 80 kg ha⁻¹ que a 0 kg ha⁻¹. Mientras que la variedad VS-22 presentó menores dependencias a 40 y a 80 kg ha⁻¹ que sin fertilizar.

TABLA 12. dependencia micorrizica del maíz criollo y las variedades

| VARIEDAD | FERTILIZACION (kg ha ⁻¹) | | | PROMEDIO |
|----------|--------------------------------------|--------|--------|----------|
| | 0 | 40 | 80 | |
| CRIOLLO | -19.50 | -24.66 | - 5.68 | -16.67 |
| H-34 | -14.52 | - 4.70 | - 8.33 | - 9.18 |
| VS-22 | - 7.14 | -22.50 | -17.86 | -15.83 |
| PROMEDIO | -13.77 | -17.29 | -10.62 | |

DISCUSION

El peso seco de las plantas se incrementó con los niveles de fertilización, dicho efecto ha sido ampliamente demostrado por otros autores (i.e. Gerdemann, 1964; Daft & Nicolson, 1972; Menge, 1983; Salinas et al., 1985). Por el contrario, el efecto de la inoculación con hongos MVA fue negativo. Este resultado también ha sido reportado por otros autores para plantas con baja dependencia micorrízica (Gavito & Varela, 1990; Miller et al., 1987).

En contraste, ha sido ampliamente descrito que la presencia de la asociación favorece la producción de biomasa de las plantas micorrizadas (Mosse, 1973; Hayman, 1987); por ejemplo: maíz (Gerdemann, 1964; Jackson et al., 1972; Khan, 1972, 1975), cacahuete (Simpson & Daft, 1991), cebolla (Bolgiano et al. 1983) y cebada (Saif & Khan, 1977).

Sin embargo, los cambios en el beneficio de la asociación reflejan que ésta es compleja y está regulada por varios factores (i.e. disponibilidad de nutrimentos). El efecto negativo en biomasa encontrado en el presente trabajo, se pudo deber a los siguientes puntos:

- i) Disponibilidad de nutrimentos. Como ya se mencionó en la introducción, una alta disponibilidad de nutrimentos puede modificar los beneficios de la asociación. Gavito (1991) trabajando en el mismo sitio del presente trabajo, encontró que la concentración de fósforo en el suelo presenta variaciones estacionales, que van de disponibilidad baja a alta. El muestreo del suelo para el presente experimento, se realizó en la estación que tiene alta disponibilidad de P.
- ii) Fenología del hospedero. Sutton & Barron (1972) mencionan que existe una sincronía entre el crecimiento del hospedero y el hongo MVA. Dicha sincronía se expresa en una mayor actividad del hongo durante el período de máximo crecimiento de la planta, aunque no se realizó un estudio donde se muestre si existe una relación costo-beneficio durante el desarrollo de

la asociación. En el mismo sitio del presente estudio, Gavito (1991) encontró que el porcentaje de infección tendía a disminuir conforme avanza el ciclo de crecimiento del maíz en condiciones de campo, tal vez, debido a la disminución en la producción de raíces finas. Por otro lado, en ese mismo estudio con un experimento de invernadero, no encontró diferencias significativas de biomasa entre las plantas no inoculadas y las inoculadas con cepas nativas (Gavito, *op. cit.*).

La asociación puede presentar efectos positivos y negativos, dependiendo de factores genéticos y ambientales, pero, la asociación representa para la planta un alto costo de carbono en las primeras fases de su desarrollo (Allen, 1991). Sin embargo, la planta mantiene la asociación para obtener sus beneficios en períodos de deficiencia (*i.e.* déficit hídrico) o de mayor requerimiento (*i.e.* frutificación; Graham *et al.*, 1991). En el presente estudio, el hecho de haber realizado la cosecha a los 70 días, no permitió mostrar las ventajas de la asociación al final del crecimiento. Los cambios de beneficio de la asociación pueden ser más marcados en especies anuales, como el caso del maíz.

- iii) Uso eficiente de recursos. El beneficio de la asociación generalmente se expresa en biomasa (Hayman 1987), pero también puede expresarse en otros parámetros fisiológicos y no necesariamente en el peso seco o la altura. Por ejemplo, en la captación eficiente de nutrimentos y su uso eficiente (Miller *et al.*, 1987). El efecto de la asociación en la captación de P se discutirá más adelante.

