



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

00369 1  
2  
Universidad Nacional Autónoma de  
México

Facultad de Ciencias  
División de Estudios de Posgrado

“Estudio del desarrollo micorrízico arbuscular, en tres agroecosistemas subtropicales con suelos calcimagnésicos, a través del ciclo biológico de *Chloris gayana* K.”

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS (EDAFOLOGÍA)

PRESENTA

JOSÉ EDUARDO GONZÁLEZ QUINTERO

DIRECTOR DE TESIS

M. EN C. SERGIO PALACIOS MAYORGA

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

### **MIEMBROS DEL JURADO**

**PRESIDENTE: DR. TEÓFILO HERRERA SUÁREZ.  
Instituto de Biología Depto. de Botánica UNAM.**

**VOCAL : M. en C. ALFREDO FRANCISCO ECHEGARAY ALEMÁN.  
Colegio de Posgraduados Biología de suelos.**

**VOCAL : DRA. EVANGELINA PÉREZ SILVA.  
Instituto de Biología UNAM.**

**VOCAL : M. en C. SERGIO PALASIOS MAYORGA.  
Instituto de Geología Depto. de Edafología UNAM.**

**SECRETARIO: M. en C. LUCIA YOLANDA VARELA FRAGOSO.  
Esc. Nal. de Ciencias Biológicas, Depto. Ecol. Microb. IPN.**

**SUPLENTE : DR. CARLOS DEL RÍO ESTRADA.  
Facultad de Medicina UNAM.**

**SUPLENTE : M. en C. BEATRIZ COUTIÑO BELLO.  
Facultad de Ciencias Lab. de Morfofisiología Vegetal UNAM.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**HAGO PATENTE MI MÁS PROFUNDO AGRADECIMIENTO:**

**Al Dr. Fernando Ortega Gutiérrez**  
Exdirector del Instituto de Geología de la UNAM

**Al Dr. Dante J. Morán Zenteno**  
Director del Instituto de Geología de la UNAM.

**Al Ing. Rodolfo del Arenal Capetillo**  
Secretario Académico

**Al Lic. Jorge Ochoa Moreno**  
Secretario Administrativo. A todos ellos por su apoyo para la obtención de la beca de la DGAPA, por haberme permitido participar en el proyecto de investigación del que forma parte este trabajo, así como por todas las facilidades que me brindaron.

**Al M. en C. Sergio Palacios Mayorga, Jefe del Departamento de Edafología del Instituto de Geología y director de esta Tesis, por sus invaluable enseñanzas y consejos; extraordinaria y entusiasta dedicación en la dirección de este trabajo, que han motivado grandemente mi formación y superación, no solamente en el aspecto académico sino, también humanamente, muchas gracias.**

**Al M. en C. Kumico Shimada Miyasaka, por su ayuda y enseñanzas en la utilización de los programas de cómputo que constituyeron una de las herramientas clave para el desarrollo de mi tesis.**

**Al M en C. Jorge Gama Castro, por sus orientaciones sobre la Génesis y Clasificación de los Suelos.**

**Al M. en C. Teodoro Méndez García, por enseñarme las técnicas básicas para el análisis químico de los suelos.**

**A la M en C. Silvia Sánchez Beltrán, por su ayuda en las técnicas de análisis físico de suelos.**

**A la M. en C. Ernestina Vallejo Gómez, por su ayuda y gran apoyo.**

**Al Biol. Daniel Hernández Santiago, por su apoyo en la aplicación de los análisis estadísticos.**

**Al Pas. de Biol. Rubén Zamora Rojas, por su ayuda en el mantenimiento del experimento de invernadero.**

**A las siguientes personas, por su valioso apoyo y consejos:**

Lic. Alberto Santiesteban, Excoordinador General del Personal Administrativo de la UNAM.

Lic. Margarita Sánchez Padilla, Jefa de la Coordinación de Movimientos Escalafonarios.

Ing. Agustín Rodríguez Fuentes, Secretario General del STUNAM.

Dr. Benito Creistobal Ortiz, Secretario de Trabajo Administrativo de STUNAM.

Sra. Guadalupe Gamboa.

Sr. Jorge García Ortega.

Maestra Julia Méndez Vega.

**A mis compañeros:**

Biol. Gabriela Posadas.

M. en C. Miguel Ángel Jaime Hernández.

M. en C. Javier Villegas Moreno.

**A LOS MIEMBROS DEL H. JURADO POR SU TIEMPO Y DEDICACIÓN EN LA REVISIÓN DE ESTA TESIS, Y SUS VALIOSAS SUGERENCIAS.**

**Y, EN GENERAL, A TODO EL PERSONAL ACADÉMICO Y ADMINISTRATIVO DEL INSTITUTO DE GEOLOGÍA DE LA UNAM**

**A la Dra. Yolanda Dalpé**

**Centre for Land Biological Resources Research**

**Agriculture Canada Saunders Bldg., C.E.F.**

**Por su valioso apoyo en la Taxonomía de los esporotipos.**

**A MIS PADRES Y HERMANOS**

**A MIS MAESTROS, EN ESPECIAL, AL M. EN C. SERGIO PALACIOS  
MAYORGA.**

**PARA ALEJANDRA GARCÍA MÉNDEZ, MI AGRADECIMIENTO POR SU  
PACIENCIA, APOYO MORAL Y SENTIMENTAL EN LOS MOMENTOS  
CRUCIALES DE MI VIDA.**

## CONTENIDO

<b>I. RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
<b>IV. ANTECEDENTES Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
<b>1.0 GENERALIDADES.....</b>	<b>11</b>
<b>2.0 LA Endomicorriza Arbuscular.....</b>	<b>12</b>
2.1 Clasificación.....	14
2.2 Identificación de las esporas.....	15
2.3 Aspectos generales sobre el proceso de colonización.....	16
2.4 Estadios del desarrollo de la colonización.....	18
2.5 Cambios en la estructura del hongo durante la colonización.....	18
2.6 Respuesta de la planta a la colonización a nivel celular.....	19
2.7 Transporte de fósforo y carbohidratos.....	20
2.8 Distribución en los ecosistemas naturales.....	21
2.9 Distribución en los agroecosistemas.....	22
<b>3.0 Función de la M.A.....</b>	<b>25</b>
3.1 Absorción del fósforo.....	25
3.2 Absorción del nitrógeno y otros nutrimentos.....	26
3.3 Aumento de la resistencia al estrés hídrico.....	28
<b>4.0 Importancia de la M.A. en la Agricultura.....</b>	<b>29</b>
4.1 Efecto de la M.A. en sistemas agrícolas.....	29
4.2 La necesidad de la aplicación y manejo de los hongos M.A. en los agroecosistemas.....	31
4.3 Uso práctico de la M.A. en sistemas agrícolas.....	32
4.4 Manejo de los H.M.A. en los agroecosistemas.....	33
<b>5.0 Suelos Calcimagnésicos.....</b>	<b>33</b>

5.1 Características generales.....	33
5.2 Retención del fósforo en el suelo.....	35

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS.....37**

1.0 Localización del Área de Estudio.....	38
2.0 Datos Geográficos.....	38

2.1 Orografía.....	38
2.2 Hidrografía.....	38
2.3 Características climáticas.....	38
2.4 Vegetación dominante.....	40
2.5 Uso del suelo.....	40
2.6 Actividades económicas.....	40
2.7 Manejo de los cultivos en el área de estudio.....	40
2.7.1 Agroecosistema 1 (cacahuate).....	40
2.7.2 Agroecosistema 2 (maíz).....	41
2.7.3 Agroecosistema 3 (sorgo).....	41

3.0 Características Edáficas de los Agroecosistemas de este Estudio.....	41
--	----

4.0 Muestreo de Suelos.....	42
-----------------------------	----

4.1 Procesamiento de las muestras de suelo.....	43
4.2 Análisis físicos y químicos de los suelos.....	43
4.3 Técnicas generales para el estudio de los hongos endomicorrízicos arbusculares orientadas a la evaluación de las variables propuestas.....	44

5.0 La Potencialidad Micorrízica de los Suelos en los tres Agroecosistemas.....	46
---	----

5.1 Diseño experimental.....	46
5.2 Procedimiento.....	48
5.2.1 Preparación de las macetas.....	48
5.2.2 Extracción de las esporas de hongos M.A.....	48
5.2.3 Modo de inoculación.....	48
5.2.4 Condiciones experimentales en el invernadero.....	49
5.2.5 Fertilización.....	49



	4
5.2.6 Variables de respuesta.....	49
5.2.7 Análisis estadístico.....	50
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>51</b>
<b>1.0 Análisis Físicos y Químicos de los Suelos.....</b>	<b>52</b>
<b>2.0 Desarrollo Micorrízico Arbuscular, Evaluado a través de la         Colonización de <i>Chloris gayana</i> Kunth., Antes, Durante y         Después de su Floración.....</b>	<b>54</b>
<b>2.1 Etapa 0 ó Precolonización. De los 5 a los 15 días Después de la Emergencia         de las Plántulas Hospederas.....</b>	<b>54</b>
2.1.1 Germinación.....	54
2.1.2 Formación de tubos germinativos.....	55
<b>2.2 Etapa 1, Colonización. A los 20 días Después de la Emergencia         de las Plántulas Hospederas.....</b>	<b>58</b>
2.2.1 Principios de la fase lag.....	58
2.2.2 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.....	61
<b>2.3 Etapa 2. 45 Días Posteriores a la Emergencia de las Plántulas (45 Días Después         de la Colonización.....</b>	<b>62</b>
2.3.1 Principios de la fase exponencial.....	62
2.3.1.2 Ritmo de la colonización.....	65
2.3.1.3 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.....	65
2.3.4 Desarrollo del micelio externo.....	68
2.3.5 Número de esporas.....	69
2.3.5.1 Ritmo de la producción.....	70
2.3.6 Porcentaje de viabilidad de las esporas.....	70
2.3.6.1 Número de esporas viables.....	72
<b>2.4 Etapa 3. A los 90 días Después de la Emergencia, Poco antes de la</b>	

<b>Floración, Correspondiente a 70 días de Iniciada la Colonización.....</b>	<b>73</b>
2.4.1 Finales de la fase exponencial.....	73
2.4.1.2 Ritmo de la colonización.....	73
2.4.1.3 Ritmo del porcentaje de incremento de la colonización.....	74
2.4.1.4 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.....	74
2.4.2 Desarrollo del micelio externo.....	76
2.4.3 Número de esporas.....	76
2.4.2.1 Ritmo de la producción de esporas.....	78
2.4.2.2 Ritmo del porcentaje de incremento de esporas.....	78
2.4.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.....	81
2.4.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.....	83
2.4.4.1 Ritmo de la viabilidad.....	83
2.4.5 Esporas viables.....	86
<b>2.5 Etapa 4. A 135 días Después de la Emergencia (40 días de Floración) y 115 días Después de Iniciada la Colonización.....</b>	<b>91</b>
2.5.1 Principios de la fase meseta.....	91
2.5.1.2 Ritmo de la colonización.....	91
2.5.1.3 Ritmo del porcentaje de incremento.....	92
2.5.1.4 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.....	95
2.5.2 Número de esporas.....	98
2.5.2.1 Ritmo de la producción de esporas.....	98
2.5.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.....	102
2.5.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.....	105
2.5.4.1 Ritmo de la viabilidad.....	105
2.5.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.....	108
2.5.5 Producción de esporas viables.....	112
2.5.5.1 Ritmo de la producción.....	112
2.5.5.2 Ritmo del porcentaje de incremento.....	112
<b>2.6 Etapa 5. A 165 días Después de la Emergencia (70 días de Floración; Finales) y 145 días Después de Iniciada la Colonización.....</b>	<b>115</b>
2.6.1 Finales de la fase meseta.....	115
2.6.1.2 Ritmo de la colonización.....	116
2.6.1.3 Ritmo del incremento de la colonización.....	116

2.6.1.4 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.....	116
2.6.2 Número de esporas.....	119
2.6.2.1 Ritmo de la producción.....	120
2.6.2.2 Ritmo del porcentaje de incremento .....	120
2.6.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.....	122
2.6.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.....	125
2.6.4.1 Ritmo de la viabilidad .....	126
2.6.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.....	129
2.6.5 Número de esporas viables.....	132
2.6.5.1 Ritmo de la producción y del porcentaje de incremento.....	132
<b>2.7 Etapa 6. A 30 días de Iniciada la Fructificación, Correspondiente a los 210 días Después de la Emergencia del Hospedero (<i>Chloris gayana</i> Kunth.) o, 190 días Después de Iniciada la Colonización.....</b>	<b>137</b>
2.7.1 Senectud.....	137
2.7.1.2 Ritmo de la colonización.....	138
2.7.1.3 Ritmo del porcentaje de incremento de la colonización.....	139
2.7.2 Número de esporas.....	142
2.7.2.1 Ritmo de la producción de esporas.....	143
2.7.2.3 Ritmo del porcentaje de incremento de la producción de esporas.....	144
2.7.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.....	144
2.7.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.....	149
2.7.4.1 Ritmo de la viabilidad de las esporas.....	149
2.7.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.....	152
2.7.5 Producción de esporas viables.....	152
2.7.5.1 Ritmo de la producción.....	152
2.7.5.2 Ritmo del porcentaje de incremento.....	153
<b>3.0 Recapitulación del Desarrollo Micorrízico Durante el Ciclo Biológico de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....</b>	<b>157</b>
<b>VII CONCLUSIONES.....</b>	<b>158</b>
<b>VIII BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>160</b>
<b>IX APENDICE.....</b>	<b>176</b>

## I. RESUMEN

Con el propósito de estudiar el efecto del manejo agrícola sobre los hongos endomicorrízicos arbusculares, en suelos edáficamente similares, pero con cultivos diferentes, en la localidad de Miacatlán, Estado de Morelos, fueron seleccionados 3 Agroecosistemas: (1) cacahuete (*Arachis hypogaea*); (2) maíz (*Zea mays*); y (3) sorgo (*Sorghum bicolor*). De cada uno de estos agroecosistemas se colectó suelo de la capa arable (0-30 cm de prof.), con base en el método en "zig-zag", para obtener muestras compuestas. El muestreo se realizó a finales del verano después de la cosecha. En las muestras de suelo, una vez secadas al aire y tamizadas, se practicaron los análisis físicos y químicos de rutina, incluyendo la capacidad de retención de fósforo.

Los suelos de los tres agroecosistemas resultaron ser de naturaleza calcimagnésica, clasificados como *Phaeozems calcáricos*, y caracterizados por tener: un perfil A-C; texturas franca y migajón arcillosa, en los agroecosistemas 1 y 2 y 3, respectivamente; pH ligeramente alcalino; de los cationes intercambiables destacan los contenidos muy alto de calcio, alto el de magnesio y muy bajo el del potasio; una capacidad de retención de fósforo alta debido a la riqueza en Ca libre y, consecuentemente, muy pobres en P asimilable. Por su contenido en materia orgánica y nitrógeno total, el suelo del agroecosistema 1 resultó rico y medianamente rico, respectivamente, mientras que en los agroecosistemas 2 y 3 su contenido fue medio y pobre, respectivamente.

Para el estudio del comportamiento de los hongos endomicorrízicos arbusculares nativos, se estableció un experimento bajo condiciones de invernadero, conforme a un diseño experimental completamente al azar, con 6 repeticiones, utilizando pasto "Rhodes grass" (*Chloris gayana* Kunth.) como planta hospedera, y el concentrado de esporas obtenido del suelo de cada agroecosistema como inóculo.

Para reconocer la evolución del desarrollo micorrízico, se llevaron a cabo las siguientes evaluaciones: antes de la floración (a los 10, 20, 45 y 90 días); durante la floración (a los 135 y 165 días); y después de ella (a los 210 días, posteriores a la emergencia). Las actividades consistieron en: (1) recolección de una muestra representativa de raíz y suelo; (2) clareo y tinción de la raíz; (3) análisis cuantitativo de la colonización; (4) extracción y conteo de esporas; y (5) prueba de la viabilidad de las mismas.

Los resultados relativos a la curva del desarrollo micorrízico como son: (a) tiempo de germinación de las esporas; (b) tiempo y velocidad de colonización en las fases lag, exponencial y meseta, mostraron el comportamiento, desarrollo, madurez y esporulación de los hongos endomicorrízicos arbusculares nativos de cada agroecosistema, y permitieron observar lo siguiente: (a) la germinación de las esporas, aproximadamente, entre el séptimo y décimo día después de la emergencia del hospedero; (b) la penetración de los hongos a las raíces, aproximadamente, entre el décimo y décimo quinto día; (c) el inicio de la colonización a los 20 días después de la emergencia del hospedero; (d)

la formación incipiente de las primeras vesículas a los 45 días después de la emergencia del hospedero; (e) las primeras esporas, detectadas a los 90 días después de la emergencia o al inicio de la floración del hospedero; (f) la esporulación, que abarcó el período de la floración presentándose, además, una sucesionalidad de esporotipos; (g) la viabilidad de los esporotipos en forma paralela y creciente a la floración; (h) la esporulación y la viabilidad la cual disminuyó, drásticamente, durante la fructificación del hospedero. Estos resultados, además de ser estadísticamente diferentes al 99%, mostraron, también, que el agroecosistema 1 (cacahuete) tuvo el menor potencial micorrízico y la menor diversidad de esporotipos; mientras que el 3 (sorgo) resultó tener el mayor potencial micorrízico y la mayor biodiversidad. El mayor número de esporas, en los tres agroecosistemas, se obtuvo a finales de la floración del hospedero con 68, 99 y 108 por gramo de suelo seco, respectivamente. El desarrollo micorrízico, a través de *Chloris gayana* K., permitió observar diferencias atribuibles a la interacción planta-hongo MA-manejo agrícola. Es decir, el manejo de los cultivos, considerado como "efecto antrópico, se reflejó, en la biodiversidad de los esporotipos y en diferencias en el patrón morfológico de la colonización. Al respecto, fueron especialmente importantes las diferencias significativas en el ritmo de la producción de las esporas y en su viabilidad, teniendo la mayor producción en el agroecosistema 3 (sorgo) y la menor en el 1 (cacahuete). En los agroecosistemas predominó *Glomus* sp., sin embargo, en el agroecosistema 1 (cacahuete) destacó, además, la presencia de *Acaulospora* sp. Además, con la información obtenida se realizó una selección de las especies de hongos dominantes, de cada agroecosistema, obteniéndose aislados monospóricos de cada agroecosistema.

## II. INTRODUCCIÓN.

Existe un gran interés entre los ecólogos por encontrar, a través de las ciencias agrobiológicas, las alternativas que permitan incrementar y conservar la fertilidad de los suelos; racionalizando, complementando y/o substituyendo los fertilizantes químicos por biofertilizantes.

En esta búsqueda, se ha encontrado que, entre otros microorganismos del suelo que establecen simbiosis con las plantas, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) constituye una de las alternativas más viables, en vista de que estos microorganismos se asocian con la mayoría de las plantas vasculares y se convierten en una extensión muy efectiva de sus raíces; lo cual facilita la absorción del fósforo, entre otros nutrimentos, aumentando el crecimiento y su resistencia a las enfermedades radicales. Además, se ha comprobado que las plantas micorrizadas resisten, significativamente más, tanto el estrés hídrico como el provocado por el transplante, que aquellas no micorrizadas.

Por otra parte, la extrema pobreza en fósforo de algunos suelos se debe, en gran parte, a la elevada capacidad de algunos suelos para retener este nutrimento en forma no aprovechable por las plantas. Tal es el caso de los suelos derivados de cenizas volcánicas (Andosoles) y los de naturaleza calcimagnésica, ambos con una amplia distribución en México. Este hecho hace resaltar más aún la importancia que, para este país, tienen los hongos micorrízicos arbusculares, cuya aplicación, a corto plazo y a gran escala, puede realizarse con éxito y a bajo costo; particularmente, en especies hortícolas y frutícolas que se propagan por medio de sistemas de almácigo y vivero. Entre estas especies, por lo general, se encuentran algunas de las de mayor importancia económica para el país. Sin embargo, como ha sido establecido en investigaciones recientes, el manejo más efectivo de los hongos endomicorrízicos arbusculares, como un recurso para incrementar la productividad en estos suelos dependerá, en gran medida, del conocimiento que se tenga de estos microorganismos con relación a su comportamiento en los agroecosistemas, particularmente, en lo relacionado a su ciclo de vida, biodiversidad y sus relaciones agroecológicas (suelo-planta de cultivo-manejo agrícola).

Estas últimas ideas son las que han sido consideradas para plantear los objetivos y la hipótesis de este trabajo.

## III. HIPÓTESIS.

El carácter cosmopolita de los hongos micorrízicos determina que en la mayoría de los agroecosistemas, exista una estrecha interacción suelo-planta-hongos endomicorrízicos-manejo agrícola, de la cual depende la sobrevivencia, vigor y efectividad de estos hongos y, por consiguiente, su participación en el crecimiento y los rendimientos de la cosecha. Es decir, la dinámica de esta interacción se encuentra estrechamente ligada al grado de impacto causado por el hombre en los agroecosistemas,

principalmente por el uso de agroquímicos.

Con base en lo antes expuesto, en este estudio se espera encontrar evidencias del impacto antrópico que significó el manejo de tres plantas de cultivo, con requerimientos nutricionales diferentes, bajo condiciones edáficas similares, sobre el comportamiento de la población de hongos endomicorrízicos arbusculares nativos dominantes.

## **OBJETIVO GENERAL.**

Estudiar en 3 agroecosistemas, el efecto que pudo haber dejado el manejo de los cultivos: cacahuete (*Arachis hypogaea* L.), maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L.) en los hongos arbusculares nativos, bajo condiciones edáficas similares, a través del desarrollo endomicorrízico en "Rhodes grass" *Chloris gayana* Kunth, durante su ciclo biológico.

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- 1.- Localizar el área de estudio que reúna las características edáficas y de manejo agrícola planteados en la hipótesis.
- 2.- Determinar las características físicas y químicas de los suelos.
- 3.- El establecimiento de un experimento en macetas con suelo de los tres agroecosistemas, bajo condiciones de invernadero, con base en un diseño experimental que permita evaluar, de manera cualitativa y cuantitativa, el desarrollo de la micorriza arbuscular nativa, curvas de crecimiento, biodiversidad y rasgos morfológicos de la colonización, durante las diferentes etapas del ciclo biológico de *Chloris gayana* Kunth.
- 4.- Conocer los patrones de colonización tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo.
- 5.- Estimación del número de propágulos resistentes (esporas) por gramo de suelo seco.
- 6.- Determinar la viabilidad de las esporas.
- 7.- Análisis estadístico de los resultados.

## IV. ANTECEDENTES Y REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 1. GENERALIDADES.

En el contexto general de las interacciones, que ocurren entre los componentes vivos en cualquier ecosistema destacan, tanto por su incidencia cuantitativa como por su importancia cualitativa, las denominadas simbiosis (Cooke, 1977). En muchos casos, las simbiosis tienen lugar entre organismos autótrofos y heterótrofos, dentro de las cuales los dos tipos de organismos implicados se benefician mutuamente, por lo que se les denominó simbiosis mutualistas (Harley, 1969; Cooke, 1977). Dentro de éstas, las establecidas entre las plantas superiores y ciertos integrantes de la microbiota del suelo, desempeñan una función clave, tanto en ecosistemas naturales como en los modificados por el hombre (Janos 1980 y 1988); ya que los microorganismos implicados desarrollan actividades que repercuten en la nutrición de las plantas y que éstas, por sí solas, no pueden llevar a cabo, o que realizan con dificultad, como es la captación de nutrientes que se solubilizan y difunden lentamente en el suelo; Gianinazzi et al., 1983; Palacios et al., 1986 y 1987; Smith et al., 1994; Marschner et al., 1994). A cambio, los microorganismos heterótrofos asociados, reciben de la planta substratos carbonados, así como un nicho ecológico protegido. (Azcón y Barea, 1980; Gianinazzi y Gianinazzi, 1983; Le Tacon, 1985).

Entre las simbiosis mutualistas, implicadas en esta última actividad, destacan las que ocurren entre las raíces de plantas vasculares y ciertos hongos del suelo, conocidas con el nombre de micorrizas. Esta asociación de un hongo con una raíz conduce a la formación de un nuevo órgano con una morfología propia y una fisiología particular (Plenchette, 1982).

La mayoría de las plantas vasculares son capaces de formar micorrizas y, en la naturaleza, es el órgano mediante el cual las plantas absorben nutrientes del suelo (Gederman, 1968, 1971 y 1975; Hayman, 1974, 1980 y 1983; Janos, 1988).

El hongo, al colonizar la corteza de la raíz, en forma biotrófica no parasítica, ayuda a la planta a absorber los nutrientes minerales del suelo, (Marschner y Dell, 1994). Se sabe que las hifas del hongo se desarrollan en la raíz y emergen de ella desempeñando un papel importante en la absorción y traslocación de los iones fosfato hacia la planta, (Daft y Nicolson, 1966; Pearson y Tinker, 1975; Hayman, 1983; Palacios et al., 1986 y 1987; y Sylvia, 1992;) por los que, en suelos con un contenido bajo de fósforo asimilable (como es frecuente en la mayoría de los suelos agrícolas) las micorrizas representan una contribución fundamental para la economía nutricional de la planta. (Gerdemann, 1964, 1968 y 1975; Lewis, 1973; Powell, 1975; Abbott y Robson, 1977 b y 1984; Cox y Tinker, 1976; Azcón y Barea, 1980, Hayman, 1980 y 1983; Graham, 1983, ; Pacovsky, 1968 y Pacovsky y Fuller, 1986; Palacios et al., 1986 y 1987; Manjunath y Habte, 1988; Marschner y Dell, 1994; y Smith et al., 1994).

En más de un 90% de los casos, las micorrizas son del tipo llamado



vesículo-arbuscular (MVA) ahora denominada únicamente arbusculares en vista de que la presencia de arbusculos es la característica constante. Las micorrizas constituyen una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque se forman en la gran mayoría de las especies vegetales vasculares sino, también, por su presencia en casi todos los ecosistemas (Gerdemann, 1968 y 1971; Nicolson, 1967 y 1975; Abbott y Robson, 1977 a; Trappe, 1987; Mosse, 1981; Sieverding, 1991; Abbott and Gazey, 1994).

Sutton, et al. (1983) mencionan que tanto la micorriza arbuscular (MA), como la ectomicorriza (EM) incrementan, por medio de su micelio exterior, la capacidad de las plantas para la absorción de nutrimentos minerales, especialmente los iones de muy baja movilidad como es el fósforo, (Gerdemann 1964; Daft y Nicolson, 1966; Timmer y Leyden, 1978; Sieverding y Galvez, 1988; Marschner y Dell, 1994). Además, los hongos micorrízicos de orquídeas, y algunos hongos EM, pueden directamente reciclar los nutrimentos, a partir de la hojarasca. Los hongos micorrízicos tienen una gran importancia en el cierre del ciclo de los nutrimentos por su eficiencia en la absorción de éstos, a partir de la solución del suelo, (Daft y Nicolson, 1966; Murdoch, et al., 1967; Janos, 1980 y 1988; Marschner y Dell, 1994; y Jeffries y Barea, 1994).

Las micorrizas han sido tan importantes en el desarrollo de los vegetales superiores, que se han encontrado vestigios de ellas en plantas que existieron hace 350 millones de años, (Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; y Le Tacon, 1985). Parece ser que tienen un origen común a partir del cual han coevolucionado. Kidston y Lang, al observar el famoso fósil de *Rhinia*, encontraron micorrizas arbusculares. (Harley, 1969; Chaloner, 1970; Nicolson, 1975; Pyrozinski and Malloch, 1975).

## 2. La Endomicorriza Arbuscular.

Las micorrizas V.A. fueron reconocidas, por primera vez, en 1923 por Peyronel. Sin embargo, Dangerard en 1900 fue el primero en nombrar a un hongo vesículo-arbuscular. (Butler, 1939; Mosse, 1953, 1956, 1959 y 1973; y Mosse y Bowen, 1968).

La endomicorriza tiene tres importantes componentes: (1) la raíz; (2) las estructuras del hongo en los espacios intercelulares y en el interior de las células de la raíz, y (3) un micelio externo en el suelo (Azcón y Barea, 1980; Carling y Brown, 1982; Harley y Smith 1983; Le Tacon, 1985; y Sylvia, 1992).

Gerdemann, (1971); Azcón y Barea, (1980); Le Tacon (1985); mencionan que los hongos endomicorrízicos arbusculares son constituyentes esenciales de la microbiota natural del suelo y, probablemente, colonicen mas tejido vegetal que cualquier otro tipo fungal (Trappe, 1987). Su abundancia y su influencia en la nutrición y crecimiento de las plantas es de gran trascendencia fisiológica y ecológica para el buen funcionamiento y estabilidad de las comunidades vegetales (Hayman, 1983; Janos, 1988; Sieverding, 1991; Abbott and Gazey, 1994; y Jeffries y Barea, 1994).

Estos hongos, se encuentran distribuidos en diversos habitats, desde

el ártico hasta el trópico; en ambientes áridos y húmedos; formando parte tanto de comunidades naturales, como de ecosistemas altamente perturbados, (Hayman, 1975, 1978 a, 1982, y 1987; Mosse, 1981; Trappe, 1987).

Además, tienen gran importancia en el crecimiento y sobrevivencia de plantas de interés agrícola, hortícola, frutícola y forestal.

La endomicorriza estimula el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente, en suelos de baja y moderada fertilidad (Palacios et al., 1986 y 1987)

El hecho de que tengan un espectro de hospederos extremadamente amplio, obliga a catalogarlos como inespecíficos (Nicolson, 1967). Sin embargo, se registran diferencias en el grado de susceptibilidad del huésped y en la adaptabilidad del hongo a determinadas condiciones (Gerdemann, 1975; Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985; Trappe, 1987; Palacios et al., 1986, 1987 y 1994). La existencia, por ejemplo, de hongos más adaptados a especies forestales y otros a cultivos agrícolas es un hecho comprobado, (Sieverding, 1991). Asimismo, se sabe que el pH de un suelo es un factor determinante de la presencia y efectividad de ciertos tipos micorrízicos, además de operar en distintos hospederos y bajo diferentes condiciones ecológicas, (Azcón y Barea, 1980; Le Tacon 1985).

Green et al. (1976) mencionan que *Glomus mosseae* tiene un grado óptimo de germinación a pH 7, pero a pH 5 no germina. En cambio *G. heterogama* y *G. caralloidea* germinan a pH de 5 y 6, respectivamente.

Sparling y Tinker, 1978, mencionan que, en pastizales ácidos, al norte de Inglaterra, hay una reducción en el número de esporas, pero no en el grado de colonización.

En general, los factores que afectan la distribución, actividad y supervivencia de los hongos endomicorrízicos son los siguientes: fertilidad del suelo, humedad, materia orgánica, nivel de oxígeno en el suelo, disponibilidad de nutrimentos, temperatura, intensidad de luz, vegetación, susceptibilidad del hospedero, efectividad y colonización del endófito, patógenos foliares y radicales. Además, la mesofauna del suelo tiene gran trascendencia sobre la actividad micorrízica sobresaliendo, en forma especial, los colémbolos, nemátodos, ácaros, arácnidos y oligoquetos. (Azcón y Barea, 1980; Hayman, 1974; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985).

Estas consideraciones permiten concluir que existe cierta especificidad de la MA, en términos de efectividad de la simbiosis, aunque ésta parezca depender más de la interacción con un tipo de suelo y condiciones de cultivo, que de la relación con un huésped en particular. (Abbott y Robson, 1977 a; Azcón y Barea, 1980; Bagyaraj, 1984; Baltruschat y Dehne, 1988; Crush, 1975; Hayman, 1970, 1975, 1978, 1982; Hayman et al., 1975; Hayman y Mosse, 1979; Abbott y Gazey, 1994).

La MA está ausente solamente en muy pocas familias, sin embargo, este fenómeno es de interés especial para los micorrizólogos (Tester et al., 1987), en vista de que un gran número de géneros o especies de las familias Amaranthaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Commelinaceae, Lecythidaceae, Portulacaceae, Proteaceae, Restionaceae, Sapotaceae y Zygophyllaceae no forman micorriza. Sin embargo, algunos

géneros y especies de estas familias son micorrízicos y, por otro lado, dentro de algunas familias en las que todos sus representantes son micotróficos, hay algunos géneros no micorrízicos; por ejemplo de las Leguminosae, generalmente micotróficas, *Lupinus* no lo es, aún cuando sus raíces se encuentren entremezcladas con raíces colonizadas de otras plantas. Probablemente, algún factor de la fisiología de la raíz les confiere resistencia a la micorrización (Gedermann, 1968; y Nicolson, 1975). Sin embargo, Hirrel et al. (1978) mencionan que esta puede no ser absoluta (Sieverding, 1991).

Gedermann (1968) enlistó a 14 plantas de las que se cree no forman micorriza o presentan una muy pequeña colonización, entre las cuales se incluyen las Cruciferae, Chenopodiaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Juncaceae y Cyperaceae. Aunque hay artículos en los que se menciona que, ocasionalmente, se ha encontrado alguna colonización en representantes de estas familias; pero con una apariencia atípica, ya que carecen de arbusculos. (Williams et al., 1974).

## 2.1 Clasificación.

Innumerables estudios se han realizado sobre la simbiosis micorrízica, encaminados principalmente a los aspectos fisiológicos, dada la importancia que reviste su potencialidad como "fertilizantes biológicos". En cambio, son menos numerosos los trabajos que tratan sobre la taxonomía, quedando aún muchas dudas por esclarecer en cuanto a las relaciones e independencia específica de unas especies con otras. Desde 1809 Link, al describir el género *Endogone*, observó las estructuras internas radicales, pero no supo el papel que estas desempeñaban ni como se formaban. En 1845 Tulasne y Tulasne describen el género *Glomus* y establecen dos especies *macrocarpus* y *microcarpus*. En 1885, Frank introduce el término micorriza, definiéndolo como la asociación planta-hongo, y Thaxter, en 1922, fue el primero en realizar una monografía de la familia Endogonaceae, donde incluye *Endogone*, *Glaziella*, *Sclerocystis* y *Sphorocreas*. Pocos avances se tuvieron durante un período considerable pero, desde que Gedermann y Nicolson, en 1963, propusieron el método de tamizado y decantación en húmedo para la separación de esporas, se empezaron a tener grandes avances sobre la taxonomía. Mosse y Bowen, en 1968 publican una clave para la identificación taxonomica de esporas del tipo *Endogone*. En 1974 Gedermann y Trappe, realizan la primera revisión de la Familia Endogonaceae, formadora de micorriza, basándose en características morfológicas y de germinación. Estos autores presentaron los géneros; *Glomus*, *Endogone*, *Modicella* y *Sclerocystis*, y describen los géneros *Acaulospora* y *Gigaspora*, dando un total de 43 especies, ubicándolas en el orden Mucorales y en la clase de los Zygomycetes (Mosse, 1953; Gedermann y Trappe, 1975; Schenck y Pérez, 1987 y 1990. Ames y Schneider (1979) encontraron un nuevo género en la familia al que denominaron *Entrophospora*. En 1986, Walker y Sanders hacen la separación de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*, basándose en las diferencias de la germinación de las esporas y la presencia de un escudo en la pared de estas últimas. En 1987 Schenck y Pérez realizan una compilación y presentan seis géneros formadores de micorriza vesículo-arbuscular con

un total de 122 especies. Posteriormente, en 1988, Berch resume la descripción de 125 especies y Morton de 126. Finalmente, en 1990, Morton y Benny proponen el nombre de micorriza arbuscular, considerando las 126 especies, ya que todas son capaces de formar la endomicorriza y proponen el siguiente arreglo taxonómico:

- Orden: *Glomales* Morton y Benny
  - Suborden: *Glomineae* Morton y Benny
    - Familia: *Glomaceae* Pirozynski y Dalpé
      - Género: *Glomus* Tulasne y Tulasne
      - Género: *Sclerocystis* (Berkeley y Broome) Almeida y Schenck
    - Familia: *Acaulosporaceae* Morton y Benny
      - Género: *Acaulospora* (Gerdemann y Trappe) Berch
      - Género: *Entrophospora* Ames y Schneider
  - Suborden: *Gigasporineae* Morton y Benny
    - Familia: *Gigasporaceae* Morton y Benny
      - Género: *Gigaspora* (Gerdermann y Trappe) Walker y Sanders
      - Género *Scutellospora* Walker y Sanders

La clasificación involucra el arreglo de organismos similares dentro de taxa (grupos taxonómicos) de acuerdo con características relacionadas con el desarrollo (Ontogenia) y la evolución (Filogenia) Morton, 1990.

## 2.2 Identificación de las esporas.

El concepto usado en la taxonomía de los Glomales esta basado en la morfología de la espora con criterios que permiten delimitar la especie como son: el tamaño, la forma, el color, la estructura basal, modo de germinación, ornamentación y estructura de la pared o número de capas (Rosendahl, et al., 1994).

(1) **Talla y forma.** Las esporas son, generalmente, esféricas u ovaladas; su talla puede ser, en algunas especies, de 50 micrómetros o menos, de diámetro; en *Glomus microcarpus* de 100 a 200 micrómetros o más; en *Glomus mosseae*, *Gigaspora calospora* y *Glomus caledonius* de 200; de 400 micrómetros en *Gigaspora margarita*, llegando a cerca de 1 mm en algunas especies de este género.

(2) **Color.** Este puede ser determinado bajo un microscopio de disección con luz incidente ya que, bajo luz transmitida, la densidad del contenido de algunas esporas es pálido o no transparente, por ejemplo, la espora blanca de *Gigaspora margarita* puede parecer negra. Entre los colores más comunes están: el gris, amarillo pálido, amarillo pardo, rojo pardo, verde pardoso, negro, café, miel y ámbar.

(3) **La unión a la hifa.** Puede ser simple (*Glomus* y *Sclerocystis*), bulbosa (*Gigaspora*) o ausente (*Acaulospora*).

(4) **Estructura citoplasmática.** Hay dos categorías la reticulada (red de citoplasma que envuelve pequeñas vacuolas) y la vacuolada (cuando el citoplasma contiene grandes vacuolas amarillas como en *G. mosseae* que, al final, se unen para formar una grande; Mosse y Bowen (1968 a).

(5) **Grosor de la pared y el número y tipos de capas presentes.** Generalmente, hay una capa fina, exterior, blanca, y una gruesa quitinosa, frágil, en el interior de la pared de la espora; por ejemplo, *Glomus mosseae* y *Glomus fasciculatum*, tienen una pared simple (Walker, 1986). Los tipos reticulados, generalmente, tienen la pared delgada, blanca y membranosa Gerdemann y Trappe (1974).

(6) **Modo de germinación.** En los tipos vacuolados, generalmente, se forma un tubo de germinación que emerge a través de la hifa principal. En el tipo reticular se pueden formar diferentes tubos de germinación que emergen a través del costado de la espora, Mosse y Bowen (1968).

(7) **Esporas secundarias.** Estas son pequeñas, lisas o espinosas; se forman aisladas o en racimos, o arregladas en espiral consideradas, algunas veces, vesículas externas o células auxiliares.

(8) **Esporocarpos.** Son formados por algunas especies. En *Glomus mosseae* alcanzan dimensiones un poco menores a 1 mm de diámetro, con una pared externa formada por hifas entretreídas y flojas, encerrando de 3 a 12 clamidosporas irregularmente arregladas. En algunas regiones templadas y tropicales pueden llegar a medir hasta 1 cm o más de diámetro, y pueden contener hasta 100 esporas embebidas en una matriz. *Sclerocystis rubiformis*, con esporocarpos pequeños (que miden alrededor de 300 a 500 micrómetros) carentes de pared exterior, sus esporas están arregladas a manera de un fruto de frambuesa.

### 2.3 Aspectos generales sobre el proceso de colonización.

Las esporas, las hifas del hongo en el suelo (micelio externo) y los fragmentos de raíz colonizada con estructuras fungales constituyen el inóculo (propágulos), a través del cual los hongos pueden empezar la colonización de la raíz de una planta hospedera. (Mosse, 1953; Gerdemann, 1968; Mosse y Bowen, 1968; Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985; Bowen, 1987; y Sieverding, 1991). Los HMA producen esporas resistentes a partir del micelio externo. Estas pueden formarse a partir de la tercera a la cuarta semanas después de iniciada la colonización de la raíz pero, en algunas otras especies, pueden tardar en formarse hasta 6 meses. La esporulación del hongo es un proceso dinámico, ya que mientras algunas esporas se están formando, otras pueden estar germinando y colonizando otras raíces. Las esporas pueden sobrevivir por varios años en el suelo, en cambio la capacidad colonizadora del micelio (separado de la planta hospedera, o después de haber muerto ella) es de 2 a 4 semanas, aproximadamente. (Abbott y Robson, 1977 a, 1979, 1984 b; Tommerup, 1983, 1984 y 1985; Azcón, et al., 1986; Aguilar, et al., 1986; An y Hendrix, 1988; Sieverding, 1991;

Abbott y Gazey, 1994).

La germinación de las esporas se puede lograr, con cierta facilidad, utilizando cultivos axénicos, en el laboratorio, simplemente en agar-agua, de lo cual se deduce que no requiere ningún estímulo específico, producido por la planta u otros organismos del suelo para que se desencadene; aunque puede ser estimulada por diversos factores, como pueden ser la concentración de los nutrimentos, temperatura, luz, los sustratos orgánicos, la humedad, exudados de las raíces, pH, etc. (Mosse, 1959; Schenck et al., 1975; Grenn et al., 1976; Hepper, 1979; Daniels and Trappe, 1980; y Koske, 1981). Hepper y Smith (1976) encontraron que el zinc y el manganeso inhiben la germinación de las esporas.

De acuerdo con Siqueira (1987) el punto clave en el inicio del proceso de la germinación implicaría la activación de proteasas de las membranas, cuando la espora absorbe agua y aumenta su volumen hasta un 40%. (Zeiby y Kidby, 1980 a, 1980 b y 1982).

Sward (1981) menciona que el inicio de la germinación está marcado por una activación y redistribución de la masa citoplasmática, así como por la división de los núcleos. Sin embargo, Burggraaf y Beringer, (1987), mencionan que durante el desarrollo del tubo germinativo no hay división nuclear, ya que no se ha detectado la síntesis de ADN nuclear durante este proceso. Hepper, 1979; y Beilby, 1983 deducen, de los resultados obtenidos, que en la síntesis de proteínas citoplasmáticas, algunas formas de ARN y ADN mitocondrial tiene lugar durante la germinación.

Bonfante (1984), observó que la hifa de penetración se reduce considerablemente de tamaño al penetrar la pared celular y, después, recupera el diámetro que tenía antes del adelgazamiento. Harley y Smith (1983), mencionan que la presión ejercida por el hongo sobre la pared celular hace que ésta se comprima y reduzca su grosor, durante la penetración mecánica. La hifa invasora alcanza la corteza media a través de los espacios intercelulares o por paso de célula a célula y, una vez allí, se ramifica y crece longitudinalmente, dilatando los espacios intercelulares, Scannerini y Bonfante (1983); Abbott y Robson (1984 b). Cuando el hongo alcanza la corteza interna, continúa desarrollándose longitudinalmente y emite frecuentes ramificaciones laterales, algunas de las cuales penetran intracelularmente para dar lugar a los arbusculos mediante ramificación dicotómica repetida (Carling y Brown, 1982).

Alexander et al. (1988), indican que, la invaginación del plasmalema, inducida por el desarrollo de gran cantidad de ramificaciones del hongo, lleva consigo un incremento de, aproximadamente, 10 tantos; o sea la relación área/volumen del citoplasma de la célula hospedera. Dexheimer et al. (1979) mencionan que el plasmalema de la célula hospedadora se invagina y crece alrededor de todas las hifas intracelulares, tanto en el caso de que éstas simplemente lo atraviesen, cuando formen "ovillos", o se ramifiquen para dar lugar a los arbusculos. Entre el plasmalema del hospedador y la pared del hongo se desarrolla una interfase, en la que se acumulan vesículas membranosas y unos depósitos de material

constituídos por fibrillas dispersas de polisacáridos .

El arbúsculo es la conexión más activa entre el hongo y la planta. El arbúsculo formado incrementa la actividad metabólica de la célula del hospedero debido, principalmente, a la transferencia bidireccional de metabolitos y nutrimentos de la planta al hongo y viceversa (Woolhouse, 1975).

En cuanto a la organización citológica del hongo, las hifas intercelulares poseen pequeños núcleos, mitocondrias y grandes vacuolas. Generalmente contienen, también, gránulos de polifosfatos, gotículas de lípidos y glucógeno y, en algunos casos, "organelos semejantes a bacterias" de función aún no establecida. En las ramas más finas del arbúsculo, las hifas tienen una organización citológica parecida, salvo que las vacuolas son más pequeñas y aparecen, además, abundantes cuerpos polivesiculares. También, muestran una distribución regular de los núcleos (Bonfante et al. , 1987).

#### **2.4 Estadios del desarrollo de la colonización**

En el desarrollo de la colonización de la raíz se distinguen tres fases: (1) **inicial o fase lag**, correspondiente a la colonización primaria; (2) **exponencial**, aquella durante la cual el hongo se extiende rápidamente en la raíz; y (3) la **meseta**, en la cual el hongo y la raíz crecen al mismo tiempo. La especie de hospedero y del hongo y, especialmente, las condiciones físicas y químicas del suelo, así como el resultado de la absorción de nutrimentos por la planta, influyen en la duración de la fase lag. La colonización se extiende en la fase exponencial, en donde el hongo tiene un crecimiento inter e intracelular, especialmente, en raíces secundarias y en la superficie de la raíz cuando ésta va haciendo contactos a cortas distancias, formando puntos de colonización. Probablemente, hay diferentes tipos de extensión de la colonización, según las diferentes especies, ya sea internamente o externamente por la superficie de la raíz del hospedero (Azcón y Barea, 1980; Carling y Brown, 1982; Harley y Smith, 1983; Wilson, 1984; Bowen, 1987). Los factores que afectan la tasa de crecimiento de la raíz y del hongo pueden, también, cambiar el equilibrio del desarrollo entre ambos. Los arbúsculos y las vesículas se forman y degradan continuamente durante las fases exponencial y de la meseta, (Sieverding, 1991).

#### **2.5 Cambios en la estructura del hongo durante la colonización.**

La pared de la espora es relativamente gruesa (12-15 micrómetros) y posee un elevado contenido en quitina (casi un tercio de su biomasa) mientras que sólo una pequeña fracción contiene aminoazúcares en forma no acetilada. La quitina, en las esporas de los hongos VA, está integrada en fibrillas que se organizan según diferentes modelos de tipo tridimensional. (Bonfante et al., 1986 a).

Cuando las esporas germinan, las hifas que se originan tienen paredes gruesas con estructura compleja, donde la quitina sigue siendo un

componente fundamental. Una vez dentro de la raíz, las hifas intracelulares, no ramificadas, de las capas externas tienen una estructura de pared similar a la del micelio externo, siempre de tipo fibrilar. Sin embargo, en las ramas finas de los arbusculos las paredes son mucho más delgadas (50 nm) y han perdido su estructura fibrilar para pasar a otra amorfa.

Bonfante et al. (1986 b) sugieren que, probablemente, no ocurre la polimerización de la quitina en las paredes de las ramas finas del arbusculo. Las recientes observaciones de Grandmaison et al. (1988) confirman la simplificación estructural del hongo, en términos de descenso en la formación de quitina, cuando ésta pasa de un estado de preservación y resistencia mecánica (espora) a otro relacionado con procesos de transferencia de nutrimentos (arbusculos).

Bonfante y Gianinazzi (1986), han sugerido que la planta podría modular la producción de enzimas como la quitinasa. Esta enzima, cuando es producida por hongos, controla el crecimiento y la ramificación de los mismos, mientras que, producida por la planta, puede controlar el ataque de hongos patógenos. Puesto que se ha demostrado la presencia de quitinasa, tanto en los hongos como en los vegetales con micorriza pero su ausencia en las plantas sin micorriza, no parece lógico asociar su presencia a los fenómenos de ramificación y pérdida de estructura fibrilar, característicos del arbusculo. Estas evidencias permiten sugerir que el hongo es afectado en su morfogénesis por el hospedero. (Bonfante, 1987; Lackie et al., 1987).

## **2.6 Respuesta de la planta a la colonización a nivel celular.**

Mientras que, a nivel de la parte aérea las plantas micorrizadas experimentan diversos cambios anatómicos, la raíz, como tal, no denota alteraciones notables. (Bonfante, 1984). Sin embargo, Fusconi et al., 1986, encontraron que la micorrización detiene la actividad meristemática, decreciendo el índice mitótico medio, y formando, consecuentemente, un tejido parenquimatoso en los ápices radicales.

Bonfante-Fasolo (1987) indica que los "ovillos" se forman en la corteza externa, y que las células colonizadas experimentan pocos cambios; las vacuolas, de considerable tamaño, permanecen centrales; y el núcleo, mitocondrias y retículo endoplásmico se distribuyen en la periferia de la célula, asociados a las hifas de los hongos. En el caso de los arbusculos, las células más profundas de la corteza muestran un aumento en el volumen del citoplasma y un incremento extraordinario en la superficie del plasmalema (Alexander et al., 1988).

Nemec, 1981, observó que el núcleo es, a veces, poliploide y el aparato de Golgi hiperactivo. Ello implica un incremento en el nivel de actividad metabólica celular. La vacuola se fragmenta en numerosas vacuolas pequeñas, duplicándose la superficie del tonoplasto y desapareciendo los gránulos de almidón.

Bonfante et al. (1988) sugieren que el hongo induce alteraciones en la textura de la pared al penetrar en las células corticales. El



desarrollo intracelular del hongo no evita que la pared ejerza una función defensiva en contra de patógenos. Las relaciones hongo-planta, a nivel celular, parecen totalmente compatibles. Esto se apoya en el hecho de que alrededor del hongo que penetra la pared y coloniza a la célula, no se depositan callosidades ni compuestos fenólicos.

Sigue siendo objeto de atención actual, definir las bases enzimáticas y fisiológicas que justifiquen que la penetración y colonización de las raíces, son dependientes no sólo del hospedero sino, también, del tejido colonizable.

## **2.7 Transporte de fosfato y carbohidratos.**

El proceso del transporte de fósforo "P" en una planta con MA se desglosa, para su estudio, en tres subprocesos generales que son: (1) absorción a partir del suelo; (2) translocación a través de las hifas; y (3) transferencia al hospedero.

La mayor parte de las investigaciones sobre el mecanismo del transporte de fosfatos en la MA se ha concretado a la traslocación por las hifas y su transferencia a la planta. Por tanto, se sabe poco sobre los mecanismos de captación a partir de la solución del suelo. La cantidad de ortofosfato presente en el micelio interno de hongos micorrízicos arbusculares aislados a partir de raíces digeridas enzimáticamente, da un gradiente de concentraciones suelo - célula de, al menos, 1/1000 Gianinazzi y Gianinazzi (1986). El orden de magnitud es tal, que se hace necesario considerar la existencia de un mecanismo activo a nivel del plasmalema del hongo, para que ocurra tal captación de fosfato (Smith y Smith, 1986).

Callow et al. (1978); Capaccio y Callow (1982), sugieren que la traslocación tiene lugar, fundamentalmente, mediante corrientes citoplasmáticas rápidas en cuyos mecanismos de translocación por las hifas se utiliza del 16 al 40% del fósforo total captado por el hongo.