La fertilización aumentó la concentración de fósforo foliar. Las plantas inoculadas presentaron mayores concentraciones a 0 y 40 kg ha⁻¹, mientras que a 80 kg ha⁻¹ las concentraciones de las plantas no inoculadas fueron mayores. Por lo que a niveles altos de fertilización, la asociación no representa una ventaja. Mientras que a niveles bajos de fertilización, las plantas micorrizadas

mostraron una captación eficiente de fósforo. Esto coincide con lo reportado por Rajú *et al.* (1990) con plantas de sorgo (*Shorgum bicolor*), donde las micorrizadas poseen altas concentraciones de P en parte aérea a diferencia de las no micorrizadas.

Las ventajas de la asociación conlleva a un costo para la planta, generalmente en fotosintetatos (principalmente azúcares), hormonas de crecimientos y lípidos (Harley & Smith, 1983). En general, las plantas micorrizadas presentaron menor concentración de azúcares y proteínas que las que no tenían la asociación. Esta demanda por parte del hongo se ha expresado en una menor producción de biomasa (Amijee *et al.*, 1989). Sin embargo, la fertilización y la variedad del maíz influyeron en la relación costo-beneficio.

En las tres variedades, las plantas no micorrizadas presentaron una relación directa y positiva entre el fósforo foliar y la concentración de azúcares. Es decir, al aumentar el nivel de fertilización, la planta gasta menos azúcares y obtuvo más fósforo.

La susceptibilidad a la infección es diferente aún entre variedades de una misma especie e igualmente son diferentes los beneficios y costos de la asociación (Menge *et al.*, 1978; Rajapakse *et al.*, 1989; Simpson & Daft, 1991). Por tanto, la presencia de la micorriza se modifica e influye en esta relación de acuerdo a cada una de las variedades, de la siguiente forma:

- i) Criollo: en las plantas micorrizadas, la fertilización mantiene constante la demanda de azúcares. Sin embargo, la asociación sin fertilización le brinda beneficio parecido al estar fertilizado con 40 kg ha⁻¹. Esta presentó los niveles más altos de porcentaje de infección, inclusive con 80 kg ha⁻¹. A pesar de ello, esta variedad presentó un mayor beneficio con un costo parecido entre niveles de fertilización. Es por esto, que el criollo mantiene mayor susceptibilidad a la infección.
- ii) H-34: la fertilización no afecta el beneficio de la inoculación, pero sí la demanda. Es decir, éste último aumenta cuando no hay fertilización. Sin embargo, las micorrizadas tienen el mismo beneficio que si se hubieran fertilizado a 40 kg ha⁻¹ sin presencia de la asociación. Esta variedad presentó

los demandas más bajos a la inoculación, pero también mostró los porcentajes de infección significativamente inferiores a 20 en todos los niveles de fertilización. Aunque no existe una relación directa entre el crecimiento y el porcentaje de infección, es probable que porcentajes menores a 20 tengan poco efecto en la planta (Hayman 1987). Por lo que es posible, que en esta variedad, la asociación tuvo un efecto reducido. Esta variedad es poco susceptible a la infección y capaz de regular la demanda de carbono del hongo.

- iii) VS-22: micorrizada se comporta igual que no micorrizada, pero con una mayor demanda de azúcares. Esto es, que la presencia de la asociación no le favorece, ya que presentó los mayores costos al estar inoculada. Por otro lado, esta variedad presentó porcentajes similares a los del criollo. Sin embargo, a 80 kg ha⁻¹ fue similar a la variedad H-34. De lo anterior se concluye que es igualmente susceptible a la infección como el criollo, pero no fue capaz de regular el demanda de la asociación como la H-34, no obteniendo de esta manera beneficios.

En general, el porcentaje de infección disminuyó al aumentar la concentración de P. Esto se debe a que niveles altos de fertilización afectan la asociación en plantas micorrízicas, especialmente a las facultativas (Hayman, 1987). Esto tal vez, se debe a que existe cierta resistencia de la planta de que ocurran puntos de entrada por lo que hay un retraso en la extensión del micelio por la raíz, al aumentar el nivel de fertilización (Amijee *et al.*, 1989). Con ello, se puede regular la susceptibilidad de la planta a la infección.