Cox y Sanders (1974); Cox y Tinker (1976) y Strullu et al. (1981), encontraron que el fósforo, al penetrar a la hifa, es rápidamente convertido en polifosfato osmóticamente inactivo, lo que evita que interfiera con el metabolismo celular mediante la vacuolación compartimentada.

Estudios bioquímicos sobre la transferencia han demostrado que los hongos arbusculares cuentan con las enzimas necesarias para la síntesis y degradación de polifosfato (Capaccio and Callow, 1982) y que una fosfatasa alcalina está, como en el caso de otros hongos que almacenan polifosfato, asociada en forma característica con las vacuolas del hongo (Gianinazzi y Gianinazzi, 1978; Gianinazzi et al., 1979).

Se ha sugerido que la transferencia de fosfatos, del hongo a la planta con MA está acoplada, de alguna manera, a la transferencia de carbohidratos del hospedero al hongo (Harley y Smith, 1983).

Capaccio y Callow (1982) indican que la actividad polifosfatasa está presente solamente en el micelio interno, y que los gránulos de polifosfato desaparecen de las vacuolas en las ramas finas del arbusculo, lo que sugiere que la descarga de polifosfatos del hongo ocurre dentro de las células del hospedador. (Cox y Tinker, 1976; Strullu et al., 1981). Como ya se indicó anteriormente, es muy probable que el sitio preferencial para la transferencia de fosfatos, del hongo a la planta, sea a través de la interfase viva en los arbusculos intracelulares y que, el fosfato liberado por el hongo a la matriz interfacial, sea transportado activamente a través de la membrana de la célula hospedante (Woolhouse, 1975; y Smith y Smith, 1986)

## 2.8 Distribución en los ecosistemas naturales.

Los hongos arbusculares se encuentran, en todos los ecosistemas terrestres, debido a que son pocas las plantas vasculares que no los presenten en sus raíces. En más de tres mil artículos recientes, se menciona que cerca del 95% de todas las especies del reino vegetal son micotróficas, incluyéndose a las Briófitas, Pteridófitas; Gymnospermas, y Angiospermas (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968, 1971; Azcón y Barea, 1980; Harley and Smith, 1983; Sutton et al., 1983; Le Tacon, 1985; Trappe, 1987; Hayman, 1987; Brundrett, 1991; Sieverding, 1991; y Abbott and Gazey, 1994).

En especies de plantas tropicales se encontró que solamente el 13.4% no estaban micorrizadas, el 70.9% tenían MVA y el 15% tenían un tipo distinto de endomicorriza. (Sieverding, 1991).

Según Mosse (1981) las micorrizas VA, a escala global, están virtualmente ubicadas en las regiones templadas, tropicales, y en regiones árticas. Este tipo de colonización se ha observado en muchos tipos de ambientes, incluyendo el bosque tropical perennifolio (Redhead, 1968); bosque deciduo (Mosse y Hayman, 1973); pastizales (Khan, 1974); dunas (Nicolson, 1975); sabanas y matorrales (Hayman, 1982). Las únicas excepciones serían los bosques de coníferas que, en general, forman ectomicorrizas; así como las plantas que viven en ambientes pantanosos o acuáticos. Sin embargo, Sandergard y Laegard (1977) y Bagyaraj et al. (1979), mencionan haber observado MVA en ciertas especies de plantas acuáticas.

Las esporas de *Acaulospora laevis*, también llamadas "sesil color miel", han sido encontradas en Australia, Brasil, Inglaterra, Nueva Zelandia, Pakistán, Escocia, sur de Africa, en Estados Unidos y recientemente en México; esto puede deberse a la amplia gama de hospederos, Mosse y Bowen (1968); y Gerdemann y Trape (1974); Gavito (1991); y Fitter y Merryweather (1992).

Nicolson y Schenck (1979) indican que las especies grandes como *Gigaspora* se han encontrado en mayor cantidad en climas calientes, y han sido reconocidas desde el corazón de Australia hasta las dunas de arena (Koske, 1975). En cambio, las especies de *Glomus* y *Acaulospora* se han encontrado en praderas de Nueva Zelandia (Crush, 1973, 1975) y en Bosques

(Hall, 1975, 1977; Hayman, 1978 a).

Dentro de las diferentes regiones terrestres, las micorrizas VA (actualmente MA) tienen una amplia distribución ecológica. Se han encontrado en muchos ecosistemas incluyendo: bosques húmedos, bosques abiertos, montañas, sabanas, praderas, matorrales, dunas de arena, semidesiertos y aún en ambientes pantanosos (Mejstrik, 1972).

Redhead (1977) encontró MVA en 15 plantas exóticas de un bosque lluvioso en Nigeria. En el Brasil, la MA se ha encontrado, también, en las raíces de magnolias en un bosque lluvioso (St. John, 1980) y en muchas plantas leñosas, de intrincadas regiones (Thomazini, 1974). En un bosque deciduo de Inglaterra todas las plantas examinadas, excepto las que tenían ectomicorriza, presentaban MA (Mosse y Hayman, 1982).

Thapar y Khan (1973) encontraron una diversidad importante de MA en bosques de la India, lo que les permitió aislar once tipos de esporas diferentes. Asimismo, en praderas, chaparrales y bosques, en el sur de Nueva Zelandia, se ha encontrado una enorme densidad y diversas esporas en proporciones de 6 a 1590 por 100 g de suelo (Hayman, 1978a). Todos estos estudios sugieren la gran diversidad topográfica y climática de ambientes en los cuales se puede encontrar una amplia gama de especies de hongos endomicorrízicos arbusculares (Brundrett, 1991; y Fitter y Merryweather, 1992).

## 2.9 Distribución en los agroecosistemas.

La mayoría de las especies de plantas pertenecientes a las dos familias económicamente más importantes, (Leguminosas y Gramíneas) están normalmente micorrizadas. No obstante, hay especies que son más rápidamente colonizadas que otras. El sistema radical de muchas leguminosas forrajeras, como *Stylosantes*, *Trifolium* sp., y la alfalfa (Lambert et al., 1980) generalmente, tienen una fuerte colonización de MA. Entre las leguminosas de grano, el frijol (*Phaseolus*) es de las más micorrizadas (Sutton, 1973). En cambio, *Lupinus* tienen muy poca o ninguna colonización (Morley y Mosse, 1976; Trinick, 1977). Por otra parte, entre las gramíneas, el centeno puede ser mucho menos micorrizado que otros cereales (Strzemska, 1975) y el maíz es, generalmente, muy colonizado en mayor proporción que el trigo (Gerdemann, 1968; Azcon y Ocampo, 1981). Sin embargo, Gavito (1991) encontró diferentes grados de respuesta del maíz a la micorrización.

Entre otros cultivos, considerablemente colonizados por HMA, se incluyen: el sorgo, cebada, algodón, vid, arroz, olivo, limón, cacao, tabaco, caña de azúcar, piña, lechuga, cebolla, garbanzo, soya, fresa, manzana, caucho, té, papaya, palma de aceite y varios bulbos ornamentales. Entre los cultivos con moderada colonización están: el trigo, café y jitomate. (Sieverding, 1991).

Se pueden presentar grandes diferencias intraespecíficas en el potencial de colonización, de ecotipos de HMA y plantas de cultivo o clones de la misma, como ha ocurrido en: trigo, alfalfa, caña de azúcar

, haba, etc. (Hayman, 1982; Palacios et al., 1987; y Abbott y Robson, 1984 b y 1994). Además, las condiciones ambientales afectan la formación de la endomicorriza arbuscular, o el grado de colonización en las raíces. Por ejemplo, el arroz cultivado bajo el sistema de inundación no forma MVA. Asimismo, altas concentraciones de fertilizantes de N, P, y K inhiben la formación de la MA (Hayman, 1981 y 1982; y Baltruschat y Dehne, 1988). También, la concentración natural del inóculo endomicorrízico en el suelo determina el grado de colonización (Abbott y Robson, 1984 b).

Schenck y Schroeder (1974), encontraron, en varias especies de Endogonaceae, hoy llamados Glomaceae, cierta afinidad por las temperaturas altas; lo que explica la variación estacional, ya que fue recobrado un mayor número de esporas en verano, con respecto a la primavera e invierno.

Las especies de plantas que tienen un sistema poco extensivo de raíces son altamente dependientes de la endomicorriza. En éstas, se incluye a cassava (*Manihot esculenta* Crantz), *Citrus* spp., cebolla (*Allium* spp.) y muchas leguminosas tropicales.

La dependencia de las plantas a la endomicorriza, a menudo se correlaciona con la morfología de los pelos radicales. Las especies de plantas con una alta densidad de pelos radicales largos dependen, en menor grado, de la MA que aquellas con pelos cortos y escasos. La dependencia de la micorriza es una característica intrínseca de las plantas (Janos, 1988). Las plantas pueden depender obligadamente o facultativamente de la MA. Su dependencia estará en relación a su habilidad para crecer sin la MA. La concentración de los fertilizantes en el suelo, así como de otros agroquímicos son factores que pueden favorecer a endófitos específicos, cambiar la composición de las especies, y la densidad de la población de los hongos micorrízicos, en los agroecosistemas (Hayman, 1982).

La población de hongos endomicorrízicos arbusculares en áreas de cultivo es afectada por la diversidad de suelos, plantas y factores medioambientales, su ecosistema natural, además de las diferentes prácticas agrícolas y hortícolas, por ejemplo: la labranza, el barbecho y las rastras que reducen drásticamente el número de esporocarpos de HMA en los suelos de cultivo (Kessler y Blank, 1972).

De acuerdo con Butler (1939) las raíces colonizadas pueden ser más abundantes en las hortalizas y plantaciones de cultivos perennes o semiperennes, que en campos sembrados anualmente. No obstante, en estudios más recientes (Hayman, 1978) se han encontrado más esporas de micorrizas VA en los campos con cultivos anuales. Esto puede ser debido a las presiones de selección sobre una población mixta de Micorrizas VA; lo que favorece a estos endófitos capaces de sobrevivir, en forma de esporas, al período del barbecho durante el lapso entre un cultivo y el siguiente; sin la presencia de plantas hospederas (Hayman et al., 1975).

Mosse y Bowen (1968); Herrera y Ferrer (1980), indican que, en muchas partes del mundo, predominan los suelos no cultivados, con uno o dos

tipos de esporas; sin embargo, en suelos cultivados se han encontrado hasta cinco tipos diferentes. Estos autores encontraron que en el 74% de las muestras de suelos colectadas había un solo tipo de spora; en el 20% había dos; y en el 6% tres (Abbott y Robson, 1977 a; Baltruschat y Dehne, 1988; Brundrett, 1991; y Abbott y Gazey, 1994).

Hayman et al. (1976) encontraron, en el sur de España, que en cultivos combinados con Maíz, *Phaseolus* y la vid fueron muy micorrizados; los olivos fueron variables en su micorrización, y los tomates fueron bastante y rápidamente colonizados.

La población de esporas de HMA son bajas en suelos cultivados, probablemente, debido a la presencia de fertilizantes y algunos otros agroquímicos. Igualmente, tanto la rotación de cultivos como los diferentes grados de susceptibilidad de las plantas de cultivo a la micorriza arbuscular, se manifiestan por cambios en la población de propágulos de estos microorganismos (Hayman, 1982).

Kruckelman (1975) observó más esporas en los monocultivos de trigo, que en los suelos donde se estableció, tanto la rotación trigo-avena como monocultivos de avena, y un menor contenido de esporas en cultivos de papas. Probablemente, el volumen del suelo ocupado por el sistema radical de un cultivo, lo mismo que el grado y la longitud de la raíz colonizada influya en la producción de esporas. En Rothamsted, U.K. se observó que el número de esporas puede depender de los niveles de fertilización fosfatada en el suelo, (Hayman, 1980).

La considerable variación en la población de hongos micorrízicos arbuscular, en los suelos de cultivo, puede ser observada aún dentro de un mismo sitio. Esto puede ser, parcialmente, explicado por los efectos inhibitorios de las grandes aplicaciones de fertilizantes nitrogenados y fosfatados, Strzemska (1975). Sin embargo, la fertilización puede tener un efecto positivo sobre la micorriza A. si la fertilización inicial del suelo es muy baja (Kruckelmann, 1975).

Los fungicidas aplicados al suelo deprimen la población de hongos A. y, paradójicamente, algunos insecticidas y nematicidas (Aldicarb) la incrementan, excepto cuando hay altos niveles de nitrógeno (Ocampo y Hayman, 1980). Algunos otros nematicidas pueden incrementar la población de hongos micorrízicos A. (Bird et al., 1974). Pero, en general, los insecticidas producen decremento en ellas (Kruckelmann, 1975). No obstante, las especies de HMA pueden diferir en susceptibilidad a los fungicidas (Spokes et al., 1981).

Schenck y Kinloch (1980), encontraron una marcada diferencia en la población de hongos micorrízicos arbusculares, al comparar suelos que permanecieron con maleza durante 7 años, suelos con selva recientemente talada, y suelos cultivados, notándose que, en el cultivo de soya se detectó el menor número de esporas, en comparación con los otros cultivos. Además, observaron que tres especies de *Gigaspora* son las más numerosas en la soya; en los pastos prevalecieron los *Glomus*; *Acaulospora* estuvo presente en mayor grado en el algodón y cacahuate; mientras que

el sorgo fue el que tuvo un mayor número de especies de HMA.

La composición de las especies de una población de HMA, en suelos de cultivo, puede ser cambiada por las enmiendas y la fertilización. Por ejemplo, el número de esporas del tipo "White reticulate" se reduce más que el tipo "Laminate", en suelos con textura migajón arenosa (Hayman, 1978 a). En Pakistán, las esporas de tipo reticular son más comunes en suelos arenosos, y las del tipo vacuolado, en arcillas barrosas (Khan, 1971).

En suelos de pradera alta se observó que las poblaciones de endófitos nativos fueron más disminuidas con la introducción de *Glomus mosseae* y *Glomus fasciculatum*, que por la aplicación de fertilizantes fosfatados (Hayman y Mosse, 1979).

La distribución de esporas de los tipos "color miel sesil" y "amarilla vacuolada", en el oeste de Australia, fueron relacionadas al pH del suelo (Abbott y Robson, 1977 a).

Generalmente, se ha encontrado el mayor número de esporas a la mitad o al final del ciclo del cultivo (Mason, 1964; Hayman, 1970). Finalmente, se ha encontrado que la producción de esporas se incrementa cuando cesa el crecimiento de la raíz (Bethlenfalvay et al., 1982 b).

### 3. Función de la MA.

#### 3.1 Absorción del fósforo.

El papel de la micorriza arbuscular tiene gran importancia en la absorción del fósforo. (Gerdeman, 1964 y 1968; Daft y Nicolson, 1966; Holevas, 1966; Murdoch et al., 1967; Pearson y Tinker, 1975; Cox y Tinker, 1976; Abbott y Robson, 1977 y 1984 a; Hayman, 1983; Gianinazzi y Gianinazzi, 1983 y 1986; Palacios et al., 1986 y 1987; Ames y Bethlenfalvay, 1987; Manjunath y Habte, 1988; Sánchez-Beltrán et al., 1988; y Marschner y Dell, 1994, entre otros autores).

El significado de los hongos arbusculares se aprecia en el crecimiento de las plantas cuando el contenido de fósforo en el suelo es bajo (Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985; y Palacios et al., 1986). La concentración de fósforo en la solución del suelo es, en general, muy pequeña, siendo especialmente pobres los suelos tropicales como los Calcimagnésicos, y los Andosoles (Palacios et al., 1986 y 1987). Esta pobreza es especialmente notable en el suelo que está en contacto con la zona de crecimiento de la raíz (zona de agotamiento).

Experimentos llevados a cabo, tanto *in vitro* como en suelo, han mostrado que los hongos arbusculares, por medio de sus hifas externas que se desarrollan a partir de una raíz colonizada, pueden absorber fosfato soluble y transportarlo, a través de distancias relativamente largas, a los tejidos de la raíz (Cox and Sanders, 1974 y 1976; Schenck, 1982; Hayman, 1983; Pearson and Gianinazzi, 1983; Sieverding, 1983; Smith et al., 1994).

El micelio de la micorriza arbuscular en el exterior de la raíz crece

mucho mas allá de la zona de agotamiento, incrementando el volumen del suelo por explorar, por tanto, los beneficios de la simbiosis son debidos, principalmente, a la mayor capacidad de las raíces para absorber una mayor cantidad de fosfatos y otros iones poco móviles en el suelo. El mecanismo mas importante por el cual la MA incrementa la absorción de fósforo es de naturaleza física, es decir, simplemente debido a la capacidad de las hifas para la exploración de un mayor volumen de suelo. (Hayman, 1978 b; Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985; y Sylvia, 1986 y 1992).

Hayman (1983) indica que, al interaccionar el hongo y el hospedero, se origina una gran superficie de contacto. Este hecho significa una mayor capacidad de transferencia de los nutrimentos transportados por las hifas incrementándose, de hecho, la cantidad de raíz funcional que realmente absorbe fósforo del suelo. Es decir, la micorrización induce cambios fisiológicos en la planta, que contribuyen a mejorar la absorción de este y otros nutrimentos. Resumiendo, este autor enuncia tres situaciones: (1) las raíces se mantienen funcionalmente por más tiempo cuando están micorrizadas; (2) las raíces micorrizadas pueden absorber más fósforo del suelo, cuando este elemento se encuentra en concentraciones muy bajas (menos de 3 mg de P soluble en  $\text{NaHCO}_3$ ), que no puede ser absorbido por las no micorrizadas; y (3) las raíces micorrizadas son más activas porque contienen más energía metabólica que les permite absorber fósforo contra un gradiente de concentración ( $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  M en la solución del suelo, vs  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$  M en el interior de la raíz).

La mayor transferencia de P, desde el hongo hasta la planta, ocurre dentro de las células de la raíz donde se hacen presentes los arbusculos (Cox y Tinker, 1976; Gianinazzi y Gianinazzi 1983 y 1986; Bonfante, 1987; y Alexander et al., 1988); sin embargo, las hifas internas en la raíz, también descargan el fósforo en ésta. La transferencia del fósforo, del hongo al hospedero, tiene lugar con un proceso de intercambio con metabolitos de compuestos de carbono, del hospedero al hongo. (Pearson y Tinker, 1975; Woolhouse, 1975; y Smith y Smith, 1986).

En relación a las fuentes de fósforo, se sabe que las plantas micorrizadas pueden usar la roca fosfórica más eficientemente que las plantas sin micorriza (Azcón y Barea, 1980; y Sieverding y Galvez, 1988).

### 3.2 Absorción del nitrógeno y otros nutrimentos.

En diversos experimentos se han puesto de manifiesto incrementos en la concentración de N en las plantas, como consecuencia de la formación de la endomicorrizas. (Harley y Smith, 1983). En un ensayo, en condiciones controladas, se puso de manifiesto la traslocación y la transferencia de N a la planta procedente de  $\text{So}_4(\text{NH}_4)$ , marcado. (Ames et al., 1983). Por otra parte, en condiciones naturales, y utilizando  $\text{N}^{15}$ , se confirmó la capacidad de la MA para incrementar la captación de N en las plantas, a partir del suelo. (Azcón y Barea, 1980; Le Tacon, 1985;

y Sieverding, 1991).

Hay evidencias de que el nitrógeno inorgánico (N) es tomado por las hifas de los hongos endomicorrízicos, como amonio, y transportado desde el suelo hasta la raíz del hospedero (Ames et al., 1983; Daft y El-Giahmi, 1975).

Se ha encontrado que la asimilación del N ocurre debido a la actividad enzimática de la nitrato reductasa y la glutamina sintetasa. En el caso de la nitrato reductasa el efecto de la micorriza parece ser debido, casi exclusivamente, a la mejora en la nutrición fosforada de la planta, en vista de los altos requerimientos en P de esta enzima. Con respecto a la glutamina sintetasa (GS), además del efecto mediado por el P, hay una implicación directa del hongo en el incremento de la actividad (GS) de la raíz, ya que esta actividad en plantas micorrizadas supera, aún, a la de aquellas no micorrizadas que han recibido dosis de fosfato. (Smith et al., 1985)

El potasio (K) y el magnesio (Mg) son, a menudo, detectados en altas concentraciones, tanto en plantas micorrizadas, como en plantas no micorrizadas. Sin embargo, trabajos experimentales sugieren que, en suelos deficientes en K, las hifas pueden transportar el K a la planta (Powell, 1975; Sieverding y Toro, 1988).

En general, los efectos directos de la simbiosis sobre la nutrición mineral están limitados a aquellos nutrimentos que son poco móviles y que están presentes, en bajas concentraciones, en la solución del suelo, como es el caso del: P,  $\text{NH}_4$ , K, Zn y Cu. (Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Le Tacon, 1985 y Marschner y Dell, 1994).

Se han detectado, también, incrementos en la concentración de bromuros, cloruros y el conjunto total de aniones, como respuesta a las micorrizas (Buwalda et al., 1983).

Strullu et al., (1981) han observado que los gránulos de polifosfato, presentes en las vacuolas, pueden llevar Ca asociado.

El calcio es, aparentemente, afectado por la toma de otros nutrimentos. Los micronutrimentos como: el zinc y el cobre (Le Tacon, 1985); el azufre (Gray y Gerderman, 1975); el boro y el molibdeno, son tomados activamente por las hifas de los hongos y transportados a la planta hospedera. Sin embargo, otros micronutrimentos esenciales para las plantas como el fierro (Fe), manganeso (Mn) y el cloro (Cl), se encuentran en altas concentraciones, tanto en plantas micorrizadas como en plantas no micorrizadas (Buwalda et al., 1983; y Sieverding, 1991).

Marschner y Dell, 1994 mencionan que la micorriza arbuscular puede proveer a la planta hospedera de: 80% de P, 25% de N, 10% de K y 60% de Zn y Cu (Li et al., 1991).

Algunas investigaciones recientes han mostrado un notable efecto de la micorriza arbuscular sobre algunos grupos funcionales de microorganismos del suelo, dentro de la micorrizósfera (Meyer y Liderman,



1985; Ames y Bethenfalvay, 1987).

### 3.3 Aumento de la resistencia al estrés hídrico.

En diversos estudios, se ha puesto de manifiesto que la MA mejora las relaciones hídricas de plantas crecidas en condiciones mésicas, e incrementan la resistencia al estrés hídrico. (Cooper, 1984). Debido a la importancia que reviste este hecho para el desarrollo vegetal, en la mayoría de los ecosistemas, se han realizado numerosas investigaciones. Se ha observado un incremento en la absorción del agua, al detectarse menor resistencia al transporte de este elemento en *Glycine max* (soya) inoculada con *Glomus fasciculatum*, ya que pudo incrementar la tolerancia a la sequía (Busse y Ellis, 1985).

Se ha observado que *Trifolium sp* micorrizado con *Glomus mosseae*, además de incrementar su conductividad radical, aumentó su transpiración en condiciones de suficiencia de agua. Más aún, se ha observado que las plántulas inoculadas pudieron extraer más agua del suelo a menor potencial, y se recuperaron más rápidamente del estrés hídrico, que las no micorrizadas (Hardie y Leyton, 1981).

Asimismo, se ha notado que la planta *Arachis hypogaea* inoculadas con *Glomus fasciculatum* en suelos esterilizados y con bajo contenido de P, tuvieron mayor capacidad para rehidratarse, después de 54 horas de sequía, que las plantas no micorrizadas. (Krishna y Bagyaraj, 1985)

Nelson (1987), menciona que el estrés causado por falta de agua es el máximo problema en ecosistemas tropicales. Los diferentes beneficios funcionales obtenidos con las MA por la relación agua-planta son muy importantes. Al respecto, la MA decrece la resistencia a la conductibilidad hidráulica, con efectos positivos sobre las fitohormonas y en la regulación estomática produciendo, además, una mayor ramificación del sistema radical (Duddridge et al., 1980; y Kothari et al., 1990).

Los resultados de muchas investigaciones, claramente sugieren que el aprovechamiento del agua, relacionado con las plantas micorrizadas, es un efecto indirecto para el beneficio en la nutrición de las plantas, especialmente, por la mayor absorción del P, así como el acrecentamiento de la toma del K (Sieverding y Toro, 1988).

De acuerdo con Cooper (1984), se puede concluir que la MA induce a la disminución de la resistencia al transporte de agua en plantas, es decir, produce un aumento en la conductividad hidráulica, bajo condiciones de deficiencia en fosfato. Tales efectos pueden estar asociados con cambios inducidos por la MA como pueden ser, entre otros: el mantenimiento de un potencial de agua más elevado en la planta; un ritmo de transpiración superior y resistencia estomática más baja.

## 4. Importancia de la MA en la Agricultura.

### 4.1 Efectos de la MA en sistemas agrícolas.

La micorriza arbuscular se encuentra presente en más del 70% de las plantas comestibles, forrajeras y forestales, que crecen tanto en el trópico como en el subtrópico (Suden y Friedrichsen; In Sieverding, 1991). Las evidencias, ya antes expuestas, acerca del beneficio que significa la micorriza para el crecimiento de las plantas, se han incrementado desde 1980, con numerosos trabajos publicados en relación a su efecto en diferentes plantas de cultivo. Como ejemplo, se citan a continuación algunos de los resultados más importantes.

Deal et al. (1972). Mencionan que *Glomus* sp. (antes *Endogone* sp.) colonizó las raíces de plántulas de vid a los 15 días después de haber sido propagadas en los viñedos. La dinámica de la colonización permitió un mayor crecimiento, mayor número de renuevos y, sobretodo, la mayor producción de frutos que fue altamente significativa, tanto en cantidad como en calidad.

En experimentos con plantas de cítricos se pudo observar que el desarrollo escaso y los síntomas de deficiencias nutricionales, se relacionan con plantas que carecen de hongos micorrízicos en suelos fumigados. Con el agregado al suelo de 32 esporas de *Glomus fasciculatum* por gramo, se consiguió que las plantas de limón rugoso produjeran frutos de mayor tamaño; este efecto fue del orden del 227.4% comparadas con las no inoculadas, lo cual se debe a que este hongo estimuló una mayor absorción tanto de macronutrientes como, también, de elementos menores. Esto fue corroborado en el análisis del porcentaje de fósforo, que se detectó en 0.280%, en las plantas micorrizadas, comparado con 0.17% de las no micorrizadas. También, se observó, en las plantas micorrizadas, un color verde más intenso en el follaje, mayor superficie foliar, así como una notable diferencia en el desarrollo radical (Ferreira, et al., 1982; In Sieverding, 1991).

Barrows y Rocardori (1977), encontraron que la MA estimula el enraizamiento, da protección a las plántulas y estacas durante el trasplante, y estimula el crecimiento de las plantas. Además, deprime la penetración y el crecimiento de patógenos fúngicos y fito parásitos radicales. De manera similar, Kleinschmidt y Gerdemann (1972) al inocular plantas raquílicas de cítricos con *Glomus mosseae*, consiguieron desaparecer el aspecto raquílico y los síntomas de la deficiencia de P, aumentando su crecimiento en forma notoria, comparando con las no inoculadas.

Kormanik et al. (1980) consideran que la micorriza A. puede significar un mayor contenido de clorofila A y B. Al respecto, la tasa fotosintética es normalmente mayor en plantas micorrizadas. Esto puede ser debido a la mejoría en la nutrición fosforada, ya que se sabe que la disponibilidad de fosfato inorgánico puede limitar la tasa fotosintética por estar este nutriente implicado directamente en la regulación de la

fotosíntesis, así como en la subsiguiente utilización o almacenamiento del fotosintato.

Se ha puesto de manifiesto una mayor eficiencia en la utilización de P, en el proceso de la fotosíntesis en plantas micorrizadas (Hayman, 1974 y 1983). Esto podría ser debido a que, como consecuencia de la colonización arbuscular, se induce en la planta la formación de compuestos que influyen en la estructura y/o función de los cloroplastos, entre los cuales podrían estar implicadas las fitohormonas, ya que se ha detectado un incremento del ácido indolacético y citoquininas (Allen et al., 1980).

La inoculación de *Trifolium repens* con hongos micorrízicos arbuscular, ha producido incrementos en la producción de biomasa, de 0 a 300% (Powell, 1977, 1979; Powell y Daniel, 1978; Hayman y Mosse 1979); y, en *Trifolium subterraneum*, aumentos de hasta 150% en peso seco.

La inoculación de maíz y trigo con *Glomus mosseae*, trasplantado a campos con baja fertilidad, permitió obtener el doble de incremento que en los cultivos que fueron fertilizados con 50 Kg/ha de fósforo (Khan, 1975).

Ross y Harper (1970), observaron que *Glycine max*, cultivada en condiciones de campo e inoculada con hongos endomycorrízicos, en suelos fumigados, produjo mayor biomasa, rendimiento de grano, contenido de proteínas y aceites en la semilla, y concentración de N, P, Ca, Cu, y Mn en la parte aérea.

Por otra parte, se ha observado que la biofertilización de soya (*Glycine max*), es decir, la doble inoculación (*Glomus-Bradyrhizobium*), más la adición de una dosis moderada de fósforo, propició incrementos en el contenido de fósforo, proteína y ácido linoleico en la semilla. Además, se observó una disminución del ácido linolénico responsable del mal sabor e inestabilidad del aceite. Estos resultados muestran un efecto positivo de la micorriza arbuscular en el mejoramiento de la calidad de la semilla de soya (Herrera, 1995).

En experimentos sobre el efecto del nitrógeno y el fósforo en el rendimiento de la simbiosis *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium*, se ha encontrado que, en suelos calcáreos muy pobres, tanto el N como en P, producen incrementos en el rendimiento en los tratamientos no inoculados, y en los inoculados producen un decremento en el rendimiento de grano. Sin embargo, con el tratamiento inoculado con *Glomus* y *Bradyrhizobium japonicum*, sin la aplicación del fertilizante, se logró el máximo rendimiento en grano, 3,259 Kg/ha (Palacios et al., 1994)

Palacios et al. (1986), en suelos con un contenido bajo en fósforo asimilable (2.2-7.2 ppm), y con una alta capacidad de retención de este elemento, observaron, que la cebolla (*Allium*, cepa L.), inoculada con *Glomus fasciculatum* incrementó su crecimiento y la absorción de fósforo. Además, observaron incrementos significativos en peso fresco y seco del

bulbo, 182% y 125% , respectivamente, y en 96% en el fósforo total del follaje (en materia seca), el cual resultó altamente significativo. Asimismo, Palacios et al. (1987), en los mismo suelos no esterilizados, inocularon cebolla variedad "cojumatlan" con *G. mosseae*, *G. fasciculatum* y *Gigaspora margarita* obteniendo incrementos en el peso seco de los bulbos de 216, 158 y 96%, y en el peso seco total de 200, 136 y 96%; respecto al fósforo total en la planta, los incrementos fueron de 753 y 1420%. En ensayos de campo, con esta misma planta en suelos calcimagnésicos muy pobres en fósforo disponible, los resultados corroboran los experimentos anteriores en el sentido de que la cepa introducida (*G. fasciculatum*) fue mas efectiva que las nativas, en donde los resultados más altos, tanto en el tamaño del bulbo como en el peso fresco total, correspondieron a los tratamientos inoculados y adicionados de N (Palacios et al., 1994).

Pacovsky y Fuller (1986) y Pacovsky (1986), al comparar el efecto de la fertilización fosfatada sobre la absorción y distribución de Fe, Mn, Cu, y Zn, con el de la inoculación con *Glomus mosseae* o *Glomus fasciculatum* en *Glycine max*, observaron que, en la soya, las concentraciones de Cu y Zn en flores y vainas fueron, generalmente, mayores, mientras que el porcentaje de Mn fue menor, por lo que concluyeron, respecto a estos micronutrientes, que la micorriza puede modificar la calidad de las semillas en una forma no reproducible con la fertilización.

Pacovsky et al. (1986 b) encontraron que, en la misma especie de planta, cuando es cultivada en suelos con alto contenido de Mn; la micorrización induce una menor asimilación y le proporciona protección contra la toxicidad por este elemento.

Owusu-Bennoah (1979) observó que al inocular *Medicago sativa* con *Glomus caledonius* se aumentó la producción de biomasa en 400%, en comparación con las no inoculadas. De igual modo, Nielsen y Jansen (1983), con el mismo simbionte, obtuvieron incrementos en el peso seco, concentración y contenido de fósforo en la parte aérea.

Jakobsen (1987) estudió, en plantas de chícharo (*Pisum sativum*) cultivadas en condiciones de campo, el efecto de la fumigación del suelo con Dazomet, y la inoculación con *Glomus aggregatum* más *Glomus caledonium* a dos niveles de fertilización con superfosfato (0 y 60 Kg P/ha). Este investigador observó que en las parcelas fumigadas, en comparación al testigo, la micorrización produjo un incremento en la absorción de fósforo por las plantas, aumentando en 44 y 19% el fósforo en la materia seca y en las semillas, respectivamente.

En esta forma, queda demostrada la importancia de las endomicorriza arbuscular en la nutrición mineral y en el desarrollo de las plantas.

#### **4.2 La necesidad de la aplicación y manejo de los hongos M.A. en los agroecosistemas.**

Concerniente a las mejores condiciones de temperatura y luz, los

trópicos tienen un alto potencial para la producción agrícola. Sin embargo, en grandes extensiones, el crecimiento de las plantas es limitado por el estrés hídrico (Young, 1976 y Van Wambeke, 1992) y, frecuentemente, ocurren situaciones donde se dan combinaciones de estrés con escasez de nutrimentos asimilables. Aproximadamente, el 43% de las áreas tropicales presentan insuficiencia de nutrimentos para las plantas (N, P, K, Ca, Zn, B), toxicidad por aluminio y manganeso, así como una alta capacidad para la fijación o retención de fósforo (Hardy, 1970). Este es el caso de los Andosoles y los suelos Calcimagnésicos, (Duchaufour, 1977).

La existencia de un gran número de combinaciones de factores ambientales, que son causa de estrés en la mayoría de los suelos; hace resaltar, aun más, la importancia de la MA como un atenuador al efecto del estrés en las plantas. Además, el papel de la MA se manifiesta en una estimulación significativa del crecimiento en casi todas las plantas de cultivo de importancia alimentaria, forrajera, industrial, hortícola y frutícola, en plantas de vivero e, inclusive, en especies forestales, (Sieverding, 1991).

Por otro lado, los hongos micorrízicos arbusculares son parte de la microflora nativa en todos los suelos, por lo que es posible que estén adaptados a cada una de las situaciones ecológicas que determinan los diferentes niveles críticos limitantes del crecimiento y desarrollo de las plantas.

La efectividad e infectividad de los hongos, en la respuesta a los diferentes sistemas de cultivo, permite encontrar el equilibrio ecofisiológico en la relación suelo-hongo-hospedero. Esto propicia una minimización del uso de agroquímicos. Se ha encontrado que, especialmente cuando el fósforo del suelo constituye un factor limitativo, la micorriza arbuscular puede incrementar notablemente el crecimiento de la planta (Palacios et al., 1986).

Es factible el aprovechamiento de las poblaciones de hongos micorrízicos arbusculares nativos, utilizando especies vegetales más susceptibles a micorrizarse. Ya que ciertas especies de plantas pueden alcanzar diferente grado de colonización y efecto con los distintos endófitos, (Mosse, 1972; Sutton, 1973 y Palacios et al., 1987).

La manipulación de las poblaciones de HMA nativos, en las prácticas agronómicas pueden mejorar, en gran medida, la fertilidad del suelo, ya sea implantando sistemas de rotación de cultivos y la asociación de especies compatibles; ciertas prácticas de siembra como la mínima labranza y el control físico de las malezas (acolchados, abonos verdes); aplicaciones racionales de abonos orgánicos e inorgánicos; control biológico de plagas y enfermedades. Además, la selección de los endófitos es fundamental para la búsqueda de una combinación óptima, (Hayman, 1981; Palacios et al., 1987; Sieverding, 1991).

### **4.3 Uso práctico de la MA en sistemas agrícolas.**

El uso práctico de los HMA, en los sistemas de producción agrícola, se enfocan a 4 puntos principales: (1) propiciar un uso eficiente de P del suelo y de los fertilizantes fosfóricos; (2) optimizar la productividad de los suelos y cultivos, con niveles bajos de insumos; (3) hacer posible y rentable la producción, aún en condiciones adversas; y (4) ayudar a restablecer cultivos en suelos erosionados o degradados (Sieverding, 1991).

Para poder aprovechar la MA en los sistemas agrícolas, es importante disponer de los resultados de las investigaciones de tipo ecofisiológico, agronómico y biotecnológico, que permitan determinar el potencial de la micorriza arbuscular en un sistema planta-suelo. Para tal objeto, se define y se limita el área de interés en una región geográfica, de este modo, se reduce la variabilidad debida a suelo y clima. Dentro de las variables restantes, se determina la dependencia de las plantas de interés, a las endomicorrizas y se investiga la respuesta de ellas a diferentes aislados de hongos arbusculares. Obviamente, para la prueba de la efectividad de varios aislados de hongos MA se requiere una colección de éstos, tanto de la región como foráneos (Sieverding, 1983).

#### **4.4 Manejo de los HMA en los agroecosistemas.**

Los estudios experimentales, *in vitro*, con HMA han sido limitados debido a que estos hongos son simbioses obligados, es decir, para su desarrollo requieren, necesariamente, de la planta hospedera. Después de los primeros trabajos realizados por Mosse en 1953, entre otros autores, que demostraron la colonización por medio de esporas, y la importancia de estos hongos para el desarrollo vegetal, diferentes métodos han sido desarrollados para facilitar el manejo, recolección, separación, y selección de esporas, así como técnicas para la producción de inóculo y la inoculación.

Es importante considerar que, para lograr una aplicación extensiva de los hongos endomicorrízicos en la agricultura, es necesario alcanzar un conocimiento, lo más profundamente posible, acerca de los factores ambientales que inciden en las funciones de esta asociación simbiótica; incluyendo tanto las especies vegetales silvestres como las de cultivo, la naturaleza del suelo, las prácticas agrícolas (efecto antrópico) y o el potencial de los hongos MVA y/o MA nativos, ya que su efectividad puede variar al competir con aislados fungicos introducidos (Palacios et al., 1987). Además, se hace necesario el aislamiento; selección y propagación de los hongos en los agroecosistemas, previamente a las prácticas de inoculación masiva en campo, (Sieverding, 1991).

### **5. Suelos Calcimagnésicos.**

#### **5.1 Características generales.**

Taxonómicamente, los suelos de esta Clase pueden ser,

artificialmente, ubicados en los Ordenes: *Inceptisol*, *Entisol*, *Mollisol* y *Vertisol* de acuerdo con *Soil Taxonomy* (1988). Así como en las Unidades de *Rendzinas*, *Phaeozems* y *Vertisoles* de la FAO-UNESCO y como suelos calcimagnésicos por la clasificación francesa.

Las características morfológicas de los horizontes superiores están determinadas por la presencia de iones alcalino-térreos pero la parte del solum, cuando ella existe, no muestra ni las características de los vertisoles ni las de los suelos isohúmicos.

El perfil es de tipo AR o AC o A(B)R o A(B)C, sin que exista, jamás, el horizonte B. En el horizonte A, la materia orgánica está fuertemente ligada a los elementos minerales y forma con éstos un complejo muy estable. La relación C/N es baja. El abastecimiento de los iones bivalentes en el suelo, si el clima lo permite, se debe a la roca carbonatada o muy básica que existe bajo el perfil, o a veces por los aportes laterales. Suele presentarse la roca en forma de fragmentos en el horizonte superficial. Las arcillas son del tipo 2/1. El complejo está saturado en más del 90% por calcio o magnesio. El pH es superior a 6.8, cuando no se aprecia efervescencia al ácido clorhídrico diluido. La estructura es granular o poliédrica fina. La transición entre el horizonte A y el subyacente es brusca. Los horizontes profundos presentan un contenido de materia orgánica muy bajo en comparación con los superficiales.

Es característico la presencia de más de 25% de arcillas sobresaliendo la montmorillonita y/o vermiculita o interestratificados de vermiculita-esmectita, illita y clorita. Estos suelos pueden mostrar epipedones Molico, Umbico, Ocrico. La presencia de horizontes E y de horizontes de Gley, son comunes en los Grupos que muestran deficiencia en su conductividad hidráulica o en su drenaje interno (Gama, 1996).

Cuando una roca contiene gran cantidad de carbonato cálcico y éste se libera en forma "activa", imprime un carácter muy particular al suelo que se deriva de ella, y ejerce una acción sobre su evolución que, en general, obstaculiza la evolución climática. Recordemos que la caliza activa actúa como un freno frente a los procesos de alteración, liberándose poco hierro. La humificación puede ser parcialmente inhibida por la acción del carbonato cálcico que "estabiliza" los compuestos húmicos en una forma poco evolucionada, y los protege contra la biodegradación.

Aunque la presencia de caliza en la roca madre parece ser una condición necesaria para la formación de los suelos calcimagnésicos, para otros como las rendzinas, no es. Sin embargo es, una condición suficiente en muchos casos y, especialmente, en clima húmedo, en donde se produce la descarbonatación del perfil poco más o menos rápida, a consecuencia de lo cual, se produce una acumulación relativa de los elementos silicatados, el contenido en materia orgánica disminuye y aparece el color pardo debido a la liberación del hierro; el perfil se empardece. En general, mientras el horizonte A, es profundo y muy húmifero, y el horizonte (B) está poco desarrollado, se mantiene el

nombre de "rendzina" (rendzina empardecida). Cuando el horizonte humífero disminuye (mull eutrófico), y el horizonte (B) pardo, generalmente con una estructura poliédrica acusada, se convierte en el horizonte principal. Nos encontramos en presencia de un tipo particular de suelo calcimagnésico, que constituye la transición con la clase de los suelos empardecidos, (Blum, 1968 In Duchaufour, 1984).

La naturaleza y la composición del material calizo, junto con la topografía constituye, evidentemente, el factor ecológico fundamental que condiciona la formación y la evolución de los suelos calcimagnésicos.

**Phaeozem** (del griego phaeo: pardo; y del ruso zemljá: tierra. Literalmente, tierra parda).

Son suelos que se encuentran en varias condiciones climáticas, desde zonas semi-áridas, hasta templadas o tropicales muy lluviosas, así como en diversos tipos de terrenos, desde planos hasta montañosos. Su característica principal es tener capa superficial oscura, suave, rica en materia orgánica y en nutrimentos, semejante a las capas superficiales de los *Chernozems* y *Castañozems*, pero sin presentar las capas ricas en cal con que cuentan estos suelos. Los *Phaeozem* son suelos abundantes en nuestro país, y los usos que se les dan son variados, en función del clima y relieve. Muchos *Phaeozems* profundos y situados en terrenos planos se utilizan en agricultura de riego o temporal, de granos, legumbres u hortalizas, con altos rendimientos. Otros menos profundos, o aquéllos que se presentan en laderas y pendientes, tienen rendimientos más bajos y se erosionan con mucha facilidad. Sin embargo pueden utilizarse para el pastoreo o la ganadería con resultados aceptables. Los *Phaeozems* calcáricos se caracterizan por tener carbonato de calcio en todos sus horizontes, son los más fértiles y productivos en la agricultura o ganadería, cuando son profundos, planos y con agua (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 1990).

Estos suelos, considerados también como *isohúmicos* de clima cálido (tropicales) son más pobres en materia orgánica (1 a 2%) la cual suele estar más transformada, rica en ácidos húmicos grises, por lo que el perfil tiende a ser de color muy oscuro y, como sucede en los vertisoles, la materia orgánica desaparece rápidamente por mineralización. Es frecuente que el complejo absorbente esté saturado por iones  $Mg^{++}$  y  $Na^+$ , lo que indica una tendencia a la alcalimización (Duchaufour, 1984)

## 5.2 Retención del fósforo en el suelo.

El fósforo, el nitrógeno y el potasio, constituyen los nutrimentos mayores más importantes para el desarrollo vegetal. Probablemente, con excepción del nitrógeno, no exista otro elemento tan decisivo para el crecimiento de las plantas como el fósforo.

En general, el contenido de fósforo en el suelo es relativamente bajo, su contenido total varía entre 200 a 800 ppm. En suelos de regiones tropicales la cantidad es aún más variable (Fassbender, 1975). Aunque el fósforo es relativamente más estable que el nitrógeno, ya que no forma compuestos volátiles, su estabilidad resulta de su muy baja solubilidad



lo que, con frecuencia, disminuye su disponibilidad para las plantas.

Además, aproximadamente, el 50% de los fosfatos del suelo están en forma inorgánica no soluble. La absorción del fósforo por las plantas se relaciona con el pH del suelo por lo que, en una escala del 1 a 10, con un pH de 6.0 a 7.5, se tienen condiciones favorables para su aprovechamiento por las plantas.

El término "retención o fijación" se define como el proceso o procesos que se llevan a cabo en el suelo, y que conducen a que ciertos elementos químicos esenciales para el desarrollo de las plantas sean convertidos de una forma soluble o intercambiable a otra mucho menos soluble o no intercambiable, quedando en forma no disponible para la planta.

La capacidad de retención del fósforo, en muchos suelos, llega a ser tan grande, que la regulación del aprovechamiento de este elemento constituye uno de los problemas más difíciles en el manejo del suelo y de los cultivos. En los suelos calcimagnésicos, los iones  $PO_4^-$  parecen ser precipitados como fosfatos de Ca y Mg, relativamente insolubles, o como sales dobles de calcio, como por ejemplo:  $Ca_3(PO_4)_2 \cdot CaCO_3$  o  $Ca(PO_4)_2 \cdot CaF_2$ . Estas dos últimas formas son consideradas aún menos solubles que los fosfatos de Mg. Este mecanismo de retención es el que, comunmente, se presenta en los suelos calcimagnésicos y, en particular, en los *Phaeozems* como los correspondientes a los agroecosistemas abjeto de este estudio.

Los suelos de textura fina tienen mayor capacidad para retener el fósforo, que los suelos de textura gruesa. La retención se debe, principalmente, a la arcilla coloidal y a los cationes divalentes (Ca y Mg) presentes en la solución del suelo.

En suelos con moderada o alta acidez, el Al y el Fe se vuelven insolubles al combinarse con los iones fosfato, lo que significa un grado bajo de aprovechamiento por las plantas.

**MATERIALES  
Y  
MÉTODOS**

## 1. Localización del Área de Estudio.

Para este estudio, fueron seleccionados suelos Calcimagnésicos, de baja fertilidad y con un alto porcentaje de fijación de fósforo, los cuales están destinados al uso agrícola de temporal. El área de estudio se ubica en una zona ejidal del Municipio de Miacatlán, Estado de Morelos, México. Ubicado geográficamente entre los paralelos  $18^{\circ} 45'$  de latitud norte y los  $99^{\circ} 21'$  de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altitud de 1,054 m.s.n.m. Este municipio ocupa el 4.71% de la superficie total del Estado. Limita: al norte con el Estado de México y con Temixco; al sur con Coatlán del Río, Mazatepec y Puente de Ixtla; al este con Xochitepec; al noreste con Temixco; y al oeste y noroeste con el Estado de México (fig. I).

## 2. Datos Geográficos.

Miacatlán cuenta con una superficie aproximada de 233.64 Km<sup>2</sup>, de los cuales, aproximadamente, se utilizan 7,900 hectáreas para uso agrícola; 3,982 hectáreas para uso pecuario; 7,400 hectáreas para uso forestal; y 1,5 hectáreas para uso industrial.

### 2.1 Orografía.

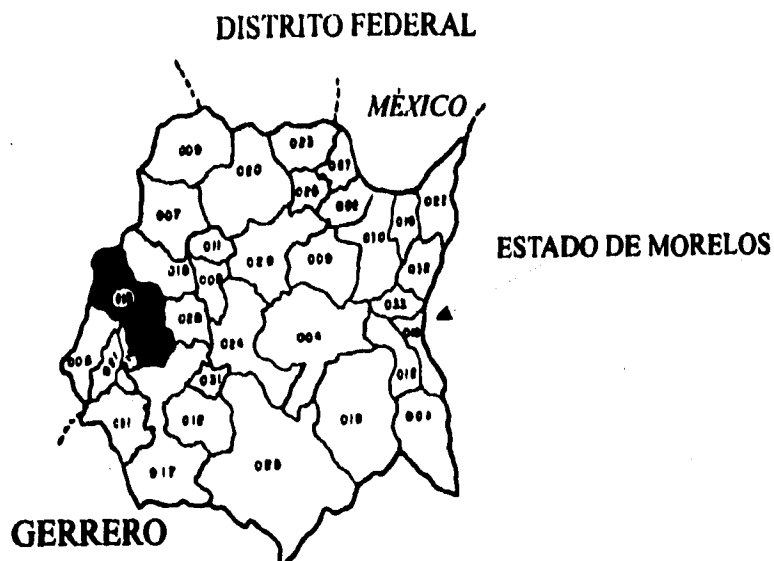
En su parte norte se localizan las montañas del Frayle y el Picacho, y en su parte media están los cerros de Tepetzingo, los Cuilotes y el Cerro Alto, todos con altura entre 2,000 y 2,500 m.s.n.m.. El cerro de Cuauchi frente a Cuentepec a 2,000 m.s.n.m., y el de los Perritos a 1,700 m.s.n.m.; las zonas accidentadas cubren el 8% del territorio y las semiplanas, al centro y al sur, el 45%.

### 2.2 Hidrografía

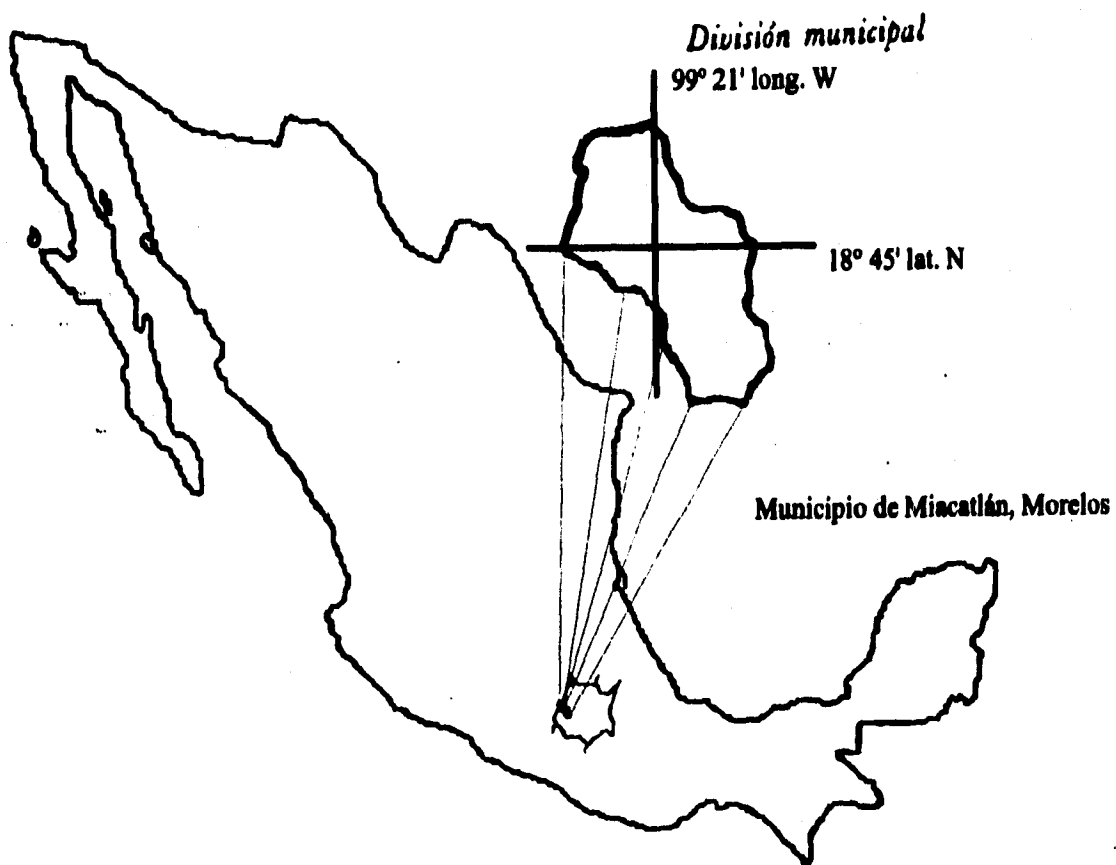
Dentro de este municipio se encuentran las lagunas de El Rodeo Coatetelco y la Laguna Seca. Esta última, la de menor tamaño, es cruzada, en su parte media, por el río Tembembe que nace en las Barrancas de Cuentepec y Tetlama y, luego, penetra en Mazatepec y se precipita en el río Chalma. Cuenta con tres manantiales ubicados en Palo Grande, Tlajotla y el Rincón, y 32 pozos profundos para extracción de agua (Los municipios de Morelos, 1990).

### 2.3 Características climáticas.

Según la clasificación climática de Koppen, modificada por García (1988), el clima del área comprende al A Wo "(W) (i.) g, que significa clima cálido subhúmedo (el más seco de los subhúmedos) con lluvias en



001 Amacuzac	012 Jojutla	021 Tlalnepantla
002 Atlacahuacan	013 Jonacatepec	024 Tlaltisapán
003 Axochiapan	014 Masatepec	025 Tlaquiltenango
004 Ajala	015 Miacatlán	026 Tlayacapan
005 Coatlán del Río	016 Ocuiltepec	027 Totolepan
006 Cuautla	017 Puente de Ixtla	028 Xuchitepec
007 Cuernavaca	018 Tamimó	029 Yautepec
008 Emiliano Zapata	019 Tepiccingo	030 Yecapixtla
009 Huixtliac	020 Tepostlán	031 Zacatepec
010 Santetelco	021 Tetecala	032 Zacualpan
011 Jiutepec	022 Tetela del Volcán	033 Temoac



**LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DEL ÁREA DE ESTUDIO**

verano. La precipitación en invierno es menor del 5% de la precipitación total anual, y la oscilación térmica varía de 5 a 7° C. La temperatura anual más alta ocurre antes del solsticio de verano (22,5°C). Una precipitación media de 1,112 mm al año. El período de lluvias ocurre entre los meses de junio a octubre, y la evaporación media es de 2,203.8 mm por año.

#### **2.4 Vegetación dominante.**

La flora está constituida, principalmente, por selva baja caducifolia de clima cálido, como jacaranda, tabachín, casahuate, y ceiba.

#### **2.5 Uso del suelo.**

El municipio cuenta con una superficie, aproximada, de 233.64 kilómetros cuadrados de los cuales en forma general se utilizan: 7,900 hectáreas uso agrícola, 3,982 hectáreas uso pecuario, 7,400 hectáreas uso forestal y 1.5 hectáreas para uso industrial (Los municipios de Morelos, 1990).

#### **2.6 Actividades Económicas.**

**Agricultura:** Los principales cultivos son caña de azúcar, arroz, sorgo, maíz, cebolla, cacahuate, berenjena, jitomate y frijol.

**Fruticultura:** destacan mango, casahuate, guayaba, zapote prieto y mamey.

**Ganadería:** se cría ganado bovino, caprino, caballar y ovino. Además, sin ser sobresaliente, se explota la avicultura.

#### **2.7 Manejo de los cultivos en el área de estudio.**

##### **2.7.1 Agroecosistema I (cacahuate).**

- Un barbecho previo a la siembra.
- Surcado a 80 cm/30 cm entre matas.
- Variedad criolla de la región "matón".
- Densidad de siembra: 150,000 plantas/ha (2 o 3 semillas por mata).
- Fertilización: no se aplica.
- Pesticidas: no se aplican.
- Se aplican dos beneficios con yunta (a los 30 y 45 días).
- Una desyerba manual antes de la cosecha.
- Rendimiento promedio= 1000 Kg/ha.

- Esquilmos: se usan para forraje.
- La rotación de cultivos se realiza con sorgo y maíz.

### 2.7.2 Agroecosistema 2 (maíz).

- Un barbecho previo a la siembra.
- Surcado a 80 cm/25 cm entre matas.
- Variedad Costeño mejorado.
- Densidad de siembra: 250,000 plantas/ha (2 a 3 semillas por mata).
- Fertilización (200-40-00): 200 Kg de N/ha como sulfato de amonio y 40 Kg de P/ha como superfosfato triple.
- Herbicidas preemergentes: 3 Lts. de Gesaprin más 1 Lto. de Gramoxone/ha.
- Insecticida: 1 Lto. de Foley y 1 Lto. de Lorsban/ha.
- Beneficios: no se aplica.
- Cosecha: 20% manual y 80% mecanizada.
- Rendimiento promedio: 1.500 Kg/ha.
- Rotación de cultivo con sorgo.

### 2.7.3 Agroecosistema 3 (sorgo).

- Un barbecho previo a la siembra
- Surcado a 70 cm.
- Variedad Master gold (grano).
- Densidad de siembra: un bulto/ha.
- Siembra a chorrillo.
- Fertilización ((100-35-00): 100-200 Kg de N/ha como sulfato de amonio, y 35 Kg de P/ha como superfosfato triple (a los 35 días después de la siembra).
- Pesticidas: no se aplican.
- Se aplica un beneficio a los 35 días.
- Cosecha mecánica.
- Rendimiento promedio: de 3 a 4 Ton/ha.
- Esquilmos: se usan para forraje.
- Rotación con maíz.

## 3. Características Edáficas de los Agroecosistemas, Objeto de este Estudio.

Los suelos muestreados en el área de estudio son de naturaleza calcimagnésica (Rendoll, USNA, 1994), con fase pedregosa y ubicados en laderas, cimas y colinas. Los suelos con fase pedregosa, localizados en colinas, se clasifican como *Leptosoles rendzínicos*, (FAO-UNESCO, 1988). Desde el punto de vista de la clasificación pedológica, el grupo "suelos calcáreos" no existe como tal. Sin embargo, de acuerdo con Duchaufour (1970), los suelos derivados de materiales parentales, ricos en  $\text{CaCO}_3$ , quedan incluidos dentro de los suelos calcimagnésicos, siendo la

denominación "suelos calcáreos" sólo un término generalizado.

Con base en FAO-UNESCO (1988), se pueden encontrar, también, *Phaeozem calcáreos* (Rendoll, USNA, 1994). Estos suelos son derivados de la alteración moderada de rocas o aluviones ricos en  $\text{CaCO}_3$ . Los procesos pedogenéticos predominantes en ellos son la melanización del horizonte A, y la acumulación de carbonatos en el horizonte B. Eventualmente, muestran señales de procesos de argilización. La combinación de carbonato de calcio, arcilla y materia orgánica da origen a compuestos orgánicos minerales muy estables, ricos en ácidos húmicos y fúlvicos.

Morfológicamente, los perfiles de estos suelos se caracterizan por presentar un horizonte A mólico, rico en bases, con un porcentaje de saturación mayor al 90%, y alto contenido en fósforo total ( $\text{P}_2\text{O}_5$ , aunque éste, muy rara vez, excede las 250 ppm). Sin embargo, con frecuencia, este fósforo se encuentra retenido, en gran parte, en formas no asimilables.

Presenta, además, un horizonte B que puede ser cámbico, calcáreo ó argílico.

La profundidad de los suelos puede variar desde unos 20 cm. hasta 1 m. Con frecuencia, carecen de horizonte de iluviación y, generalmente, presentan colores; de grisáceo claro a oscuro, predominando los colores pardo, oscuro pardo, y pardo-grisáceo (10YR), dependiendo de la cantidad de carbonatos presentes. Su matriz es de textura fina, generalmente, migajón arcilloso. Sus contenidos en bases son altos, principalmente, en calcio-intercambiable, con una relación Ca:Mg mayor de 4. El drenaje interno varía de moderado a moderadamente lento, en función de la clase de textura que presente.

Dadas sus características y propiedades, estos suelos muestran, generalmente, una vocación agrícola aceptable. No obstante, son suelos muy susceptibles a degradarse cuando reciben un manejo inadecuado. Su productividad varía de baja a media (Duchaufour, 1970). No obstante, se pueden alcanzar buenos rendimientos si tienen un buen drenaje y se manejan cuidadosamente para conservar su fertilidad. Sin embargo, son suelos fácilmente erodables que presentan, ocasionalmente, problemas de disponibilidad de nutrimentos, a causa de su pH y elevada tensión parcial de bióxido de carbono, responsable de la inmovilización fuerte de algunos nutrimentos (antagonismo-sinergismo).

#### 4. Muestreo de Suelos.

Se seleccionaron tres agroecosistemas dentro de una misma unidad edáfica: cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) agroecosistema No. 1; maíz (*Zea mays* L.) agroecosistema No. 2; y sorgo (*Sorghum bicolor*), agroecosistema No. 3. En cada uno de ellos se colectaron diez muestras de suelo, de la capa arable, a una profundidad de 0-20 cm., utilizando el procedimiento en zig-zag, para obtener muestras mixtas representativas. El muestreo se realizó a finales de la época de lluvia, que corresponde a mediados del mes de octubre; época en la que los cultivos habían llegado al final

de su ciclo. Para esta fecha, el maíz y el cacahuate ya habían sido cosechados, y el sorgo estaba a punto de ser cosechado. En cada punto de colecta, la muestra consistió, aproximadamente, de 4 Kg. (peso seco). De estas muestras, se utilizó 1 Kg para análisis físicos y químicos, y la cantidad restante se destinó para la multiplicación de hongos endomicorrízicos nativos.

#### 4.1 Procesamiento de las muestras.

Los suelos destinados para los análisis físicos y químicos, fueron homogeneizados, secados al aire y tamizados por la malla 20 (2.0 mm). El suelo destinado para la propagación de los hongos MA, se mantuvo bajo refrigeración (4°C), hasta su utilización en el diseño experimental, con el propósito de conservar el potencial micorrízico, así como su microbiota.

Las muestras se trabajaron lo más rápidamente posible y con el mayor cuidado, para tratar de conservar la cantidad y calidad de los propágulos de los hongos micorrízicos arbusculares nativos.

#### 4.2 Análisis físicos y químicos de los suelos.

<b>Determinaciones físicas.</b>	Estan basadas en las refs. citadas
Color.-	Munsell Soil Chart, (1975).
Textura.-	Bouyucos, (1962).
Densidad aparente (D.A).-	Blake, (1965).

<b>Determinaciones Químicas.</b>	
Materia orgánica (M.O.)	Walkley y Black (1947).
Nitrógeno total (N.T.)	Kjeldahl, AOAC, (1970).
Cationes solubles:	
Sodio (Na).- por flamometría	Jackson, (1964).
Potasio (K).- por flamometría	Jackson, (1964).
Calcio (Ca).- volumétricamente	Jackson, (1964).
Magnesio (Mg).- volumétricamente	Jackson, (1964).
Cationes intercambiables	Coleman et al (1959).
Fósforo Asimilable o Disponible; método de Olsen et al., (1954).	

#### Determinaciones Fisicoquímicas.

pH.- La reacción del suelo se determinó en una suspensión suelo-agua 1:2.5	Jackson, (1964).
Conductividad eléctrica (C.E)	Cambell, 1974, citado por Chapman, (1981).
Retención de fósforo	Fitt y Wuagh, (1966).
C. I. C. T.	Schollenber y Simon (1945).



### 4.3 Técnicas generales para el estudio de los hongos endomicorrízicos arbusculares orientadas a la evaluación de las variables propuestas.

#### 4.3.1 Técnica de aclareo y tinción de raíces (Phillips y Hayman, 1970).

Para observar la colonización se requiere extraer con precaución el sistema radical, a fin de recuperar aún las raicillas más finas. Las raíces, se lavan con agua corriente suavemente hasta dejarlas libres de suelo. Posteriormente, pueden ser procesadas en fresco. Sin embargo, en casi todos los casos, debido al volumen de muestras, es necesario fijarlas con FAA (formol, alcohol y ácido acético en proporciones iguales) antes de colorearlas. Los pasos para el aclareo y tinción se indican a continuación:

- (1) Lavarlas abundantemente con agua corriente para eliminar el FAA o el suelo remanente.
- (2) Agregar KOH al 10% y calentar en baño maría el tiempo requerido para aclarar y ablandar las raíces.
- (3) Lavar el exceso del KOH con agua corriente.
- (5) Neutralizar lavando con una solución de HCl al 5%.
- (6) Lactofenol (ac. láctico, fenol, glicerol en proporción: 1+ 1+ 1)
- (7) Teñir con azul de tripano al 0.01% en lactofenol, a baño maría durante un período de 5 a 20 minutos.
- (8) Remover el exceso de colorante y lavar con agua corriente. Eliminar el agua y conservarlas en lactofenol.

#### 4.3.2 Evaluación del porcentaje de colonización de los hongos arbusculares (Giovanetti y Mosse, 1980).

Para determinar el porcentaje de colonización es necesario evaluar microscópicamente la morfología interna de la micorriza, de la siguiente manera:

- (1) Colocar las raíces teñidas y conservadas en lactofenol en una caja de petri previamente cuadrículada (cuadros de 1 X 1 cm).
- (2) Las raíces se distribuyen al azar en la cuadrícula.
- (3) La caja de petri es colocada bajo el microscopio estereoscópico y se enfoca con el mayor aumento.

- (5) La estimación del porcentaje de colonización se hace detectando la presencia o ausencia de colonización en cada intersección, positiva o negativa, respectivamente, independientemente del estado de intensidad de la micorrización. Se recomienda evaluar más de 200 intersecciones.

$$\% \text{ Colonización} = \frac{\text{No. de intersecciones colonizadas}}{\text{No. total de intersecciones observadas}} \times 100$$

#### 4.3.3 Separación de esporas por el método de tamizado y decantación en húmedo (Gerdermann y Nicolson, 1963).

La separación de esporas del suelo es de gran importancia en el estudio de la ecología, fisiología y taxonomía de la endomocorriza arbuscular. Existen diversos métodos para extraer las esporas del suelo basados en el diámetro y densidad de las mismas. Este método permite la extracción en un buen porcentaje. Sin embargo, debido a que es muy difícil conseguir una separación completa de las esporas del material orgánico; se optó por utilizar las dos técnicas que se indican a continuación:

- (1) En un vaso o matraz se agrega 100 g de suelo de rizosfera y 1000 ml de agua. Para los cálculos, previamente es necesario evaluar el contenido de humedad del suelo.
- (2) Se agita mecánicamente durante 10 minutos.
- (3) Dejar reposar 3 minutos, con la finalidad de eliminar las partículas grandes por sedimentación.
- (4) Se pasa la suspensión a través de una columna de tamices graduados (500, 250, 149, 105, 74, 44 micrómetros de abertura).
- (5) Agregar nuevamente agua al decantado y repetir los pasos (2) al (4).

##### 4.3.3.1 Método de centrifugación en sacarosa (Daniels y Skipper, 1982).

- (6) El contenido de los tamices se pasa a tubos de centrifuga de 100 ml.
- (7) Se llenan los tubos a un 75% con agua, se agita y se centrifuga por 4 minutos a 1800 rpm, y se desecha el sobrenadante.

- (8) Al residuo de los tubos se les aplica una solución de sacarasa al 50%, se agita y se centrifuga por 2 minutos a 1800 rpm.
- (9) Se decanta la solución en los tamices correspondientes, se lavan las esporas con agua corriente y se pasan a un papel filtro, marcado con círculos concéntricos, para su separación y conteo al microscopio.

#### 4.3.4 Método para la evaluación de la viabilidad de las esporas (An y Hendrix, 1988).

- (1) Solución madre de bromuro de tetrazolio (0.01 g en 100 ml de agua dest.). Guardar en un frasco ambar a 4°C.
- (2) En un tubo de ensaye, conteniendo 1 ml de la solución madre y 1 ml de agua de la llave estéril, se colocan las esporas; el tubo se tapa y se guarda en la oscuridad a la temperatura del medio ambiente durante 72 horas.
- (3) Para su observación, las esporas se vacían a papel filtro marcado donde serán evaluadas, bajo el microscopio estereoscópico, tomándose como viables las que se tiñen de color rojo o rosado.

## 5. La Potencialidad Micorrízica de los Suelos Originales en los tres Agroecosistemas.

### 5.1 Diseño Experimental.

Se estableció un experimento, bajo condiciones de invernadero con base en un diseño de cinco bloques completamente al azar, con seis repeticiones, utilizando macetas de 1/2 Kg, con suelo original del área de estudio, con el propósito de: (a) evaluar la diversidad y esporotipos dominantes de cada agroecosistema; (b) evaluar el grado de colonización micorrízica en cada uno de los agroecosistemas y (c) evaluar la evolución y dinámica del desarrollo micorrízico, producido por los HMA nativos, en pasto "Rhodes grass" (*Chloris gayana* Kunth), a lo largo de su ciclo biológico.

#### AGROECOSISTEMAS:

- 1.- Suelo cultivado con Cacahuete (*Arachis hypogaea* L.).
- 2.- Suelo cultivado con Maíz (*Zea mays* L.).
- 3.- Suelo cultivado con Sorgo (*Sorghum bicolor* L.).

**TRATAMIENTO.**

Suelo original del área de estudio

EVALUACIONES REALIZADAS EN LAS PLANTAS DESPUÉS DE LA EMERGENCIA  
(TIEMPO EN DÍAS).

- |           |           |                          |
|-----------|-----------|--------------------------|
| (a) .- 10 |           | (e) .- 135 DURANTE LA    |
| (b) .- 20 | ANTES     | (f) .- 165 FLORACIÓN     |
| (c) .- 45 | DE LA     |                          |
| (d) .- 90 | FLORACIÓN | (g) .- 210 DESPUÉS DE LA |
|           |           | FLORACIÓN                |

Para cada agroecosistema se estableció una unidad experimental, de 5 bloques con 6 repeticiones, completamente al azar:

# A G R O E C O S I S T E M A S

		<i>Cacahuete</i>					<i>Maíz</i>					<i>Sorgo</i>				
R E P E T I C I O N E S	1	3	5	6	4	2	6	1	3	1	2	5	4	1	3	
	4	6	2	1	3	1	3	2	4	5	5	6	3	2	4	
	2	5	4	3	1	3	1	4	5	6	3	4	2	4	1	
	6	1	3	4	2	5	2	3	6	4	6	2	1	3	5	
	5	4	6	2	6	6	4	5	2	3	4	1	5	6	2	
	3	2	1	5	5	4	5	6	1	2	1	3	6	5	6	
		<i>BLOQUES</i>					<i>BLOQUES</i>					<i>BLOQUES</i>				

## 5.2 Procedimiento.

### 5.2.1 Preparación de las macetas.

Se utilizó el suelo obtenido de cada agroecosistema de la siguiente manera : (a) las muestras compuestas de 15 Kg (de cada agroecosistema) se secaron en una estufa a 45°C; (b) posteriormente, se tamizaron (malla 2 mm); (c) una vez secos y tamizados, se esterilizaron en una autoclave durante 20 minutos a 15 libras de presión, (cada tercer día, tres veces en total); (d) posteriormente, fueron transferidos a macetas de 500 g (30 macetas con suelo por cada agroecosistema). Las macetas se llenaron hasta las 3/4 partes (400 g); y se les agregó 200 ml de extracto de suelo; se taparon y se incubaron durante 36 hrs a 25°C. El extracto bacteriano del suelo se preparó a partir del suelo original, diluido 1:1 con agua destilada estéril, filtrado con papel filtro medianamente rápido y aplicando vacío.

### 5.2.2 Extracción de las esporas de HMA.

Se utilizó el método de tamizado y decantado en húmedo (Gedermann y Nicolson, 1963 y Daniels y Skipper, 1982), usando una cantidad representativa del suelo de cada agroecosistema, la cual se obtuvo, de las muestras compuestas colectadas en campo. Los pasos fueron los siguientes: (a) 15 Kg de suelo, fueron disgregados, durante 6 horas utilizando un agitador magnético; (b) posteriormente, fueron separados sus componentes por tamizado en húmedo, recuperando las esporas; (c) las esporas, recuperadas en los tamices de malla 0.25mm y 0.074 mm, se homogeneizaron y, junto con la fracción limosa, fueron utilizadas como inóculo aplicado a cada maceta, en la proporción de 40 gramos, peso húmedo, equivalente a 28 gramos peso seco, con un promedio de 7 esporas por gramo seco y con una viabilidad de 85% (de 100 esporas, aproximadamente, resultaron 14 vacías, rotas o muertas y 85 fueron turgentes y cuyo contenido interior, al romperlas, salió en forma de gotitas y/o líquido más viscoso) .

### 5.2.3 Modo de Inoculación.

El inóculo madre se agregó de la siguiente manera: (a) en la superficie del suelo contenido en las macetas, formando una capa; (b) sobre el inóculo, se colocó una capita de aproximadamente 5mm. del mismo suelo que se está utilizando; (c) sobre esta capa se colocaron otros 5 mm de arena estéril; (d) sobre ésta se agregó, de manera uniforme, 1 gramo de semillas de pasto "Rhodes Grass" *Chloris gayana* Kunth (desinfectadas con hipoclorito al 7.5 % durante 5 minutos y, posteriormente, lavadas hasta eliminar el desinfectante) con una germinación de 95%; (e) las semillas fueron cubiertas con una capa de, aproximadamente, 5 mm de arena con suelo 1:1 vol/vol, y se ajustó la humedad a capacidad de campo con agua de la llave, esterilizada; (f) se

taparon las macetas con plástico transparente y se colocaron en la cámara de germinación, a 25°C durante 72 horas; y (g) finalmente, se llevaron al invernadero, donde se destaparon a los 10 días después de la emergencia de las plántulas.

#### 5.2.4 Condiciones experimentales en el invernadero.

La temperatura del invernadero fue, aproximadamente, de 30°C, con una diferencia de temperatura entre el día y la noche de, aproximadamente, 5°C. La humedad se ajustó, aproximadamente, entre el 60 y el 70% de la capacidad de campo. El experimento se llevó a cabo con un fotoperíodo solar de, aproximadamente, 8 horas durante 7 meses. Las plantas fueron regadas manteniendo la humedad a 60-70% de la capacidad de campo, 2 veces por semana, con agua de la llave durante los 2 primeros meses y, después, 3 veces por semana durante los tres siguientes meses; en los 2 últimos meses, cada tercer día.

#### 5.2.5 Fertilización.

Se utilizó la solución nutritiva Long Ashton (Hewitt, 1966) con 1 ppm de fósforo, aplicándose 1 vez por semana a capacidad de campo, a partir del inicio del segundo mes. Cuando se presentaron los síntomas de deficiencia de Fe se aplicó este elemento, en forma quelatada, hasta la desaparición de los síntomas (se procuró tener al hospedero siempre verde y sano).

#### 5.2.6 Variables de respuesta.

1.- La evaluación del desarrollo micorrízico producido por los HMA nativos de cada edafosistema agrícola, mediante la utilización de una planta hospedera altamente micotrófica, como es el pasto "Rhodes grass" *Chloris gayana* Kunth, permitió observar, de manera cualitativa y cuantitativa, la evolución de la colonización en cada agroecosistema, en siete etapas del desarrollo de la planta hospedera como son: **etapa No. 0**, a los 10 días después de la emergencia del hospedero (etapa de precolonización); **etapa 1**, a los 20 días después de la emergencia del hospedero, (colonización inicial); **etapa 2**, a los 45 días después de la emergencia del hospedero, correspondiente a los 25 días de iniciada la colonización (etapa de colonización temprana); **etapa 3**, a los 70 días de evolución simbiótica, correspondiente a los 90 días de desarrollo del hospedero (poco antes de la floración); **etapa 4**, a los 115 días de colonización, correspondiente a 4.5 meses de desarrollo del hospedero, (período de floración); **etapa 5** a los 145 días de desarrollo de los hongos endomicorrízicos, correspondiente a 5.5 meses de desarrollo del hospedero, (finales de la floración); **etapa 6**, a los 190 días de desarrollo de la simbiosis, correspondiente a 210 días del desarrollo de la planta hospedera, (etapa de la maduración de las semillas).

1.- Para la evaluación del desarrollo micorrízico se procedió a lo siguiente: (a) muestreo de suelo y raíces en cada etapa del desarrollo de la planta hospedera, con base en el diseño experimental antes indicado; (b) procesamiento del suelo para el análisis cualitativo y cuantitativo de la producción de esporas, con base en el método de tamizado y decantación en humedo de Gerdemann y Nicolson, (1963) y centrifugado en gradiente de sacarosa de Daniels y Skipper, (1982); (c) aclaramiento y tinción de las raíces por el método de Phillips y Hayman, (1970). Para las observaciones, se utilizó un microscopio de disección marca Olympus modelo C011 y uno de observación marca Carl Zeiss modelo 4261871. Las fotomicrografías fueron tomadas en un fotomicroscopio Carl Zeiss, utilizando película Ectakrome Asa 100.

2.- Cuantificación de la colonización por el método de intersección de cuadrantes de Giovanetti y Mosse, (1980).

3.- Análisis cualitativo de la colonización para determinar los patrones morfológicos del desarrollo micorrízico.

4.- Diversidad. Se determinó a través del análisis cualitativo y cuantitativo de la producción de esporas en cada una de las siete etapas del desarrollo del hospedero.

5.- Determinación de la viabilidad de las esporas en cada una de las siete etapas del desarrollo del hospedero. Se aplicó el método del bromuro de tetrazolio de An y Hendrix, (1988)

6.- Ritmos e incrementos de la colonización. Se calcularon con la finalidad de mostrar, graficamente, el comportamiento de la colonización de una etapa a la siguiente y en el conjunto del ciclo biológico del hospedero, de la siguiente manera:

$$\text{Ritmo} = \frac{\% \text{ de colonización de una etapa X}}{\% \text{ de colonización de la etapa inmediata anterior}}$$

$$\text{Ritmo del incremento de la colonización} = \frac{\% \text{ de colonización de una etapa X} - \% \text{ de colonización de la etapa inmediata anterior}}{\% \text{ de la colonización de la etapa X}}$$

Nota.- El ritmo se refiere a la velocidad con el que se desarrolla la colonización a través de la fenología del hospedero.

### 5.2.7 Análisis estadístico.

Se aplicó la prueba estadística Tukey al 95 % y 99 % para comparar las variables: colonización, producción de esporas y viabilidad de las esporas (Montgomery, 1984).

## **VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



**ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS DE LOS SUELOS**

AGROECO SISTEMAS	COLOR		TEXTURA			CLASE TEXTURAL	D. A. g/cm.	pH H <sub>2</sub> O 1:2.5
	SECO	HUMEDO	ARENA	LIMO	ARCILLA			
<b>1</b>	10 YR 6/3 pardo pálido	10 YR 3/3 pardo oscuro	28%	42%	30%	Franco	1.15	7.8
<b>2</b>	10 YR 6/3 pardo pálido	10 YR 3/3 pardo oscuro	27%	33%	40%	migajón arcilloso	1.13	7.8
<b>3</b>	10 YR 4/1 gris oscuro	10 YR 3/1 gris muy oscuro	27%	32%	41%	"	1.13	7.8

	C. E. mmhos/cm	C.I.C.T. meq/100 g.	CATIONES INTERCAMBIABLES				M. O. %	N. T. %	Fósforo disponible ppm.	C. R. P
			Ca	Mg	Na	K				
<b>1</b>	0.76	21.00	17.80	2.50	0.16	0.09	3.49	0.15	0.07	78
<b>2</b>	0.76	21.00	18.10	2.50	0.17	0.09	1.21	0.06	0.07	79
<b>3</b>	0.76	22.20	29.0	2.80	0.25	0.14	0.93	0.05	0.05	71

C. R.  
P = Capacidad de retención de fósforo

## 1. Análisis Físicos y Químicos de los Suelos

Suelo del agroecosistema 1, cultivado con cacahuete (*Arachis hypogaea* L.). El color corresponde al pardo pálido en seco y, en húmedo, al pardo oscuro. A este suelo, granulométricamente, le corresponde una textura Franca. Su densidad aparente, indica un valor medio congruente con las texturas finas (Tabla 1). El pH resultó ligeramente alcalino, característico de los suelos calcimagnésicos y, en particular, al de suelos isohúmicos tropicales. Los contenidos de materia orgánica y nitrógeno total indican que es un suelo muy rico, y medianamente rico, respectivamente. La cantidad elevada de carbonato de calcio, se relaciona con su alta capacidad de retención del fósforo; sin embargo el nivel alto de Mg intercambiable (2.50 meq/100 g) tiende a reducir el efecto del elevado contenido de calcio libre en la retención de este elemento. La retención de fósforo, y el fósforo asimilable, corresponden a valores alto y muy bajo, respectivamente; estos datos son acordes con la naturaleza cálcica de estos suelos, en los cuales el contenido elevado de calcio libre propicia una retención elevada del fósforo. La C.I.C.T, es medianamente alta, es congruente con la textura (migajón arcillosa) la presencia de montmorillonita y su contenido de materia orgánica. El magnesio, se encuentra en un nivel alto; no así el sodio, y el potasio, los cuales resultaron ser bajos en los tres agroecosistemas.

Es importante considerar que los contenidos altos de Mg, en los tres suelos, significó cierto antagonismo sobre el calcio libre, dando por resultado que la capacidad de retención de fósforo no sea tan alta como ocurre en suelos de esta naturaleza pero pobres en Mg.

El suelo del agroecosistema 2 (cultivado con maíz), con respecto al suelo del agroecosistema 1, (cultivado con cacahuete) difiere en su contenido de materia orgánica y nitrógeno ya que éstos solo alcanzan un valor medio y pobre, respectivamente. Finalmente, el suelo del agroecosistema 3 (sorgo) presenta los contenidos más altos de Ca, Mg, Na y K, pero el menor contenido en materia orgánica, nitrógeno total y P-disponible, así como la menor capacidad de retención de este elemento (Tabla 1). No obstante, únicamente el contenido de calcio es significativamente más alto que el correspondiente a los otros dos suelos. Con excepción del contenido de calcio, los suelos de los agroecosistemas 2 y 3 son similares, por sus propiedades físicas y químicas. El suelo del agroecosistema 1 se distingue, prácticamente, solo por su textura franca y su contenido en materia orgánica y nitrógeno total, considerados como valores rico y mediano, respectivamente. En cuanto a estos dos componentes edáficos, es interesante observar un gradiente del agroecosistema 1 al 3, que podría relacionarse con el grado de exigencia nutricional de los cultivos establecidos en cada uno de estos suelos, y el probable aporte al suelo de una leguminosa como el cacahuete, después de la cosecha, en lo relativo a materia orgánica y nitrógeno.

## 2. Desarrollo Micorrízico Arbuscular, Evaluado a través de la Colonización de *Choloris gayana* Kunth., Antes, Durante y Después de su Floración.

### 2.1 Etapa 0 ó precolonización. A los 15 días Después de la Emergencia de las Plántulas Hospederas.

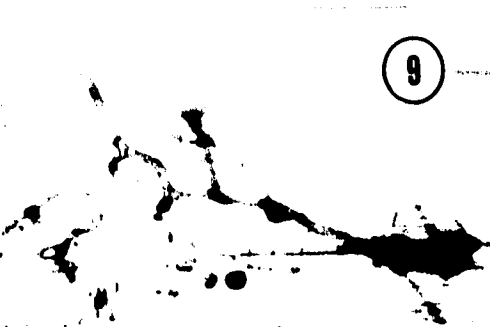
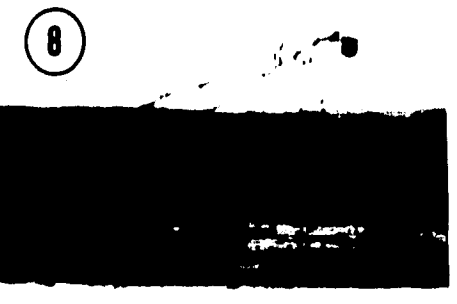
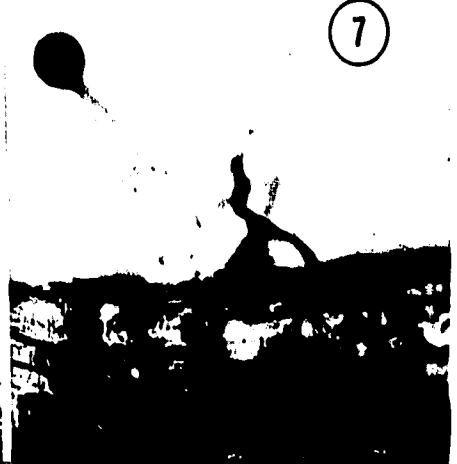
#### 2.1.1 Germinación.

Observaciones minuciosas permitieron seguir cuidadosamente la precolonización, detectándose: la germinación de diferentes esporotipos y la maduración de los esporocarpos, del séptimo al décimo día, sobresaliendo la población de hongos endomicorrízicos más frecuentes o dominantes, en el agroecosistema 3 (Sorgo) con cuatro esporotipos, de los cuales, uno es muy parecido al del agroecosistema 2, (Figuras 1, 2, 3 y 6); en el agroecosistema 2 (Maíz), se presentaron tres esporotipos, uno de ellos es muy parecido a uno de los encontrados en el agroecosistema 3, (Figuras 4,5 y 7); y en el agroecosistema 1 (Cacahuete), fueron observados, tres tipos diferentes de colonización (Figuras 8, 9 y 11). Al respecto, Mosse y Bowen, 1968; Le Tacon, 1985; Sieverding, 1991, entre otros autores, mencionan que las clamidosporas, que resisten condiciones adversas en el suelo, tales como el calor y la sequía, germinan cuando las condiciones son favorables. Estudios *in vitro* y en suelo han demostrado, que la germinación de las esporas, es el primer evento en el ciclo de vida de los hongos micorrízicos arbusculares, y está influenciado por: 1) la dormancia, 2) las condiciones ambientales: pH, temperatura, potencial del agua, contenido de nutrimentos, actividad microbiana del suelo, y exudados radicales, (Mosse, 1959; Daniels y Graham, 1976; Green et al., 1976; Hepper, 1984; Siqueira et al., 1985; y Mayo et al., 1986). Además otros autores, han encontrado substancias alelopáticas que inhiben la germinación, como es el caso de Brassica sobre *Glomus mosseae*. En otros casos, es necesario la presencia de ciertas substancias en el sustrato para la germinación o, inclusive, ciertos microorganismos son necesarios para ésta (Azcón y Barea, 1980; Daniels and Trappe, 1980; Harley y Smith, 1983; Aguilar, et al., 1986; y Mayo et al, 1986). Por otro lado, Sanders y Sheikh, 1983, indican que las esporas en el suelo pueden ser de diferentes edades y germinar con diferentes ritmos, (Powell 1976). Los diferentes tipos de propágulos pueden germinar a diferentes tiempos, por ejemplo, Tommerup (1985) observó que la colonización por *Acaulospora laevis*, pudo colonizar más rápidamente en condiciones ideales, mientras que las esporas de otros hongos arbusculares no pudieron germinar por varias semanas o meses. (Walker y Smith, 1984). Tommerup (1983) Sugiere que períodos largos de dormancia pueden evitar falsas germinaciones, que se presentan con una falsa estacionalidad, y que períodos cortos de dormancia proporcionan una germinación inmediata después de la formación de raíces a su alrededor, por lo que parece haber una selección de poblaciones de hongos MA, de acuerdo a la estacionalidad, tipo de plantas y, además, sucesión de vegetación nativa a cultivo, rotación de cultivos etc., Abbott y Robson,

1977; Hayman y Stovold, 1979; Daniels y Trappe, 1980; Schenck y Kinloch, 1980; y Hayman, 1982). Esto último indica dos aspectos: (a) la población de HMA que colonizaron el hospedero, presentaban una dormancia en etapa final, o son especies con dormancia corta; y (b) los esporotipos que germinaron, dentro de cada agroecosistema, fueron los dominantes o los seleccionados por el efecto que produce el impacto antrópico (Figuras 1-11).

### 2.1.2 Formación de tubos de germinación.

Del décimo al décimo quinto día, los contactos de los tubos de germinación con las raíces son frecuentes localizándose, entre ellos, el crecimiento de la hifa que forma un tipo de hinchazón, el cual denota el primer contacto del tubo con la superficie de la raíz. La formación de haustorios y la hifa de penetración son precedidos al contacto, por la subsecuente formación de puntos de infección primarios, (Figuras 3-9 y 11). Al respecto, Hayman (1983); Bonfante-Fasolo (1984); y Bowen (1987), indican que el hongo V.A., al establecer contacto con la raíz, expresa un mecanismo de reconocimiento mediante el ensanchamiento apical de la hifa que tuvo contacto con la superficie de la raíz, formando una especie de apresorio, a partir del cual se origina la hifa de penetración (Abbott y Robson, 1979; Azcón y Barea, 1980; Carling y Brown, 1982; Brundrett et al., 1984; y Boyetchko y Tewari, 1990). El "sitio" de penetración debe ser fisiológicamente activo. Harley y Smith (1983); como la penetración es mecánica, la hifa de penetración se reduce considerablemente de tamaño al penetrar la pared de la célula y, después, recupera el diámetro que tenía antes del adelgazamiento. (Abbott y Robson, 1979; Carling y Brown, 1982; Bonfante-Fasolo, 1984; Gemma y Koske, 1988). La formación del tubo de germinación tiene lugar, normalmente, entre los 3 y 7 días de incubación, en condiciones adecuadas, aunque esto depende, en gran medida, tanto de la madurez y viabilidad de las esporas, como de algunas condiciones ecofisiológicas (Tommerup, 1984; Aguilar et al., 1986; An y Hendrix, 1988; Gemma y Koske, 1988). Al respecto, en este trabajo se encontraron entre el décimo y décimo quinto día, los cuales son períodos similares. Los tubos de germinación producidos mueren a no ser que encuentren una raíz huésped y penetren con éxito en ella Siqueira et al. (1984) y (1985) y Hepper (1979) y (1981); y Siqueira y Hubbell (1986). Sin embargo, Beilby y Kidby (1980 a), mencionan, que una vez producido el tubo de germinación, este crece, se ramifica y puede permanecer activo por períodos de hasta 30 días, en condiciones favorables. Trascurrido este tiempo, si las hifas del hongo no encuentran una raíz susceptible de ser colonizada, comienzan a tabicarse por sus extremos, retraen el citoplasma hacia la espora y ésta entra nuevamente en reposo, pudiendo iniciar otra vez la germinación, cuando las condiciones sean favorables. (Hepper, 1979; Sward, 1981; y Burggraaf y Beringer, 1987).



11



**Figura 1.** Formación temprana de tubos de germinación en esporas de un esporocarpio en el que se observan dos vacuolas desplazándose en el citoplasma del mismo. **Figura 2.** Germinación múltiple de las esporas de un esporocarpio con la subsecuente formación de los tubos de germinación. **Figura 3.** Extensión del tubo germinativo, en el que se observa el contacto con la superficie de la raíz y la formación del apresorio y la hifa de penetración. Desarrollos obtenidos en el suelo del agroecosistema 3. Fotomicrografías óptica, 450, 380, y 300X, respectivamente. **Figura 4.** Principios de la colonización de la raíz por un tubo germinativo. Se observa el punto inicial de la colonización, la penetración y el desarrollo de la hifa que formará el micelio interno. **Figura 5.** Se observa la colonización por medio de la bifurcación del tubo de germinación de una espora contenida en un esporocarpio. Materiales procedentes del agroecosistema 2. Fotomicrografías óptica, 320 y 200X, respectivamente. **Figura 6.** Punto primario de infección donde se puede apreciar una ligera hipertrofia en el diámetro de la raíz, en la zona de colonización; agroecosistema 3. Fotomicrografía óptica, 160X. **Figura 7.** Puntos iniciales de la colonización. Se observan las hifas de penetración. Material del agroecosistema 2. Fotomicrografía óptica, 250 X. **Figura 8.** Inicio de la colonización por el tubo germinativo de una espora, el cual se forma de la hifa de conexión. **Figura 9.** Desarrollo inicial del micelio interno y la formación de los primeros arbuscúlos. Se observan, además, algunos hongos patógenos en la superficie de la raíz. Suelos del agroecosistema 1. Fotomicrografías ópticas, 120 y 270 X, respectivamente. **Figura 10.** Desarrollo de ovillos en el inicio de la colonización, en suelos del agroecosistema 2. Fotomicrografía óptica, 350 X. **Figura 11.** Formación del apresorio y la hifa de penetración en pasto desarrollado en el suelo del agroecosistema 1. Fotomicrografía óptica, 28 X; tinción azul de tripano en todas las preparaciones.

Los datos obtenidos en este trabajo son muy parecidos a los obtenidos por Ramírez et al. (1975); quienes mencionan que siete días después de la inoculación, el 43 y 50% de las esporas de *Glomus macrocarpum* y *Gigaspora calospora*, respectivamente, habían germinado, pero no se detectó colonización. A los 14 días habían germinado 75 y 85%, y hasta los 21 días se empezaron a observar puntos primarios de colonización. Igualmente, Antonio (1989) observó que la esporas de *Glomus monosporum*, en un medio de cultivo de Difco bacto agar con un pH 7 a 25°C, germinaron entre el séptimo y el décimo cuarto día. Similarmente, Sanders y Sheikh (1983) en un tratamiento con dos niveles de concentrados de inóculo (2.5 y 0.25 esporas/g) observaron que las dos poblaciones germinaron entre el sexto y octavo día, después del trasplante. Vietti y Staden (1990), mencionan, que la colonización de *Glomus intraradices*, en plántulas de

guayule, se presentó entre finales de la tercera semana y principios de la cuarta después de la emergencia. Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden, de manera significativa, con los autores antes mencionados en: (a) el tiempo de germinación, (b) la formación del tubo de germinación, (c) el contacto del tubo y la formación de apresorios y, (d) el inicio de la colonización. En cuanto a este último inciso, Harley y Smith (1983) mencionan que los primeros puntos de entrada "se van a formar, preferentemente, en las regiones situadas entre los 0.5 y 1.5 cm del extremo de las raíces laterales jóvenes. Pero esta situación no está totalmente definida, ya que se han encontrado indicios de colonización en otras zonas, lo que implica que la colonización puede ocurrir en regiones de la raíz con distintos niveles de organización citológica (Buwalda et al., 1983 y Hepper, 1985). Como ha sido observado en este trabajo, (Figuras 1-11). Por otro lado, Hayman (1983) y Bonfante (1984) mencionan que la hifa de penetración puede pasar por los espacios intercelulares, pero que lo normal es que penetre la pared celular de la epidermis (Abbott y Robson, 1979; Azcón y Barea, 1980; Carling y Brown, 1982; Brundett et al., 1984; y Bowen, 1987).

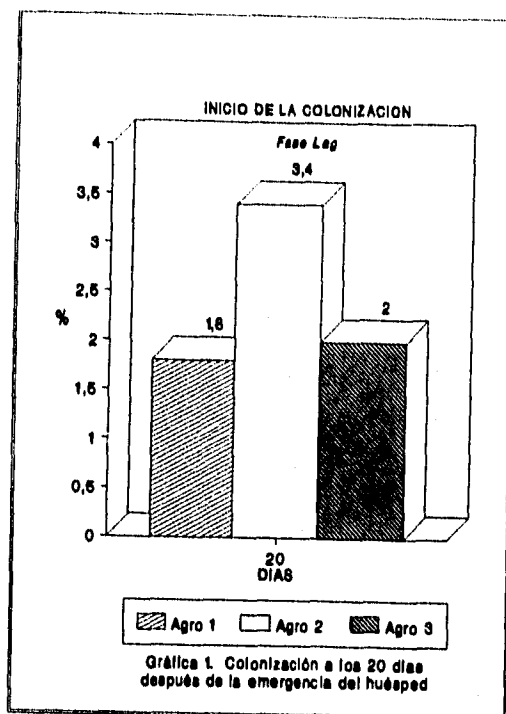
Acerca de las primeras etapas en la formación de la MA, Mosse y Hepper (1979); Smith y Bowen (1979); Miller y Watrud (1984); Mugnier y Mosse (1987); Becard y Fortin (1988); y Sieverding (1991), mencionan que durante el establecimiento de los hongos formadores de endomicorriza, se presentan dos fases: la primera corresponde a la precolonización, en la cual los propágulos germinan en el suelo, emitiendo tubos de germinación hacia las raíces, se forman apresorios, y las hifas de colonización "penetran" las células radicales; (Sward et al., 1978; Beilby y Kidby, 1980; Le Tacon, 1985; Siqueira, et al., 1985; Hepper, 1979, 1981, 1984, 1985; Gema y Koske, 1988); y la segunda fase corresponde al crecimiento dentro de la raíz (Abbott y Robson, 1979; Azcón y Barea, 1980; Carling and Brown, 1982; Harley y Smith, 1983; Sanders y Sheikh, 1983; Bonfante, 1984 y 1987; Brundrett, et al., 1984; Wilson, 1984; Buwalda et al., 1984; Herper, 1985; Bonfante et al., 1986; Bowen, 1987; Manjunath y Habte, 1988; Simpson y Daft, 1990 y Vietti y Staden, 1990).

## **2.2 Etapa 1. Colonización. A los 20 días Después de la Emergencia de las Plántulas.**

### **2.2.1 Principios de la fase lag.**

Del décimo quinto al vigésimo día, se observó el inicio de la segunda fase, ya que las raíces de las plántulas hospederas de los agroecosistemas 1 y 3 presentaron 1.8 y 2% de colonización, respectivamente, y el agroecosistema 2 presentó 3.4% (Gráfica 1). Estos porcentajes corresponden a la etapa inicial de la colonización o fase lag descritas por Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; Bowen 1984; y Sieverding, 1991.

Por otro lado, estos resultados coinciden con los de Ramírez et al.



(1975) antes mencionados y con los de Jaen (1987) quienes mencionan que la colonización inicial de los hongos endomicorrízicos A., en plántulas de papaya no fertilizadas, se presentó a los 15 días después de la emergencia. De manera muy parecida, Saif (1977) al evaluar la dinámica de la colonización de la endomicorriza en *Cucurbita moschata*, *Lycopersicon esculentum* y *Solanum melongena*, observó el inicio de la colonización, a los 20 días. Igualmente, Potty (1985) encontró la colonización a los 20 días, en Cassava. De modo similar, Bethlenfalvay et al. (1982) informaron que la colonización de las raíces de soya, por *Glomus fasciculatum*, se inició entre la segunda y tercera semana después de la germinación. Al respecto, Harley y Smith (1983) encontraron que después de la penetración del hongo en la raíz, éste empieza a desarrollarse inter e intracelularmente. El crecimiento del hongo es restringido en los tejidos meristemáticos, y endodérmicos, en el xilema y floema así como en las partes clorofílicas.

Los resultados obtenidos desde el punto de vista estadístico, (prueba Tukey al 95 y 99%; tabla 1 del apéndice), muestran que no hay diferencias significativas entre los hongos endomicorrízico arbusculares de los tres agroecosistemas en el grado de colonización de las raíces de las plantas hospederas *Chloris gayana*. La similitud estadística inicial, en los tres agroecosistemas, puede deberse a los siguientes puntos: (1) la época de recolección de los propágulos la cual fue efectuada cuando los tres cultivos se encontraban al término de su ciclo (finales de verano); (2) las mismas condiciones climáticas; (3) la similitud de los tres suelos; (4) las mismas condiciones experimentales y planta hospedera (*Chloris*



gayana Kunth.). Sutton y Barron (1972), al respecto, consideran que los hongos M.A., responden a la estacionalidad climática (temperatura, época de lluvia, fotoperíodo, etc.), observando variaciones estacionales en el número de esporas en el suelo, las cuales se relacionan con el estado de desarrollo del hospedero y condiciones climáticas. Schenck y Schroeder (1974), indican que es mayor el número de esporas en verano. Asimismo, Kessler y Blank (1972) mencionan que las poblaciones de hongos endomicorrízicos arbusculares, en áreas de cultivo, son afectadas por la diversidad de los suelos, plantas y factores medioambientales, así como por las diferentes prácticas de laboreo agrícola, rotación de cultivos y fertilización, que afectan su ecosistema natural y, por lo tanto, pueden influir drásticamente en el número de esporas y crear una selección de endófitos resistentes o afines a los cultivos, (Bird, et al., 1974; Khan, 1974; Hayman, 1975; Kruckelmann, 1975; Abbott y Robson, 1977; Hayman y Stovold, 1979; Hayman, 1980; Schenck y Kinloch, 1980; Abbott y Robson, 1982; Hayman 1982; Trappe, 1984, Hayman, 1984).

Por otra parte, analizando lo mencionado por Azcón y Barea, (1980); Daniels y Trappe (1980); Harley y Smith (1983); Le Tacon (1985), el primer estadio de la colonización es afectado grandemente, por los factores del suelo que actúan en la germinación de los propágulos y su crecimiento, así como en la intensidad del crecimiento de la raíz. Abbott y Robson (1982) indican que la combinación suelo-planta es un factor importante para la simbiosis micorrízica A., en la velocidad e intensidad de la respuesta en la colonización inicial y la extensión de la colonización en la raíz. Al respecto, Graham (1982) y Tommerup (1984) y (1985) manifiestan que los exudados radicales estimulan o inhiben la germinación de algunos endófitos A. y, en otros casos, no afecta. Durante los procesos de la formación de la micorriza, en los cuales la planta "acepta" la colonización del hongo hay una completa serie de interacciones bioquímicas, entre la raíz y el hongo, antes de la integración simbiótica de ambos en la forma de un "Supra-organismo". Un gran número de experimentos asumen que el establecimiento de la simbiosis es el resultado de un largo y continuo "diálogo molecular", para el reconocimiento y la aceptación de la señal, (Hepper, 1984; Giovannetti et al., 1993 (a) y (b)).

Por lo tanto, los endófitos arbusculares pueden ser estimulados por las raíces de las plantas hospederas de diferente manera en su germinación, y penetración por el quimiotactismo. Al respecto, Gemma y Koske (1988) encontraron respuestas diferentes al quimiotactismo, de *Gigaspora gigantea*, en el número de contactos de los tubos germinativos, encontrando 87% para las plántulas de tomate y 56% para las de maíz. Durante este trabajo se encontraron diferencias en el grado de la colonización, ya que los endófitos micorrízicos del agroecosistema 2, reflejaron una mayor respuesta a la dinámica inicial de colonización, observándose que éste agroecosistema presentó un porcentaje de incremento en la colonización de 89 y 70% con respecto a los agroecosistemas 1 y 3, respectivamente, y este último 11.11% más que el 1. Lo que indica una mayor colonización o respuesta inicial, en esta población de endófitos nativos, seguidos por los endófitos del agroecosistema 3. Al respecto, Hayman (1975); Azcon y Barea (1976); y Palacios et al. (1986) y (1987)

mencionan que hay hongos arbusculares más agresivos en la colonización y estos pueden no ser los más efectivos (Mosse, 1972 y 1973; Powell, 1975; Sanders et al., 1977; Bagyaraj y Majunath, 1980; Carling y Brown, 1982; Gemma y Koske, 1988; Sreenivasa y Bagyaraj, 1988). Probablemente, estas diferencias, al inicio de la colonización, indican una selección natural de los esporotipos dominantes de cada agroecosistema, (Hayman y Stovold, 1979; Daniels y Trappe, 1980; Schenck y Kinloch, 1980; Hayman, 1982; Powell 1982; y Abbott y Gazey, 1994). Además, se observaron diferencias en lo relativo al patrón de la penetración a las raíces.