La población nativa de hongos MVA no fue efectiva en esta etapa del desarrollo del maíz, para ninguna de las variedades. Pero los análisis de costo-beneficio mostraron que el maíz criollo presentó los mejores balances de dicha relación sin fertilización. Como ya se había mencionado, el estado fenológico de la planta en el cual se hizo la cosecha no pudo mostrar el balance final y por

tanto, el beneficio neto del ciclo completo de crecimiento del maíz. En un estudio con un pasto (Agropyron smithii) con altos niveles de P produjo un costo de biomasa elevado y la infección presentó poco desarrollo, pero existió una respuesta positiva cuando hay labranza y fertilización. Dicha respuesta se da en la asignación de P, lo cual sugiere que el hongo puede ser regulado por la cantidad de recursos en el suelo o el hospedero (Miller et al., 1987). Lo anterior sugiere, que la asociación es compleja y que mucha de la respuesta no está reflejada solo en la biomasa, sino también en el uso eficiente y la translocación de nutrimentos, siendo mejor en plantas micorrizadas que en las no micorrizadas. Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con esto. La influencia ambiental y genética, tanto del hospedero como del huésped, modifican a la asociación.

Graham et al. (1991) con experimentos de campo mostraron que las plantas con baja dependencia micorrízica tienden a limitar la tasa de colonización del hongo MVA más que plantas con alta dependencia micorrízica. En consecuencia, esto respalda la hipótesis de que la planta puede regular la asociación y por tanto los costos de carbono, como sería el caso de la variedad H-34. No obstante también concluyeron, que de algún modo la planta mantiene la asociación para obtener sus beneficios en períodos de deficiencia o de mayor requerimiento, como el caso del criollo.

Cabe mencionar que los experimentos de invernadero, donde las condiciones estan controladas no son el reflejo de lo que sucede en el campo, donde las condiciones ambientales son heterogéneas. Por lo tanto, es necesario probar las hipótesis del presente trabajo con observaciones y experimentos en campo.

Finalmente se demostró que la baja potencia del ANOVA se debe a dos aspectos principales: la naturaleza de los datos y los supuestos estadísticos del modelo. Con respecto a la naturaleza de los datos, la variación entre submuestras disminuye cuando se utilizan los promedios de los porcentajes, por lo que se enmascaran los resultados. Esta variación entre submuestras puede estar asociada a la distribución diferencial del hongo en la raíz y no

solamente a errores de conteo. En cambio, la regresión logística no reduce la variación al utilizar las frecuencias absolutas. En relación a los supuestos del modelo (normalidad y homogeneidad de varianza), la transformación de los datos no los asegura. Por lo que es importante realizar una prueba de bondad de ajuste. Por todo lo anterior, consideramos que la aplicación de la regresión logística es la mas correcta en este tipo de estudios.

CONCLUSIONES

- I) La asociación micorrízica representó un costo que se observó en biomasa y contenidos de azúcares y proteínas. No hubo diferencias entre variedades en la respuesta en biomasa pero sí en azúcares y proteínas.
- II) La concentración de fósforo foliar fue mayor en las plantas micorrizadas.
- III) Las variedades difirieron en sus balances de costo-beneficio.
- IV) El porcentaje de infección fue diferente entre variedades y disminuyó conforme aumentó la fertilización.
- V) El modelo de regresión logística es el más adecuado para análisis estadístico del porcentaje de infección.
- VI) La población nativa de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares no fue efectiva en condiciones de invernadero para el maíz criollo y las 2 variedades utilizadas.

APENDICE

REACTIVO A (para la determinación de Aldohexosas reductoras por el método Nelson-Somogy)

| | |
|-----------------------------|--------|
| AI | |
| Tartrato de Sodio y Potasio | 1.2 g |
| Carbonato de Sodio anhidro | 2.4 g |
| Bicarbonato de Sodio | 1.6 g |
| Sulfato de Sodio | 14.2 g |
| H2O destilada | 80 ml |
| AII | |
| Sulfato de Cobre | 0.4 g |
| Sulfato de Sodio | 3.6 g |
| H2O destilada | 20 ml |

Adicionar AI en AII

REACTIVO B

| | |
|---------------------|--------|
| BI | |
| Molibdato de Amonio | 5.0 g |
| H2SO4 concentrado | 5.0 ml |
| H2O destilada | 90 ml |
| BII | |
| Arseniato de Sodio | 0.6 g |
| H2O destilada | 5.0 ml |