### 2.2.2 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.

Las primeras diferencias en los patrones morfológicos de colonización, en los tres agroecosistemas, aparecieron después de la primera semana de haberse iniciado la colonización. Al respecto, Harley y Smith (1983) indica que después de la penetración del hongo en la raíz, éste empieza a desarrollarse inter e intracelularmente. En las raíces de las plántulas hospederas del agroecosistema 1, sobresalió, el crecimiento micelial interno, distribuido en la parte central, emitiendo ramificaciones en ambos lados, y en cuyos ápices se forman ovillos y arbusculos (Figura 12). Estos últimos se observaron, tanto en la etapa de su formación como ya desarrollados, pero no en etapa final. Su aparición en este período, coincide con lo encontrado por Mosse (1981); Brundrett et al. (1985) y Vietti y Staden (1990). Estos autores consideran que los primeros arbusculos aparecen de 3 a 4 días después de iniciada la penetración de la hifa a la raíz. Por otra parte, el arbusculo es la conexión más intensiva entre el hongo y la planta, la formación de este incrementa la actividad metabólica de la célula del huésped, debido, principalmente, a la transferencia bidireccional de metabolitos y nutrimentos de la planta al hongo y viceversa; la vida de los arbusculos es de 4 a 10 días, Cox y Tinker (1976). Las raíces del agroecosistema 2, mostraron dos tipos o patrones de colonización: (a) un crecimiento micelial interno lineal a los costados de la raíz con proyecciones cortas y profundas, y (b) un micelio interno con ovillos contorneados, (Figuras 13 y 14). En el agroecosistema 3, se observó un micelio interno más desarrollado, el cual se extiende longitudinalmente en la raíz principal, y en las raíces secundarias en formación; se distribuye alrededor del cilindro vascular, (Figura 15). Al respecto, Harley y Smith (1983); Bonfante-Fasolo (1984); y Bowen (1987) indican que la hifa de penetración se extiende y avanza por entre las células de la epidermis, o a través de ellas, hacia la corteza de la raíz formando, frecuentemente, "ovillos" las cuales son formas intracelulares no ramificadas que llenan el lumen de la célula, (Figuras 10, 12 y 14).

Bonfante y Fontana, (1985) indican que el plasmalema de la células colonizadas no es perforado por el hongo, sino que éste se invagina en torno a él, con el subsecuente desarrollo de interfases. Harley y Smith (1983); Bonfante-Fasolo (1984) y Alexander et al. (1988), informan que cuando el hongo alcanza la corteza interna, emite frecuentes ramificaciones laterales con penetración intercelular para dar lugar a los arbusculos mediante ramificaciones dicotómicas repetidas, quedando

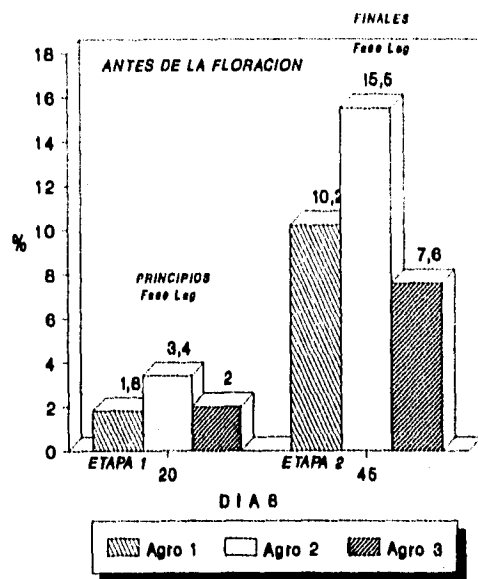
siempre rodeado del plasmalema de la célula hospedera, incrementando el área de contacto, en una relación área:volumen de, aproximadamente, 10 veces. Esta etapa corresponde, probablemente, a lo observado en el agroecosistema 1 (Figura 12). Smith y Pearson (1988) manifiestan que los arbusculos son frecuentemente formados dentro de la célula, brevemente después de la penetración hifal, entre el segundo y el quinto día. Las finas ramificaciones de las hifas del arbusculo están completamente rodeadas por el plasmalema de la célula, lo que les permite una gran extensión de superficie de contacto Bonfante y Fasolo (1984), observó que el proceso degenerativo del arbusculo comienza por una desorganización del citoplasma en las ramas más finas. La textura se torna amorfa y los organelos indistinguibles, las paredes y membranas del hongo se colapsan y van siendo progresivamente, selladas por tabiques, al final del desarrollo de la interfase más importante, desde el punto de vista funcional, y que representa un aspecto clave de la biotrofia en la MA, ya que cuando el arbusculo ha degenerado totalmente, la célula recupera su estructura y funciones normales (Hepper, 1981; Scannerini y Bonfante, 1983; Harley y Smith, 1983). Los estadios del desarrollo de la formación y degeneración de los arbusculos ocurren, simultáneamente, en la raíz (Harley y Smith, 1983; y Sieverding, 1991). Esta estructura, de acuerdo con Alexander et al. (1988) ocupa el 35% del volumen de la célula colonizada con un 20% en ramificaciones y 15% como tronco. Harley y Smith, (1983); Bonfante-Fasolo, (1984); Alexander et al. (1988), considera que los cambios en la estructura y arquitectura de la pared del hongo, el desarrollo de interfases y la redistribución de actividades enzimáticas tienen su máxima expresión en los arbusculos, los cuales están relacionados con el intercambio de nutrimentos entre los simbioses, y son una consecuencia de la relación celular de elevado nivel de compatibilidad, que se ha establecido a través del tiempo en una coevolución. De tal modo que, de la integración de las funciones de ambos organismos, resulta uno mucho más eficiente. (Dexheimer et al., 1979; Carling y Brown, 1982; Harley y Smith, 1983; Scannerini y Bonfante 1983; Pearson y Gianinazzi, 1983; Gianinazzi et al., 1983, Abbott y Robson, 1984; Bonfante y Fasolo 1984; y Alexander et al., 1988). Gianinazzi y Gianinazzi (1983), indican que la presencia de determinadas fitohormonas a determinadas concentraciones, podrían jugar un papel clave en la inducción de la formación del arbusculo. De acuerdo con Woolhouse (1975), los procesos de la formación de los arbusculos pueden ser contemplados en tres etapas: (1) la planta hospedera emite una señal indicadora de que el fósforo es bajo; (2) el hongo recibe la señal y responde con un crecimiento en el interior de la célula hospedera, y forma el arbusculo; y (3) la planta hospedera modifica el camino en dirección "inversa" al transporte del fósforo, pasándolo del hongo a su interior.

## **2.3 Etapa 2. 45 Días Posteriores a la Emergencia de las Plántulas (25 días Después de Iniciada la Colonización).**

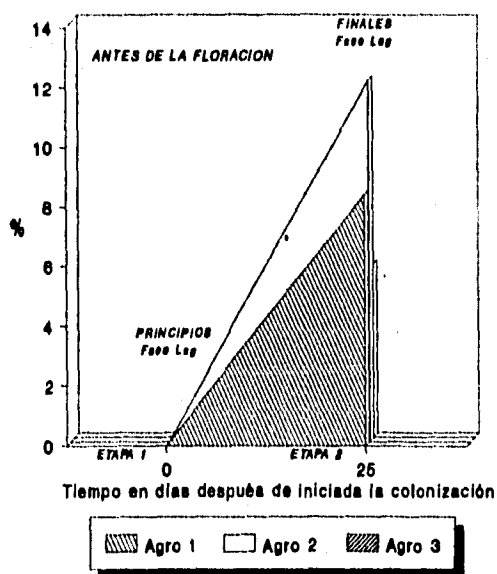
### **2.3.1 Principios de la fase exponencial.**

Se observó el final de la fase lag y el inicio de la fase exponencial mencionadas por Azcón y Barea, (1980); Bethlenfalvay et al., (1982 a); Wilson, (1984); Bowen, (1987) y Sieverding, (1991). Pasando de 1.8, 3.4 y 2 a 10.2, 15.5, y 7.6% de colonización de los hospederos de los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 2). La evolución de la colonización, guarda un patrón de desarrollo muy semejante entre la etapa 1 y esta etapa 2.

Estos resultados coinciden con varios datos experimentales importantes, de algunos otros autores como los de Bagyaraj y Manjunath (1980) en donde ocho pastos diferentes altamente micotróficos, inoculados con *Glomus fasciculatum* y colocados en un soporte con arena-suelo, 1:1 vol/vol, después de 45 días de la emergencia, el hospedero *Dicanthium annulatum* en el "pasto Apanga" fue el que menos grado de colonización tuvo (19.9%), comparado con la mayor colonización (63%) obtenida con "pasto Guinea". Simpson y Daft, 1990 al inocular cinco plantas hospederas diferentes con *Glomus clarum*, observaron que, a los 49 días, el menor grado de colonización, lo presentaba el Garbanzo-L550 con 19%, una colonización intermedia; el Sorgo-CSH5 (48%); y una máxima el Maíz-Earlibelle (60%). Por otra parte, Manjunath y Habte, (1988) encontraron que la colonización de *Glomus aggregatum*, en las raíces de *Leucaena leucocephala*, alcanzó 84% en 30 días. Lo anterior indica que el desarrollo de la colonización por un solo endófito arbuscular, presenta mejores condiciones para el desarrollo micorrízico. Sin embargo, esto nunca ocurre en condiciones naturales, donde la población de esporotipos dominantes colonizan las raíces, pudiendo presentarse una competencia interespecífica por espacio y nutrimentos o todo lo contrario, ya que no siempre una mayor colonización implica un mayor desarrollo para el hospedero, al igual que no siempre la colonización por un solo endófito garantiza un mejor desarrollo de la planta hospedera o de ambos. Estos resultados indican que, sobre estas interacciones, falta aún mucho por conocer. Powell (1982) encontró, en 20 muestras de aislados de suelos de cultivo, que de 7 diferentes aislados micorrízicos arbusculares y, especialmente, tres fueron 84 y 142% más efectivas que *Glomus fasciculatum*, en la estimulación del crecimiento del Clavel. Al respecto, se puede observar que el desarrollo de varios hongos nativos, en un hospedero, puede ser mejor que el de uno sólo, lo cual reafirma lo antes mencionado. Por otro lado, Daft (1983), menciona que las plantas en la naturaleza son, invariablemente, colonizadas por hongos endomicorrízicos arbusculares y su contribución permanente al reciclamiento de nutrimentos en las comunidades, puede ser muy significativo. Sin embargo, poco o nada se sabe sobre la influencia del crecimiento de los hospederos en condiciones naturales, ya que éstos son colonizados por diferentes endófitos, y cada uno de ellos puede ser importante para el hospedero, a diferentes tiempos, durante el desarrollo estacional. Según Daft et al. (1981 y 1992), las plantas de cultivos pueden beneficiarse de la inoculación con endófitos A. seleccionados. Hayman (1982), considera que no todos los endófitos V.A. son igualmente efectivos. Asimismo, Sanders et al. (1977) y Palacios et al. (1986 y 1987), encuentran que algunos hongos producen incrementos en el crecimiento y en la absorción de P en las plantas, a tasas diferentes.



Gráfica 2. Colonización a finales de la fase lag (45 días después de la emergencia del huésped).



Gráfica 3. Ritmo de la colonización, de la etapa 1 a la 2.

Esto denota un cierto grado de eficiencia específica de ciertos HMA con determinados hospederos (Palacios et al., 1987).

### 2.3.1.2 Ritmo de la colonización.

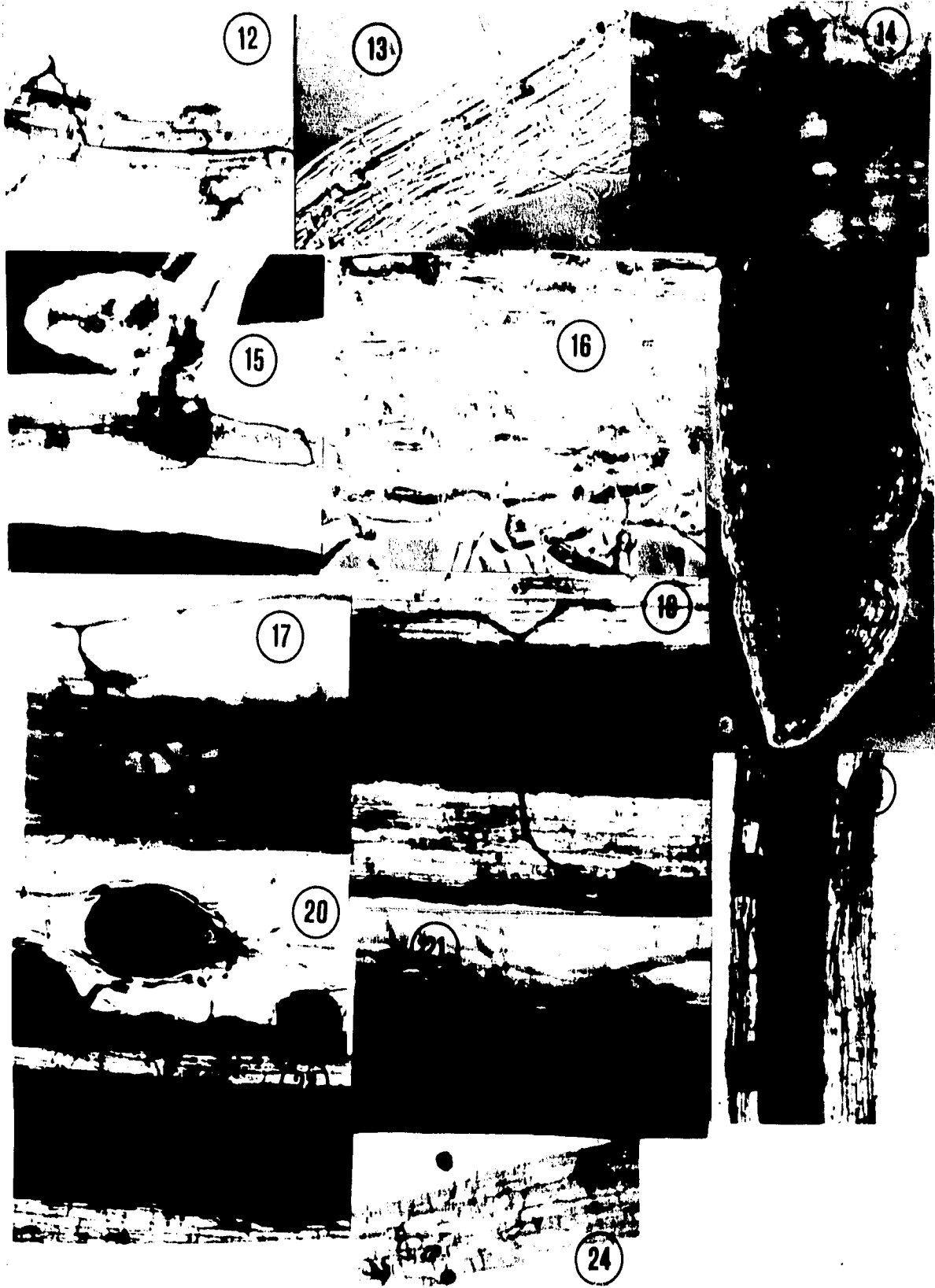
El ritmo fue de 8.4, 12.1 y 5.6%, para los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 3). Destacó el potencial micorrízico infectivo de los endófitos arbusculares del agroecosistema 2, que duplica al del agroecosistema 3; con 3.7% más colonización que el agroecosistema 1. Estos valores, de acuerdo con la prueba Tukey al 99% (Tabla 2 del apéndice), indican que las poblaciones de endófitos arbusculares de los agroecosistemas 1 y 3, son iguales en el grado de colonización pero estadísticamente diferentes al 2. Donde el agroecosistema 2, sobresale con un porcentaje de incremento de 52 y 104% más que los agroecosistemas 1 y 3, respectivamente, y el 1, con 34% más que el último.

### 2.3.3 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.

Durante esta etapa de desarrollo de la simbiosis, los hongos muestran todas sus estructuras típicas, distinguiéndose, de manera mas clara, que en la etapa anterior, los diferentes tipos o patrones de colonización en cada agroecosistema, los cuales se describen a continuación:

Agroecosistema 1, sobresalen dos tipos: (a) micelio interno ramificado en forma de red, con hifas vacuoladas, destaca la presencia de arbusculos, no se observan vesículas, y el micelio externo, bien desarrollado y abundante, (Figura 16); y (b) un micelio interno mucho menos abundante pero más generalizado en las raíces, presenta divisiones dicotómicas a intervalos cortos y sobre la superficie del mismo, observándose pequeñas protuberancias que crecen para formar las futuras vesículas, (Figuras 17). Al respecto, Sanders y Sheikh (1983), sugiere que la biomasa del hongo externo está correlacionada con la colonización interna de la raíz. Esto puede ocurrir en un momento dado del desarrollo entre el hongo y la raíz (Bethlenfalvay et al. (1982 b).

En el agroecosistema 2, se observaron cuatro tipos dominantes: (a) el punto de entrada se observa en la parte apical a la zona meristemática, extendiéndose en la parte superior en forma contorneada, con una colonización temprana que denota una hipertrofia en la raíz, (Figura 18); (b) del cordón hifal interno se proyecta a una gran extensión en cuya base, y cerca de la superficie interna de la raíz, se producen vesículas, (Figura 19); (c) del micelio interno principal salen proyecciones de las cuales la parte apical se empieza a dilatar, de tal manera, que el volumen que alcanzan genera una presión, la cual se refleja en una hipertrofia de la pared celular del huésped, en el interior de estas vesículas cuya formación es vacuolada, (Figura 20); y (d) micelio interno con divisiones dicotómicas cortas, de las que se proyecta la hifa de sujeción de las vesículas, (Figura 21). Finalmente, en el agroecosistema 3, sobresalieron tres tipos o patrones de colonización, en los cuales





**Figura 12.** Colonización inicial donde se observan ovillos, arbusculos y el micelio interno en desarrollo. **Figura 13.** Desarrollo inicial del micelio interno en las proximidades de la zona meristemática. **Figura 14.** Detalle del desarrollo inicial del micelio interno. Se observan los ovillos contorneados. Fotomicrografías ópticas 120, 120, y 270X, respectivamente. **Figura 15.** Desarrollo inicial de la colonización del hongo. Fotomicrografía óptica en campo oscuro, 120 X. **Figuras 16 y 17.** Diferentes características del desarrollo inicial del micelio interno. Fotomicrografías ópticas 280 y 220 X, respectivamente; aclareadas con xilol. **Figuras 18-21.** Diferentes características del desarrollo interno inicial de HA. Fotomicrografías ópticas 180, 220, 300, y 260 X, respectivamente (19 y 20 aclareadas con xilol). **Figuras 22-24.** Tipos de vesículas formadas por diferentes hongos, en la etapa del desarrollo inicial. Fotomicrografías ópticas, 120, 130, y 130 X, respectivamente (figura 24 aclareada con xilol). **Figuras 25-27.** Desarrollo del micelio externo; con diferentes puntos de colonización; multiplicando su extensión en raíces nuevas y en las ya establecidas. Se observa la formación de apresorios y su penetración, como una probable respuesta del quimiotactismo. Microfotografías ópticas 120, 120 y 280 X, respectivamente.



resaltó, únicamente, la diferencia en el tamaño, forma y distribución de las vesículas, (Figuras 22-24). El tipo de sujeción de las vesículas, en los tres casos fue diferente. Abbott y Robson, (1979 b), al respecto, encontraron diferentes uniones hifales en la colonización de dos aislados de especies de *Glomus* en tres especies de pasto. (Mosse y Herppper, 1975; Greham, 1982; Abbott, 1982; Mc Gee, 1986; Bécar y Fortin, 1988; Giovannetti et al, 1993 a y b y 1994; y Morton y Betivenga, 1994).

Azcón y Barea (1980); Carling y Bowen (1982); Hayman (1983); Harley y Smith (1983); Buwalda et al. (1984); Bonfante-Fasolo (1984); Le Tacon (1985); Bowen (1987); y Bonfante et al. (1988), mencionan que en un estadio posterior al desarrollo de los arbuscúlos, se forman las vesículas. Estas pueden ser intercalares o terminales e inter o intracelulares; su interior es rico en glóbulos lipídicos. Su función parece ser la de órganos de reserva. Durante situaciones de estrés (cuando las provisiones metabólicas de la planta huésped están bajas), estas reservas son utilizadas por el hongo por lo que, bajo estas circunstancias, las vesículas empiezan a degenerar. Las especies de hongos pertenecientes a los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* nunca forman vesículas. Los dos géneros mencionados producen células auxiliares en el micelio externo y, en *Glomus interradices*, las vesículas se convierten en esporas, al igual que en algunas otras especies. Al respecto, Morton y Bentivenga (1994), indican que las vesículas intrarradicales son formadas, exclusivamente, en *Glomaceae* y *Acaulosporaceae* con diferencias en cada familia. Abbott (1982), menciona que las vesículas en *Glomaceae* usualmente van de subglobosas a elípticas, y en *Acaulosporaceae*, son pleomórficas, montañosas y se tiñen muy poco con azul de tripano. Mc Gee (1986), también, ha observado las diferencias morfológicas de las vesículas entre las especies esporocárpicas de *Glomus*.

#### **2.3.4 Desarrollo del micelio externo.**

El micelio externo, en esta etapa en los tres agroecosistemas, se encontró representado, tanto por hifas gruesas (20 a 25 micrómetros de diámetro) como delgadas (5 a 15 micrómetros), pero sin la presencia de esporas (Figura 25). Sin embargo, lo peculiar de este micelio es que, en este período, donde el crecimiento de las raíces secundarias es más pronunciado, el micelio en expansión tiene más oportunidades de multiplicar la colonización, por los múltiples contactos con las raíces, por lo que podemos suponer que esto ocurre antes de que el micelio externo empiece a formar esporas, por lo que su fisiología se presta más al continuo crecimiento longitudinal y colonización, con el fin de expandirse y así lograr una mayor área de contacto con el huésped. (Figuras 25-27). Es importante hacer notar la presencia de hongos ectoparásitos presentes (que recuerdan a *Pythium*) probablemente, infectaron las raíces antes de que el micelio externo de los HMA las colonizaran, (Figuras 26). Al respecto, Secilia y Bagyaraj (1988), encontraron 14 géneros y varias especies de hongos parásitos asociados

a *Glomus fasciculatum*, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora laevis* y *Sclerocystis dussii*; además, en este último, se apreció una depresión en su desarrollo. Por otra parte, la especie predominante, asociada a todos los cultivos de HMA fue *Cladosporium herbarum*. La asociación de otros hongos parásitos con HMA, en macetas, es común (Palacios comunicación personal; Daniels y Menge, 1980; Ross, 1980; Ross y Ruttencutter, 1977; y Ross y Daniels citado por Schenck, 1991). Finalmente, se ha observado el mecanismo de respuesta de la hifa micelial externa colonizante al quimiotactismo, al contacto con la superficie de la raíz, notándose tres efectos importantes: (a) la respuesta al quimiotactismo de la hifa del micelio externo; (b) el crecimiento apical de la hifa al contactar con la superficie de la raíz; (c) la formación de apresorios y la formación de las hifas de penetración y; (d) la formación de varios puntos de colonización muy cerca unos de otros, con la subsecuente formación de puntos de colonización secundarios para, posteriormente, extenderse; lo que denota el final de la fase lag y el inicio de la fase exponencial, descritas por Azcón y Barea (1980); Harley y Smith (1983); Bowen (1987) y Sieverding (1991). El crecimiento del hongo micorrízico arbuscular fuera de la raíz y en el suelo de la rizósfera, constituye la estructura del hongo arbuscular llamado micelio externo y es la más importante para la toma de nutrimentos de la solución del suelo y su transporte a la raíz (Mosse, 1956; Harley, 1969; Cox y Tinker, 1976; Sutton y Sheppard, 1976; Clough y Sutton, 1978; Carling y Brown, 1982; Ames et al., 1983; Hayman, 1983; Abbott y Robson, 1985; Sylvia, 1992 y Marschner y Dell, 1994), al mismo tiempo, sustenta las esporas y sirve, también, como otro medio de colonización (propágulo), Azcón y Barea (1980); Harley y Smith (1983); y Le Tacon (1985).

Sanders et al. (1977), sugieren que la biomasa del hongo externo está correlacionada con la colonización interna de la raíz. Esto puede ocurrir, en un momento dado del desarrollo, entre el hongo y la raíz (Bethlenfalvay et al., 1982). Las especies de los hongos MA difieren notablemente entre ellas en la extensión del micelio externo; y su crecimiento esta influenciado por factores abióticos y bióticos del suelo (Sylvia, 1986). En general, el micelio joven en las raíces no está septado y consiste de ramificaciones dicotómicas de hifas, principalmente gruesas, de 5 a 20 micrómetros, y otras delgadas de 1 a 5 micrómetros de diámetro. (Harley y Smith, 1983; y Sieverding, 1991).

### 2.3.5 Número de esporas.

Al inicio de la fase exponencial, en este estudio, aún no había producción de esporas. Por el contrario, la población inicial de esporas de la etapa 1, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, de 64, 72 y 68 por cada 5 gramos de suelo seco, disminuyó en esta etapa 2 a 56, 62 y 21, respectivamente, (Gráfica 4). Este hecho reflejó el potencial micorrízico del inóculo, es decir, su grado de capacidad colonizadora en el huésped *Chloris gayana* Kunth, después de 25 días de iniciada la colonización, ya que la disminución del número de esporas indica una mayor germinación. Al respecto, Powell, (1976); y Sanders y Sheikh, (1983), mencionan que del total de las esporas de un inóculo sólo

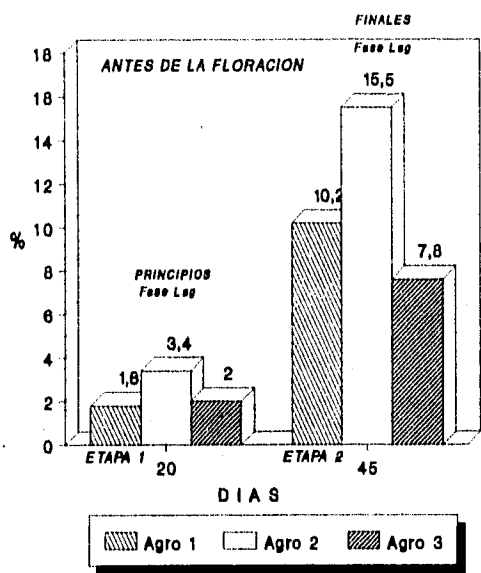
germinan el 50%. Tommerup, (1983) y (1985) puntualizó que existe una gran variación en la germinación de diferentes poblaciones de esporas y aún entre las mismas poblaciones, por lo cual varios autores, sugieren que esto se puede deber al proceso de dormancia, por el cual las esporas pasan antes de completar su madurez por lo que, durante este período, no germinan. Seguido del período de dormancia, sigue un período de inactividad o reposo de la espora la cual, en condiciones favorables, puede germinar, (Tommerup, 1983). Esporas de *Glomus sp.* han tardado una semana en pasar del período de dormancia al de inactividad en suelo seco, y 6 semanas en suelo húmedo. Para *Gigaspora calospora*, sus períodos fueron de 6 y 12 semanas, respectivamente, y para *Acaulospora laevis* el período de dormancia fue de 6 meses en las dos condiciones, (Macko, 1981; y Tommerup, 1985). Sin embargo, el tránsito del período de dormancia al de inactividad, puede ocurrir en un solo día. Poblaciones de esporas en etapa de inactividad mostraron una uniformidad de 90 a 100% de germinación, (Tommerup, 1983). Los tiempos de germinación en el período de inactividad en *A. laevis* fueron de muy pocos días, germinando unas antes que otras. Es importante hacer notar que, en esta etapa 2, en el agroecosistema 3, que tuvo la mayor germinación se presentó el menor grado de colonización, mientras que los agroecosistemas 1 y 2 con menor germinación, presentaron un mayor grado de colonización, (Gráficas 2 y 6). Al respecto, Abbott y Robson, (1984 b y 1985); y Aguilar et al. (1986) indican que la "infectividad" o capacidad colonizadora de una población de propágulos no siempre se correlaciona con el número de propágulos. Palacios et al. (1986 y 1987) y Sieverding (1991) mencionan que, entre los endófitos, se presentan diferentes grados de capacidad colonizadora y efectividad.

### **2.3.5.1 Ritmo de la producción de esporas.**

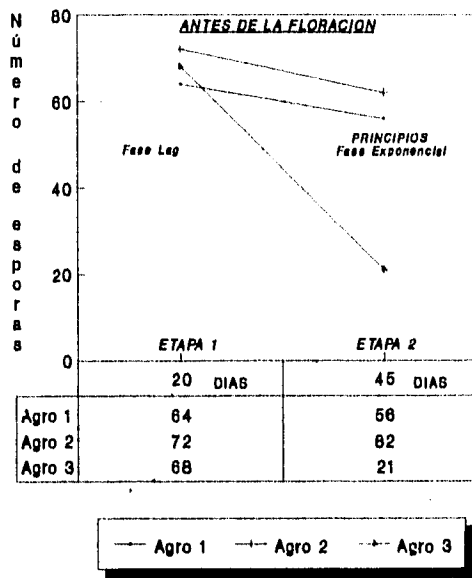
El descenso en el ritmo de producción de esporas en el suelo de los agroecosistemas 1, 2 y 3 de 8, 10 y 47%, respectivamente, indica el grado de germinación que ha ocurrido en cada uno de ellos en esta etapa, ya que a mayor decremento corresponde un porcentaje mayor de germinación (Gráfica 6). De acuerdo a la prueba Tukey al 99% (tabla 3 del apéndice) los agroecosistemas 1 y 2 son estadísticamente iguales, pero significativamente diferentes al 3. Lo que se confirma con los decrementos en la producción de esporas de 12.5, 14 y 69%, respectivamente (Gráfica 15).

### **2.3.6 Porcentaje de viabilidad de las esporas.**

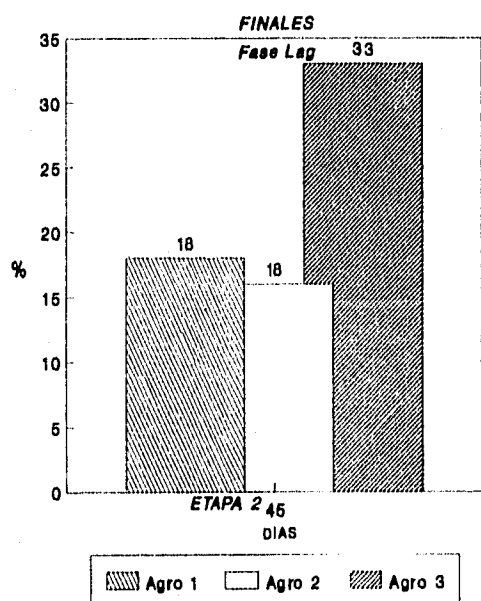
Los agroecosistemas 1 y 2 (con un mayor número de esporas) presentaron una menor viabilidad, 17 y 16%, respectivamente, en relación al agroecosistema 3 en el cual, aunque con un menor número de esporas, presentó una mayor viabilidad (33%) Gráficas 4 y 5. De acuerdo con la prueba Tukey al 99% (tabla 4 del apéndice), el agroecosistema 3 es, estadísticamente, diferente al 1 y 2 de manera muy significativa, en tanto que estos dos últimos son iguales. Estos resultados,



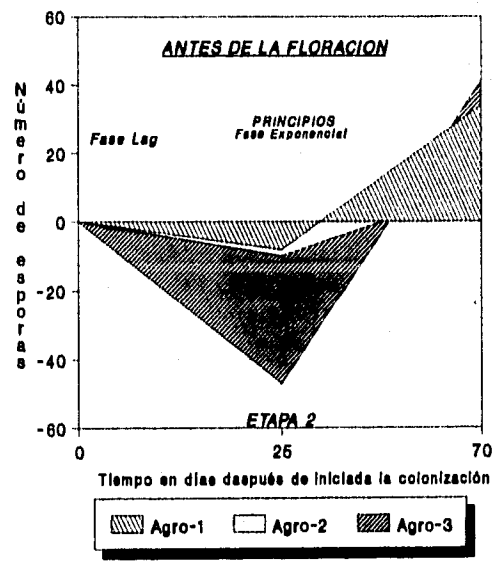
Gráfica 2. Colonización a finales de la fase lag (45 días después de la emergencia del huésped).



Gráfica 4. Producción de esporas a los 45 días después de la emergencia del huésped.



Gráfica 5. Viabilidad de las esporas a los 45 días después de la emergencia del huésped.

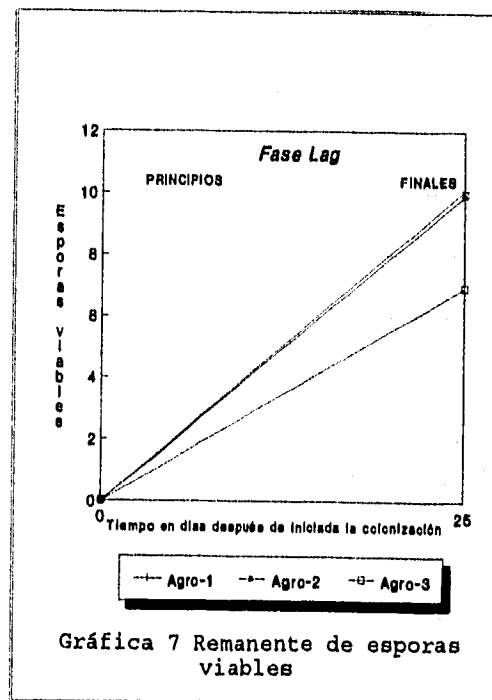


Gráfica 6. Ritmo en la producción de esporas a principios de la fase exponencial.

probablemente, indican que el inóculo del agroecosistema 3, después de 50 días, mantiene su potencial micorrízico, con un porcentaje de incremento en su viabilidad de 83 y 106%, con respecto a los agroecosistemas 1 y 2, respectivamente. Además, el hecho de que el agroecosistema 3 contenga un menor número de esporas significa, probablemente, que los hongos arbusculares fueron estimulados por el hospedero, en este agroecosistema, en mayor proporción que en los otros dos; en lo relacionado a su germinación y penetración, pero no en la extensión (Gráficas 2 y 6).

### 2.3.6.1 Número de esporas viables.

La alta viabilidad de las esporas del agroecosistema 3, y el mayor número de esporas de los agroecosistemas 1 y 2, los conduce a tener el siguiente número de esporas viables: 10.1, 9.9 y 6.9, por cada 5 g de suelo seco, respectivamente, (Gráfica 7). De acuerdo a la prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 5 del apéndice) no hay diferencias significativas. Al respecto, Sieverding (1991) menciona que la producción de esporas se presenta entre la tercera y cuarta semana, en aquellas especies de formación rápida, ya que en otras se ha encontrado una formación tardía de hasta 6 meses. La producción de esporas se da en forma dinámica, pues mientras se forman unas, otras pueden germinar (Hayman, 1975).



Después de un mes y medio de la emergencia de las plántulas hospederas, desde el punto de vista cualitativo, aritmético y, en algunos

casos, estadístico, se pudieron observar diferencias significativas en el grado de germinación de los esporotipos, capacidad colonizadora y efectividad de la colonización, así como en la viabilidad de las esporas. De acuerdo con Harley y Smith (1983), la micorriza promueve cambios en la parte aérea del hospedero; sin embargo, en esta etapa, no se observaron. Esto puede deberse a que el endófito arbuscular, antes de establecerse actúa, durante su penetración, como parásito lo cual, en algunos casos, deprime temporalmente a la planta observándose, posteriormente, el efecto benéfico (Palacios comunicación personal).

## **2.4 Etapa 3. A los 90 Días después de la Emergencia, Poco Antes de la Floración, Correspondiente a 70 Días Después de Iniciada la Colonización.**

### **2.4.1 Finales de la fase exponencial.**

En la etapa 3, el desarrollo de la simbiosis se encontró en el final de la *fase exponencial* y principios de la *fase meseta*, mencionada por Azcón y Barea (1980); Carling y Brown (1982); Bethlenfalvay (1982 b); Bowen (1987); y Sieverding (1991). En esta etapa, los hongos se extendieron rápidamente en la raíz, debido a los múltiples contactos del micelio externo con las raíces secundarias en crecimiento, logrando su máxima extensión longitudinal para, posteriormente, iniciar su maduración. Los porcentajes de colonización, en esta etapa, fueron de 37.5, 50.56 y 38.36% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 8). Estos resultados indican diferencias en la intensidad del crecimiento y de respuesta en los tres agroecosistemas. Los agroecosistemas 1 y 3 presentaron un grado de colonización semejante, ya que ambos tienen 38%, mientras que al agroecosistema 2, con 12% más le corresponde un porcentaje de incremento de 35 y 32%, en relación a los agroecosistemas 1 y 3, respectivamente. Sin embargo, la prueba estadística Tukey, al 95 y 99%, no mostró diferencias significativas entre los tres agroecosistemas (tabla 6 del apéndice). Por otra parte, se observó que el desarrollo de las poblaciones sigue guardando el mismo patrón de comportamiento, en el desarrollo y evolución de la micorrización, en las etapas 1, 2 y 3. Esto significa que las poblaciones de HMA de los 3 agroecosistemas guardan una estrecha relación ecofisiológica, ya que responden de manera similar al metabolismo del hospedero.

### **2.4.1.2 Ritmo de la colonización.**

En la etapa 3 se detectó el crecimiento de la colonización más rápido

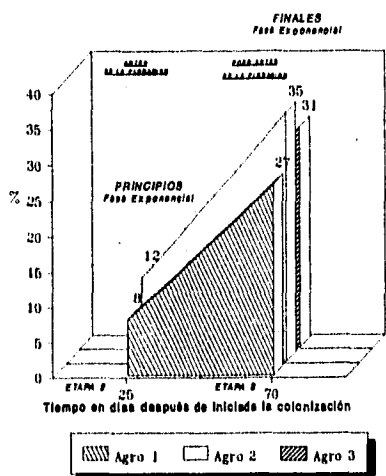
en los tres agroecosistemas, que se reflejó en un marcado ascenso en el ritmo en los tres agroecosistemas, ya que de 8.3, 12.1 y 5.8 de la etapa anterior, ascendieron en esta etapa 3 (poco antes de la floración) a 27, 35 y 31%, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 9). Este ascenso indica, claramente, el comportamiento de los hongos endomicorrízicos en la fase exponencial donde, además, alcanzan su desarrollo todas las estructuras típicas (micelio interno, arbusculos, vesículas con contenidos lipídicos y un micelio externo bien definido). Desde el punto de vista cualitativo, el grado de micorrización en esta fase produce un efecto positivo desde el punto de vista cualitativo en la parte aérea de los hospederos. Al respecto, Siqueira et al. (1984); (1985) y (1986) sugieren que las plantas llevan el control de la colonización micorrízica a través del metabolismo de los carbohidratos en la raíz. Harley y Smith (1983), indican que la colonización no causa cambios macroscópicos en la raíz, de tal manera que la colonización puede pasar desapercibida. Mosse (1953); y Bonfante (1984), entre otros autores, consideran que, aunque durante el desarrollo de la MA tienen lugar cambios anatómicos y citológicos en la raíz, la expresión morfológica de éstos, normalmente, no se detecta a simple vista. Quizá por ello, la simbiosis había sido ignorada en estudios sobre fisiología de la raíz, cuando realmente forma parte de la misma, y el micotrofismo es, para el vegetal, la forma habitual de adquisición de nutrimentos minerales (Li et al., 1991; Bolan, 1991; Azeon y Barela, 1992; Marschner y Dell, 1994; y Smith et al., 1994).

#### **2.4.1.3 Ritmo del Porcentaje de Incremento de la colonización.**

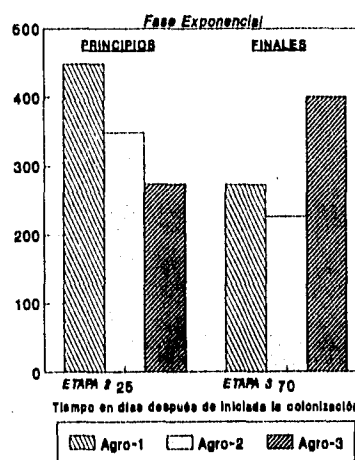
Comparando los ritmos de incremento de la etapa 2 anterior, de 448, 348 y 273% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, con los de esta etapa 3 (poco antes de la floración) se observa que los valores se invierten ya que los agroecosistemas 1 y 2 disminuyen su incremento en la colonización a 271 y 226, respectivamente, en comparación con el agroecosistema 3, que presentó, en esta etapa, un incremento de 399%, (Gráfica 10). Este hecho indica, probablemente, una sucesión en la evolución de la colonización, ya que aquellas poblaciones de hongos endomicorrízicos arbusculares que presentaron un rápido desarrollo en la etapa anterior, en esta etapa 3 se incrementan poco para alcanzar su desarrollo antes de su madurez, como ocurrió en los agroecosistema 1 y 2. Mientras que los hongos que alcanzan un desarrollo menor en la etapa anterior, responden con un fuerte incremento en su desarrollo para alcanzar la madurez, en la parte final de la fase exponencial como es el caso de los hongos arbusculares del agroecosistema 3, (Gráfica 10).

#### **2.4.1.4 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.**

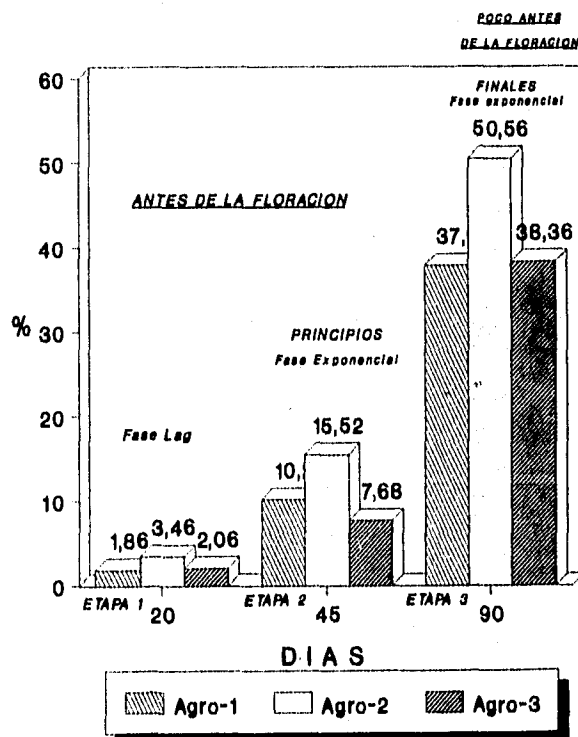
En esta etapa ocurren, cambios anatómicos notorios en los componentes de los hongos, sobresaliendo la producción y diversidad de arreglos, tamaños y formas de las vesículas, resaltando 3 tipos o patrones en el agroecosistema 1: (a) un arreglo en paquetes de 10 a 15 vesículas con una



Gráfica 9. Ritmo del aumento de la colonización a finales de la fase exponencial.



Gráfica 10. Ritmo en el incremento de la colonización de la etapa 2 a la 3, finales de la fase exponencial.



Gráfica 8. Colonización alcanzada en las fases lag y exponencial.



pared delgada, y otra gruesa, y su contenido con vacuoladas que ocupan el lumen de la célula huésped, y algunas hifas presentan tabiques y proyecciones a intervalos cortos, (Figura 28); (b) desarrollo de vesículas grandes y redondas en la parte apical de las ramificaciones del micelio interno, (Figura 29); y (c) desarrollo de vesículas subglobosas, de diferentes tamaños (Figura 30). En los tres casos, la unión hifa-vesícula y la morfología son diferentes.

En el agroecosistema 2, se observaron diferencias en: (a) tamaño de las vesículas y en la morfología de sus unión, y (b) diámetro de las hifas y distribución del micelio interno en el tejido cortical (Figuras 31 y 32).

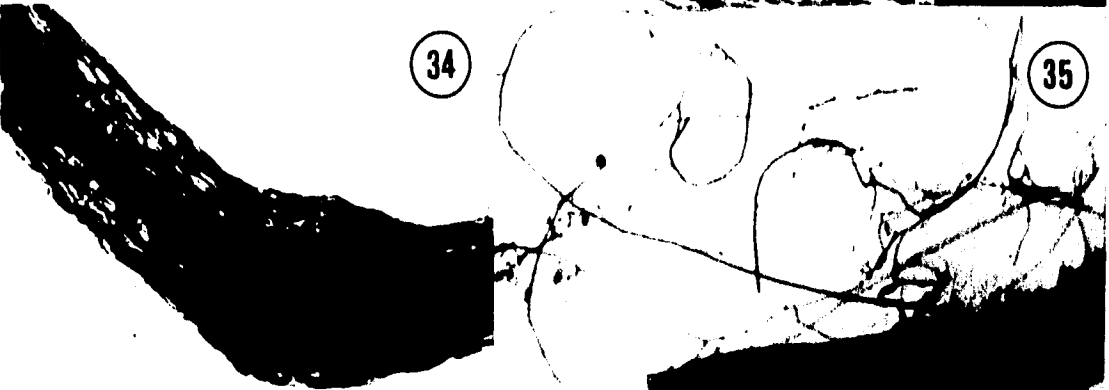
En el agroecosistema 3, también, sobresalen dos tipos o patrones de colonización: (a) las vesículas se van formando perpendicularmente al haz vascular, y al azar, siendo grandes y globosas; y (b) a intervalos cortos, se presentan agrupaciones de 25 a 35 vesículas, (Figuras 33 y 34). Al respecto, Hall (1977), concluye que las características morfológicas de la colonización podrían ser utilizadas en taxonomía; siempre y cuando se trabaje más intensamente sobre este campo, ya que pueden interferir las variaciones impuesta por el hospedero y el suelo. Abbott y Robson (1979), mencionan que existe poca información sobre la morfología interna de la colonización en la raíz. Por otro lado, la taxonomía basada solamente en las características de la pared de las esporas y esporocarpos aún no es suficiente, (Gerdemann y Trappe, 1974; Trappe y Schenck, 1982; Walker, 1979 y 1986; Morton, 1988; Egge y Fortin, 1989; Pérez y Schenck, 1990 a y b; Morton, 1990; Giovannetti et al., 1993 a y b y 1994; Morton y Bentivenga, 1994; y Rosendahl et al., 1994). Además, para la identificación de los hongos arbusculares, algunos autores han propuesto otros criterios basados en la morfología interna de las estructuras como son: los arbusculos, vesículas y esporas, junto con el desarrollo de la tasa de colonización (Abbott y Robson, 1979 y Morton, 1985) Estos autores, entre otros, concluyen que la anatomía de la micorriza, puede ser una característica importante en la diferenciación de especies de endófitos arbusculares ( Daniels y Duff, 1978; Abbott y Robson, 1979; Walker y Sanders, 1986; Giovannetti et al., 1990).

#### **2.4.2 Desarrollo del micelio externo.**

Por otro lado, en la etapa 3 (poco antes de la floración; finales de la fase exponencial), no sólo destacó la colonización interna sino, también, el micelio externo, el cual muestra, en los tres agroecosistemas, el inicio de la producción de esporas, (Figura 35). Al respecto, Safir (1980) y Mosse (1981) mencionan, que la producción de esporas se presenta entre el segundo y tercer mes; dependiendo de las condiciones climáticas y del huésped, (Hayman 1975).

#### **2.4.3 Número de esporas.**

En esta etapa la producción de esporas, en los tres agroecosistemas, fue de 90, 72 y 62, por 5 g de suelo seco correspondiente a los



Distribución, tamaños y formas de vesículas formadas por hongos V.A. nativos. Figuras 28-30. Del agroecosistema 1. Fotomicrografías ópticas 300, 270, y 270 X, respectivamente, aclaradas con xilol. Figuras 31 y 32. Agroecosistema 2. Fotomicrografías ópticas 270 X, respectivamente. Figura 33 y 34. Agroecosistema 3. Fotomicrografías ópticas 270 X. Figura 35. Micelio externo con producción de esporas. Fotomicrografía óptica, 90 X.

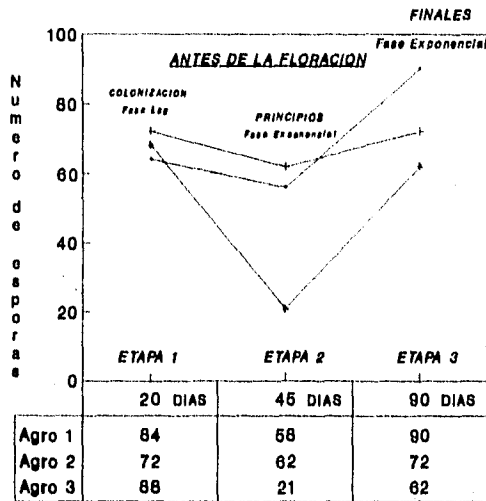
agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráfica 11). Estadísticamente, de acuerdo con la prueba Tukey al 95 y 99% (Tabla 7 del apéndice), la producción de esporas en los agroecosistemas 2 y 3 fue igual, pero diferente a la producción del agroecosistema 1. Sin embargo, solamente se observaron diferencias aritméticas en el número de esporas en esta etapa 3.

#### 2.4.3.1 Ritmo de la producción de esporas.

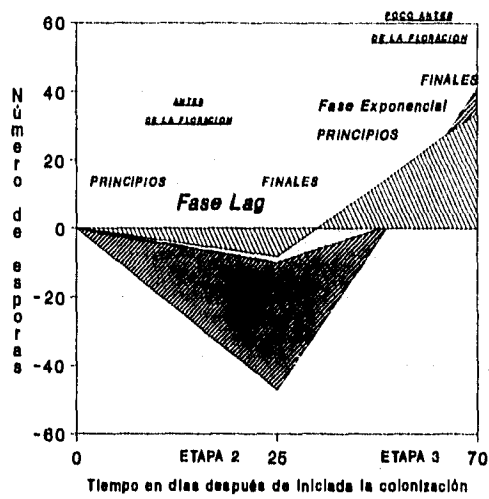
De la etapa 2, finales de la fase lag, a esta etapa 3, finales de la fase exponencial y principios de la fase meseta, el ritmo en la producción de esporas en los agroecosistemas 1, 2 y 3, significó un aumento de 34, 10 y 41 esporas, por cada 5 gramos de suelo seco, respectivamente, comparado con la producción alcanzada a finales de la fase lag (Gráficas 12 y 13). Se observó, además, una gran similitud en la producción de esporas en los agroecosistemas 1 y 3; mientras que el 2, presentó una producción tres y cuatro veces menor que la del 1 y 3, respectivamente (Gráfica 14). No obstante, en estas mismas gráficas, se observa que la población de endófitos, de los tres agroecosistemas, respondió positivamente, en términos de la producción de esporas (esporulación), al presentarse el cambio de metabolismo en el hospedero, cerca de su floración. En este sentido, se aprecia claramente la diferencia entre la etapa anterior, en la cual no hubo producción de esporas, y esta etapa; probablemente el metabolismo del hospedero desencadena la producción (Gráficas 11, 12, 13, 14 y 15). La cercanía de la floración del huésped, probablemente, significa la producción de nuevos metabolitos que le permitan al hongo incrementar su desarrollo interno, y/o su maduración, lo cual se refleja en la producción externa de esporas. Al respecto, Bethlenfalvay et al. (1982) y Potty (1985) han encontrado que la esporulación de los hongos arbusculares coincide con la floración del hospedero. Es importante hacer notar que el agroecosistema 1, con el menor porcentaje de colonización (37%) produjo el mayor número de esporas (90 esporas/5 g de suelo seco), y que los agroecosistemas 2 y 3, con un mayor porcentaje de colonización que el agroecosistema 1 (50 y 38%, respectivamente) produjeron una menor cantidad de esporas (72 y 62; Gráficas 8 y 11).

#### 2.4.3.2 Ritmo del porcentaje de incremento de esporas.

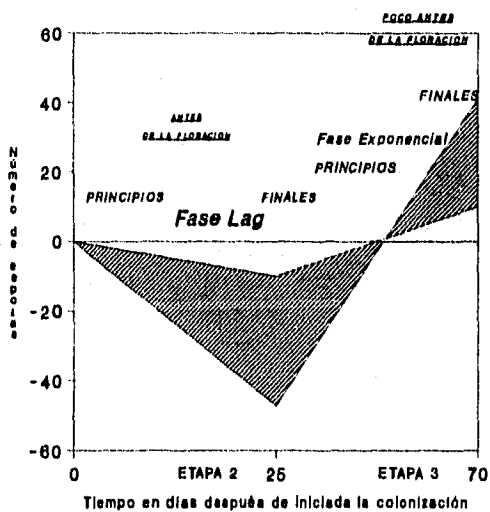
Los ritmos en la producción de esporas de la etapa 2 anterior, con decrementos de 12.5, 14 y 69%, en comparación con los incrementos en esta



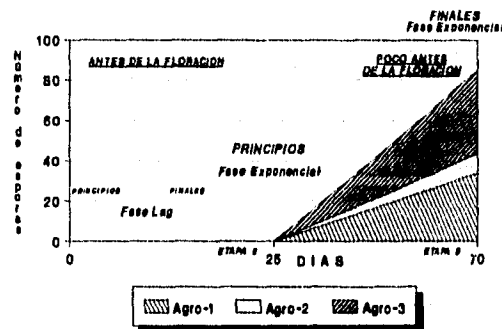
Gráfica 11. Producción de esporas a los 90 días después de la emergencia del huésped.



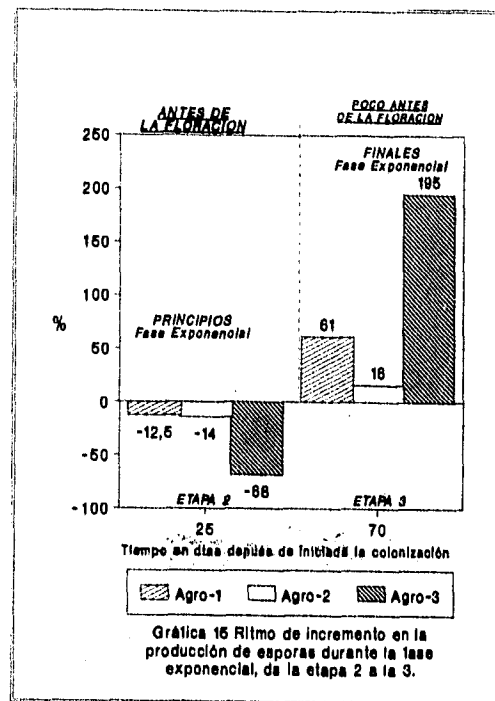
Gráfica 12. Ritmo de aumento en la producción de esporas a finales de la fase exponencial o a los 70 días.



Gráfica 13. Ritmo de aumento en la producción de esporas a finales de la fase exponencial o a los 70 días.



Gráfica 14. Ritmo de aumento en la producción de esporas a los 70 días después de iniciada la colonización.



etapa 3 a finales de la fase exponencial, de 61, 16 y 195%, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 15). Estos resultados muestran, en primer lugar, que los decrementos en la etapa dos significan disminución del número de esporas por germinación, lo que denota que estos datos son congruentes con la viabilidad de esporas observada en cada agroecosistema; y, en segundo lugar, que los hongos endomicorrízicos de los agroecosistemas 1 y 3 respondieron, de manera muy importante, en su esporulación poco antes de la floración. Este efecto, no se observó en la población de HMA del agroecosistema 2; lo que denota un comportamiento diferente. Por lo tanto, podemos considerar la existencia de especies precoces en los agroecosistemas 1 y 3. Además, es importante hacer notar que los altos incrementos de 61 y 195% de los agroecosistemas 1 y 3, respectivamente, aparentemente no son congruentes con su grado de colonización (38%). Asimismo, el bajo incremento (16%) del agroecosistema 2, no concuerda con su alta colonización (50.5%), (Gráficas 8 y 15). No obstante, es importante hacer notar que el agroecosistema 3, con el máximo ritmo del porcentaje de incremento en la producción de esporas (195%) obtenido de la etapa 2 a esta etapa 3, significa 45 y 16% menos porcentaje de incremento con respecto a los agroecosistemas 1 y 2, ya que el número total de esporas que presentó en esta etapa 3, llegaron a 62, en comparación a las 90 y 72 de los agroecosistemas 1 y 2, respectivamente, (Gráfica 11). El agroecosistema 2, con el menor ritmo en el porcentaje de incremento en la producción de esporas en esta etapa (16%) le correspondió un decremento de -25% con respecto al agroecosistema 1, pero 16% de incremento con respecto al

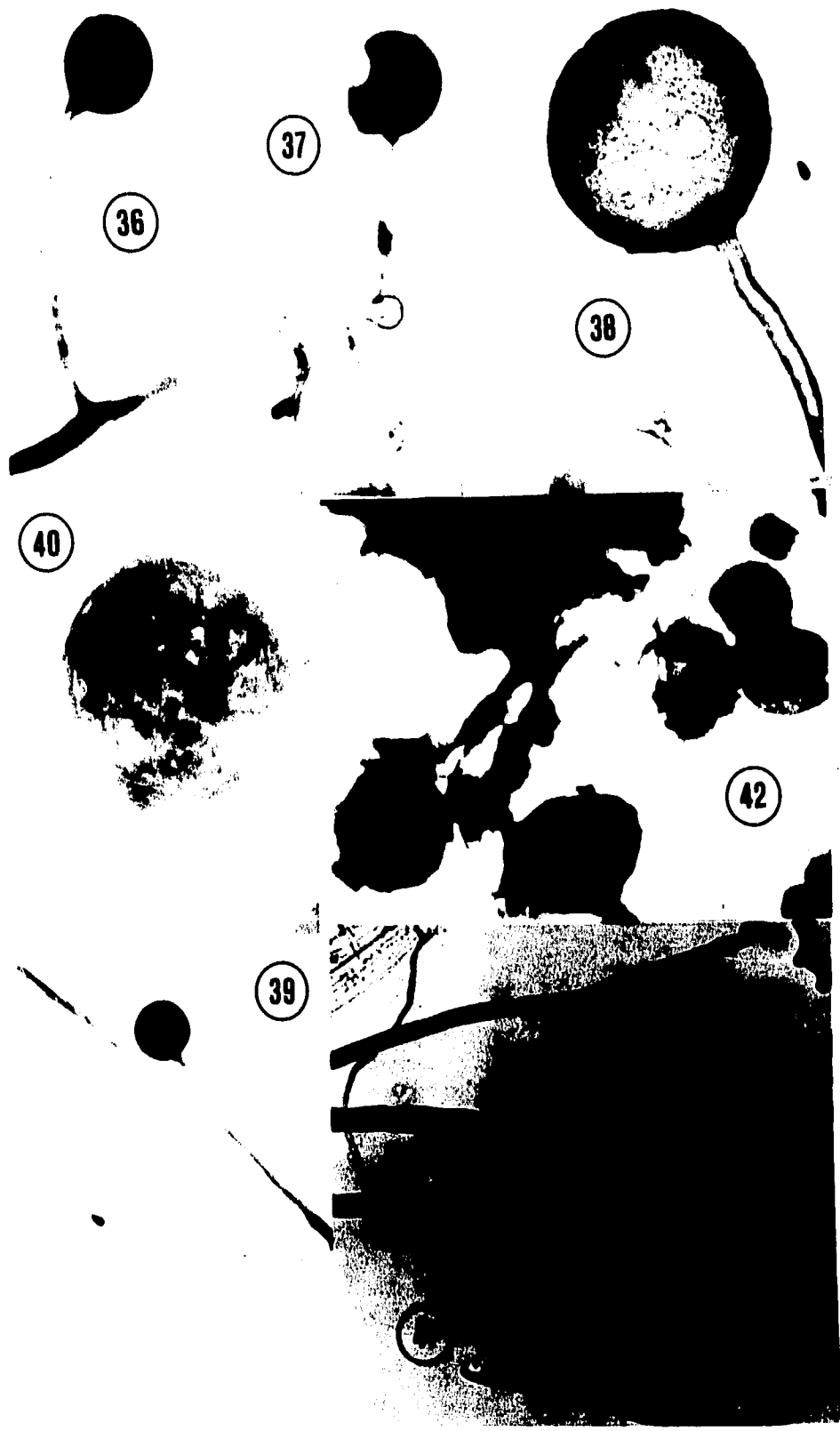
agroecosistema 3 y finalmente, el agroecosistema 1, con un ritmo del porcentaje de incremento en la producción de esporas, intermedio, en esta etapa (61%) en comparación a los otros dos agroecosistemas, le correspondió 25 y 45% de incremento con respecto a los agroecosistemas 2 y 3, respectivamente (gráficas 11 y 15).

El comportamiento diferente de la población de HMA, en cada agroecosistema, indica una estrategia adaptativa, en relación a la competencia y a su permanencia, probablemente, por ser poblaciones con una amplia relación ecofisiológica, ya que provienen de suelos y climas similares, pero con cultivo diferentes y, por tanto, manejo diferente.

Al respecto, Anderson y Liberta (1987); y Daft (1992), mencionan que las relaciones micorrízicas arbusculares pueden depender de la morfología del sistema radical. Sutton y Barron (1972) y Schenck y Kinloch (1980), encontraron diferentes tipo de población de micorrizas V.A., influenciadas fuertemente por el tipo de cultivo, con plantas monocotiledoneas (maíz) y/o dicotiledoneas (cacahuate), en los mismos suelos. Estos mismos conceptos son apoyados por Trappe (1984); y Krishna y Bagyaraj (1985).

### **2.4.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.**

En esta etapa 3 (poco antes de la floración) a 70 días después de haberse iniciado la colonización, se observó una incipiente diversidad de esporotipos en los 3 agroecosistemas. Sobresalen, en el agroecosistema 1, dos esporotipos: (a) esporas esferoidales, con un diámetro de 80 a 120 micrómetros, sustentadas en el extremo apical de hifas del micelio externo, mas delgadas y con características morfológicas diferentes al resto del micelio, la unión de la espora es en angulo recto, ligeramente cónica, con el extremo mas ancho unido a la espora, este esporotipo coincide con las características del género *Glomus*, y corresponde, aproximadamente, al 50% de la población total de esporas del agroecosistema 1 (cacahuate) en esta etapa (Figura 36); (b) esporas de forma esferoidal, sustentadas en el extremo de hifas resultantes de la subdivisión dicotómica del micelio externo; la hifa de sostén presenta una estructura que tiene mucha semejanza con el sáculo esporífero del género *Acaulospora*. Este esporotipo constituye, aproximadamente, el 15% de la población total (Figura 37). El 35% restante de esporas no se pudo diferenciar, la mayoría se encontraban sustentadas en el micelio unido a las raicillas que quedan retenidas en el tamiz 0.25 mm. Debido a esto, las esporas recolectadas del suelo solo representó el 25% del total. En el agroecosistema 2, sobresalieron tres esporotipos que recuerdan las características de los Glomaceae ya que, en los tres casos, la unión con la hifa sustentadora es recta, pero con algunas modalidades distintivas. En los tres tipos, las esporas, fluctuaron en sus diámetros: de 115 a 130, 85 a 100 y de 120 a 145 micrómetros, con colores de ambar a amarillo, pardo claro a pardo oscuro y pardo verdoso, con una cubierta fina de hifas, respectivamente, (Figuras 38 a la 40). La población de estos tres esporotipos se encontró muy equilibrada y constituía, aproximadamente, el 70% del total de la



**Esporotipos de hongos arbusculares. Figuras 36 y 37.** Del agroecosistema 1. Las características recuerdan a *Glomus sp.* y *Acaulospora sp.*, las cuales muestran el sáculo esporífero. **Figuras 38-40.** Agroecosistema 2. Obsérvense las diferentes características morfológicas. **Figura 41.** Agroecosistema 3. Obsérvense los dos tipos de hifas del micelio externo. **Figura 42.** Respuesta de la viabilidad de las esporas de los agroecosistemas 1 (Cacahuete), 2 (maíz) y 3 (sorgo), a la prueba del bromuro de tetrazolio. (Fotomicrografías ópticas 230, 230, 260, 230, 260, 200, y 190 X, respectivamente).

población; el 30% restante fue muy difícil de diferenciar. De la población total, el 55% se encontraba unida al micelio externo sustentado por las raíces. Finalmente, en el agroecosistema 3, se reconoció un esporotipo dominante, cuyas características recuerdan a *Glomus*; es decir, esporas completamente esféricas, con diámetros de 70 a 90 micrómetros; de pared delgada, y con una unión recta a la hifa sustentadora. Este esporotipo constituyó, aproximadamente, el 75% de la población total, (Figura 41). Se encontraron, además, en el suelo dos esporotipos más, difíciles de identificar ya que carecían de la hifa sustentadora; los diámetros variaron de 60 a 70 y de 120 a 135 micrómetros; su morfología recuerda los géneros *Glomus* y *Acaulospora*. Estos esporotipos constituían, aproximadamente, el 25% de la población total, (Figura 42, ángulo superior derecha). En esta etapa se presentó una población mayor de esporas sustentadas por las hifas del micelio externo que en el suelo.

#### **2.4.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.**

Con respecto a la viabilidad en la etapa 2, (antes de la floración y finales de la fase exponencial del desarrollo micorrízico) los agroecosistemas 1, 2 y 3 con 18, 16 y 33%, no manifestaron en esta etapa 3 (poco antes de la floración) cambios estadísticamente significativos al haberse detectado 23, 35 y 33%, respectivamente, (Gráfica 16 y tabla 8 del apéndice). Sin embargo, las esporas de los hongos endomicorrízicos del agroecosistema 2, presentaron un porcentaje de incremento en la viabilidad de 52 y 6% más con respecto a los agroecosistemas 1 y 3, respectivamente, y este último, 43% más que el 1. Por otra parte, desde el punto de vista cualitativo la viabilidad de las esporas fue heterogénea en la mayoría de los esporotipos de los tres agroecosistemas, ya que respondieron a la prueba de viabilidad del bromuro de tetrazolio (BTT) con diferente intensidad, (Figura 42). Es importante hacer notar que los esporotipos que se encontraron en el suelo respondieron mejor a la prueba del BTT, al colorearse del 70 al 100%, en tanto que las esporas unidas al micelio externo se colorean en menor grado (del 40 a 50%). Debido, probablemente al estado fisiológico de insuficiente inmadurez de estas últimas.

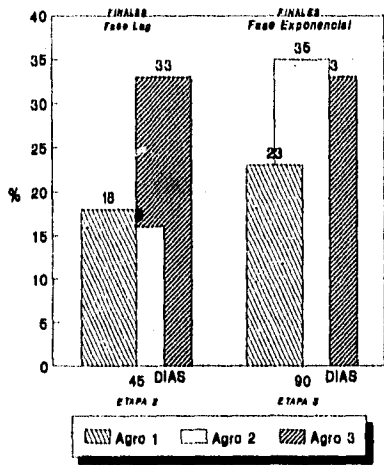
##### **2.4.4.1 Ritmo de la viabilidad.**

El ritmo con el que aumentó la viabilidad de las esporas, de la etapa 2 a esta etapa 3, nos indica diferencias significativas, detectándose:

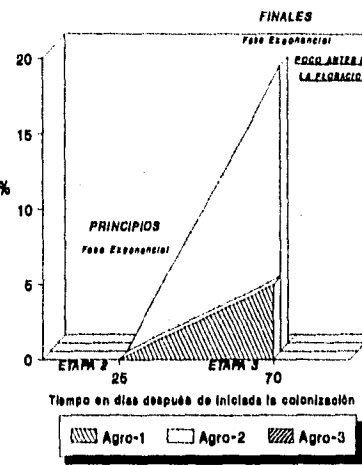


5, 19 y 0% de aumento en la viabilidad de las esporas, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente. Las diferencias en estos valores se confirman con los datos sobre el ritmo en el porcentaje de incremento de la viabilidad, 28, 119 y 0%, en los tres agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráficas 17 y 18). Es importante hacer resaltar, que los agroecosistemas 2 y 3, muestran un comportamiento significativamente diferente en la dinámica de la viabilidad, con un máximo de 119% y un mínimo de 0%, respectivamente, aún cuando tienen el mismo grado de colonización (38%). Los hongos del agroecosistema 3, respondieron notablemente, al inicio del cambio metabólico del hospedero (próximo a la floración) alcanzando, de la etapa 2 a la etapa 3, el máximo ritmo en el porcentaje de incremento en la producción de esporas (195%; Gráfica 15). Sin embargo, todas las esporas formadas en estas etapas, no se detectaron como viables, como lo indica el ritmo del porcentaje de incremento en la viabilidad que fue nulo (Gráficas 17 y 18). Por otra parte, los endófitos del agroecosistema 2, presentaron, en su ritmo, el mínimo porcentaje de incremento en la producción de esporas (16%). No obstante, todas las esporas formadas fueron viables, ya que el ritmo del porcentaje de incremento en la viabilidad fue el máximo (119%). Finalmente, en el agroecosistema 1, comparado con el 2, fue 4 veces mayor la respuesta en el ritmo del porcentaje de incremento en la producción de esporas (61%), sin embargo, el ritmo del porcentaje de incremento en la viabilidad de las esporas (28%) resultó 4 veces menor, (Gráficas 15, 16, 17 y 18).

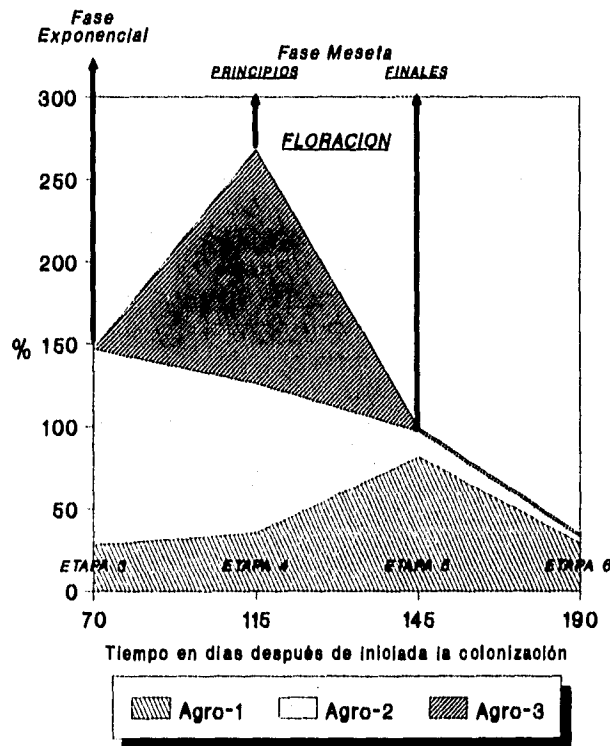
Con los resultados obtenidos en: (a) el grado de colonización, (b) el número de esporas y, (c) el grado de viabilidad, (Gráficas 8, 11 y 16) al correlacionarlos con sus ritmos (Gráficas 9, 10, 12, 14, 15, 17 y 18), se puede observar la dinámica del ciclo biológico de los hongos, en la velocidad del desarrollo de la colonización, y en la respuesta de esta en la producción de esporas y su viabilidad, dentro de las poblaciones de endófitos. Una manifestación de esta dinámica es la sucesionalidad acorde a la fenología del huésped, de este modo, el agroecosistema 3 (sorgo) con el mayor porcentaje de incremento en producción de esporas (195%), presentó el mínimo porcentaje de incremento en la viabilidad (0%); el agroecosistema 2 (maíz) con un menor incremento en producción de esporas (16%), presentó el mayor incremento en la viabilidad (119%) y, finalmente, el agroecosistema 1 (cacahuete) tuvo un incremento en la viabilidad en un valor intermedio (28%). Es importante hacer notar que los agroecosistemas 1 y 3, a pesar de tener el mismo grado de colonización (38%) sus comportamientos fueron totalmente diferentes, en comparación con el agroecosistema 2 que tuvo el mayor grado de colonización (50.5%), como ya se mencionó. Este comportamiento puede ser la evidencia de una fuerte influencia del impacto antrópico en las poblaciones endomicorrízicas, así como, también, el efecto del metabolismo del huésped sobre los diferentes componentes de la micorrízica, como una relación ecofisiológica que se traduce en una sucesión dentro de un agroecosistema.



Gráfica 16. Viabilidad de las esporas a los 90 días después de la emergencia del hukapad.



Gráfica 17. Ritmo de aumento en la viabilidad de las esporas durante la fase exponencial, de la etapa 2 a la 3.



Gráfica 18. Ritmo de incremento en la viabilidad de las esp. a finales de la fase exponencial, de la etapa 2 a la 3.

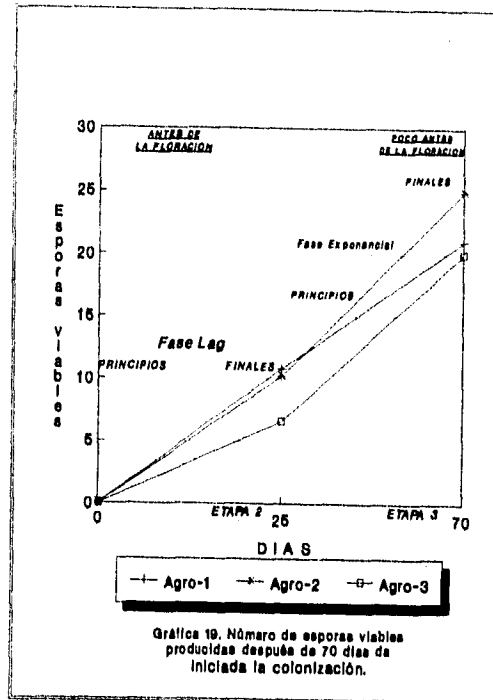
### 2.4.5 Esporas viables.

La dinámica en el grado de colonización, producción de esporas, y grado de viabilidad, poco antes de la floración o a finales de la fase exponencial, nos da una población de esporas viables de 21, 25 y 20 por 5 gramos de suelo seco, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 19), de acuerdo a la prueba Tukey al 99 y 95% (tabla 9 del apéndice), no se detectaron diferencias significativas. Sin embargo, es importante hacer notar que los ritmos en el porcentaje de incremento, en las cuatro variables de la etapa 2 a la 3 son totalmente diferentes como lo muestran los resultados obtenidos, en los tres agroecosistemas (cuadro 2).

CUADRO 2. RITMO DEL PORCENTAJE DE INCREMENTO DE LA ETAPA 2 A LA 3, DURANTE LA FASE EXPONENCIAL				
Agroecosistemas	colonización	esporas x 5 g de suelo	viabilidad	esporas viables 5 g de suelo seco
(1) Cacahuete	277	61	28	108
(2) Maíz	226	16	119	152
(3) Sorgo	399	195	0	186

Estos resultados indican diferencias muy marcadas en la dinámica interna del desarrollo y evolución de la colonización de los endófitos arbusculares nativos de cada agroecosistema y entre los agroecosistemas.

Los ritmos e incrementos indican una velocidad de crecimiento, espacio y tiempo que se correlaciona con el metabolismo del hospedero, sin que se observen evidencias de algún antagonismo entre las especies. La estrecha relación ecofisiológica de las tres poblaciones de hongos endomicorrízicos les permitió al final de la fase exponencial igualar el número de esporas viables. Al respecto, Hayman (1975), menciona que la producción de esporas se efectúa en forma dinámica, ya que mientras se forman unas, otras pueden estar germinando. Sobre este aspecto, la mayoría de los trabajos, acerca del desarrollo y evolución de la esporulación, se han realizado en macetas, bajo condiciones ambientales controladas; casi siempre con un endófito arbuscular y, en particular, con un hospedero o varios, separados, pero sin llegar a realizar un análisis sobre la dinámica de colonización, producción de esporas y su viabilidad (Mosse, 1959; Hepper, 1981; Menge y Timmer, 1982; Ferguson y Woodhead, 1982; Menge, 1984; Mugnier y Mosse, 1987). En condiciones naturales, varios tipos de endófitos endomicorrízicos pueden colonizar al mismo hospedero y, más aún, puede existir una intercomunicación interna entre la población de endófitos y las plantas; como ha sido



propuesto recientemente (Daft, 1983 y 1992). Además, la existencia de una dinámica de relaciones entre la diversidad de microorganismos edáficos y las asociaciones micorrízicas arbusculares, es muy importante para el establecimiento del equilibrio entre las poblaciones (Daft, 1992). Estos aspectos tienen una repercusión muy importante en la cadena trófica, así como en los ciclos biogeoquímicos, (Fitter y Garbaye, 1994; Francis y Read, 1994; Abbott y Gazey, 1994; Miller et al., 1994; y Jeffries y Barea, 1994). Algunas especies de hongos micorrízicos arbusculares tienen mayor habilidad que otros para la colonización, (Palacios et al., 1986 y 1987). Además, el modo de colonización puede ser regulado por el hospedero, (Hayman, 1975; Abbott y Robson, 1978; Azcón y Barea, 1980; Bethlenfalvay, 1982 b; Harley y Smith, 1983).

En la presente investigación, los resultados obtenidos provienen de la interrelación entre los diferentes endófitos arbusculares que colonizan la raíz de un solo hospedero en un momento determinado del metabolismo de la raíz. Los resultados corresponden a poblaciones heterogéneas de hongos endomicorrízicos, los cuales coinciden, con algunos resultados de poblaciones homogéneas; por ejemplo, Simpson y Daft (1990), mencionan que *Glomus clarum*, produjo esporas a las 7 semanas, o 49 días, después de la emergencia, en dos de cinco plantas hospederas; el maíz-docan P01 presentó, aproximadamente, 100 esporas y el maíz-earlibelle, aproximadamente, 60. Además, Struble y Skipper, (1988), encontraron que, *Glomus claroideum*, *Glomus etunicatum*, *Glomus mosseae*, *Glomus macrocarpum* y *Gigaspora margarita*, en cuatro plantas hospederas, a saber: Maíz, pasto Bahi, pasto Sudan y Soya, empezaron a esporular a las 8 semanas después de la emergencia, excepto *Glomus etunicatum*, que empezó a las 6 semana en maíz y 10 en soya; *Glomus mosseae* y *Glomus macrocarpus*, en las mismas cuatro plantas hospederas, empezaron a esporular entre la octava y la décima semana. Esos

resultados coinciden, de manera muy significativa, con los obtenidos en este trabajo, (Gráficas 11 a la 15). Resultados similares fueron obtenidos por Bethlenfalvay et al. (1982 b), quienes mencionan que, a las 10 semanas, *Glomus fasciculatum* produjo en Soya las primeras esporas, haciendo resaltar que la esporulación coincide con la floración. Por lo que, aproximadamente, en este tiempo, los hongos arbusculares, en condiciones ideales y con un buen hospedero, empiezan su esporulación.

En el presente trabajo, el proceso de la esporulación empezó poco antes de la floración, entre la novena y décima semana. Por otra parte, si se considera el intervalo del porcentaje de la colonización (en este caso con 40 a 50%) se encontrará que, con este grado de colonización, los hongos alcanzan la extensión interna necesaria para empezar a madurar, lo cual se refleja en la producción de esporas, ya que la madurez o esporulación de los hongos arbusculares se alcanza, cuando la colonización ocupa a su vez poco más o menos, entre 30 y 50% del total de la raíz. Además, el inicio de la floración provoca un cambio en el crecimiento de la raíz, es decir, se hace más lento. Este hecho coincide con la maduración y, en su caso, con la esporulación de los endófitos micorrízicos. Al respecto, Bagyaraj y Manjunath (1980) encuentran que la producción de esporas por *Glomus fasciculatum*, en ocho pastos diferentes, se inicio cuando la colonización alcanzaban entre 30 y 60%, a los 45 días. Bajo condiciones de invernadero, con una producción de esporas de 200 a 350 por 50 ml de inóculo observándose que, aún cuando a los 60 días no varía mucho el grado de colonización, la producción se incrementó, fluctuando entre 295 y 422 por 50 ml de inóculo. A los 75 días la colonización se incrementa, al igual que la producción de esporas. Estos resultados coinciden con los obtenidos en este trabajo, en el grado de la colonización y en el momento del disparo de la esporulación, en un periodo cercano (90 días). Simpson y Daft (1990) observaron que la colonización producida por *Glomus clarum*, en 9 semanas, en dos variedades garbanzo y dos de maíz, en comparación con la de sorgo, no fluctuó de manera importante: de 37 a 50% entre las leguminosas y de 57 a 60 en los maíces, en comparación con 52% en el sorgo. Sin embargo, estos autores observaron una mayor diferencia en la producción de esporas, la cual se inició con 60 esporas en los garbanzos, 180 y 200 con los maíces y 200 con el sorgo. Sreenivasa y Bagyaraj (1988) encontraron, en siete diferentes plantas hospederas (pastos), entre ellas *Chloris gayana* que, a los 60 días después de la emergencia, se encontraban todas colonizadas por *Glomus fasciculatum*, en diferente grado. Las raíces más colonizadas fueron las de *Chloris gayana* (pasto Rhodes) de 76 a 94%, y la menos colonizada fue *Brachiaria brizantha* (pasto Signa) con 55 a 67%; una tendencia similar fue observada en la producción de esporas, con 647 y 293 esporas por 50 ml de inóculo, respectivamente. Comparando estos resultados con los obtenidos en este trabajo, se observa que las poblaciones homogéneas tienden a alcanzar un mayor grado de esporulación. Este mismo efecto se observa en el porcentaje de colonización, ya que a los 90 días los niveles máximos fueron del 50% con poblaciones heterogéneas, (Gráfica 15) en comparación con 94% obtenido, en este mismo hospedero (*Chloris gayana*), por Sreenivasa y Bagyaraj (1988) con poblaciones homogéneas. Estudios más

profundos y detallados acerca del desarrollo y evolución del desarrollo micorrízico, tanto en poblaciones homogéneas como heterogéneas, incrementarían los conocimientos acerca de su comportamiento considerando, para ello, la unificación de las variables ambientales. En apoyo al estudio sobre el comportamiento de las poblaciones nativas de HMA y de sus interacciones naturales y antrópicas, objeto fundamental del presente estudio. Palacios et al. (1986 y 1987); Abbott y Gazey (1994), mencionan que los hongos arbusculares difieren en su comportamiento, modo y en la extensión de la colonización. También, difieren en su capacidad para la formación de propágulos, (Sieverding, 1991). La importancia de las hifas, esporas y propágulos dentro de raíces vivas o muertas, también, varía entre las especies y dentro de las mismas especies, en diferentes habitats. Las relaciones entre raíces colonizadas y la formación de los propágulos (esporas), dentro de las poblaciones, han sido muy poco entendidas. Del mismo modo, la distribución entre los propágulos y su abundancia, la velocidad en el establecimiento de la micorriza, así como las sucesiones por diferentes hongos micorrízicos arbusculares en los cultivos, son aspectos aún no bien conocidos. Los métodos para la cuantificación de hongos micorrízicos arbusculares no son del todo adecuados para distinguir los diferentes hongos arbusculares dentro de la raíz. Consecuentemente, la dinámica de la colonización de las raíces por diferentes hongos arbusculares, han sido muy poco estudiadas, (Fitter y Merryweather, 1992). Es, por lo tanto, necesario realizar investigaciones enfocadas a la dinámica de los hongos arbusculares dentro de la raíz, así como a los cambios en la abundancia de propágulos y su viabilidad, en función de la fenología del hospedero. Por otra parte, las interacciones entre los hongos arbusculares, durante la colonización, el desarrollo del micelio en el suelo y la esporulación, en condiciones naturales, han sido muy poco estudiadas. Daft y Nicolson (1966) y Daft (1992) indican que los cultivos en maceta con hongos endomicorrízicos arbusculares, pueden significar un incremento en el crecimiento de las plantas, particularmente si el crecimiento se realiza en un medio esterilizado y que contenga fósforo poco soluble, como es la roca fosfórica.

Thompson (1987); y Daft (1992) mencionan que muchos suelos contienen esporas micorrízicas, hifas y fragmentos de raíces colonizadas, y que la concentración de estos propágulos puede variar considerablemente de un habitat a otro. Estas variaciones pueden resultar de cambios en las condiciones físicas o biológicas. La aplicación de agroquímicos puede reducir marcadamente las poblaciones micorrízicas naturales, (Bird et al., 1974; Azcón y Ocampo, 1981; Menge, 1982; Buse y Ellis, 1985; Baltruschat y Dehne, 1988; y Daft, 1992). Lo antes mencionado y el análisis de los resultados de este trabajo inducen a proponer lo siguiente: (a) Los esporotipos en etapa de inactividad, en poblaciones homogéneas y/o heterogéneas, pueden germinar aproximadamente en 10 días, bajo condiciones y hospedero adecuados; (b) dentro de una población heterogénea de esporas viables, los diversos esporotipos pueden tener la misma oportunidad en la germinación; (c) la extensión del tubo de germinación y el contacto con la raíz se producen, aproximadamente, a los 5 días, de la germinación de la esporas, en presencia de un hospedero altamente micotrófico; (d) el contacto de los diferente endófitos

micorrízicos con la raíz, conduce a la formación de apresorios con morfología diferente; (e) los procesos de contacto, formación de apresorios y penetración, se realizan en 5 días, aproximadamente, bajo condiciones y hospedero adecuados; (f) el establecimiento de los primeros puntos de colonización se alcanza, aproximadamente, entre los 15 y 20 días, después de la emergencia del hospedero; (g) la extensión de la colonización por varios endófitos A. y/o V.A., produce, en las raíces, varios modelos o patrones de red micelial, distinguibles, aproximadamente a los 6 días; por lo que las características de las esporas, de la hifa sustentora, forma de germinación, tipo de apresorios, ovillos y arbusculos, así como los patrones de la colonización en estadios tempranos que, además de la morfología de las esporas, pueden ser importantes en la taxonomía; (h) en plantas micorrizadas la fase lag tiene una duración, aproximada, de 25 días en condiciones óptimas, por lo que no es recomendable el trasplante antes de este tiempo; (i) estudios como el presente, tratan de ampliar el conocimiento sobre la interacción que puede haber entre los diferentes hongos que colonizan una misma raíz; (j) el micelio externo de diferentes endófitos arbusculares, produce múltiples puntos de colonización y extensión que pueden ser solos y/o combinados en la misma raíz; desde el punto de vista de las interacciones tróficas y ecológicas se sabe poco; (k) la colonización por micelio externo podría estar correlacionada con la velocidad del crecimiento, metabolismo, "aceptación de la raíz", y la fenología del hospedero; (l) los procesos fisiológicos relacionados con la acumulación de reservas nutritivas para la formación de las vesículas, en los diferentes endófitos V.A., se empieza a notar, aproximadamente a los 25 días del desarrollo de la simbiosis, o a los 45 días, aproximadamente, después de la emergencia de las plántulas; tiempo que se sugiere es adecuado para el trasplante, ya que hay una completa interrelación "planta-hongos", la cual corresponde a la fase exponencial en sus inicios; (m) la velocidad en la formación de las vesículas así como sus rasgos morfológicos, abundancia, distribución y contenido, podrían ser importantes para la taxonomía, además de las especificaciones del inciso "g"; enfatizando los estudios de éstas en etapas muy cortas, y en estadios tempranos del desarrollo; y (n) poco antes de la floración, la colonización, se incrementó notablemente por lo que, los diferentes endófitos micorrízicos que colonizan a la misma raíz pueden responder al metabolismo del hospedero, de igual manera pero con diferente frecuencia, ya que en este tiempo la micorriza puede ocupar casi la mitad de la totalidad del volumen de las raíces. Con este grado de extensión micorrízica están presentes todas las estructuras que la conforman: micelio interno, arbusculos en todos sus estados de desarrollo, vesículas con contenidos lipídicos, micelio externo bien diferenciado y una producción inicial de esporas en estado de dormancia y viables (Gráficas 1-12 y Fig 1-42).

## **2.5 Etapa 4. A 135 días después de la emergencia, (40 días de floración) y 115 días después de iniciada la colonización.**

### **2.5.1 Principios de la fase meseta.**

El grado de colonización producido, en este período, por los hongos endomicorrízicos nativos de los agroecosistemas 1, (cacahuete); 2 (maíz); y 3 (sorgo) fueron de: 45.5, 59.9 y 55.5%, respectivamente, (Gráfica 20). De acuerdo a la prueba Tukey al 99% (tabla 10 del apéndice) los agroecosistemas 2 y 3, son significativamente diferentes al 1.

#### **2.5.1.2 Ritmo de la colonización.**

El ritmo de la colonización, de la etapa 3 (poco antes de la floración) a esta etapa 4, (40 días de floración) se tradujo en una disminución notable, comparado con el ritmo observado de la etapa 2 a la 3, de 27, 35 y 31%, en comparación con el aumento que se presentó de la etapa 3 a la 4, de 8, 9 y 17% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 21). Es decir, que los agroecosistemas 1 y 2 disminuyeron su ritmo de colonización durante este período (de la etapa 3 a la 4; después de 40 días de floración), en 3.4 y 4 veces, respectivamente; en tanto que el agroecosistema 3, disminuyó 1.8 veces. Sin embargo, este último, tiene el doble del porcentaje de incremento del ritmo que presentaron los agroecosistemas 1 y 2, es decir, 112 y 89% respectivamente. No obstante, las tres poblaciones de hongos respondieron de igual manera, con un descenso, a los 40 días de floración del hospedero.

Es importante hacer notar, que el ritmo con el que aumentó la colonización en esta etapa 4 (115 días después de iniciada la colonización), con 8, 9 y 17%, es semejante al de la etapa 2 (25 días después de iniciada la colonización), con 8, 12 y 6% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente. Estos ritmos indican que, dentro del ciclo biológico de los HMA y/o V.A., estas etapas constituyen su fase de desarrollo, previa al inicio de la fase de maduración, denotándose una campana de Gauss (Gráfica 21). Esta aparente disminución en el ritmo de colonización indicó el principio de la fase meseta, mencionada por Azcón y Barea (1980); Wilson (1984); Bowen (1987) y Sieverding (1991), donde la micorrización y el crecimiento de la raíz son simultáneos. En esta etapa 4, los agroecosistemas 1 y 2, son muy semejantes en el ritmo del aumento de la colonización (con 8 y 9%, respectivamente). Sin embargo, el 2 tiene 14.4% más colonización, equivalente a un porcentaje de incremento de 32%. Y el agroecosistema 3 con el máximo ritmo de aumento (17%) presentó una colonización intermedia entre los agroecosistemas 1 y 2 (Gráficas 20 y 21). Se observó, además, que el agroecosistema 3 cuenta con 4% menos de colonización que el 2, pero con 10% más que el 1, (Gráficas 20 y 21). Esta diferencia indica que, durante estas dos etapas, el agroecosistema 3 tuvo la mayor velocidad de desarrollo, a pesar de ser el que presentó



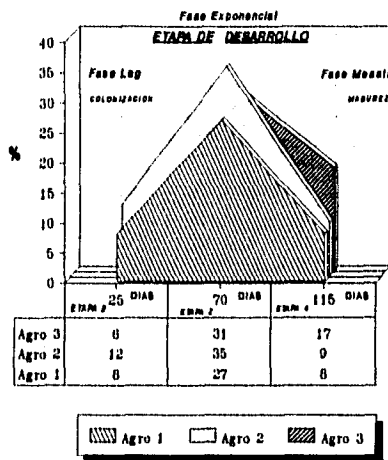
menor grado de colonización, en las etapas 1 y 2; en la etapa 3, iguala el grado de colonización del agroecosistema 1 y, en esta etapa 4, sobrepasa al 1, y casi alcanza al 2, al presentar el mayor ritmo de aumento en la colonización. Sin embargo, las tres poblaciones de endófitos arbusculares, se comportaron de igual manera en el desarrollo, respondiendo de manera similar al metabolismo del hospedero, pero con diferente frecuencia.

### 2.5.1.3 Ritmo del porcentaje de incremento.

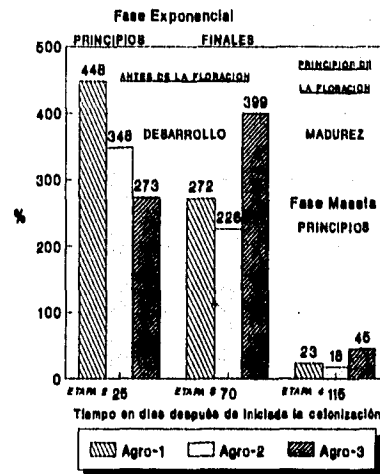
Al comparar el ritmo del porcentaje de incremento de la colonización, de la etapa 2 a la etapa 3, (poco antes de la floración), de 272, 226 y 399%, con el incremento ocurrido de la etapa 3 a esta etapa 4, (40 días de floración) de 23, 18 y 45%, respectivamente, se observa que el ritmo del porcentaje de incremento de la colonización disminuyó conforme el grado de colonización se acerca a su maduración (Gráficas 20 y 22); lo que indica que, al principio de la colonización, los incrementos son muy altos, por el "amplio espacio" de que disponen los hongos micorrízicos dentro de la raíz del hospedero para la colonización y, conforme el grado de colonización aumenta, el porcentaje de incremento disminuye, debido a que el espacio libre en el interior de la raíz se va agotando conforme la colonización se va extendiendo y ocupando un mayor volumen de la raíz, (Gráficas 20 y 22).

Por otra parte, analizando la correlación del ritmo del porcentaje de incremento de la colonización, el ritmo en la producción de esporas y el porcentaje de colonización de las etapas 2, 3 y 4, podemos visualizar la dinámica en el desarrollo de la micorrización. De tal modo que, a finales de la fase lag, o a principios de la fase exponencial (etapa 2), los hongos micorrízicos del agroecosistema 1, respondieron más en la extensión interna, que los del 2 y 3, (Gráfica 22); a pesar de que las clamidosporas del 3 tuvieron mucho mayor grado de germinación (Gráficas 24 y 25). No obstante, los hongos del agroecosistema 1, produjeron un menor grado de colonización que los del 2 pero más que los del 3 (Gráfica 20). Los HMA y/O V.A. del agroecosistema 2, con un mayor número de esporas germinadas que el agroecosistema 1, pero mucho menor que los del 3, presentaron la menor extensión interna en comparación con los endófitos micorrízicos del 1, pero más que los del 3. Sin embargo, son los que tienen un mayor grado de colonización (Gráficas 20, 21, 22, 23, 24 y 25).

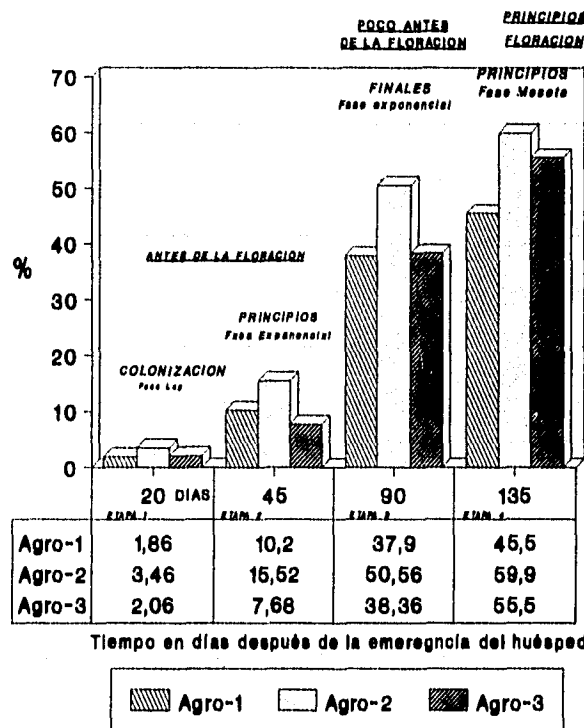
Los HMA del agroecosistema 3, con una mayor germinación de esporas (Gráficas 24 y 25), respondieron más lentamente en el desarrollo del micelio interno que los del 1 y 2 (Gráfica 22), y tienen, estadísticamente, igual grado de colonización que los del 1, pero menos que los del 2 (Gráfica 20). Sin embargo, los del agroecosistema 3, a finales de la fase exponencial (etapa 3), tuvieron el mejor desarrollo intrarradical, con el máximo ritmo del porcentaje de incremento de la colonización, (Gráfica 22). En esta misma gráfica se aprecia que los HMA del agroecosistema 3, produjeron el mismo grado de colonización que los del 1 y mucho menos que los del 2; de tal manera, que el 1 y 3



Gráfica 21. Rítmico del aumento de la colonización de la etapa 3 a la 4 o a 115 días después de iniciada la col.



Gráfica 22. Rítmico en el incremento de la col. de la fase exponencial a principios de la meseta o de la etapa 3 a la 4.



Gráfica 20. Colonización alcanzada en las fases lag, exponencial y principios de la meseta o a los 135 días

inviertieron el comportamiento de sus ritmos ya que, a principios de la fase exponencial, los del 1 presentan su máximo y los del 3 su mínimo y, a finales de la fase exponencial, los del 3 presentan su máximo y los del 1 su mínimo, pero ambos con un mismo ritmo en la producción de esporas (Gráficas 20, 22, 23 y 24). Los hongos del agroecosistema 2, generaron un mayor grado de colonización que los del 1 y 3, pero con una menor extensión interna, la cual se relaciona con el menor porcentaje de incremento de la colonización. Por lo tanto, la colonización de los agroecosistemas 1 y 3, alcanzó el mayor ritmo del porcentaje de incremento, aún cuando en ellos fué menor el grado de colonización; no obstante, estos últimos tienen un mayor ritmo de producción de esporas (Gráficas 20, 22, 24, 25 y 26). Finalmente, a principios de la fase meseta (etapa 4, 115 días después de iniciada la colonización), los hongos de los tres agroecosistemas respondieron con un fuerte descenso en el ritmo del porcentaje de incremento de la colonización; lo que indica que los hongos se han desarrollado y pasan a la etapa de madurez.

Esto se presentó como respuesta a la floración la cual coincide con la esporulación. A los agroecosistemas 1 y 2 con un menor y un mayor grado de colonización, respectivamente, les correspondió un mayor y un menor ritmo del porcentaje de incremento de la colonización, respectivamente; en tanto que al agroecosistema 3, con un grado de colonización intermedio, le correspondió el mayor ritmo de incremento de la colonización, (Gráficas 20 y 21). No obstante, las tres poblaciones de hongos endomicorrízicos se comportaron de igual manera a principios de la floración (40 días); tanto en el ritmo de aumento como en el porcentaje de incremento del ritmo de la colonización (Gráficas 21 y 22). El descenso notable, en ambas variables, indica una tendencia a la estabilización de la colonización, marcándose el inicio de la fase meseta (Gráficas 20, 22, 23, 26 y 27). Paralelamente, la madurez de la micorriza, significa un cambio en el patrón de crecimiento intramatricial, es decir, aumenta la densidad del micelio dentro de un mismo espacio de raíz, al mismo tiempo que se detiene el desarrollo longitudinal.

Las diferencias, tanto en la velocidad del desarrollo micorrízico, como en la colonización total, evaluada en este último período se debe, probablemente, al cambio metabólico en el hospedero, que estimula de diferente manera, a las distintas especies de hongos endomicorrízicos presentes en cada agroecosistema. Azcón y Barea, 1980; Harley y Smith, 1983; y Siqueira et al., 1984; 1985; y 1986 mencionan que los hongos A. responden de acuerdo al metabolismo de las plantas. En este caso, el agroecosistema 1 y 3, respondieron casi igual en el grado de colonización, con un porcentaje mínimo de 45% y uno máximo de 55%, ya que ambos partieron de un 38%; mientras que el agroecosistema 2, respondió de forma diferente por que de 50% pasa a 60% (Gráfica 20). No obstante, los ritmos del porcentaje de incremento en la colonización, en esta etapa, son iguales en los agroecosistemas 1 y 2 de 23% y 18%, respectivamente, en tanto que en el agroecosistema 3, es 2.5 veces mayor, ya que tiene 45% (Gráfica 22). Al respecto, Anderson y Liberta (1987) y Daft (1992), mencionan que las relaciones micorrízicas arbusculares dependen de la estructura del sistema radical; Y Schenck y Kinloch (1980), consideran que en la selección de hongos endomicorrízicos el tipo

de planta puede influir fuertemente, ya sean monocotiledóneas o dicotiledóneas.