Mezclar BI y BII

MEZCLA DE COLORANTE (para la tinción de raíces mediante la técnica de Phillips & Hayman, 1970).

| | |
|-----------------|--------|
| Azul de Tripano | 0.5 g |
| Acido Láctico | 250 ml |
| Glicerol | 500 ml |
| Agua destilada | 250 ml |

LITERATURA CITADA

- Abbot, L.K. & A.D. Robson. 1984. The effect of mycorrhizae on plant growth. In: VA mycorrhiza. Ll. Powell & D.J. Bagyaraj (eds.). CRC Press. Boca Raton. Pp: 113-130.
- Aitkin, M., D. Anderson, B. Francis & J. Hinde. 1989. Statistical Modelling in GLIM. Clarendon Press, Oxford, Pp. 374.
- Allen, M.F. 1991. The ecology of mycorrhizae. Cambridge University Press, USA.
- Allen, M.F. & M.G. Boosalis. 1983. Effects of two species of VA mycorrhizal fungi on drought tolerance of winter wheat. New Phytol. **93**: 67-76.
- Amijee, F.; P.B. Tinker & D.P. Stribley. 1989. The development of endomycorrhizal roots systems. VII. A detailed study of effects of soil phosphorus on colonization. New Phytol. **111**: 435-446.
- Augé, R.M., K.A. Schekel & R.L. Wample. 1986. Greater leaf conductance of well-watered VA mycorrhizal rose plants is not related to phosphorus nutrition. New Phytol. **103**: 107-116.
- Bolgiano, N.C., G.R. Safir & D.D. Warneke. 1983. Mycorrhizal infection and growth of onion in the field in relation to phosphorus and water availability. J. Amer. Soc. Hort. Sci. **108**: 819-825.
- Clapperton, M. J. & D. M. Reid. 1992. A relationship between plant growth increasing VA mycorrhizal inoculum density. New Phytol. **120**: 227-234.
- Daft, M.J. & T.H. Nicolson. 1969. Effect of Endogone mycorrhizal on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. New Phytol. **68**: 945-
- Daft, M.J. & T.H. Nicolson. 1972. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. IV. Quantitative relationships between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. New Phytol. **71**: 287-295.
- Dobson, A.J. 1983. Introduction to statistical Modelling. Chapman and Hall. London.

- García, E. 1980. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México.
- Gavito, M. 1991. Estudio de los hongos micorrízicos arbusculares asociados al maíz en el volcán Malintzin, Tlaxcala. Tesis de Maestría. Fac. de Ciencias, UNAM. México.
- Gavito, M.E. & L. Varela. 1990. Abundancia y efectividad de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares de suelos cultivados con maíz en el Estado de Morelos. Rev. Mex. Mic. 6: 259-269.
- Gerdemann, J.W. 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize. Mycologia 65: 342-341.
- Giovanetti, M. & B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489-500.
- Graham, J.H., D.M. Eissenstat & D.L. Drouillard. 1991. On the relationship between a plant's mycorrhizal dependency and rate of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization. Functional Ecology 5: 773-779.
- Gryndler, M., J. Lestina, V. Moravec, Z. Prikryl & J. Lipavsky. 1989. Colonization of maize roots by VAM-fungi under conditions of long-term fertilization of varying intensity. Agric. Ecos. and Environ. 29: 183-186.
- Hardie, K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. New Phytol. 101: 667-678.
- Hardie, K. & L. Leyton. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. I. In phosphate deficient soil. New Phytol. 89: 599-608.
- Harley, J. L. & S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press. Toronto.
- Hayman, D.S. 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Trans. Br. Mycol. Soc. 54: 53-63.
- Hayman, D.S. 1987. VA micorrizas in field crop systems. In: ecophysiology of VA mycorrhizal plants. G.R. Safir (Ed.). CRC press inc. Boca Raton. Pp. 171-192.

- Hepper, C.M. 1985. Influence of age of roots on the pattern of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in leek and clover. New Phytol. **101**: 685-693.
- INEGI. 1985. Anuario estadístico del Estado de Tlaxcala. Tomo I y II. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México.
- Jackson, N.E., R.E. Frankling & R.H. Miller. 1972. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and phosphorus contents of three agronomic crops. Soil Sco. Soc. Am. Proc. **36**: 64-67.
- Janos, D.P. 1987. Roles of mycorrhizae in nutrient cycling and retention in tropical soils and organic matter. INTECOL Bulletin, **14**: 41-44.
- Khan, A.G. 1972. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. I. Effect on maize growth. New Phytol. **71**: 613-619.
- Khan, A.G. 1975. Growth effects of VA mycorrhiza on crops in the field. In: Endomycorrhizas. F.E. Sanders, E. Mosse and P.B. Tinker (Eds.). Academic Press, London.
- Krishna, K.R., K.G. Shetty, P.J. Dart & D.J. Andrews. 1985. Genotype dependent variation in mycorrhizal colonization and response to inoculation of pearl millet. Plant and Soil. **86**: 113-125.
- Menge, J.A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Can. J. of Bot. **61**: 1015-1024.
- Menge, J.A., E.L.V. Johnson & R.G. Platt. 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. New phytol. **81**: 553-559.
- Miller, R.M., A.G. Jarstfer & J.K. Pillai. 1987. Biomass allocation in an Agropyron smithii-Glomus symbiosis. Amer. J. Bot. **74**: 114-122.
- Montgomery, D.C. 1984. Design and analysis of experiments. John Wiley and sons. New York.
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Ann. Rev. of Phytopathology. **11**: 171-196.

- Palacios-Mayorga, S., K. Shimada-Miyasaka & C. Salinas-Chapa. 1987. Efecto de la inoculación de dos variedades de cebolla (Allium cepa L.) con cuatro hongos micorrízicos, en un suelo muy deficiente en fósforo. Rev. Lat-amer. Microbiol. **29**: 329-336.
- Phillips, J. M. & D.S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brit. Mycol. Soc. **55**: 158-161.
- Planchette, C., J.A. Fortin & V. Furlan. 1983. Growth response of several plant species to mycorrhizal in a soil of moderate P fertility. I Mycorrhizal dependency under field conditions. Plant and soil. **70**: 191-209.
- Rajapakse, S., D.A. Zuberer & J.C. Miller, Jr. 1989. Influence of phosphorus level on VA mycorrhizal colonization and growth of cowpea cultivars. Plant and soil. **114**: 45-52.
- Raju, P.S., R.B. Clark, J.R. Ellis, R.R. Duncan & J.W. Maranville. 1990. Benefit and cost analysis and phosphorus efficiency of VA mycorrhizal fungi colonizations with sorghum (Sorghum bicolor) genotypes grown at varied phosphorus levels. Plant and soil. **124**:199-204.
- Saif, S.R. & A.G. Khan. 1977. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal association on growth of cereals. III. Effects on barley growth. Plant and soil. **47**: 17.
- Salinas, J.G., J.I. Sauz & E. Sieverding. 1985. Importance of VA mycorrhizas for phosphorus supply to pasture plants in tropical plants in tropical soils. Plant and soil **84**: 347-360.
- Segel, I.H. 1976. Biochemical calculations. John Wiley and sons. New York.
- Sieverding, E. 1987. VA mycorrhizae in soils cultivation in tropical America. In: Transaction of the XIII Congress of International Society of Soil Science. Hamburg 13-20 August, 1986. Vol. VI pp. 840-852. Western Germany.

- Simpson, D. & M.J. Daft. 1991. Effects of Glomus clarum and water stress in growth and nitrogen fixation in two genotypes of groundnut. Agriculture, Ecosystem and Environment. 35: 47-54.
- Smith, S.E. 1985. The concept of effectiveness in symbiotic relationship. In: Proceeding of the 6th North American Conference of Mycorrhizae. Molina R. (Ed.). Forest Research Laboratory, Corvallis.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1980. Biometry. W.H. Freeman and company.
- Stribley, D.P., P.B. Tinker & R.C. Snellgrove. 1980. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the relations of plant growth, internal phosphorus concentration and soil phosphate analyses. Journal of Soil Science. 31: 655-672.
- Sutton, J.C. & G.L. Barron. 1972. Population dynamics of Endogone spore in soil. Can. J. Bot. 50: 1909-1914.
- Technicon Industrial System. 1977. Technicon Industrial Method No. 329-74W/B. Individual/Simultaneous Determinations of Nitrogen and/or Phosphorus in BD Acid Digest. Technicon Industrial System, Tarrytown, NY.
- Toth, R., D. Toth & D.S. Starke. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization in Zea mays affected by breeding for resistance to fungal pathogens. Can. J. Bot. 68: 1039-1044.