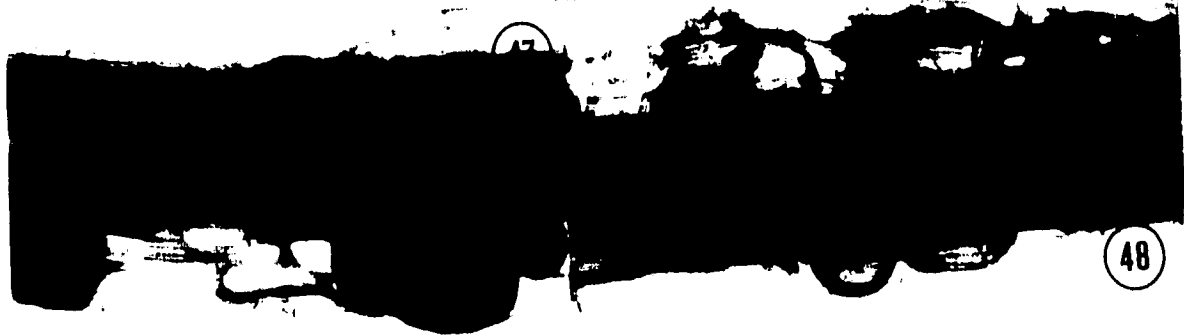
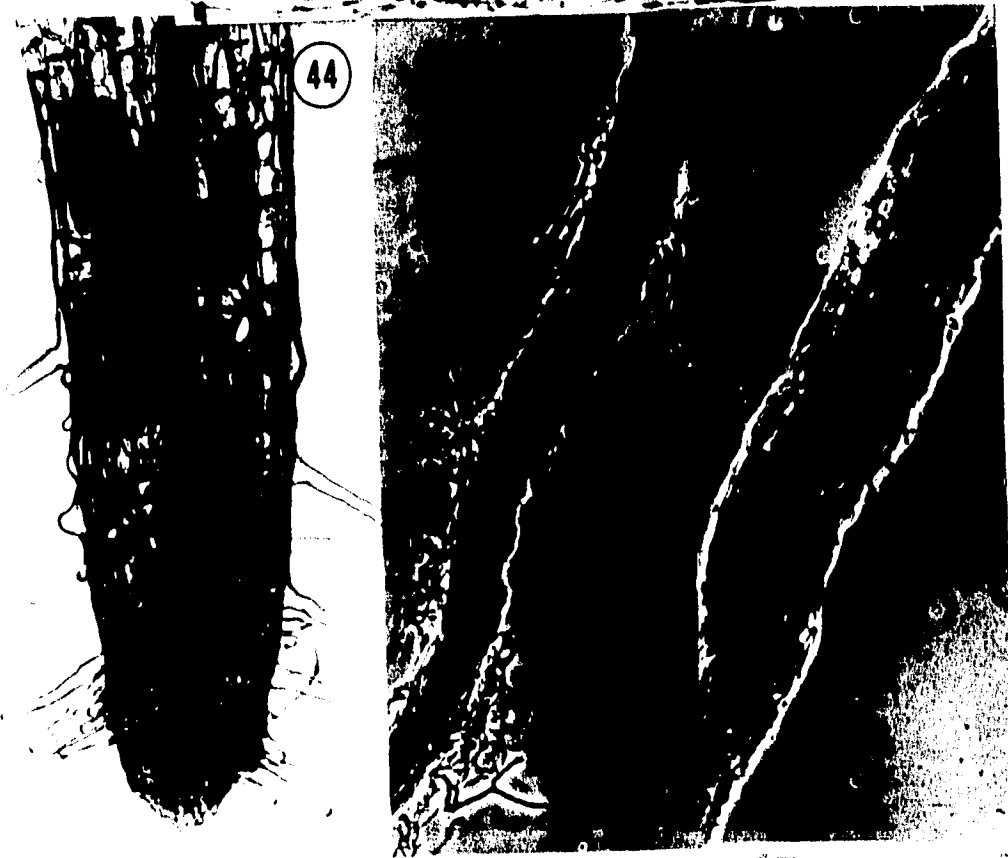
Con relación a la dinámica de la colonización, se pudo observar, en esta etapa, que los hongos de los agroecosistemas 1 y 2 (cachuate y maíz, respectivamente) produjeron un grado de colonización significativamente diferente (45.5 y 59.9%, respectivamente). Este comportamiento coincide con el mínimo y máximo efecto de manejo o aplicación de agroquímicos ("impacto antrópico") en estos dos agroecosistemas (Gráfica 20). Sin embargo, en ambos agroecosistemas se presentó un mismo patrón de colonización y, además, durante el curso de esta etapa (floración de la planta hospedero) la población de los HMA de los tres agroecosistemas respondieron de igual manera en su ritmo de incremento en la colonización.

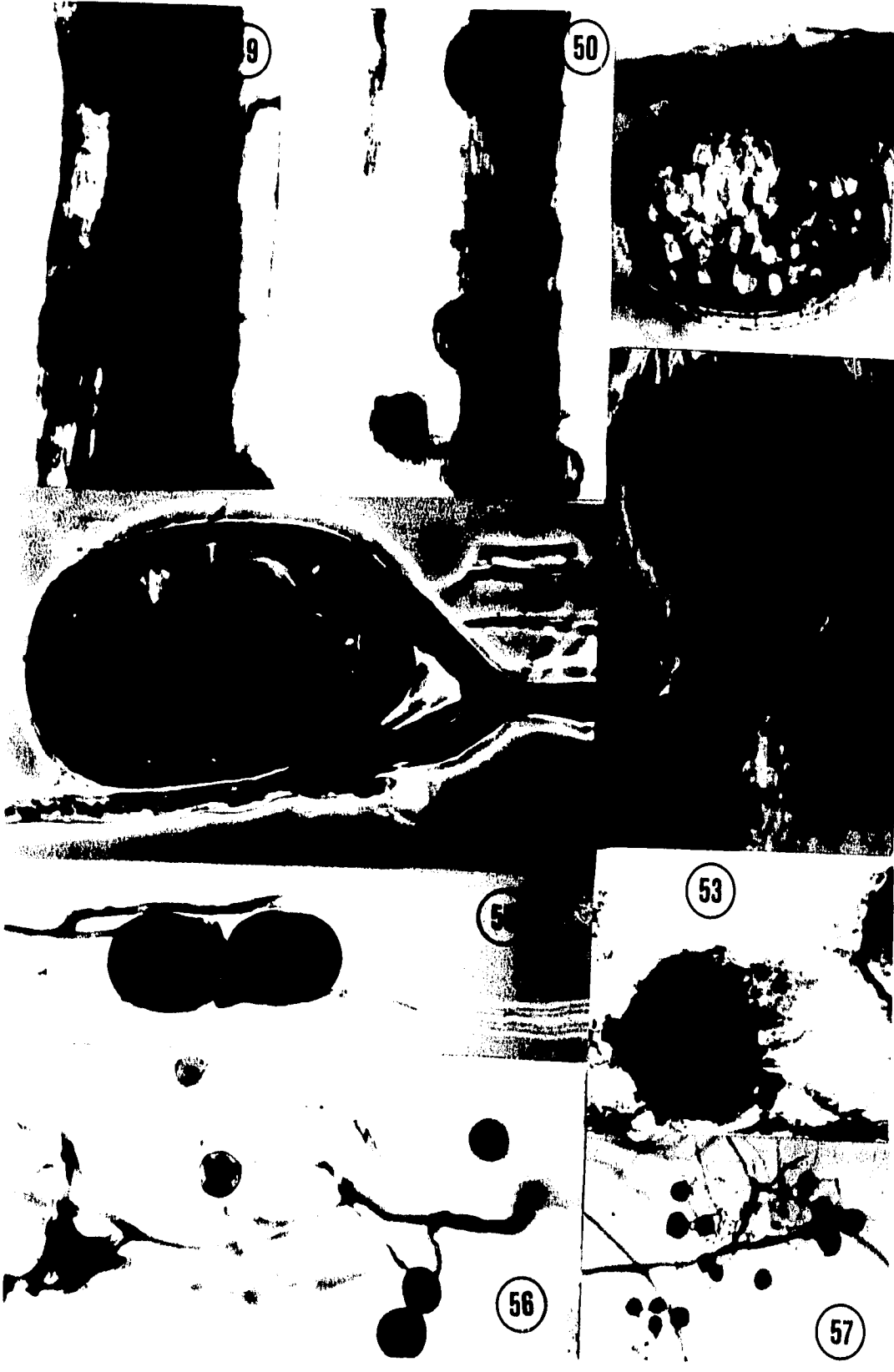
#### **2.5.1.4 Algunos aspectos Morfológicos de la Colonización.**

En el agroecosistema 1, se observaron dos tipos o patrones de colonización: (1) con vesículas de esferoidales o ligeramente alargadas, que nacen apicalmente en ramificaciones del micelio interno, (Figura 43 y 51); y (2) con vesículas totalmente esferoidales, dispuestas en pequeños grupos alrededor del haz vascular (Figura 44); Estos dos patrones morfológicos se observaron en un 50 y 30% del total de las raíces, respectivamente. En el agroecosistema 2, se observaron principalmente, cuatro tipos de vesículas y dos tipos o patrones principales de distribución, aproximadamente, en el 80% del total de las raíces colonizadas; los cuales se describen a continuación: (1) vesículas originadas y dispuestas a un costado de la raíz, muy juntas unas de otras. El micelio externo es muy abundante, (Figura 45 y 52-53). Este tipo de colonización se presentó en un 30%; (2) vesículas distribuidas al azar y separadas unas de otras, por distancias cortas, (Figura 46). Este último tipo de colonización se presentó en un 50%, aproximadamente. Finalmente, el agroecosistema 3 presentó varios tipos de colonización muy semejantes; sin embargo, la distribución y forma de extensión del micelio interno fue diferente en todos los casos, (Figuras 47-50 y 54-55).

Distribución, tamaños y formas de vesículas formadas por distintos hongos A. Figura 43 Y 44. Del agroecosistema 1. Figuras 45 y 46. Agroecosistema 2. Figuras 47-50. Agroecosistema 3. Fotomicrografías ópticas 250, 200, 120, 120, 200 y 200 X, respectivamente.

Figura 51-55. De los tres agroecosistemas; 51 cacahuate, 52 y 53 maíz y 54 y 55 sorgo. (Fotomicrografías ópticas 280, 280, 230, 300 y 210 X, respectivamente). Figuras 56 y 57. Desarrollo de micelio externo con una alta producción de esporas, de los tres agroecosistemas. Fotomicrografías ópticas 200 y 170 X, Maíz y Sorgo, respectivamente.





### 2.5.2 Número de esporas.

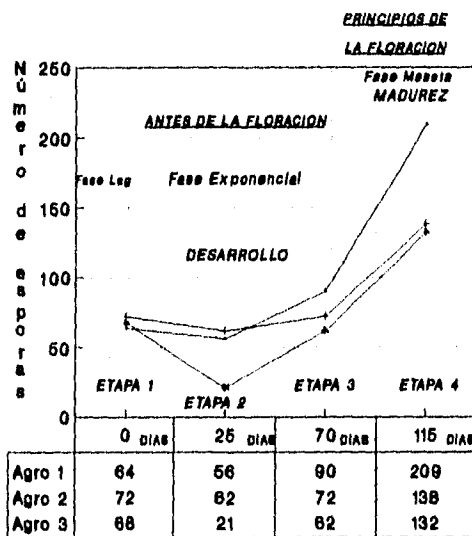
De acuerdo con los resultados obtenidos en relación a la producción de esporas, en esta etapa (4), (después de 40 días de floración) el número de esporas detectadas fueron de: 209, 138 y 132 esporas por 5 g de suelo seco, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 23). La prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 11 del apéndice), indicó que la producción de los agroecosistemas 2 y 3, es estadísticamente igual pero diferente de manera muy significativa a la del 1. A principios de la floración, se observó la tendencia a una mayor colonización (60%) correspondiéndole un menor número de esporas (138 y 132); como es el caso de los agroecosistemas 2 y 3, respectivamente, y a una menor colonización (45.5%) le correspondió un mayor número de esporas (209), como es el caso del agroecosistema 1, (Gráficas 20 y 23). Por tanto, se deduce que una mayor colonización no necesariamente indica una mayor producción de esporas ya que, en los tres casos, las poblaciones de hongos endomicorrízicos nativos, mostraron lo contrario.

En esta etapa 4 (con 40 días de floración) se pudo visualizar, en el ciclo biológico de los hongos A. y V.A., el final de la etapa del desarrollo y el inicio de la etapa de la maduración o esporulación. El descenso en el ritmo y porcentajes de incremento de la colonización, marcan el inicio de la fase meseta, donde el grado de colonización se tradujo a una completa extensión intramatricial de los endófitos arbusculares, lo que se significa un notable ascenso en el número y en el ritmo de la producción de esporas (Gráficas 21, 22, 23, 24, 25 y 26). En esta fase, el crecimiento del micelio interno y sus estructuras tienden a disminuir en extensión para aumentar en volumen, lo que corresponde a la etapa de maduración de los hongos. Este hecho se pudo confirmar al analizar tanto la colonización interna antes mencionada, como la colonización externa o el desarrollo del micelio externo medido en relación a la producción de esporas (Gráficas 21 y 23).

#### 2.5.2.1 Ritmo de la producción de esporas.

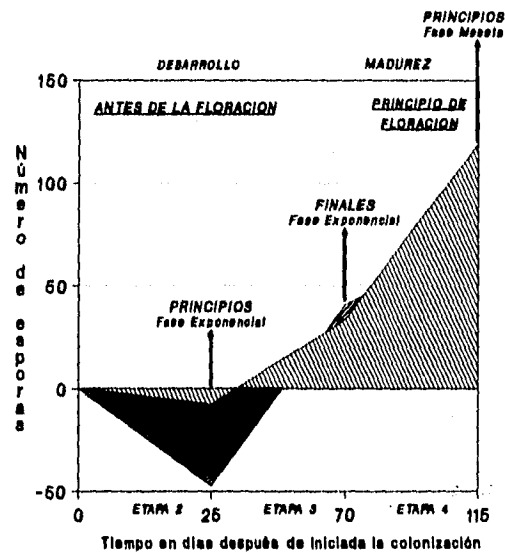
Las diferencias calculadas en los ritmos de producción de esporas de la etapa 3, (poco antes de la floración) a la etapa 4 (principios de la floración) mostraron un fuerte aumento en el ritmo de la esporulación de 34, 10 y 41 a 119, 66 y 70 esporas más por cada 5/g de suelo seco en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráficas 24, 25 y 26). Estos resultados son equivalentes al ritmo del porcentaje de incremento en la producción de 61, 16 y 195% (poco antes de la floración) los cuales pasan a 132, 92 y 113% de esporas por 5 g de suelo seco, después de 40 días de floración, (Gráfica 27). Los datos obtenidos permitieron estimar el grado o velocidad de la esporulación de la etapa 3 a la etapa 4, es decir, 3.5, 6.6 y 1.7 veces mayor, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráfica 26).

Por otra parte, si correlacionamos la velocidad de la esporulación alcanzada después de 40 días de floración en los tres agroecosistemas 1, 2 y 3, con 3.5, 6.6 y 1.7, veces mayor que antes de la floración, respectivamente, con los ritmos del aumento de la colonización de los



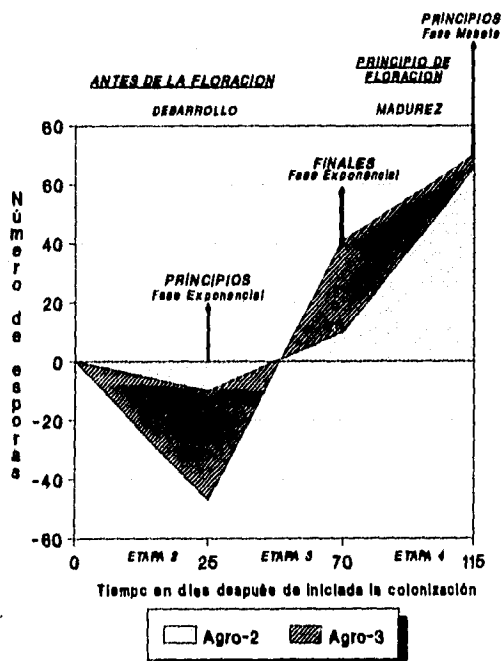
— Agro 1    — Agro 2    — Agro 3

Gráfica 23. Producción de esporas a los 115 días de iniciada la colonización, etapa 4 principios de la floración.



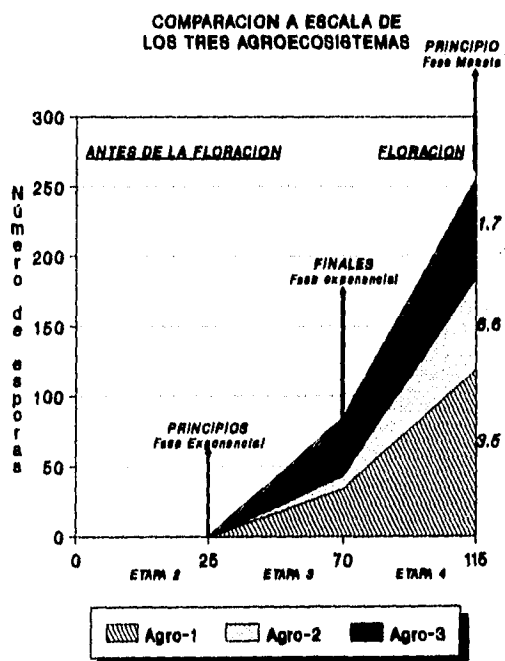
▨ Agro-1    ■ Agro-3

Gráfica 24. Ritmo de aumento en la producción de esporas a principios de la fase meseta.



□ Agro-2    ▨ Agro-3

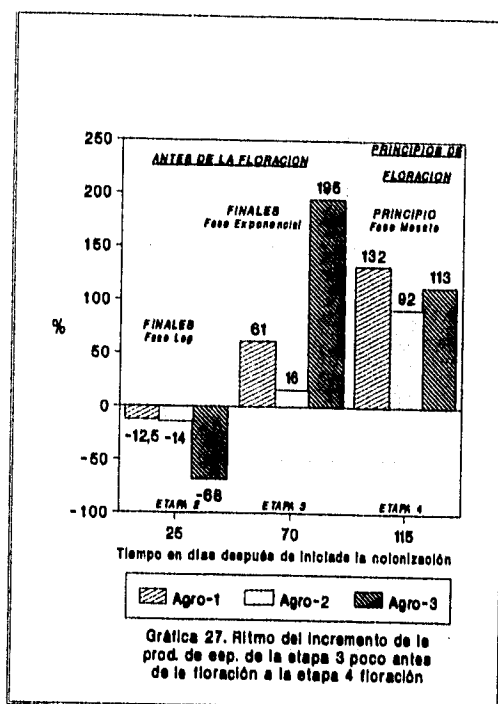
Gráfica 25. Ritmo de aumento en la producción de esporas a principios de la fase meseta.



▨ Agro-1    □ Agro-2    ■ Agro-3

Gráfica 26. Ritmo de aumento en la producción de esporas, de la etapa 3 a la 4.





tres agroecosistemas, 8, 9 y 17%, respectivamente, se observarán las siguientes tendencias: a los agroecosistemas 1 y 2, con el menor ritmo en el aumento de la colonización, les corresponde la mayor esporulación; y el agroecosistema 3, con un mayor ritmo en el aumento de la colonización le corresponde la menor esporulación. Esto significa que los hongos MA de los agroecosistemas 1 y 2, madurarán antes que los del 3 (Gráficas 21, 22, 26 y 27).

Por lo anterior se deduce que, entre la etapa 3 (poco antes de la floración) y la etapa 4 (40 días de floración), el ritmo de la colonización tendió a ser inversamente proporcional al crecimiento externo del micelio, evaluado en función de la producción de esporas (etapa de maduración de los hongos endomicorrízicos) principios de la fase meseta (Gráficas 21, 22, 23, 26 y 27). Hayman (1980) y Sieverding (1991) mencionan que hay mas esporas a mediados y finales del ciclo de las plantas, lo que significa que la floración coincide con la esporulación (Safir, 1980; Mosse, 1981 y Bowen, 1987). Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo mencionado por estos autores.

Benthlenfalvay et al., 1982 b, indican que el crecimiento o desarrollo de los hongos arbusculares empieza a ser mayor en el exterior con el inicio de la floración. Sin embargo, estos autores encuentran que al final de la cosecha, la biomasa fúngica interna de la MVA fue casi cinco veces mayor que la del componente extraradical. La biomasa fúngica, expresada como porcentaje de micorriza, alcanzó su máximo después de la floración (semana 10). No obstante, al final, estos autores encontraron que la floración y el establecimiento de la esporulación coinciden. Los resultados de estos autores son congruentes con los

resultados obtenidos en este trabajo, particularmente en: (a) períodos de inicio de la colonización y de la esporulación; (b) en el tiempo en el que se manifiesta la fase estacionaria o fase Meseta; (c) en el porcentaje de colonización alcanzado en esa misma fase; (d) en el patrón de desarrollo de la colonización interna y del micelio externo, así como en la aparición de un punto de equilibrio, entre estos dos desarrollos, en tiempos similares (10 y 12 semanas). De las observaciones cualitativas y cuantitativas realizadas en este trabajo, se puede deducir, que la población de endófitos endomicorrízicos nativos, de los agroecosistemas 2 y 3, tienen un comportamiento parecido (Tablas 5 a la 11 del apéndice), lo cual puede deberse al tipo de cultivo a que estuvieron sometidos (maíz y sorgo, respectivamente) ya que, en ambos casos, se trató de una gramínea con un mayor grado de impacto antrópico por agroquímicos; mientras que en el agroecosistema 1, donde se cultivó una leguminosa (cacahuete) sin agroquímicos y, por lo tanto, con el mínimo grado de impacto antrópico, y que su metabolismo es, además, completamente diferente al de las gramíneas su comportamiento fue diferente. Esta situación pudo dar origen a una selección de hongos en cada agroecosistema. Al respecto, Haymann (1975) menciona que suelos similares con cultivos diferentes presentan endófitos arbusculares distintos. Por otra parte, Haymann, (1981) y (1982) considera que hay una probable especificidad de los endófitos arbusculares por los hospederos, de tal manera, que la frecuencia y diversidad dependen, no sólo del suelo, sino también del tipo de cultivo, rotación y fertilización, (Sutton, 1973; Kruckelmann, 1975; Schenck y Kinloch, 1980; Hayman, 1982; Baltruschat y Dehne, 1988; y Harinikumar y Bagyaraj, 1988). Además, los compuestos químicos, agregados al suelo, pueden cambiar tanto la composición de las especies como la magnitud de la población de hongos endomicorrízicos arbusculares (Menge, 1982). Sobre este aspecto, Kessler y Blank, (1972) mencionan, que las poblaciones de hongos, en áreas de cultivo, son afectadas por la diversidad de los suelos, plantas y factores ambientales, así como por las diferentes prácticas agrícolas. Hayman (1975) y (1987); Trappe (1984); y Daft (1992) indican que la rotación de los cultivos, las prácticas agrícolas y la fertilización, pueden influir drásticamente en la selección de endófitos A. resistentes y afines a los cultivos. Harinikumar y Bagyaraj (1988), demostraron que los diferentes cultivos alteran la producción de propágulos viables, a través del tiempo. Anderson y Liberta, (1987) manifiestan que las relaciones de las diferentes poblaciones de hongos arbusculares, pueden depender grandemente de la arquitectura del sistema radical. De tal manera que lo mencionado por estos autores coincide con lo encontrado en este trabajo. Las gráficas 23 y 26, muestran que la madurez de los hongos corresponde a una mayor producción de esporas en la etapa 4 (40 días de floración). Al respecto, tomando en consideración la población de esporas iniciales del suelo previo al ensayo, el porcentaje de esporas recuperadas en el suelo, reflejó en esta etapa, el grado de madurez de la micorriza; de tal modo, que ésta fué directamente proporcional a la cantidad de esporas recuperadas en el suelo. En este sentido, en el agroecosistema 1, la recuperación de esporas en el suelo correspondió al 70% del total, el 30% restante se recuperó junto con el micelio de las raíces finas en el tamiz 0.25 mm.; en el agroecosistema 2, se recuperó

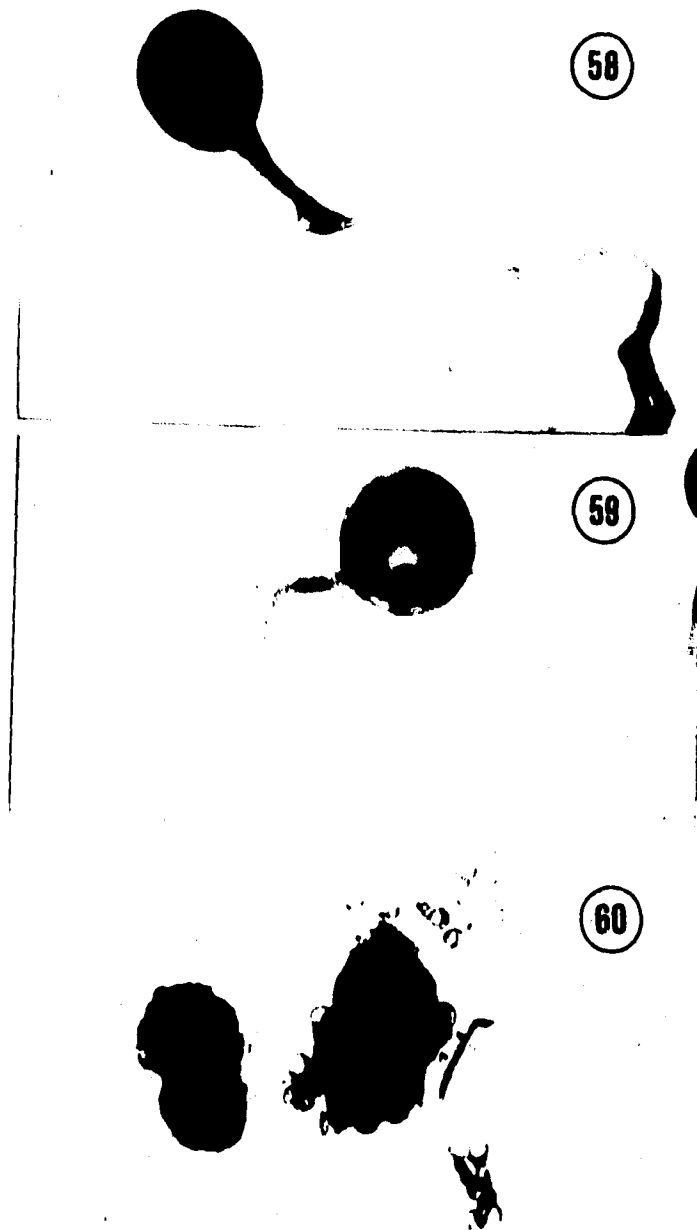
el 60% de esporas en el suelo y el 40% restante en el tamiz de 0.25 mm, y en el agroecosistema 3, prácticamente, no hubo recuperación de esporas en el suelo, es decir el 100% de ellas se recuperó junto con el micelio de las raíces finas en el tamiz 0.25 mm. Desde un punto de vista cualitativo y cualitativo, se puede inferir que, en el agroecosistema 3 dentro de la población de hongos endomicorrízicos hay una comunidad precoz que se observó antes de la floración y otra tardía (Gráficas 26 y 27); en el agroecosistema 2 en vista de que su esporulación se inició, prácticamente, después de los 40 días de floración se puede considerar tardía; y finalmente, la población de hongos del agroecosistema 1 debido a que su esporulación empezó poco antes de la floración, se puede clasificar como intermedia, incrementando su producción notablemente después de los 40 días de floración, (Gráficas 26 y 27).

### 2.5.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.

En el agroecosistema 1, se presentaron los mismos tipos morfológicos que en la etapa anterior (poco antes de la floración).

En el agroecosistema 2, además de los esporotipos mencionados anteriormente, se presentaron dos más, morfológicamente muy semejantes, pero distinguibles por su tamaño. El primero, fluctuó de 80 a 110 micrómetros de diámetro, con una pared gruesa de, aproximadamente, 19 micrómetros, una unión hifal semicónica, de 25 micrómetros en la parte superior y de 15 en la base; con una protuberancia en la hifa de sosten (Figura 58). El segundo esporotipo (representado en la Figura 59) tiene una pared delgada y un contenido vacuolar; con un diámetro de 95 a 130 micrómetros. La unión menos cónica o casi recta de, aproximadamente, 35 micrómetros de diámetro presenta, en la parte inferior, una protuberancia opuesta a la hifa sujetadora. Antes de la tinción con azul de tripano, las primeras esporas presentaban un color de pardo claro a pardo oscuro y, las del segundo esporotipo de amarillo a una tonalidad ambar. Ambos esporotipos poseen las características de las Glomaceae. Estos dos tipos de esporas representaron el 40% del total de la población. En el agroecosistema 3, además de los esporotipos mencionados anteriormente, se encontró un tipo de esporocarpos, cuyo diámetro fluctuó de 350 a 430 micrómetros, que contenía esporas de 70, 80 y 90 micrómetros de diámetro, y cuyas características recuerdan a *Glomus glomerulatum* (Figura 60), este esporotipo representó, aproximadamente, el 25% de la población total. Todos estos esporotipos se encontraron en el tamiz de 0.25 mm que retiene las raíces finas.

Analizando los resultados sobre la población de esporas, el ritmo de la producción de éstas y el ritmo del porcentaje de incremento de las mismas, (Gráficas de la 23 a la 27), se pudo observar, que la floración influye grandemente en la esporulación de los hongos arbusculares por lo que, con ella, se inicia la madurez de los hongos lo que, a su vez,



**Figuras 58 y 59.** Esporotipos del agroecosistema 2 (maíz) formados a principios de la etapa de floración. **Figura 60.** Esporocarpos del agroecosistema 3 (sorgo) formados a principios de la floración. Fotomicrografías ópticas 250, 250, y 130 X, respectivamente.

significó un marcado descenso en el ritmo de la colonización y un notable ascenso en la producción o número de esporas. Las poblaciones de HMA de los tres agroecosistemas respondieron de igual manera al metabolismo del hospedero durante la Floración, pero con diferente frecuencia,

detectándose las siguientes características:

**Agroecosistema 1 (cacahuete)**

- 1.- La respuesta fue significativa a principios de la floración, tanto en el ritmo de producción de esporas como en el número (Gráficas de la 23 a la 27).
- 2.- La esporulación creció paralelamente a la floración.
- 3.- La población de esporotipos fue, morfológicamente, similar a la de la etapa anterior.

**Agroecosistema 2 (maíz)**

- 1.- Se registró una respuesta significativa de los hongos a principios de la floración, en el ritmo de producción de esporas pero no en el número de éstas, (Gráficas de la 23 a la 27).
- 2.- La esporulación se incrementó después de los 40 días de floración, alcanzando los niveles más altos en su ritmo de aumento.
- 3.- Se observaron, morfológicamente, dos esporotipos diferentes a los de la etapa anterior (Figuras 58 y 59).

**Agroecosistema 3 (sorgo)**

- 1.- La respuesta de los hongos fue poco significativa a principios de la floración, ya que se presentó el menor aumento en el ritmo de la producción de esporas y en el número de ellas (Gráficas 15, 17 B y 18).
- 2.- Alcanzó, en la etapa 3, el máximo ritmo del porcentaje de incremento en la producción de esporas, la cual fue precoz por iniciarse antes de la floración, presentándose un descenso en la etapa 4 (40 días después de iniciada la floración).
- 3.- Aparecen los primeros esporocarpos (Figura 60).

En la gráfica 27 se observan dos comportamientos: (a) una producción de esporas, poco antes de la floración, (finales de la fase exponencial) y (b) una tendencia a la estabilización en el ritmo de producción en los 3 agroecosistemas, conservando cierta sucesión y variación en la madurez, a los 40 días de la floración (principios de la fase meseta).

#### 2.5.4.1 Porcentaje de viabilidad de las esporas.

Con respecto a la viabilidad de las esporas, en los tres agroecosistemas se observó un incremento al inicio de la fase meseta o etapa de maduración de los hongos (135 días después de iniciada la colonización), ya que en la etapa anterior presentaron un porcentaje de viabilidad de 23, 35 y 33%, y en esta etapa 4 (después de 40 días de floración), de 31, 67 y 80%, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 28; y Figura 61). La prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 12 del apéndice) en relación al porcentaje de viabilidad de las esporas, indicó que los tres agroecosistemas, fueron estadísticamente diferentes. La correlación de estos resultados con el ritmo en la producción de esporas de la etapa anterior a esta y con el grado de colonización se deduce una estrategia adaptativa, desde poco antes de la floración (70 días después de iniciada la colonización o a los 90 días después de la emergencia del hospedero; finales de la fase exponencial) que permite apreciar dos tendencias: (1) las poblaciones con menor grado de colonización, produjeron un mayor número de esporas (Gráficas 20 y 23), pero con un menor porcentaje de viabilidad (Gráfica 28), como es el caso del agroecosistema 1, en el que se detectaron 45.5% de colonización con una ritmo de producción de esporas de 119 (o un total de 209 esporas por 5 g de suelo seco) y una viabilidad de 31% (Gráficas 23, 26 y 28); y (2) poblaciones con un mayor grado de colonización, presentaron una menor producción de esporas pero con mayor viabilidad, como ocurrió en los agroecosistemas 2 y 3, en los que se observaron 60 y 55.5% de colonización con un ritmo de producción de esporas de 66 y 70, (con un total de esporas de 138 y 132, respectivamente) y una viabilidad de 67 y 80%, respectivamente, (Gráficas 23, 26 y 28).

#### 2.5.4.1 Ritmo de la viabilidad.

La comparación de los ritmos en el aumento de la viabilidad de la etapa 2 a la 3 anterior, de 5, 19 y 0%, con los observados de la etapa 3 a la 4, de 8, 32 y 47%, (Gráficas 29 y 30), permitió apreciar que el aumento en la viabilidad de las esporas, después de 40 días de floración, significó un porcentaje de incremento de 60, 68 y 100%, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente. Estos resultados corroboran, como ya se discutió anteriormente, que la floración tiene una gran influencia en la producción y madurez de las esporas. Al observar las tendencias en el comportamiento del ritmo de la colonización de las etapas 2, 3 y 4, se encontró lo siguiente: (a) en las etapas 2 y 4 se presentan los mínimos, y los máximos en la etapa 3, en las poblaciones de los hongos MA de los tres agroecosistemas (Gráfica 21), denotando una campana de Gauss que abarca las fases lag y exponencial, y cubren la etapa del desarrollo micorrízico, durante la cual la producción de esporas y la viabilidad de las mismas no presentaron ningún aumento (Gráficas 23 y 28); y (b) de la etapa 3 a esta etapa 4, (40 días de floración) principios de la fase meseta, e inicio de la madurez de los hongos, se observó un rápido ascenso en la producción de esporas y en la viabilidad, y un descenso en el ritmo de la colonización (Gráficas 21,

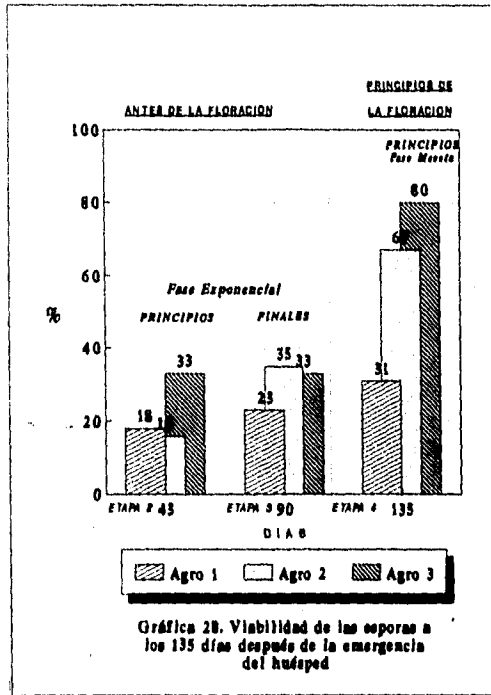
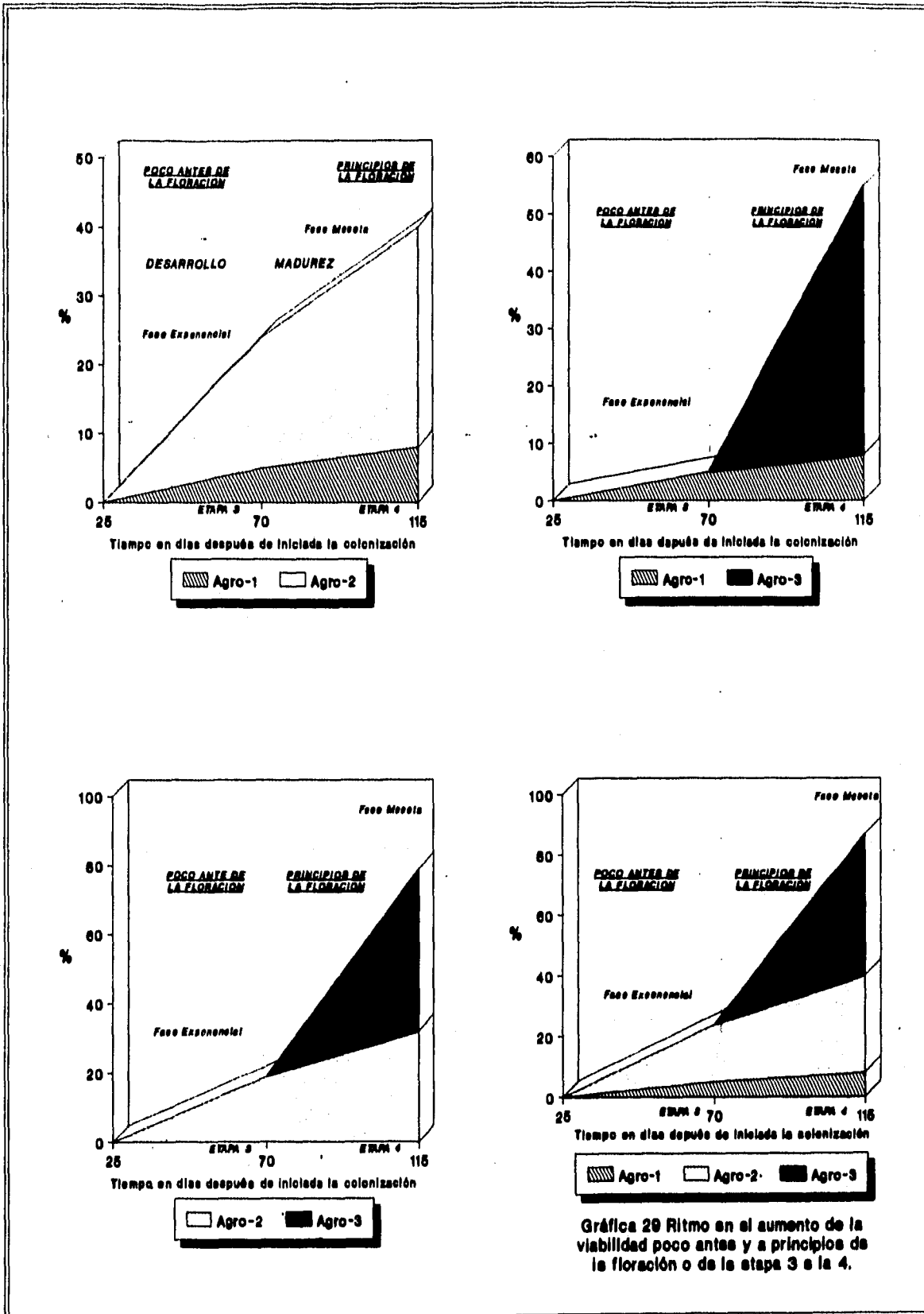
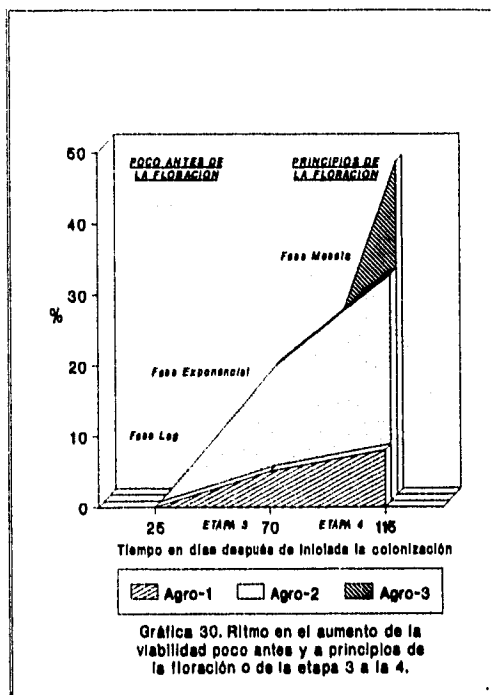


Figura 61. Prueba de la viabilidad en los esporotipos de los tres agroecosistemas (técnica del bromuro de tetrazolio; Fotomicrografía óptica 100 X).



Gráfica 29 Ritmo en el aumento de la viabilidad poco antes y a principios de la floración o de la etapa 3 a la 4.





23, 26 y 28). Por lo que, de acuerdo a lo mencionado anteriormente y a los resultados obtenidos por Benthlenfalvay et al. (1982 b) la madurez o esporulación de los hongos endomicorrízicos se inicia con la floración del hospedero. Además, simultáneamente a la madurez, se observó una sucesión de esporotipos, en los tres agroecosistemas.

En los cuadros 2 y 3 se muestra el comportamiento del ritmo en la producción de esporas y su viabilidad en los tres agroecosistemas, observándose un claro incremento conforme el hospedero se acerca a su floración ya que; de la etapa 1 a la 2, no hubo producción de esporas; indicándose, en números negativos, las esporas germinadas /5 g de suelo seco. De la etapa 2 a la 3, poco antes de la floración, se empieza a notar el efecto de ésta en la producción de esporas y, de la etapa 3 a la 4, se aprecia un claro efecto de la floración sobre la producción de esporotipos y su viabilidad.

#### 2.5.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.

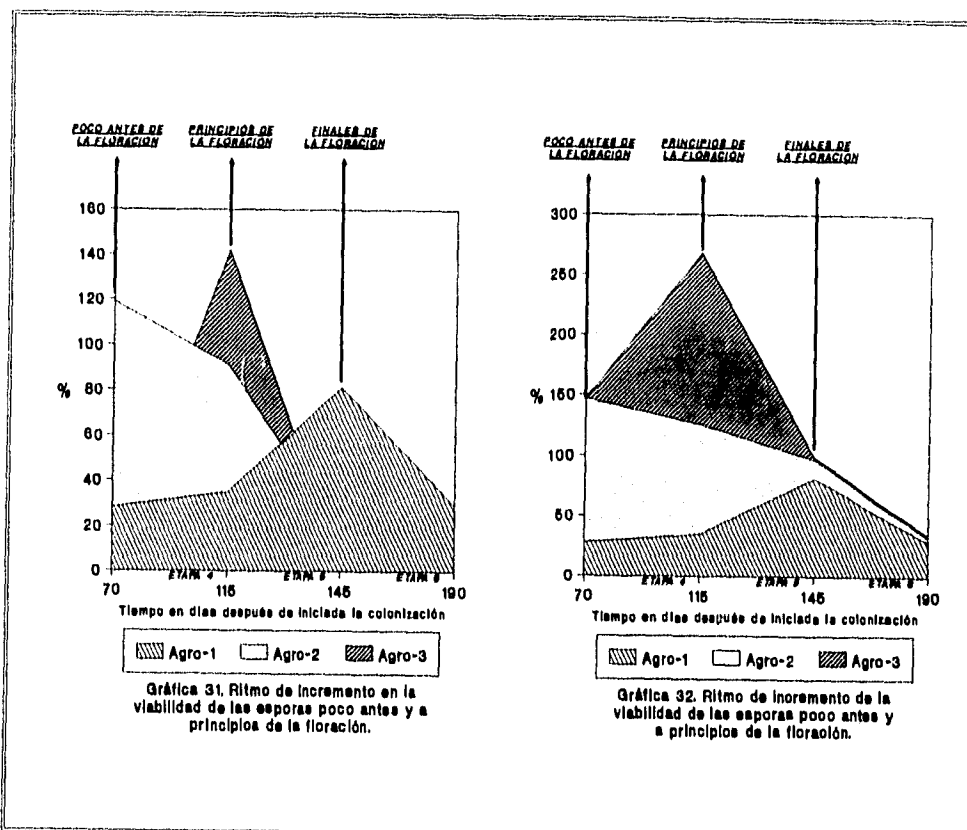
Los datos sobre el ritmo del porcentaje de incremento de la viabilidad de la etapa 2 a la 3 de: 28, 119 y 0% y de la etapa 3 a la 4 de: 35, 91 y 142% de incremento, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráficas 31 y 32), indican que las esporas del agroecosistema 1, maduraron paralelamente a la floración ya que, conforme ésta avanza, el ritmo en la viabilidad aumenta; en tanto que los datos del agroecosistema

Cuadro 2. RITMO DE LA PRODUCCIÓN DE ESPORAS (%)			
Agroecosistemas	E T A P A S		
	ANTES DE LA FLORACIÓN (1-2)	POCO ANTES DE LA FLORACIÓN (2-3)	40 DÍAS DE FLORACIÓN (3-4)
Cacahuete (1)	-8	34	119
Maíz (2)	-10	10	66
Sorgo (3)	-40	40	70

Cuadro 3 RITMO DE LA VIABILIDAD (%)			
Agroecosistemas	E T A P A S		
	ANTES DE LA FLORACIÓN (1-2)	POCO ANTES DE LA FLORACIÓN (2-3)	40 DÍAS DE FLORACIÓN (3-4)
Cacahuete (1)	0	5	8
Maíz (2)	0	19	32
Sorgo (3)	0	0	47

2 indican la presencia de una comunidad de esporas precoces poco antes de la floración (etapa 3; 70 días después de iniciada la colonización) en vista de que ésta desciende 28% a los 40 días de floración. Por otra parte, los hongos del agroecosistema 3 responden fuertemente en la madurez de sus esporas después de los 40 días de floración, ya que alcanzan el máximo incremento de viabilidad (Gráficas 31 y 32; y Cuadro 5).

Sí se correlacionan los datos del ritmo del porcentaje de incremento de esporas y el de la viabilidad, de la etapa anterior con los de esta (Cuadros 4 y 5 y Gráficas 27, 31 y 32) podemos observar la siguiente dinámica: (a) los hongos del agroecosistema 3, respondieron mucho mejor, poco antes de la floración (etapa 3), alcanzando un máximo en el ritmo del porcentaje de incremento de esporas (195%); no obstante, en el ritmo



del porcentaje de incremento en la viabilidad, no hubo aumento; además después de 40 días de floración, su ritmo en el porcentaje de incremento en esporas desciende a 82%, debido a que su porcentaje de incremento en esporas en esta etapa 4 fue de 113%; sin embargo, su porcentaje de incremento en la viabilidad aumentó notablemente (142%); (b) los hongos del agroecosistema 2, respondieron mucho mejor en el ritmo del porcentaje de incremento de esporas a principios de la floración (92%), si comparamos con el incremento que alcanzaron, poco antes de la floración, el cual fue de 16%; esto permitió que a los 40 días de floración, el porcentaje de las esporas se incrementara en un 76%, notándose, a la vez, un descenso en el porcentaje de incremento de su viabilidad (28%); es decir, de 119 a 91%; y (c) finalmente, los endófitos arbusculares del agroecosistema 1, respondieron en forma paralela y creciente a la floración, tanto en el porcentaje de incremento en la producción de esporas como en la viabilidad, ya que su porcentaje de incremento en esporas, de 61%, poco antes de la floración pasa, después de 40 días de floración, a 132% equivalente a un aumento de 2.2 veces o 71% más de incremento en la producción de esporas y, en cuanto a su porcentaje de incremento en la viabilidad de 28%, poco antes de la floración, pasa a 35% después de 40 días de floración, por lo que su incremento en la viabilidad aumento 7% (Gráfica 27, 31 y 32; y cuadros 4 y 5).

El comportamiento de la biota endomicorrízica, de los tres agroecosistemas, en relación a los ritmos del porcentaje de incremento de la producción de esporas y la viabilidad, se resume como sigue: (a) en el agroecosistema 1, la respuesta de los hongos fué en forma paralela y creciente a la floración con 132 y 35%, respectivamente; (b) en el agroecosistema 2, el ritmo del porcentaje de incremento de la producción

de esporas subió a 92%, y el de la viabilidad a 91%, por lo que, como se

Cuadro 4. RITMO DEL % DE INCREMENTO EN LA PRODUCCIÓN DE ESPORAS			
E T A P A S			
	ANTES DE LA FLORACIÓN	POCO ANTES DE LA FLORACIÓN	40 DÍAS DE FLORACIÓN
<i>Agroecosistemas</i>	(1-2)	(2-3)	(3-4)
(Cacahuete) 1	-12	61	132
(Maíz) 2	-14	16	92
(Sorgo) 3	-68	195	113

Cuadro 5. RITMO DEL % DE INCREMENTO EN LA VIABILIDAD			
E T A P A S			
	ANTES DE LA FLORACIÓN	POCO ANTES DE LA FLORACIÓN	40 DÍAS DE FLORACIÓN
<i>Agroecosistemas</i>	(1-2)	(2-3)	(3-4)
(Cacahuete) 1	0	28	35
(Maíz) 2	0	119	91
(Sorgo) 3	0	0	142

puede observar, estas dos variables se igualan o se encuentran en equilibrio; (c) los endófitos del agroecosistema 3, alcanzaron 113% de incremento en esporas, y 142%, en la viabilidad, lo que indica un valor intermedio en el ritmo del porcentaje de incremento de las esporas y un máximo en el ritmo del porcentaje de incremento de la viabilidad, en comparación con los otros dos agroecosistemas. Lo anterior permite interpretar que, en general, a un mayor porcentaje de incremento en esporas le corresponde un menor porcentaje de incremento de viabilidad y viceversa. Como se observa en las Gráficas 23, 27, 28, 31 y 32, a los 115 días después de iniciada la colonización, correspondientes a principios de la fase meseta, con 40 días de influencia de la floración.

Esto indica que, probablemente, existe una dinámica entre la colonización interna y el desarrollo externo del micelio (evaluado en relación a su esporulación), con una sincronía sucesional en cada una de

las estructuras o componentes del hongo, tanto entre su población como entre las poblaciones de los tres agroecosistemas. Esta dinámica se sustenta, probablemente, en una relación ecofisiológica en la cual la fenología del hospedero y el impacto antrópico juegan un papel fundamental.

### 2.5.5 Producción de esporas viables.

El grado de "infectividad" de las poblaciones de hongos endomicorrízicos, en el pasto Rhodes Grass (*Chloris gayana*), traducida al grado de colonización, denota una dinámica en la producción de esporas y el grado de viabilidad, después de 40 días de floración y 115 días del desarrollo simbiótico, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, con una producción neta de 65, 92 y 106, esporas viables por 5 g de suelo seco, respectivamente, (Gráfica 33). Estos valores indican diferencias altamente significativas (al 95 y 99% de confiabilidad; tabla 13 del apéndice), observándose que la flora micorrízica del agroecosistema 1, con respecto a los otros dos agroecosistemas, presentó el mayor número total de esporas (209), pero con el menor grado de viabilidad (31%), por lo que produjo el menor número de esporas viables (65) y los hongos de los agroecosistemas 2 y 3, con respecto a la del anterior, presentaron un menor número total de esporas (137 y 132), pero con un mayor grado de viabilidad (67 y 80%), lo que significó un mayor número de esporas viables (92 y 106 respectivamente) en comparación con el agroecosistema 1, (Gráficas 23, 28 y 33).

#### 2.5.5.1 Ritmo de la producción.

De acuerdo con los resultados obtenidos, es importante hacer notar la fuerte influencia de estos 40 días de floración, en el ritmo de la producción de las esporas viables, en los tres agroecosistemas, ya que de la etapa 3, anterior, poco antes de la floración, con 10, 14 y 13, aumentan en esta etapa 4, a 44, 67 y 86 esporas viables por 5 g de suelo seco, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráficas 34). La influencia de la floración en el desarrollo del ciclo biológico de los hongos endomicorrízicos, se correlaciona directamente con un descenso en el ritmo y en el porcentaje de incremento de la colonización, y un ascenso en la producción de esporas viables. Este hecho marca el final de la fase exponencial o desarrollo, y el principio de la fase meseta o de maduración del hongo que se caracteriza por el "crecimiento volumétrico de la micorriza".

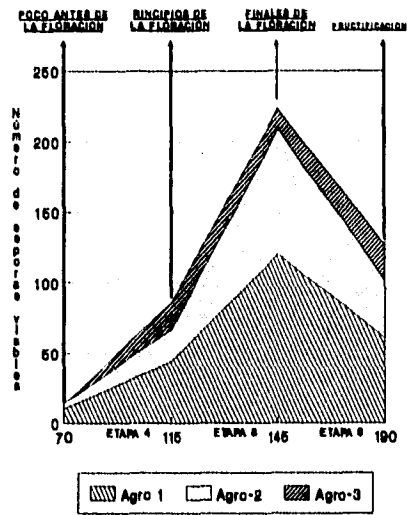
#### 2.5.5.2 Ritmo del porcentaje de incremento.

La floración, también, marcó un cambio en el ritmo del porcentaje de incremento de las esporas viables, ya que de 95, 145 y 205% en la etapa 3 se incrementaron a 209, 268 y 430% en esta etapa 4 en los agroecosistemas 1, 2 y 3 respectivamente, (Gráfica 35). Al respecto

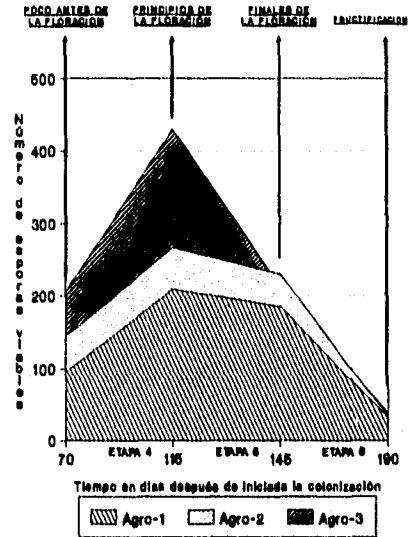
Hayman (1980) y Sieverding (1991), mencionan que hay un número mayor de esporas a mediados y a finales del ciclo biológico de la planta hospedera y, de acuerdo con Hayman (1970), la producción de esporas se incrementa, conforme el crecimiento de la raíz se torna más lento o se suspende totalmente. Barea (1980); Wilson (1984); Bowen (1987) y Sieverding (1991) mencionan que, durante la fase meseta, el crecimiento de la raíz y del hongo son simultáneos (Bethlenflavay et al., 1982 b); y Hayman (1975), y Siqueira et al. (1984) concluyen que el hospedero lleva el control de la colonización por medio del metabolismo de los carbohidratos. En relación a estos hechos, se puede observar que a partir de los 70 días después de iniciada la colonización, (poco antes de la floración) empieza a incrementarse la producción de esporas en los 3 agroecosistemas. Acentuándose mucho más en la floración, como lo han observado, también, Bethlenfalvay et al. (1982 b), quienes mencionan que la esporulación se origina en la floración. Los datos obtenidos en este trabajo coinciden con los de estos autores. Además, Hayman (1982) y Sieverding (1991) indican que, a mediados o a finales del ciclo biológico de las plantas, poco antes de la cosecha, hay una mayor producción de esporas. Hayman (1975) y (1980); Sutton y Barron (1972); y Schenck y Schroeder (1974) consideran que los hongos M.A. responden según el estado de desarrollo del hospedero y las condiciones climáticas, siendo mayor el número de esporas a finales de los cultivos. En apoyo a lo anterior, Struble y Skipper (1988) observaron que, al inocular Maíz, Bahigrass, Sudangrass y Soya, con *Glomus etunicatum*, *Glomus claroideum*, *Glomus mosseae*, *Glomus macrocarpum* y *Gigaspora margarita*, la esporulación ocurrió entre la octava y décima semana, cuando la floración estaba próxima, y en la décima cuarta semana, en la floración, se acentúa la esporulación en todas las plantas hospederas. Así mismo, Bagyaraj y Manjunath (1980) al inocular *Glomus fasciculatum*, en ocho hospederos (pastos), observó que, conforme se acercaba la floración, la esporulación aumentaba, en todos los casos, fluctuando de 200 a 463 esporas/50 ml de soporte, a los 45 días. Este mismo efecto lo observaron Simpson y Daft (1990) al inocular *Glomus clarum*, en 3 de cinco hospederos, la esporulación empezó en la décima tercera semana, en maíz y sorgo, mientras que esto no se observó en el garbanzo. Estos autores apoyan lo obtenido en este trabajo en: (a) el tiempo en que se presenta la esporulación y, (b) en que la floración intensifica la producción de esporas.

El análisis de los datos de este trabajo, permite considerar; que los diferentes hongos endomicorrízicos de los tres agroecosistemas estudiados, completan su etapa de desarrollo poco antes de la floración, para pasar a la madurez o esporulación simultáneamente con la floración.

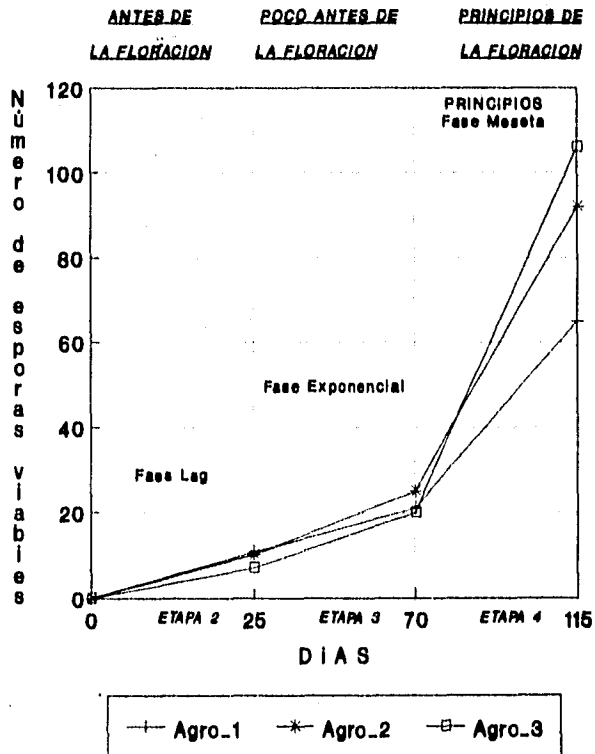
De este modo, se marca el final de la fase exponencial y el principio de la fase meseta. En este estudio, además, se observó la presencia de nuevos esporotipos y esporocarpos, no detectados poco antes de la floración. Este hallazgo indica la formación de esporotipos tempranos



Gráfica 34. Ritmo de producción de la etapa 3 poco antes de la floración a la etapa 4 principios de la floración.



Gráfica 35. Ritmo de incremento en la producción de la etapa 3 a la 4.



Gráfica 33. Producción de esporas viable a principios de la floración o a los 115 días después de iniciada la colonización

o precoces a principios de la floración. El haberse detectado, diferencias significativas en la viabilidad indica, además, que entre las poblaciones heterogeneas de hongos endomicorrízicos, existen diferencias en la estrategia adaptativa; estrechamente relacionadas con las especies hospederas, sus exigencias nutricionales y su manejo (factores ecofisiológicos).

## 2.6 Etapa 5. A los 165 Días Después de la Emergencia, (70 Días de Floración; Finales de la misma) y 145 Días Después de Iniciada la Colonización.

### 2.6.1 Finales de la fase meseta.

En esta etapa, el desarrollo del micelio intramatrerial y sus estructuras alcanzan un grado de colonización de 51, 68 y 71% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 37). De acuerdo con la prueba estadística Tukey al 95 y 99% (tabla 14 del apéndice) el comportamiento de los HM del agroecosistemas 2 y 3 es igual pero diferente de manera significativa a los del 1. No obstante, que el grado de colonización en el agroecosistema 3, siendo el menor desde principios de la colonización, se incrementó en la fase exponencial, igualando al agroecosistema 1 y, a principios de la fase meseta, lo sobrepasó y casi se igualó al del agroecosistema 2. A finales de la fase meseta, el agroecosistema 3 alcanzó el mayor grado de colonización (Gráficas 36 y 37). De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que antes de la floración, (finales de la fase exponencial y principios de la fase meseta) el grado de colonización en los agroecosistemas 1 y 3, fue muy parecido. Sin embargo, durante la floración, (fase meseta) los hongos de los agroecosistemas 2 y 3, fueron similares en su colonización, pero diferentes al 1, (cuadro 6 y Gráficas 36 y 37).

Cudro 6.		PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN		
Días después de la emergencia		Agroecosistemas		
		(1)	(2)	(3)
20	ANTES DE LA FLORACIÓN	2	3	2
45		10	16	8
90		38	51	38
136	DURANTE LA FLORACIÓN	45	60	55
165		51	68	71



En esta etapa 5 (70 días de floración, fase meseta), sobresalió la potencialidad micorrízica del agroecosistema 3, con 20% más colonización que el 1; solamente 2% más que el 2. Sin embargo, se puede observar una tendencia a la estabilización, ya que el grado de colonización desde principios de la floración varia muy poco, en comparación a los grados de colonización alcanzados en las tres primeras etapas antes de la floración. (Gráficas 36 y 37). En éstas gráfica se observan dos tendencias: (1) antes de la floración el crecimiento es logaritmico o exponencial; y (2) durante la floración, el crecimiento tiende a ser aritmético (fase meseta), en donde la colonización no aumenta en extensión pero sí en volumen.

De acuerdo a estos resultados, la fase meseta es paralela a la floración, en la cual los hongos micorrízicos arbusculares de los tres agroecosistemas maduraron y esporularon, con diferentes porcentajes de capacidad colonizadora. Sobresale el agroecosistema 3, con un porcentaje de incremento en la colonización de 39 y 4% más que los agroecosistema 1 y 2, respectivamente, y este último con 33% más que el 1.

#### **2.6.1.2 Ritmo de la colonización.**

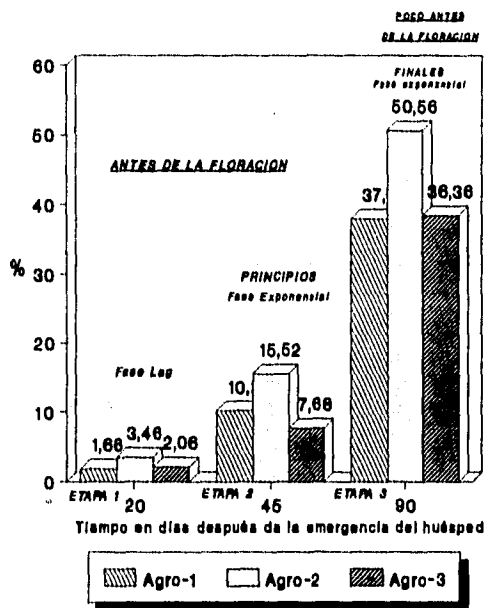
Los ritmos en el aumento de la colonización, en los tres agroecosistemas, se estabilizó ya que no hubo diferencias significativas desde el punto de vista estadístico y las diferencias aritméticas fueron mínimas ya que de 8, 9 y 17% de la etapa 4 anterior (principios de la floración) a esta etapa 5 (finales de la floración) pasaron a 6, 9 y 16% los agroecosistemas 1 (Cacahuete), 2 (Maíz) y 3 (Sorgo), respectivamente, (Gráfica 38).

#### **2.6.1.3 Ritmos del porcentaje de incremento.**

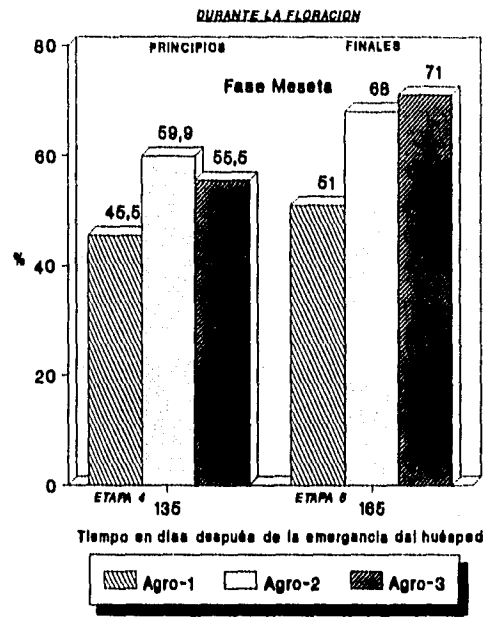
Los ritmos del porcentajes de incremento de la colonización descendieron aún más en comparación con la etapa 4, (40 días de floración) de 21, 18 y 45 a 12, 13 y 28% en esta etapa 5, con 70 días de floración, (Gráfica 39). Estos resultados, junto con los del ritmo y el grado de colonización, nos indican que el desarrollo del micelio intrarradical y sus componentes estan llegando al final de su ciclo biológico. Observándose que el desarrollo de los hongos, antes de la floración y durante la madurez o esporulación, se torna volumétrico, de ahí que se observa: (a) una estabilización del ritmo de la colonización; (b) un descenso muy fuerte en el ritmo del porcentaje de incremento de la colonización y (c) el incremento de la colonización deja de ser exponencial durante la floración. (Gráficas 36, 37, 38 y 39).

#### **2.6.1.4 Algunos aspectos morfológicos de la colonización.**

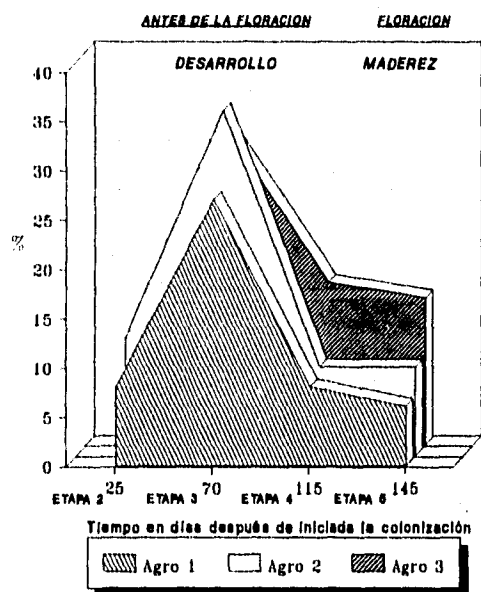
Desde el punto de vista cualitativo, fue difícil diferenciar, con



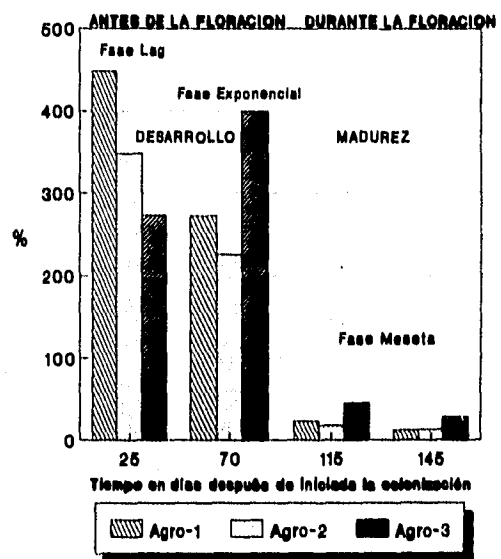
Gráfica 36. Colonización alcanzada en las fases lag y exponencial.



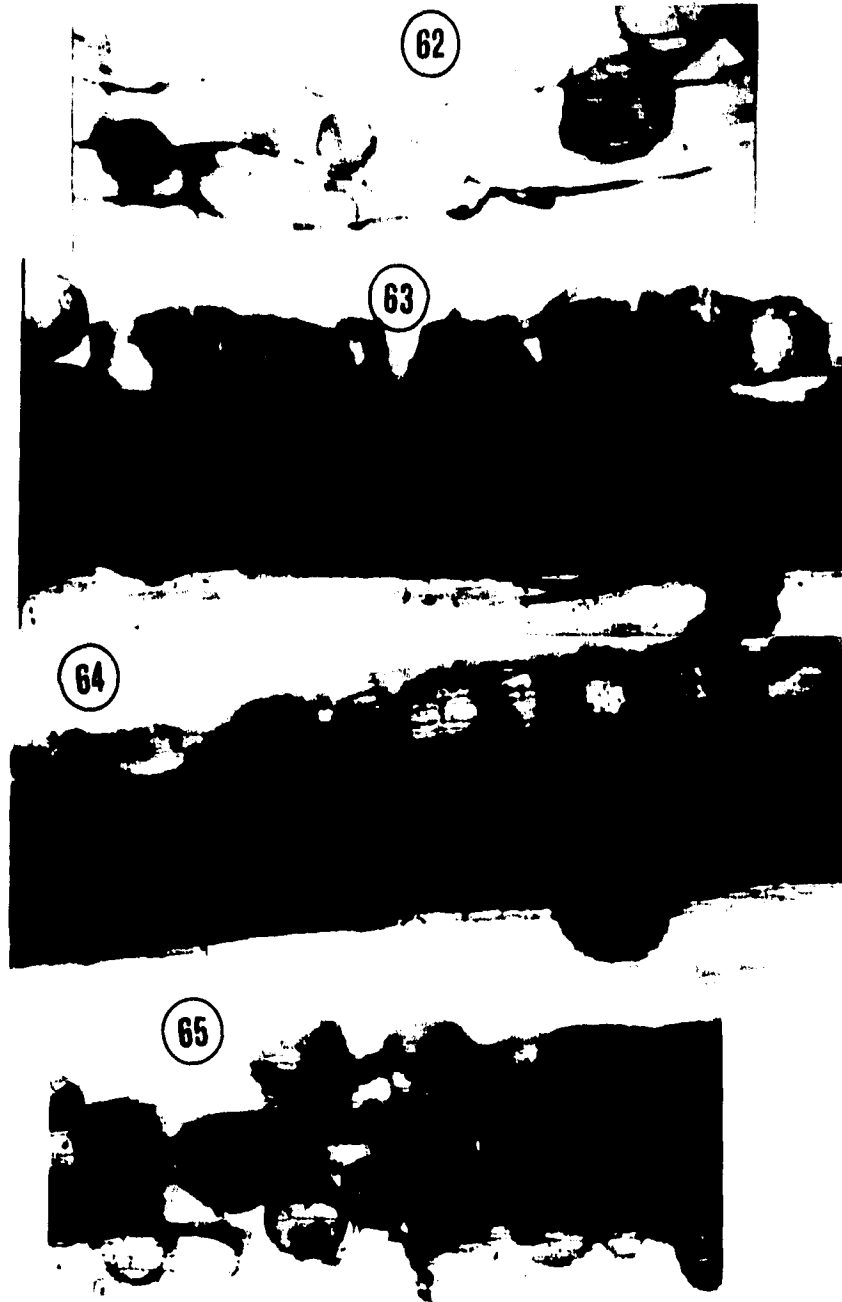
Gráfica 37. Colonización alcanzada durante la fase meseta.



Gráfica 38. Ritmo del aumento de la colonización durante la fase meseta



Gráfica 39. Ritmo del porcentaje de incremento de la colonización antes y durante la floración, fase meseta.



Hongos arbusculares en etapa de madurez, observense las diferentes características morfológicas de la colonización. Figura 62. Agroecosistema 1. Figura 63. Agroecosistema 2. Figuras 64 y 65. Agroecosistema 3. Fotomicrografías ópticas 200 X, respectivamente.

claridad en esta etapa, el desarrollo micorrízico intrarradical producido por los diferentes hongos endomicorrízicos arbusculares de cada agroecosistema. No obstante, se apreciaron algunas diferencias morfológicas entre los tres agroecosistemas. En el agroecosistema 1 se

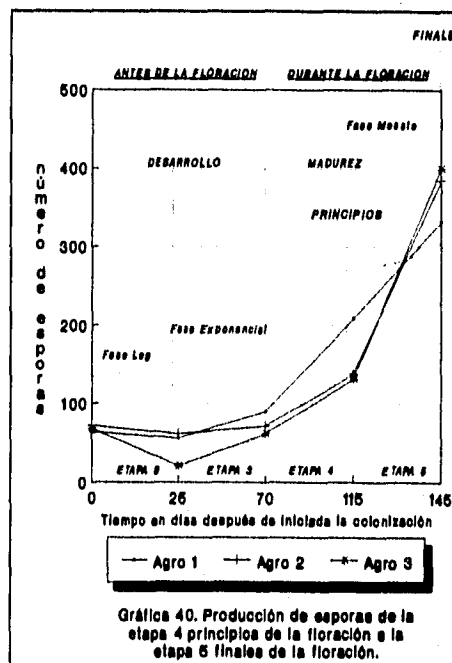
observaron en la colonización, tanto hongos típicamente M.A. como hongos con características de V.A., estos últimos, recuerdan las características de los Glomaceae, (Figura 62).

En el agroecosistema 2, se distinguió un micelio interno muy bien desarrollado, con una perfecta afinidad al colorante; en tanto que las vesículas, globosas o subglobosas, fueron poco afines al colorante (Figura 63). Al respecto Morton (1994), menciona que las vesículas de la familia Acaulosporaceae, se tiñen poco con el azul de tripano y son de aspecto globoso o subglobosas, mientras que las de la familia Glomaceae, son perfectamente globosas y afines al colorante. Finalmente, en el agroecosistema 3, las vesículas, también globosas, son muy parecidas a las del agroecosistema 2, (Figuras 64 y 65).

## 2.6.2 NÚMERO DE ESPORAS.

El número de esporas correspondiente a esta etapa 5, fueron de: 332, 385 y 401 esporas por 5 g de suelo seco en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 40). La prueba estadística de Tukey al 95 y 99% (Tabla 15 del apéndice) indicó que, en relación a esta variable, los agroecosistemas 2 y 3 son iguales entre sí pero diferentes al 1.

Estos resultados ponen en evidencia el efecto de la floración sobre



la esporulación de los hongos arbusculares que corresponde, en el ciclo biológico de la planta hospedera, a la parte final de la floración y, en el ciclo biológico de los hongos MA, a la parte final de la fase meseta

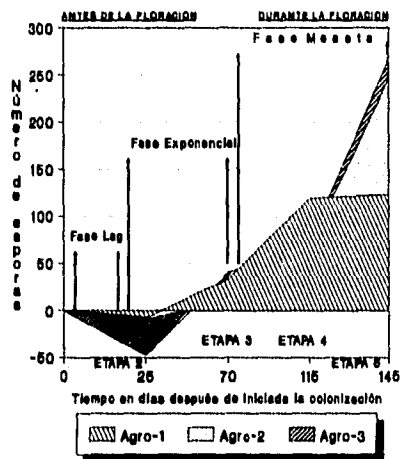
(Gráficas 38 y 40). En esta etapa se observa, con claridad que, durante toda la floración, el crecimiento intramatricial volumétrico de los hongos caracterizó a la fase meseta, mientras que en el crecimiento externo continuó con una trayectoria ascendente. Además, se pudo notar la fuerte influencia de la floración no solamente en la esporulación y viabilidad sino, también, en el crecimiento volumétrico interno de la colonización, por el cual se manifestó el almacenamiento de reservas nutritivas, aumentando el número y volumen de las vesículas. Este efecto también se observó en la sucesionalidad de los esporotipos antes discutida (Gráficas 28, 33, y de la 36 a la 40; y Figuras 62-65).

### **2.6.2.1 Ritmo de la Producción.**

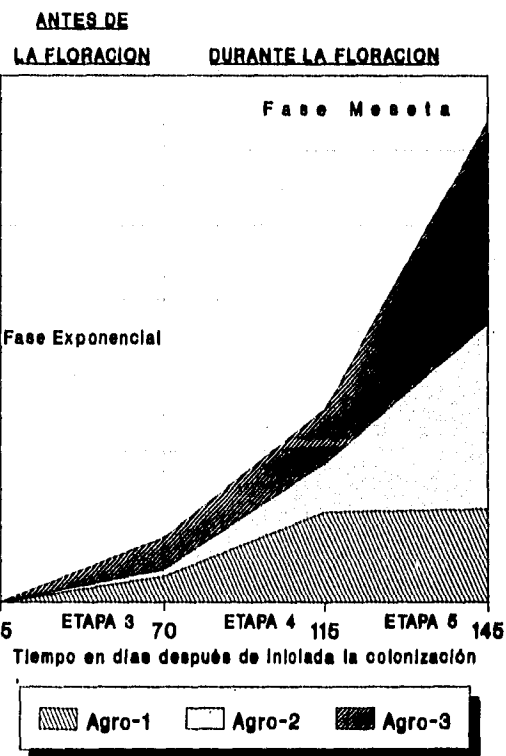
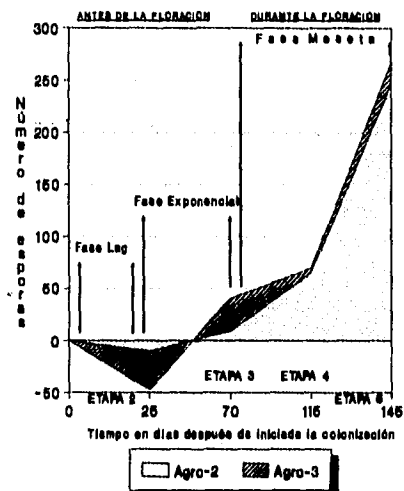
Comparando los datos del ritmo en el aumento de la producción de esporas de la etapa 4, (40 días de floración) de 119, 66 y 70, con los de esta etapa 5, (70 días de floración) de 123, 247 y 268 esporas por 5/g de suelo seco, encontramos que el ritmo con el que aumentaron las esporas en el agroecosistema 1, fué casi nulo mientras que en los agroecosistemas 2 y 3 fue 4 veces mayor, (Gráfica 41 y 42). Estos resultados pueden indicar que los hongos endomicorrízicos del agroecosistema 1, fueron estimulados en su esporulación de mejor manera poco antes y a principios de la floración, que a finales de ella. En tanto que los del agroecosistemas 2 y, principalmente, los del 3, presentaron una mayor esporulación a finales de la floración.

### **2.6.2.2 Ritmos del porcentaje de incremento.**

Al comparar los ritmos del porcentaje de incremento en la producción de esporas de los agroecosistemas 1, 2 y 3 de la etapa 4 (principios de la floración) de 132, 92 y 113, con los de esta etapa 5, (finales de la floración) de 59, 179 y 203%, respectivamente, (Gráfica 43) encontramos que: (a) los hongos del agroecosistema 1 respondieron mejor en su esporulación, poco antes y a principios de la floración, ya que su incremento fue 2.2 veces menor en esta etapa 5 (finales de la floración) lo que indica el final de su esporulación; (b) los del agroecosistema 2, respondieron mejor, desde principios hasta finales de la floración, de forma paralela y creciente; y (c) los del agroecosistema 3, respondieron muy bien, poco antes y a finales de la floración, notandose tres subpoblaciones: una poco antes de la floración, otra intermedia más pequeña a principios de la floración, y la tercera a finales de la floración, (Gráfica 43). Los ritmos del porcentaje de incremento en la producción de esporas, mostraron que el comportamiento del crecimiento de las poblaciones es en forma de una campana de Gauss donde: el agroecosistema 1, presentó su máximo a los 115 días después de iniciada



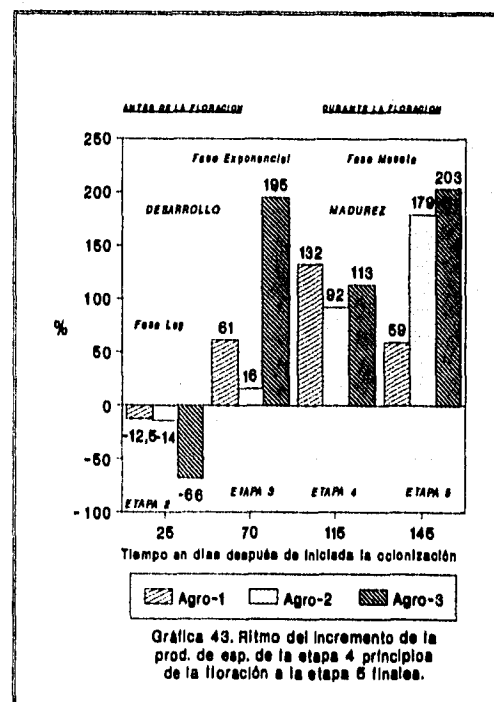
Gráfica 41. Ritmo en la producción de esporas de la etapa 4 a la 5 del inicio al final de la fase meseta



Gráfica 42. Ritmo en la producción de esporas antes y durante la floración

la colonización; el agroecosistema 2, lo presentó a los 145 días y mayor que el 1; en tanto que el agroecosistema 3, presentó dos picos de la misma magnitud, uno a los 70 y el otro a los 145 días (Gráfica 43). El efecto antrópico se observa reflejado en estos patrones que indican una dinámica diferente en la esporulación de las poblaciones de HA de los tres agroecosistemas y, dentro de ésta, en una sucesión de esporotipos, posiblemente seleccionados por el tipo de cultivo al que estuvieron expuestos, resaltando la del agroecosistema 3. No obstante, las tres poblaciones respondieron a la planta hospedera de acuerdo a su metabolismo o fenología, en general, de forma continua y creciente desde poco antes de la floración, (Gráfica 42).

El agroecosistema 3, en esta etapa, alcanzó el mayor porcentaje de incremento en producción de esporas por 5 g de suelo seco, (203%), y es 21 y 4% mayor en el porcentaje de incremento que el de los agroecosistemas 1 y 2, respectivamente. Mientras que, el agroecosistema 1, con el menor número de esporas, alcanzó también el menor ritmo del porcentaje de incremento (59%) y, finalmente, el agroecosistema 2, se comportó de manera intermedia en su ritmo de incremento en esporas por 5 g de suelo seco, con 179% (Gráficas 40 y 43). Es importante, hacer notar que, el inicio de la floración coincidió con el final del desarrollo de los hongos endomicorrízicos y el principio de su maduración, en la cual se observó un descenso en el ritmo de crecimiento de la colonización, de modo longitudinal, pero con un aumento en el volumen de la misma y un incremento en el ritmo de la producción de esporas.



#### 2.6.4 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.

En el agroecosistema 1 se presentaron, además de los esporotipos ya antes descritos, tres esporotipos más con características diferentes como son: (1) esporas con variaciones de color pardo a tonos amarillos, con vacuolas grandes y pequeñas, con diámetros de 100 a 120 micrómetros y la unión de la hifa con la espора de tipo recta, este esporotipo constituyó, aproximadamente, el 20% de la población total y se encontraron, en su mayor parte, unidas al micelio externo, (Figura 66); (2) de las hifas del micelio externo se proyectan hifas más delgadas, en cuyos extremos se sustentan esporas de forma subglobosa o globosa, la unión hifal, en la mayoría de las veces es curvada, sus diámetros son de 90 a 105 micrómetros, este esporotipo constituyó, aproximadamente, el 15% de la población total, (Figura 67); y (3) esporocarpos de 350 a 450 micrómetros de diámetro en cuyo interior se alojaban cientos de esporas de 50 a 70 micrómetros de diámetro, translúcidas y con la unión hifal recta, este esporotipo formaba, aproximadamente, el 25% de la población total. Los esporotipos se encontraron, principalmente, en el suelo. Para su separación se utilizó el tamiz de 0.25 mm (Figuras 68 y 69). El 40% restante de la población de esporotipos en este agroecosistema ya fueron descritos anteriormente.

En el agroecosistema 2, además de algunos de los esporotipos ya mencionados, que constituían el 53% del total de la población, se detectaron en esta etapa, tres esporotipos más con características diferentes: (1) esporocarpos compactos cuyo diámetro fluctuó de 250 a 390 micrómetros, de color pardo oscuro, constituídos por una maraña muy resistente de hifas muy finas, en el interior se encontró micelio grueso y ramificado, que sostenía esporas de color ambar de 80 a 90 micrómetros, y otras más pequeñas de 20 a 30 micrómetros de diámetro, con una unión hifal recta. Las diferencias en el diámetro, unión hifal y grosor obedecen, probablemente, al diferente grado de madurez; este esporotipo constituyó el 15% de la población total, (Figura 70); (2) esporocarpos poco compactos constituídos por materia orgánica, limo y arcilla, sostenidos por micelio, fáciles de abrir en comparación con los anteriores, de color pardo oscuro tendiendo a negro, cuyo diámetro varía de 650 a 800 y, en algunos casos hasta 1000 micrómetros. En su interior, las esporas con diámetros de 85 a 95 micrómetros, tenían una unión hifal curvada; este esporotipo formó, aproximadamente, el 12% de la población total, (Figura 71); (3) esporocarpos compactos y negros, con diámetros de 300 a 350 micrómetros, en cuyo interior se encontraron cientos de esporas translúcidas de 30 a 40 micrómetros de diámetro. Estos esporotipos constituyeron, aproximadamente, el 20% de la población total (Figura 72). Finalmente, en el agroecosistema 3, se encontraron algunas esporas ya antes descritas las cuales constituían, aproximadamente, el 25%. El 75% de la población total restante, estuvo constituido por cuatro esporocarpos diferentes y dos esporotipos más que aparecieron en esta etapa: (1) esporocarpos muy parecidos en su contenido a los últimos ya descritos, (ángulo superior derecho de la Figura 72), pero morfológicamente diferentes ya que eran alargados y más disgregables, los cuales dentro del 75% de la población constituían el 15%; (2) esporocarpos de 800 a 1100 micrómetros de diámetro, constituídos de 40





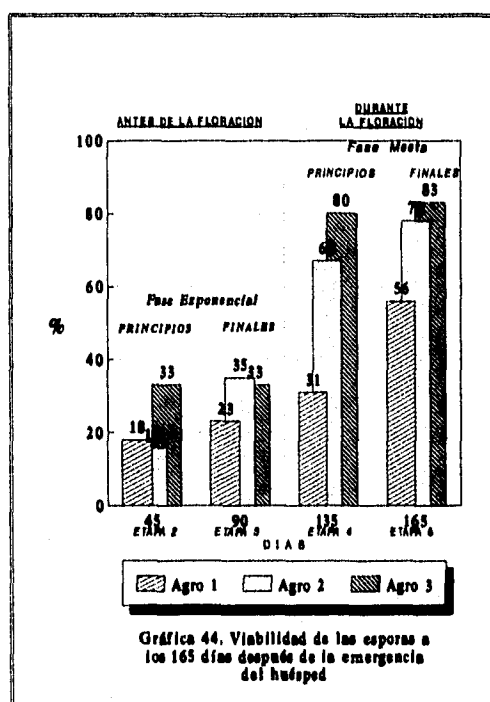
**Esporotipos de hongos arbusculares. Figuras 66 a 69** Del agroecosistema 1. (Fotomicrografías ópticas, de la 66 a 68, 200 X, y la 69, 320 X. **Figuras 70-72** Agroecosistema 2. (Fotomicrografías ópticas, 250, 180 y 200 X, respectivamente. **Figuras 73 a 78** Agroecosistema 3. (Fotomicrografías ópticas: figuras 76 y 77 200 X, figuras 73, 74 y 77, 180 X; y figura 75, 150 X).

a 50 esporas globosas, muy uniformes, de color ámbar y vacuoladas, con diámetros de 90 a 110 micrómetros muy parecidas a las vesículas de algunas raíces altamente colonizadas; la unión de la espора con la hifa es recta, (Figuras 73 y 74), aproximadamente, constituían el 20% de la población total; (3) esporocarpos que contenían de 3 a 8 esporas grandes de 150 a 200 micrómetros de diámetro, de color ámbar a pardo y semicubiertas por una capa fina de hifas, las cuales se concentran en la parte central que las sostiene. El diámetro de los esporocarpos fluctuaba de 930 a 1200 micrómetros de diámetro y, eventualmente, hasta 1600 micrómetros, aproximadamente; en algunos casos, se encontraron envueltos por hifas gruesas, tabicadas, de 20 micrómetros de diámetro (Figura 75) Este tipo de esporotipos constituían, aproximadamente, el 15% de la población total, y se encontraron en el tamiz de 0.25 mm; (4) esporocarpos compactos de color pardo, de 300 a 400 micrómetros de diámetro, las hifas internas sostenían esporas de pared delgada, cuyo color variaba de amarillo a ámbar. La unión hifa-espora en forma de embudo; constituían el 5% de la población total, aproximadamente (Figura 76); (5) las esporas contenidas en el micelio externo, eran de pared gruesa y de superficie ornamentada, (lo que recuerda las características de algunas especies de *Acaulospora*), con diámetros de 80 a 90 micrómetros y la unión a la hifa totalmente recta, (Figura 77). Estas esporas constituyeron el 15% de la población total; (6) un esporocarpo de color pardo claro, con diámetros de 250 a 300 micrómetros, su contenido formado por docenas de esporas pequeñas de 50 a 60 micrómetros de diámetro, de color blanco o amarillo muy claro, unidos a la raíz por micelio externo grueso constituían, aproximadamente, el 5% del total de la población (Figura 78). Todos estos esporotipos recuerdan las características de los Glomaceae. Es importante hacer notar que, en los agroecosistemas 2 y 3, se encontraron tres esporocarpos muy parecidos (Figuras 72, 75 y 78).

#### **2.6.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.**

Las esporas de los hongos endomicorrízicos arbusculares de los agroecosistemas 1, 2 y 3, en esta etapa 5 alcanzaron 56, 78 y 83% de viabilidad, respectivamente, (gráfica 44). La prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 16 del apéndice) indicó que los agroecosistemas 2 y 3 eran estadísticamente iguales pero diferentes significativamente al 1. Al correlacionar los datos de la producción de esporas con los de la viabilidad, obtenidos a principios y finales de la floración, se pueden observar dos comportamientos muy distintos durante el ciclo biológico de los hongos endomicorrízicos nativos, correspondiente a la etapa de floración del hospedero: (1) a principios de la floración, los agroecosistemas con un menor número de esporas, presentaron una mayor

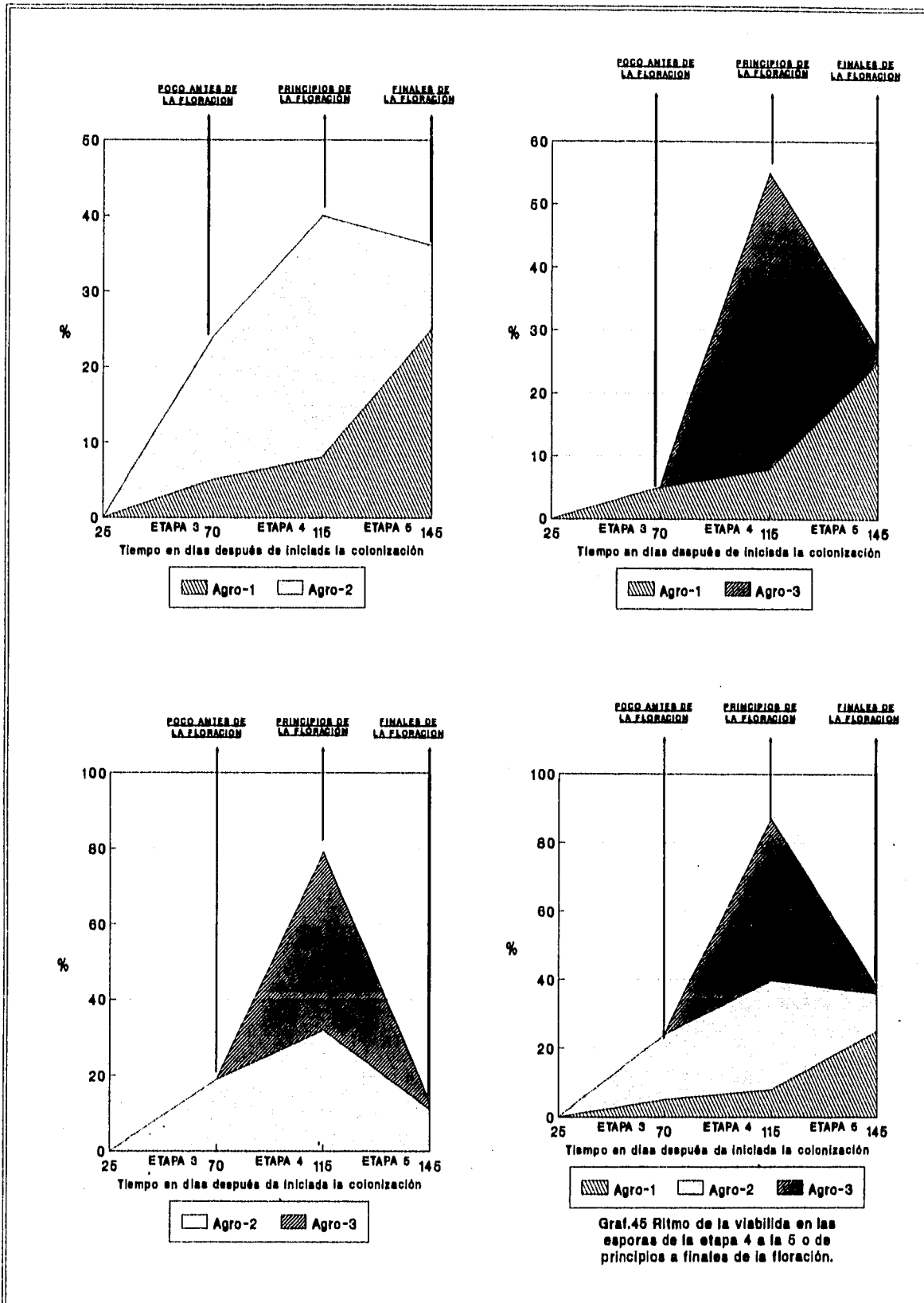
viabilidad y aquellos agroecosistemas, con un mayor número de esporas, presentaron una menor viabilidad y, (2) la situación se invierte a finales de la floración, es decir el agroecosistema con el mayor número de esporas presentó una mayor viabilidad y los agroecosistemas, con un menor número de esporas, presentaron una menor viabilidad (Gráficas 40 y 44).

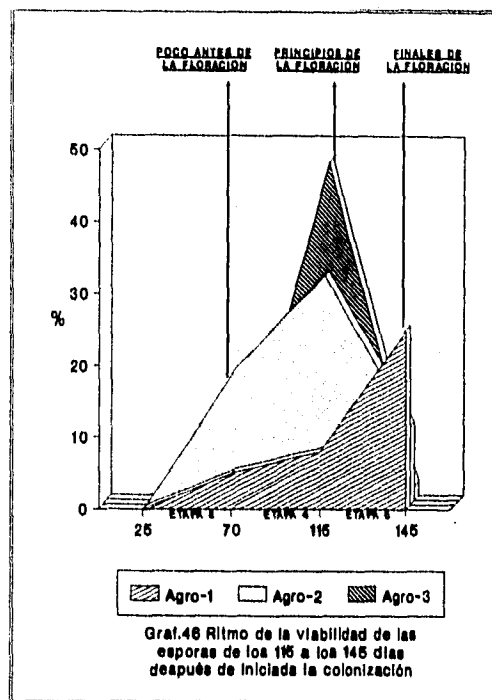


#### 2.6.4.1 Ritmo de la viabilidad.

Al comparar los datos obtenidos de la etapa 3 a la 4, (115 días después de iniciada la colonización) de 8, 32 y 47, con los obtenidos de la etapa 4 a la 5 (145 días después de iniciada la colonización) de 25, 11 y 2%, de viabilidad de los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráficas 45 y 46). Se aprecia que las esporas de los hongos endomicorrízicos del agroecosistema 1, triplicaron su viabilidad, de principios de la floración (40 días) a finales de esta, es decir, después de 70 días de influencia de la floración, han alcanzado el máximo ritmo de aumento. En tanto que las esporas del agroecosistema 2, disminuyeron tres veces su viabilidad, lo que indica un ritmo inverso al del agroecosistema 1.

Se observa, por lo tanto, que mientras las del agroecosistema 1, alcanzan el mayor ritmo, las del agroecosistema 2, tiene el menor ritmo de aumento. Finalmente, las esporas del agroecosistema 3, muestran claramente el final de su viabilidad, ya que en éstas su aumento fué casi nulo. Estas observaciones permiten considerar que las esporas de los hongos endomicorrízicos de los tres agroecosistemas son diferentes en la





velocidad de su maduración, notándose lo siguiente: (a) de la etapa 2 a la 3, la población de esporas del agroecosistema 2 alcanzó el mayor ritmo de viabilidad, en comparación a las del 1 y 3; (b) de la etapa 3 a la 4, en el agroecosistema 3, alcanzaron el máximo ritmo de viabilidad y; finalmente, (c) de la etapa 4 a la 5, las esporas del agroecosistema 1 tuvieron el máximo ritmo de aumento de viabilidad, (Gráficas 45 y 46; y cuadro 7).

El porcentaje de viabilidad y el ritmo en el aumento de ésta son indicadores de la madurez de las clamidosporas, observándose que las del agroecosistema 1 alcanzaron su mayor porcentaje (56%) a finales de la floración, correspondiente al máximo en su ritmo de viabilidad (25%), cuando los agroecosistemas 2 y 3 ya estaban en descenso con 11 y 2%, respectivamente, de tal manera que la madurez de las esporas del agroecosistema 1 se presentó en forma paralela y creciente a la floración (Gráficas 44, 45 y 46; y cuadro 7). En este sentido, las esporas del agroecosistema 2, presentaron un notable aumento en su maduración, poco antes de la floración; en tanto que las del agroecosistema 1, lo presentaron a finales de la floración, y las esporas del agroecosistema 2, subieron considerablemente su ritmo de viabilidad (de 16 a 35%) lo que significa un indicador de madurez, de la etapa 2 a la 3, respectivamente (Gráficas 44, 45 y 46; y cuadro 7). Durante este periodo, las esporas del agroecosistema 2 alcanzaron su máximo aumento en el ritmo de la viabilidad (19%) poco antes de la floración, en comparación con las del agroecosistema 1 que obtuvieron un ritmo de 5%, y las del agroecosistema 3 ningún aumento (Gráficas 45 y 46).

A principios de la floración, correspondiente a las etapas 3 y 4, el agroecosistema 2 alcanzó un mayor grado de viabilidad (67%), correspondiente a su mayor ritmo de aumento (32%), de tal manera que la

madurez de sus esporas se presentó poco antes y a principios de la floración por lo que, a finales de la misma, su ritmo descendió hasta en una tercera parte, llegando a 11% de ritmo de aumento; aún cuando su grado de viabilidad fue mayor (78%). En este mismo período, las esporas del agroecosistema 1 alcanzaron el mayor ritmo de viabilidad (25%), y las del agroecosistema 3 tuvieron el menor ritmo de viabilidad (2%) observándose que, a mayor ritmo menor grado de viabilidad, como fue el caso del agroecosistema 1 y, por otra parte, a menor ritmo mayor grado de viabilidad, como ocurrió en los agroecosistemas 2 y 3 (Gráficas 44, 46; y cuadro 7). Finalmente, las esporas del agroecosistema 3 alcanzaron, a principios de la floración o de la etapa 3 a la 4, su máximo ritmo en el aumento de viabilidad

Cuadro 7		RITMO DE LA VIABILIDAD DE LAS ESPORAS		
		E T A P A S		
Agroecosistemas		POCO ANTES DE LA FLORACIÓN (2-3)	40 DÍAS DE FLORACIÓN (3-4)	70 DÍAS DE FLORACIÓN (4-5)
(Cacahuate)	1	5	8	25
(Maíz)	2	19	32	11
(Sorgo)	3	0	47	2

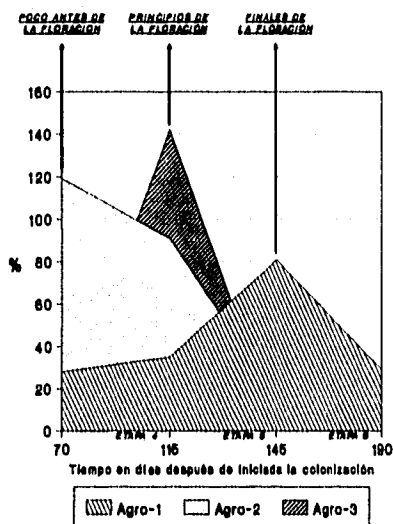
con un 47%, en tanto que los agroecosistemas 1 y 2 tuvieron 8 y 32%, respectivamente, de tal manera que la madurez de las esporas del agroecosistema 3 se presentó a principios de la floración, (Gráficas 44, 45 y 46; y cuadro 7). Es importante mencionar que, en lo relativo al grado y ritmo de la colonización, número o producción de esporas y porcentaje de viabilidad, las tendencias de las poblaciones de hongos de los tres agroecosistemas fueron muy parecidas, como se aprecia en sus curvas de crecimiento (Gráficas 36, 37, 38, 39, 40 y 44). Sin embargo, en cuanto a los ritmos de producción de esporas y viabilidad y en los ritmos de incremento, las tendencias en los tres agroecosistemas son completamente diferentes (Gráficas de la 41 a la 48).

#### 2.6.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.

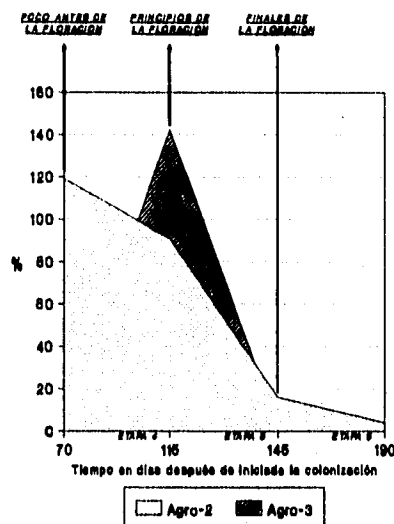
La comparación de los ritmos del porcentaje de incremento de la etapa 3 a la 4 (40 días de floración) de 35, 91 y 142 con los obtenidos de la etapa 4 a la 5 (70 días de floración) de 81%, 16% y 2.5% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, reafirma lo antes mencionado ya que los tres agroecosistemas, tanto a principios como a finales de la

floración, tuvieron comportamientos diferentes, (Gráficas 47, 48 y 49). Por otro lado, se observa que la tendencia en el comportamiento de los ritmos de la viabilidad de las esporas de los agroecosistemas 2 (maíz) y 3 (sorgo), ambas gramíneas, es parecido, estableciéndose una clara diferencia con el del agroecosistema 1 (cacahuete), que es una leguminosa. Al respecto, Harinikumar y Bagyaraj (1989) han observado que con diferentes cultivos se obtiene una diferente producción de propagulos viables, la cual varía a través de la estacionalidad y del crecimiento del cultivo. Hayman (1982) y Palacios et al. (1986) y (1987) mencionan la existencia de la afinidad de ciertos hongos a determinados cultivos. Anderson y Liberta (1987) consideran que las relaciones micorrízicas dependen de la arquitectura de la raíz, y Daft (1992) al respecto indica que otro factor en la composición es la respuesta al genotipo del hospedero. Los resultados de esta investigación no solo coinciden con lo mencionado por estos autores sino que, además, permitieron seguir toda la secuencia del ciclo biológico de las poblaciones en cada uno de sus componentes, simultáneamente al desarrollo de la planta hospedera.

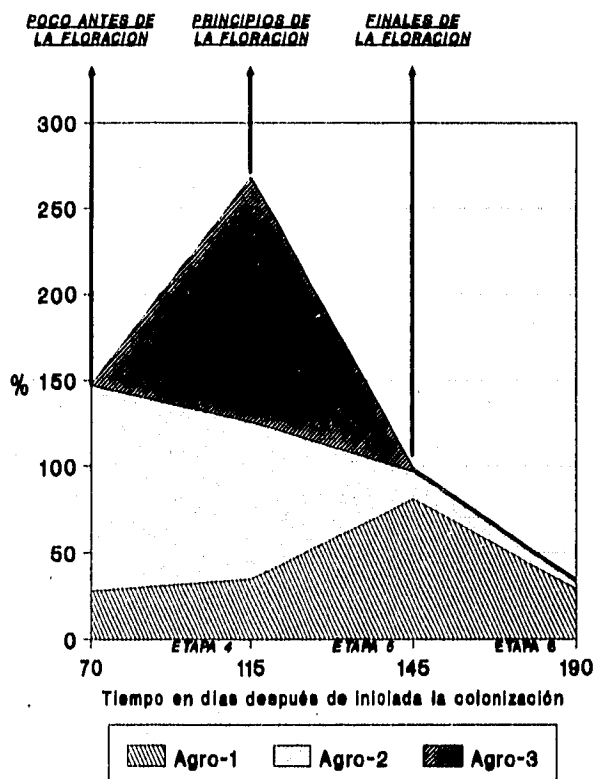
Las gráficas muestran la dinámica de la colonización, producción de esporas y viabilidad durante la floración. Al correlacionar los porcentajes de viabilidad con los ritmos de incremento, podemos observar que, de los tres agroecosistemas el agroecosistema 3, alcanzó el máximo ritmo de incremento en la viabilidad, a principios de la floración (142%), de tal manera que a finales de la misma, difícilmente pudo aumentar, por lo que se observa un menor ritmo (2.5%), lo que significó un descenso (Gráficas 47, 48 y 49). En el agroecosistema 2, se denotó una campana de Gauss, con tres puntos: a los 70, 115 y 145 días después de iniciarse la colonización, correspondientes a, poco antes, a principios y finales de la floración del hospedero, respectivamente. En el agroecosistema 2, la campana es más ancha pero más baja que la del agroecosistema 3, indicándonos que la viabilidad de sus esporas decrece paralelamente a la floración, (Gráficas 45 y 48). El agroecosistema 1, mostró un comportamiento inverso al de las poblaciones de HMA de los agroecosistemas 2 y 3, ya que su viabilidad creció paralelamente a la floración, de tal manera que, a finales de la floración, éste tiene el mayor ritmo de aumento en la viabilidad, mientras que los agroecosistemas 2 y 3, descienden notablemente (Gráfica 49). Esto puede deberse a una estrategia adaptativa de los hongos micorrízicos arbusculares para su sobrevivencia, asegurando su descendencia. Es decir, en una etapa temprana de la floración, el hongo prevee cualquier situación negativa, de tal forma que las poblaciones producen un menor número de esporas, pero con mayor viabilidad, y las que producen un mayor número de esporas, generalmente, tienen una menor viabilidad, de esta manera se iguala el número de esporas viables en las tres poblaciones de HMA. Esto se observó en las etapas 2, 3 y 4, antes y a principios de la floración. De acuerdo a la pruebas Tukey al 99 y 95% (tablas 5, 9 y 13 del apéndice), no hubo diferencias significativas. Sin embargo, a finales de la floración los diferentes HMA se desarrollan a su ritmo, y capacidad, obteniéndose diferencias altamente significativas.



Gráfica 47. Ritmo de incremento en la viabilidad de las esporas de la etapa 4 a la 5.



Gráfica 48. Ritmo de incremento en la viabilidad de las esporas de la etapa 4 a la 5.



Gráfica 49 Ritmo de incremento de la viabilidad de las esporas de principios a finales de la floración.

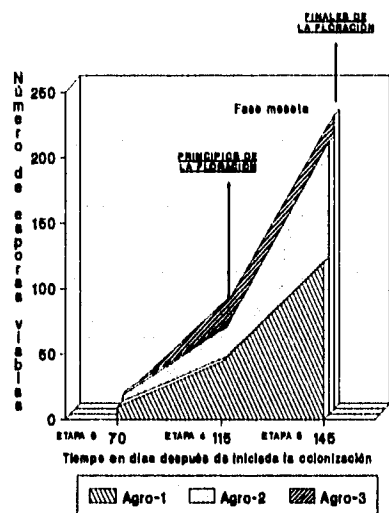


### 2.6.5 Número de esporas viables.

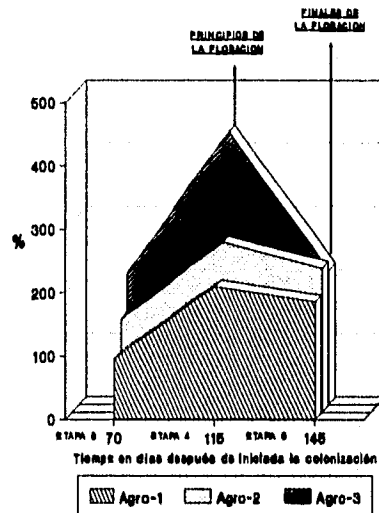
Conforme la floración avanzó, la dinámica de la colonización se reflejó en la producción de esporas viables manifestándose diferencias, a finales de la floración, de manera muy significativa en los agroecosistemas 1, 2 y 3, con 184, 299 y 330, esporas viables por 5 g de suelo seco, respectivamente, (Gráfica 50). De acuerdo con la prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 17 del apéndice) los agroecosistemas 2 y 3 son estadísticamente iguales, pero diferentes al 1.

#### 2.6.5.1 Ritmo de la producción y porcentaje de incremento.

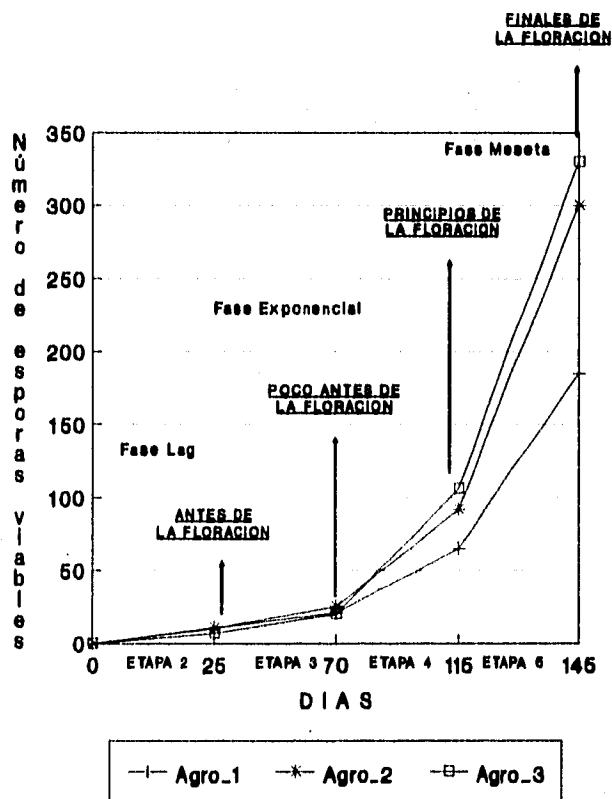
De la etapa 4 con un ritmo en la producción de esporas viables de 44, 67 y 86 esporas viables por 5 gramos de suelo seco, aumentó a 120, 208 y 224 en la etapa 5 en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente. Esto significa que, a finales de la floración o fase meseta, se incrementó más el desarrollo extramatricial que el intramatricial del hongo, ya que mientras el ritmo de colonización disminuyó o se mantuvo constante, el ritmo de producción de esporas viables aumentó significativamente, 2.7, 3.1 y 2.6 veces más que a principios de la floración en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráficas 38 y 51). Las tres poblaciones de hongos endomicorrízicos respondieron al metabolismo del hospedero de igual manera a finales de la floración, con una máxima producción de esporas viables. Al correlacionar el ritmo de la producción de esporas viables con el ritmo del porcentaje de incremento de las mismas. Al respecto se pueden observar dos tendencias: (1) el ritmo del porcentaje de incremento de las esporas viables en la etapa 4 (principios de la floración; 115 días después de iniciada la colonización) en los agroecosistemas 1, 2 y 3 alcanzó el máximo, pero no así el ritmo del aumento, y (2) el ritmo del porcentaje de incremento de las esporas viables en la etapa 5 (finales de la floración; 145 días después de iniciada la colonización) los agroecosistemas 1 y 2 tienden a estabilizarse y en el 3 desciende significativamente, pero el ritmo de aumento alcanza en los tres agroecosistemas el máximo, (Gráficas 51 y 52). Estas tendencias indican que a finales de la floración se observa la máxima producción de esporas viables en los tres agroecosistemas. Sin embargo, en esta etapa ya se tiene un menor ritmo del porcentaje de incremento pues éste disminuye 1.1, 1.2 y 2 veces en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, ya que el porcentaje de incremento en la etapa 4, fué de 209, 268 y 430 y en esta etapa 5 corresponde a 185, 226 y 211%, (Gráficas 51 y 52). Si se correlaciona, el número de esporas viables 185, 299 y 330 con el de las no viables 147, 86 y 70, de los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, se encontrará que la población total de esporas viables en los tres agroecosistemas a finales de la floración, fue de 56; 78 y 82%, respectivamente, observándose las siguientes tendencias: (1) las especies de hongos asociados al cultivo de cacahuate (agroecosistema 1), manejado sin agroquímicos, fueron los que presentaron una menor esporulación; (2) los correspondientes del suelo cultivado con maíz, tratado con agroquímicos, (sulfato de amonio y superfosfato triple, Lanat, Gesaprim y Gramoxane), tuvieron una mayor esporulación y mayor número de esporas viables, ya que el 76% de



Gráfica 51. Ritmo en la producción de esporas viables de la etapa 4 a la 6 o de principios a finales de la floración



Gráfica 52. Ritmo del % de incremento de las esporas viables de la etapa 4 a la 6 o principios a finales de la floración



Gráfica 50 Producción de esporas viables a finales de la floración o a los 145 días después de iniciada la colonización

la población total de esporas eran maduras y el 24% restante estaban en estado de dormancia; finalmente (3) en el suelo cultivado con sorgo, (con el mismo tratamiento de agroquímicos que el maíz), las especies de HMA tuvieron la mayor esporulación y diversidad de esporotipos viables, pues sólo el 18% del total de esporas estaba en estado de dormancia.

De lo antes indicado, se infieren las siguientes estrategias adaptativas: (1) las especies de HMA de suelos de cultivo, manejados orgánicamente, es decir, no tratados con agroquímicos (fertilizantes y/o pesticidas) con cultivos menos exigentes, cuyas raíces son más escasas, como es el caso del agroecosistema 1 cacahuete, se reduce su esporulación y el número de esporas viables, pero se incrementa el micelio externo probablemente, con dos finalidades: (a) sustituir el menor desarrollo radical con un aumento en la exploración de suelo para incrementar la absorción de nutrimentos y, (b) al ser suelos donde no se aplican agroquímicos, es decir, con menor impacto antrópico, las especies de HMA reducen la producción de clamidosporas; y (2) las especies de HMA de los suelos de cultivo con aplicación de agroquímicos, es decir, con un mayor impacto antrópico, su estrategia adaptativa, se encamina a una mayor producción de clamidosporas, que les asegure su permanencia, como es el caso de los agroecosistemas 2 y 3 (maíz y sorgo) respectivamente.

A principios de la floración, no se observaron diferencias significativas, tanto en la población de esporotipos, como en la capacidad micorrízica, en los tres agroecosistemas. Sin embargo, a finales de la floración, (tabla 17 del apéndice) se encontraron diferencias estadísticamente significativas tanto en el aspecto cualitativo como cuantitativo, lo que, probablemente, indica que una vez asegurada su descendencia, por medio de una determinada población de esporas viables, el ritmo del desarrollo cambia, significativamente, particularmente en la dinámica de la producción de esporas viables. Este cambio permitió diferenciar las poblaciones de los tres agroecosistemas, a finales de la floración del hospedero, correspondiente a la parte final de la fase meseta del desarrollo micorrízico. Además, en esta etapa, desde el punto de vista cualitativo, se notó la abundancia de ciertos esporotipos, dentro de la biodiversidad de HMA, en cada uno de los agroecosistemas, observándose la predominancia de 3 esporotipos en el agroecosistema 1, y de 5 y 6 en los agroecosistemas 2 y 3, respectivamente. El género *Glomus* resultó ser el predominante en los tres agroecosistemas y, en menor grado, el género *Acaulospora*. Estas observaciones coinciden con las de Mosse y Bowen (1968); Herrera y Ferrer (1980), pues estos autores mencionan que, en muchos de los suelos de cultivo observados, se ha encontrado la predominancia de 1 o 2 tipos de esporas y, como máximo 5. Igualmente, en suelos agrícolas colectados por Hayman (1982) se encontró, en el 74% de las muestras, un tipo de espora, en el 20% dos tipos, y en el 6% tres tipos. Por otra parte, Sutton y Barron (1971), en un estudio de la dinámica de la población de esporas de hongos A., en 4 cultivos de Ontario, Canada, muestreados en diferentes meses, en los monocultivos (maíz, trigo, fresa y tomate) cuya maleza había sido controlada rigurosamente y el suelo alterado al mínimo durante siete años, encontraron de 20 a 70 esporas por gramo de suelo, en los meses de Junio, Agosto y Octubre, siendo muy similar el número de esporas

en los 4 cultivos. En ese tiempo, el número medio de esporas por gramo de suelo seco fluctuó desde valores bajos como 38 hasta 52 para suelos con tomate y trigo, a valores altos como 70 y 86 para maíz y fresa. El número de esporas colectadas de los 4 cultivos fluctuaron en las diferentes estaciones del año. El número de las esporas colectadas en Junio y Agosto fueron similares, pero en octubre se encontró casi el doble. En Abril se encontraron menos esporas que en Octubre, en el suelo de trigo y tomate pero, en el suelo de maíz, las cantidades fueron similares, y en el suelo de fresa se encontraron más esporas en Abril que en Octubre. Las esporas que ellos encontraron las separaron en 10 escalas de tamaño; ( 50, 50-74, 75-99, 100-124, 125-149, 150-174, 175-177, 175-199 y 200-300), y las caracterizaron como de amarillas a pardo oscuro; las esporas pardo-amarillas y pardo doradas predominaron. Las esporas pardo doradas fueron, generalmente, más abundantes que las esporas pardo-amarillas en los cuatro suelos. Estos mismos autores encontraron 17 esporas de 50-74 micrómetros; 39 de 75-99; 14 de 100-124; 5 de 125-149; 7 de 150-174; 8 de 175-199; y 10 de 200-300. Estos resultados coinciden con los obtenidos en este trabajo en lo siguiente: (a) el número de esporas encontrados por gramo de suelo; (b) los autores antes indicados encontraron una gran similitud entre los esporotipos de estos cuatro cultivos; en relación a los HMA de este trabajo la similitud fué en los dos cultivos de gramíneas solamente; (c) en ambos trabajos el cultivo de maíz es el que produce más esporas; (d) se coincide en cuanto a la estacionalidad o sucesión y en la producción de esporotipos; (e) en las escalas de tamaños de los esporotipos; y (f) en la predominancia de las esporas pardo-amarillas y pardo doradas. No obstante, se difiere, con estos autores, en que: (a) con excepción del agroecosistema 1 (cacahuete) de este trabajo, fueron más abundantes las pardo amarillas que las pardo doradas, y (b) en que los esporocarpos y los esporotipos de más de 150 micrómetros son los últimos en formarse. Por lo tanto, se puede establecer la hipótesis de que suelos de origen y propiedades similares con cultivos diferentes pero con un laboreo agrícola mínimo contienen esporotipos similares. Sin embargo, en suelos con un laboreo y uso de agroquímicos intensos la población de hongos difiere, aunque sin perderse la sucesión. No obstante, parece haber en ciertos HMA, cierto grado de adaptados a suelos con aplicaciones fuertes de agroquímicos como por ejemplo las pardo amarillas, reconocidas como del género *Glomus*.

Abbott y Robson (1977) encuentran diferencias muy notables en el número de esporas entre suelos virgenes, de pastizal y de cultivo, en tres localidades en el Oeste de Australia; encontrando mucho más esporas en los suelos cultivados, por ejemplo, 137, contra 0 y 3 de los virgenes y de pastizal, respectivamente, con un mínimo de 14 y un máximo de 98 esporas por 50 g de suelo. Estos autores encontraron, en general, cinco tipos de esporas en las áreas de cultivo, las cuales fueron clasificadas como Honey-coloured sessile, Bulbous-based, Crenulate, Yellow vacuolate y White reticulate. La Honey-coloured sessile, se encontró en un 85% de todas las muestras colectadas; la Yellow vacuolate, fue el segundo tipo más común pero con un porcentaje menor en las áreas de cultivo. La mayoría de las muestras contenían más de 2 esporotipos, por ejemplo, el 35% de las muestras de la localidad de Narrogin contenían entre 3 y 4 tipos diferentes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en este

trabajo en: (1) los suelos cultivados, con aplicación de agroquímicos, producen un mayor número de esporas; (2) en el número de esporotipos encontrados en los suelos de cultivo y (3) en el hecho de que, el agroecosistema 1 (cacahuete) sin agroquímicos, coincide con la presencia del esporotipo Honey-coloured sessile, presentes en los suelos vírgenes y de pastizal sin fertilización, o con mínima fertilización, según estos autores, respectivamente. Es decir, tanto en este trabajo como en el de Abbot y Robson (1977), este esporotipo se relaciona con edafocistemas de bajo o nulo impacto antrópico. Sin embargo, las diferencias con respecto a estos autores radican en que el esporotipo más abundante en los suelos con agroquímicos fué el Yellow Vacuolate. Sobre este mismo aspecto, Hayman y Stovold (1979) encontraron, en 73 muestras de suelo de diferentes partes de New South Wales, una amplia escala de diferencias de un sitio a otro (de 2 a 1952 esporas por 100 g de suelo seco), y una considerable variación entre los mismos cultivos en diferentes sitios (de 47 a 464 esporas por 100 g de suelo seco). En general, estos autores, encontraron mucho más esporas en los agroecosistemas que en los ecosistemas vírgenes, detectando 8 especies de hongos V.A., de los cuales *Acaulospora laevis* y *Glomus mosseae* fueron las más comunes; sin embargo, las esporas pequeñas de *Glomus fasciculatus* y *Glomus microcarpus* fueron, también, un grupo frecuente; y las de *Gigaspora* spp. fueron muy raras. Generalmente, estos autores encontraron más de 2 especies en cada sitio. Los resultados obtenidos por estos autores coinciden con los de este trabajo en: (1) en los agroecosistemas la producción de esporas es mayor; (2) el número de esporotipos encontrados es semejante; (3) los esporotipos más comunes, en ambos trabajos, fueron *Acaulospora* y *Glomus*; (4) el esporotipo menos frecuentes, en ambos trabajos fué *Gigaspora*; y, finalmente, (5) la variación en el número de esporas de un cultivo a otro. En este trabajo, esta variación se detectó entre el cultivo de cacahuete (leguminosa) y los de maíz y sorgo (gramíneas). En apoyo a lo anterior, Schenck y Kinloch (1980) encontraron 13 especies de hongos micorrízicos A. en 6 monocultivos, a través de 7 años, en el área clareada de un bosque, al noroeste de Florida, donde el cultivo del sorgo presentó 4 géneros y 12 especies; el de maíz 3 géneros y 11 especies; el de cacahuete, 3 géneros y 10 especies; el de soya, tuvo 3 géneros y 8 especies y, finalmente, el del algodón 4 géneros y 10 especies. Al comparar los ecosistemas vírgenes y los agroecosistemas se encontró que el número de esporas, en éstos últimos, es significativamente mayor. Sobresaliendo el cultivo de soya, por el número de esporas donde, además, los esporotipos de *Gigaspora margarita*, *G. gregaria* y *G. gigantea*, fueron más numerosos. *Glomus fasciculatus* y *Gl. clarus* fueron más numerosos en el suelo con Bahía grass, y *Acaulospora* spp. fue más abundante en suelos de algodón y cacahuete. Estos resultados coinciden con los de este trabajo en lo siguiente: (1) el cultivo con un mayor número de esporotipos fué el sorgo; (2) maíz y sorgo presentaron casi los mismos géneros; (3) *Acaulospora* se presenta, en ambos trabajos, en el cultivo de cacahuete. Sin embargo, las diferencias con estos autores estriban en que, en este trabajo, el género predominante fue *Glomus*, mientras que en el de estos autores fue *Gigaspora*. Resultados parecidos han sido publicados por Khan (1974); Kruckelmann (1974); Hayman (1974) y Jensen y Jakobsen

(1980).

Analizando, los resultados antes discutidos, podemos considerar que las interrelaciones dinámicas, entre diferentes endófitos arbusculares, desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo dentro de su ciclo biológico, han sido poco estudiadas. No obstante que estos estudios pueden contribuir al conocimiento sobre el desarrollo sucesional de los endófitos arbusculares en relación a sus hospederos, la densidad de población de los propagulos en el suelo, así como la producción y viabilidad de los esporotipos de HMA. Los estudios sobre la dinámica de las poblaciones de HMA y la interrelación con las plantas y los microorganismos, constituyen la base para el aislamiento, selección de endófitos y producción de inóculo. El equilibrio ecológico, fundamentado en el mantenimiento de las interrelaciones dinámicas de la población (HMA-plantas y microorganismos) permitirá mantener una agricultura sostenible. Al respecto Daft (1992) considera que el número de propágulos de hongos micorrízicos arbusculares varía de un hábitat a otro, y su variación puede estar relacionada con cambios tanto físicos como biológicos. Thompson (1987) indica que en los suelos fumigados o con aplicaciones agroquímicas puede reducirse marcadamente la población nativa de hongos micorrízicos arbusculares. Harinikumar y Bagyaraj (1989) demostraron que los diferentes cultivos alteran la producción de propágulos viables a través del tiempo. Además, no todas las especies micorrízicas arbusculares son igualmente efectivas para incrementar el crecimiento de las plantas (Palacios et al., 1986 y 1987, entre otros autores). Daft (1992) concluye que la selección de especies de HMA de cada habitat y, particularmente, de cada cultivo son necesarios para poder utilizarlos en los agroecosistemas. Este mismo autor hace resaltar que la competencia dentro de la flora micorrízica arbuscular puede ser de gran importancia. Lo anterior nos sugiere que más que la introducción de un endófito arbusculares en especial, se requiere mantener una población cuya dinámica esté acorde con el equilibrio ecológico de cada agroecosistema, con el propósito de mantener o recuperar una agricultura sostenible. Asimismo, es recomendable la aplicación de una labranza y fertilización química mínimas, como complemento de la fertilización orgánica y el control biológico de plagas.

## **2.7 Etapa 6. A 30 Días de Iniciada la Fructificación, Correspondiente a los 210 Días Después de la Emergencia del Hospedero, (*Chloris gayana*) o 190 Días Después de Iniciada la Colonización.**

### **2.7.1 Senectud.**

De la etapa 5, anterior (finales de la floración) a esta última etapa 6 (fructificación), se observó en los tres agroecosistemas (cacahuete, maíz y sorgo) un ascenso en la colonización de las raíces; de 51, 68 y 71 a 60, 79 y 89%, respectivamente, (Gráfica 53). De acuerdo a la prueba Tukey al 95 y 99% (Tabla 18 del apéndice), las tres poblaciones de HMA, fueron diferentes significativamente en el grado de infectividad o

colonización; observándose que los agroecosistemas 2 y 3 que habían sido muy similares durante la floración, resultaron diferentes en la fructificación. En el agroecosistema 3, el 90% del total de sus raíces se encontraban formando micorriza la mayoría saturadas por vesículas. En este agroecosistema se presentó un porcentaje de incremento en la infectividad de 50 y 13% con respecto a los agroecosistemas 1 y 2, respectivamente. Y, en el caso del agroecosistema 2, el incremento fue de 33% con respecto al 1. El comportamiento que se observó fue el siguiente: (a) los HMA, de cada agroecosistema, alcanzaron su máxima colonización con diferente grado de capacidad colonizadora a finales del ciclo biológico del hospedero (fructificación); (b) los HMA del agroecosistema 1 (cacahuete), alcanzaron su madurez a finales de la floración, ya que de la etapa anterior a ésta no hubo diferencias significativas en su colonización; (c) los HMA de los agroecosistemas 2 y 3, (maíz y sorgo) alcanzaron su madurez después de la floración, ya que de la etapa anterior a esta etapa hubo diferencias significativas, (Gráfica 53). Estos resultados indican que: (a) los hongos endomicorrízicos del suelo cultivado con sorgo tuvo más capacidad colonizadora y/o fueron más numerosos que los del cultivo de cacahuete y del maíz; (b) los HMA del agroecosistema de maíz fueron igualmente, tan capaces para colonizar como los del suelo del sorgo pero menos numerosos; (c) en el cultivo de cacahuete (leguminosa) los HMA son los menos numerosos, diferentes tanto en su distribución como en su capacidad colonizadora, en comparación a los del maíz y sorgo (gramíneas). Estas observaciones nos permiten inferir que el menor grado de impacto antrópico así como las diferentes exigencias nutricionales de los cultivos, menores en el cacahuete que en los de las gramíneas, dejó una huella en la población de HMA nativos, la cual se puede detectar en su densidad, eficiencia y biodiversidad. Sobre este aspecto, Abbott y Gasey, (1994) encontraron que los diferentes HMA difieren en el modo y extensión de la colonización en la raíz, y en su capacidad para la formación de propágulos. Este mismo autor hace notar que las hifas y la cantidad de esporas dentro de las raíces, tanto vivas como muertas, difieren de una especie a otra, así como dentro de una misma especie en diferentes habitats.

### 2.7.1.2 Ritmo de la colonización.

El ritmo de la colonización en los tres agroecosistemas de acuerdo con los datos obtenidos en el porcentaje de la colonización de la etapa 5 anterior (finales de la floración) a esta etapa 6 (fructificación) muestra claramente un ascenso (de 6, 9 y 16 a 9, 11 y 18% en los agroecosistemas 1, 2 y 3 respectivamente; Gráfica 54). Este ascenso equivale a 1.2, 1.2 y 1.5 veces mayor el crecimiento volumétrico del micelio intramatricial en la etapa de fructificación que durante la floración (Gráfica 54). Estos datos permiten considerar lo siguiente: (a) la "huella antrópica", es decir el impacto que dejó cada cultivo y su manejo y su manejo en la población de HMA significó un mayor grado de colonización en los agroecosistemas 2 y 3, con respecto al 1; (b) los HMA de suelos con mayor impacto por agroquímicos presentó una mayor

afinidad al hospedero *Chloris gayana*, gramínea; (c) el ritmo de la colonización, con base al porcentaje de éste, permitió observar que las tres poblaciones de HMA responden al metabolismo del hospedero de igual manera pero con diferente ritmo, a través de su desarrollo, madurez y senectud; (d) a pesar de que los ritmos de la colonización son diferentes, significativamente, el crecimiento neto volumétrico del micelio intramatricial de la etapa 5 anterior (finales de la floración) a esta etapa 6 (fructificación) con 1.2, 1.2 y 1.5 en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, no hubo diferencias significativas lo que indica que: (1) durante la fructificación del hospedero, el fuerte incremento de la colonización fue el reflejo de la madurez de la micorriza y no de una mayor colonización; (2) al final del ciclo biológico del hospedero, el micelio intramatricial experimentó un cambio en su crecimiento que se reflejó en forma de pico en el ritmo de la colonización que, finalmente, indicó el final del ciclo biológico de los HMA. Estos resultados coinciden con lo mencionado por Bethlenfalvay (1982 b) ya que este autor encontró que: (a) al final de la cosecha la biomasa fúngica interna de la MA fue casi cinco veces mayor que la del componente extramatricial; (b) la biomasa fúngica como un porcentaje de la micorriza alcanzó su máximo después de la floración; y finalmente (c) la floración y la esporulación coinciden.

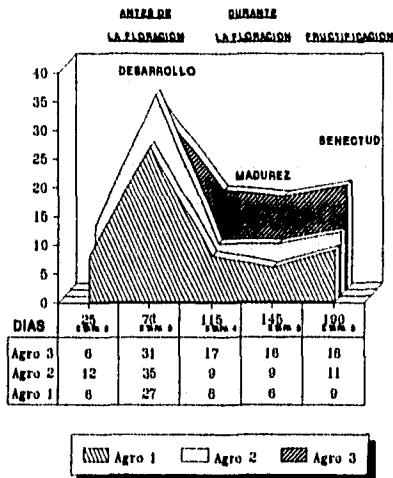
Al correlacionar el porcentaje de colonización y el ritmo de la misma; el primero indica poblaciones de HMA significativamente diferentes, y el segundo poblaciones de HMA que responden de igual manera a los cambios metabólicos del hospedero, pero con ritmos diferentes y frecuencias iguales, de manera significativa, que conducen a considerar la existencia de una relación ecofisiológica entre las tres poblaciones de hongos.

### **2.7.1.3 Ritmo del porcentaje de incremento de la colonización.**

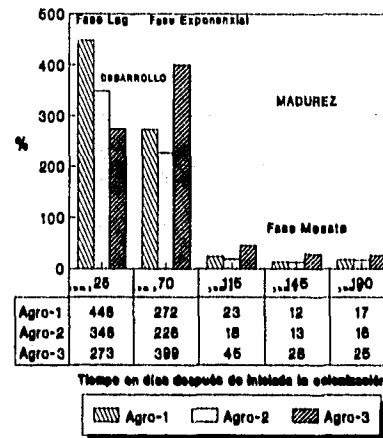
El ritmo del incremento de la etapa 5 (finales de la floración) de 12, 13 y 28% a esta última etapa 6 (fructificación) de 17, 16 y 25% (Gráfica 55), indica que la tasa de crecimiento fue de 1.4, 1.2 y 0.89%, es decir, un incremento nulo al final de la fructificación. Por lo que, desde el punto de vista cuantitativo (estadístico y aritmético) no hubo diferencias significativas en el ritmo de incremento entre las poblaciones de HMA de cada agroecosistema, al final de la fructificación. No obstante, la población de HMA de c/agroecosistema, alcanzó niveles significativamente diferentes en la colonización (60, 80 y 90%) en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente. Esto indica que el crecimiento intramatricial se suspende, aproximadamente, durante la fructificación del hospedero (Gráficas 53, 54 y 55, y Figuras 79 y 80).

Por otra parte se observa un ascenso en el ritmo de la colonización equivalente al ascenso de la etapa 3 (Gráfica 54). Donde

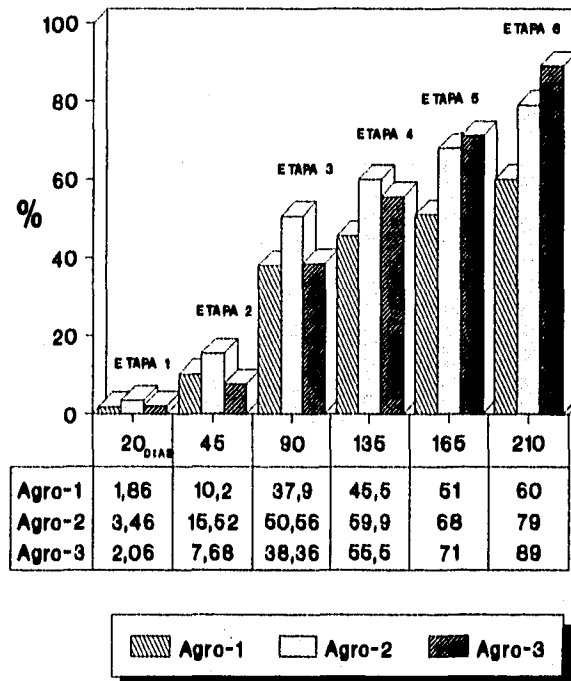




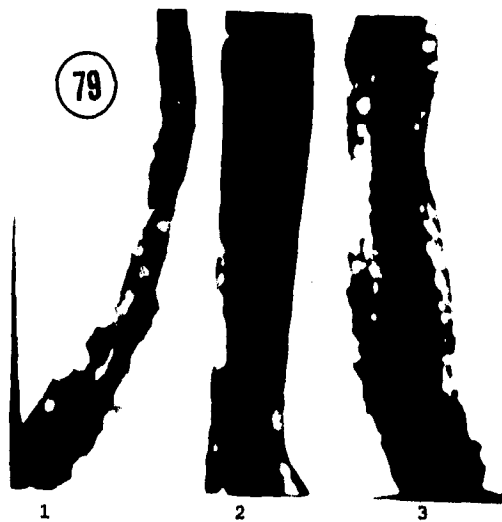
Gráfica 54. Ritmo de la colonización a los 100 días después de iniciada la colonización.



Gráfica 55. Ritmo de incremento de la colonización a los 100 días después de iniciada la colonización.



Gráfica 53. Colonización alcanzada a los 210 días después de la emergencia del huésped



**Figura 79.** Raíces de pasto *Chloris gayana* "Rhodes grass" colonizadas por los hongos micorrízicos arbusculares de los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, durante la fructificación del hospedero. (Fotomicrografía óptica 120 X).



**Figura 80.** Colonización producida por los HMA del agroecosistema 3 (sorgo) en "Rhodes grass" al final de su ciclo biológico, donde sobresale la saturación de la raíces con vesículas. (Fotomicrografía óptica 180 X).

los HMA alcanzaron su máximo desarrollo, al mismo tiempo que el hospedero estaba a punto de florecer (cambio metabólico). En esta última etapa 6, (fructificación) se observó que las raíces ya colonizadas (en 60, 80 y 90%), experimentaron un crecimiento volumétrico que propició la saturación con vesículas, (Figuras 79 y 80). Este hecho, probablemente, sea el indicador de una estrategia adaptativa de las

especies de HMA en estos suelos, donde el efecto perturbador del laboreo (barbecho, rastras, surcado etc.) y de la aplicación de agroquímicos, efectuados antes y durante el cultivo, tiende a ser contrareestado por los hongos con una producción elevada de propágulos (esporas). Al respecto, Bowen (1978); Azcón y Barea (1980) y Sieverding (1991) mencionan que el máximo grado de colonización, se alcanza a finales del ciclo biológico del hospedero. Siqueira et al. (1984); (1985) y (1986), sugieren que las plantas llevan el control de la colonización micorrízica a través del metabolismo de los carbohidratos, (Harley y Smith, 1983; y Bethlenfalvay, 1982 b).

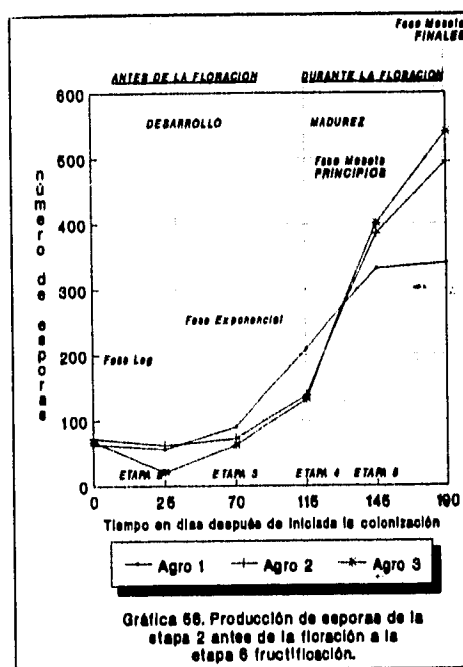
Sobre la infectividad, efectividad y especificidad, Hayman (1981 y 1982); Palacios et al. (1986) y (1987) y Sieverding (1991) mencionan que los hongos MA tienen diferentes grados de capacidad colonizadora y efectividad. Por otra parte, Hayman (1971) indica que suelos similares con cultivos diferentes presentan endófitos arbusculares distintos. Este mismo autor, en 1982, considera que hay una especificidad de los HMA por los hospederos. Gianinazzi (1982) manifiesta que la composición de las especies, así como la magnitud de la población de los hongos M.A., puede cambiar de acuerdo al tipo de cultivo, rotación y fertilización. Asimismo, Hayman (1971); Sieverding (1991); y Howeler et al. (1987) consideran que las prácticas agronómicas como: la fertilización, rotación de cultivos, intercultivos y aplicaciones de pesticidas, afecta tanto a las poblaciones, como al número de especies. Anderson y Liberta, 1987 indican que es posible que existan diferentes relaciones micorrízicas dependiendo de la estructura del sistema de la raíz, por ejemplo, las especies fibrosas y las no fibrosas o típicas.

En relación a la colonización en esta etapa (210 días después de la emergencia), Sutton (1973) observó que la colonización de HMA alcanzó el mayor grado de colonización con 60% en frijol y 70% en la Soya, a los 90 días. En este caso, hay cierta coincidencia con los niveles de colonización detectados en cacahuete en este trabajo (60-79%). Asimismo Bethlenfalvay, Pacovsky, Brown y Fuller (1982) encontraron, a las 20 semanas (140 días) que *Glomus fasciculatum* alcanzó su máxima colonización (70%) en Soya. Otros autores, como Simpson y Daft (1990), encontraron, la máxima colonización de *Glomus clarum* a los 147 días en Maíz-Earlibelle y Maíz-Drocan P01 con 70 y 68%, respectivamente, y a los 168 días en Sorghum-CSH5, el 55%. En este trabajo, se pudo constatar que, entre las leguminosas (cacahuete) y las gramíneas (maíz y sorgo), es posible encontrar diferencias significativas en el patrón del desarrollo micorrízico, que se pueden relacionar no solamente con el tipo de raíz y afinidad de los endófitos por las plantas sino, además, con el metabolismo, exigencias nutricionales y manejo del cultivo. Estos factores son, probablemente, los que pueden influir en el grado de colonización, más que el tiempo. No obstante, existe congruencia entre los resultados de estos autores y los obtenidos en este trabajo, particularmente en el grado de colonización.

## 2.7.2 Número de esporas.

En ésta etapa (6) (fructificación) se encontraron poblaciones de

esporas de 340, 495 y 540 por cada 5 g de suelo seco en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (gráfica 56). De acuerdo a la prueba Tukey al 95 y 99% (tabla 19 del apéndice) la producción de esporas, en los tres agroecosistemas, fue estadísticamente diferente y de manera muy significativa. Los endófitos arbusculares del agroecosistema 3, presentaron un porcentaje de incremento de 59 y 9% con respecto a los agroecosistemas 1 y 2, respectivamente. Asimismo, el agroecosistema 2 tuvo 46% de incremento con respecto al 1 el cual, prácticamente, terminó su esporulación en la etapa anterior, como se observa en las gráficas 56, 57, 58 y 59. Al correlacionar el grado de colonización con la producción de esporas, observamos dos tendencias:



Gráfica 56. Producción de esporas de la etapa 2 antes de la floración a la etapa 6 fructificación.

(a) en las etapas 2, 3 correspondientes al periodo previo a la floración y la 4 a principios de la misma los HMA de los agroecosistemas, con un menor grado de colonización, presentaron un mayor número de esporas; y (b) de finales de la floración a principios de la fructificación, la dinámica del desarrollo cambió observándose que, a un menor grado de colonización, correspondió un menor número de esporas, y a una mayor colonización un mayor número de esporas, (Gráficas 53 y 56; y Tablas 18 y 19 del apéndice).

### 2.7.2.1 Ritmo de la producción de esporas.

El ritmo de la esporulación, de la etapa 5 anterior (finales de la floración) de 123, 247, y 268, desciende en esta etapa (6)

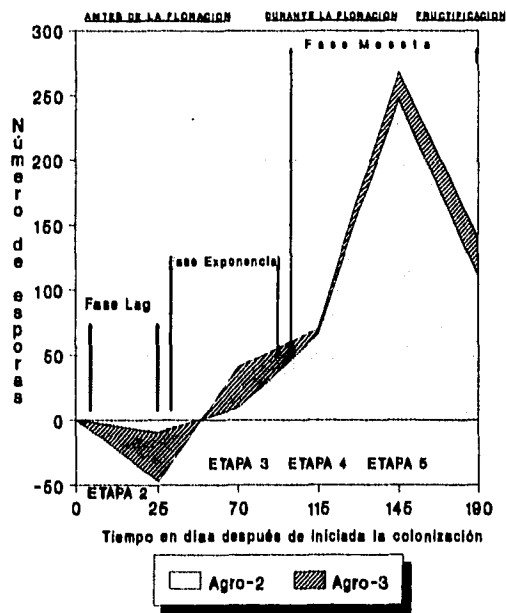
(fructificación) a 8, 110 y 140 esporas, por cada 5 g de suelo seco, en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente (Gráficas 57 y 58). Este claro y fuerte descenso, indica el inicio de la declinación de la producción de esporas, de tal modo que los HMA de los agroecosistemas 1, 2 y 3, presentaron 15, 2.2 y 1.9 veces menos esporulación, respectivamente, que en la etapa 5. Esto significa que la esporulación llegó casi a su término, debido a que el hospedero se encontraba, también, al final de su ciclo biológico.

### **2.7.2.3 Ritmo del porcentaje de incremento de la producción de esporas.**

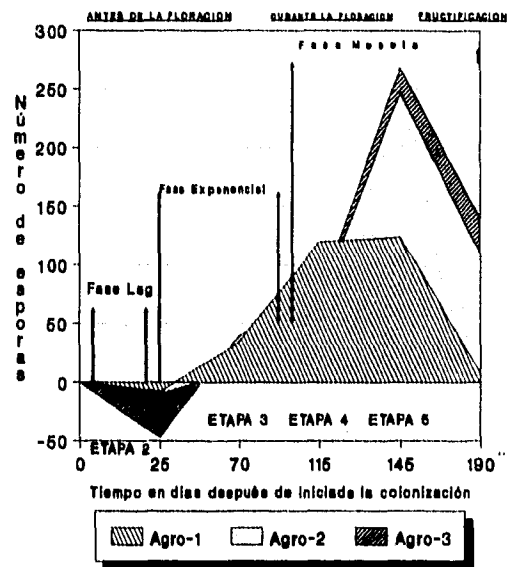
Como se mostró en el análisis de la variable anterior, el ritmo de incremento de la etapa 5 anterior (finales de la floración) de 59, 178 y 203 comparando con el de esta última etapa 6 (fructificación) de 2.4, 28 y 35% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, muestra un claro descenso lo que, nuevamente, corrobora el final de la esporulación en los 3 agroecosistemas (Gráfica 59). En las gráficas 57, 58 y 59 se puede observar que en los tres agroecosistemas, la campana de Gauss indica el final del ciclo biológico de los HMA (Figura 79).

### **2.7.3 Algunos aspectos morfológicos de los esporotipos.**

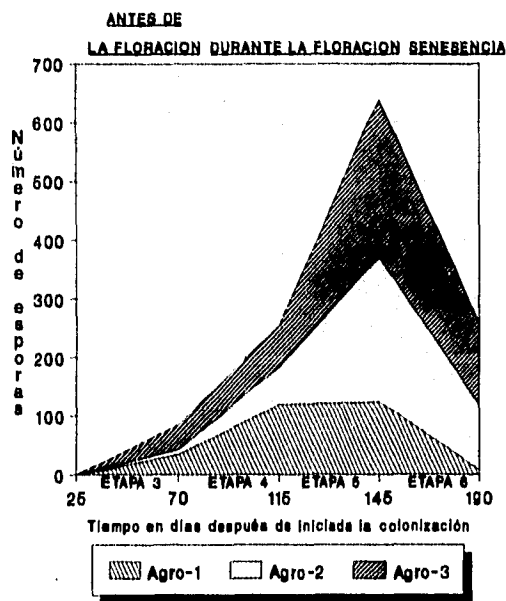
En el agroecosistema 1 (cacahuete) se pudo distinguir un total de 4 esporotipos, de los cuales, los 3 más frecuentes o dominantes, mostraron las características siguientes: (a) esporas de color pardo rojizo, de 270 micrómetros de diámetro, sin hifa de unión, (Figura 81); (b) esporas de color pardo oscuro, de 150 a 180 micrómetros de diámetro con uniones rectas y curvas, acompañadas por hifas gruesas y tabicadas de 30 micrómetros de diámetro (Figura 82); (c) esporas de color amarillo o ambar, con diámetros de 100 a 115 micrómetros, agrupadas en esporocarpos en forma de racimos, fácilmente separables, constituidos por hifas delgadas (de 10 micrómetros de diámetro), mezcladas con materia orgánica, limo y arcilla (Figura 83). Estos esporotipos constituían el 35, 25 y 20 % de la población total; el 20% restante correspondió a los descritos anteriormente. En el agroecosistema 2 (Maíz) se diferenciaron 7 esporotipos de los cuales, los 4 más frecuentes o dominantes, mostraron las siguientes características: (a) esporas grandes, de 250 a 300 micrómetros de diámetro, de color pardo oscuro, contenidas, en número de 2 a 4, en esporocarpos de 600 a 1000 micrómetros de diámetro, formados por hifas gruesas, tabicadas, muy fuertemente unidas (Figura 84); (b) esporas de color amarillo o pardo muy claro, sin hifa suspensora, con diámetros de 150 a 170 micrómetros (Figura 85); (c) esporas de color ambar muy vacuoladas, de 150 a 170 micrómetros de diámetro, con hifa



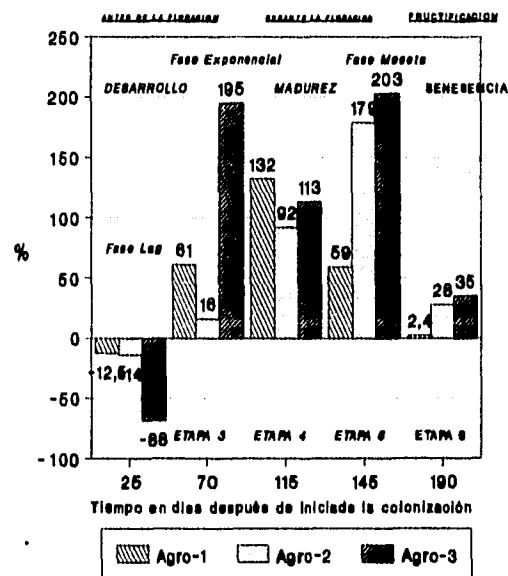
Gráfica 56. Ritmo en la producción de esporas durante la floración y fructificación del huésped.



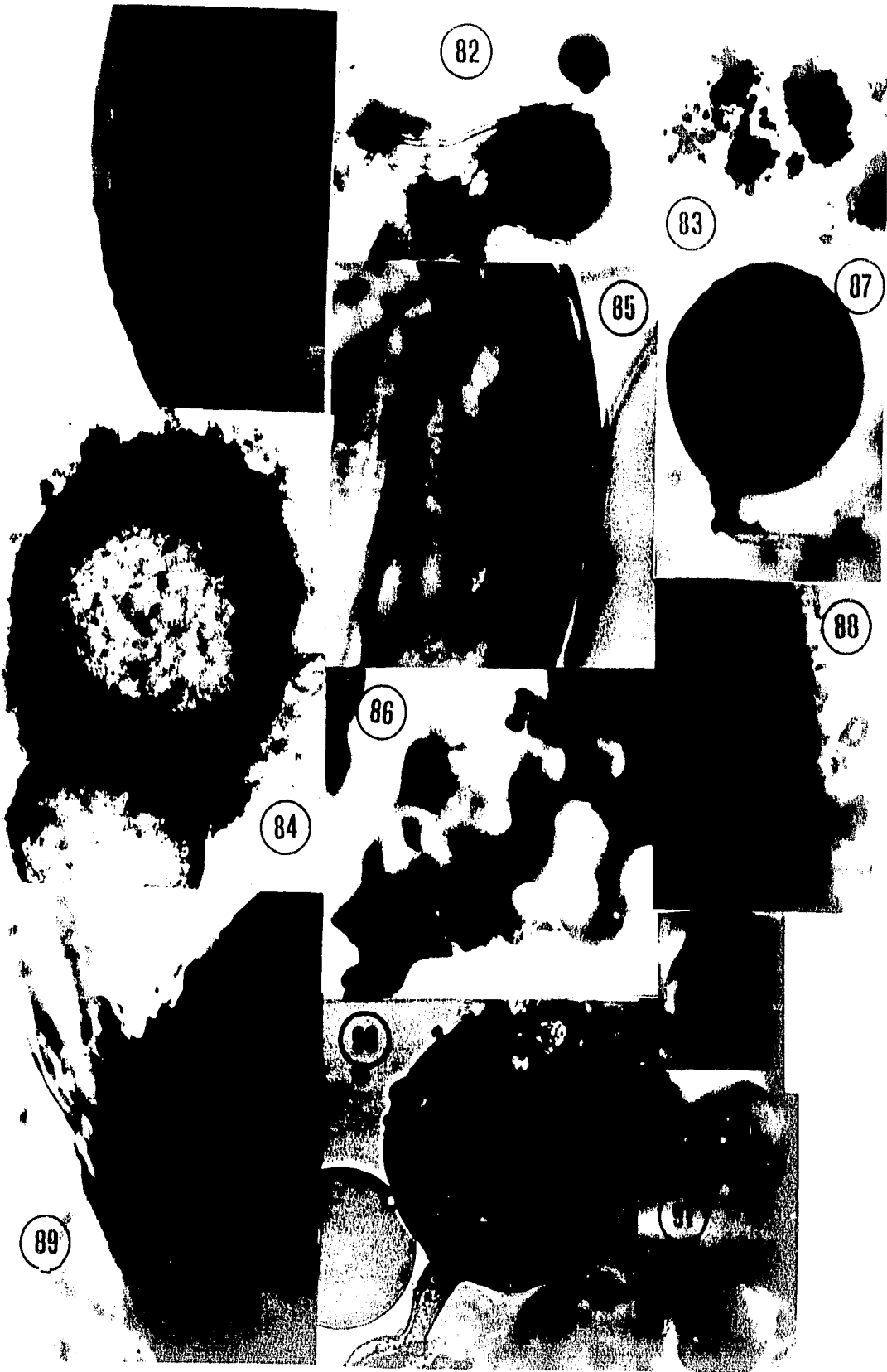
Gráfica 57. Ritmo en la producción de esporas de la etapa 5 finales de la floración a la etapa 6 fructificación.



Gráfica 58. Ritmo en la producción de esporas durante la floración y fructificación del huésped.



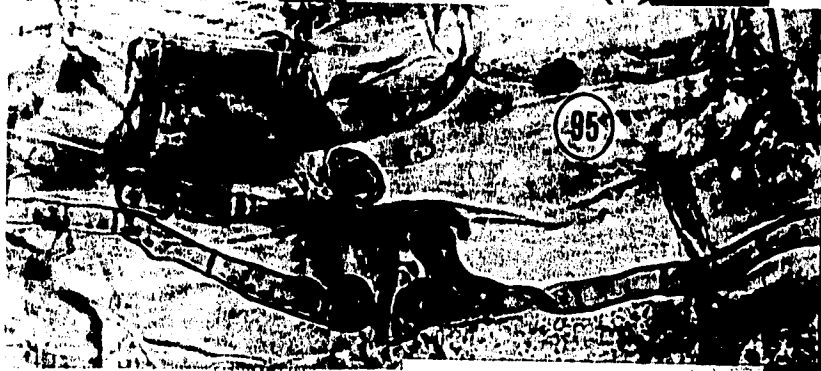
Gráfica 59. Ritmo del incremento de la prod. de esp. de la etapa 5 finales de la floración a la etapa 6 fructificación.



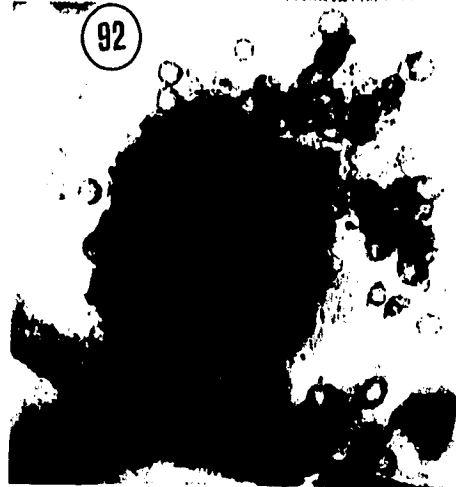
93



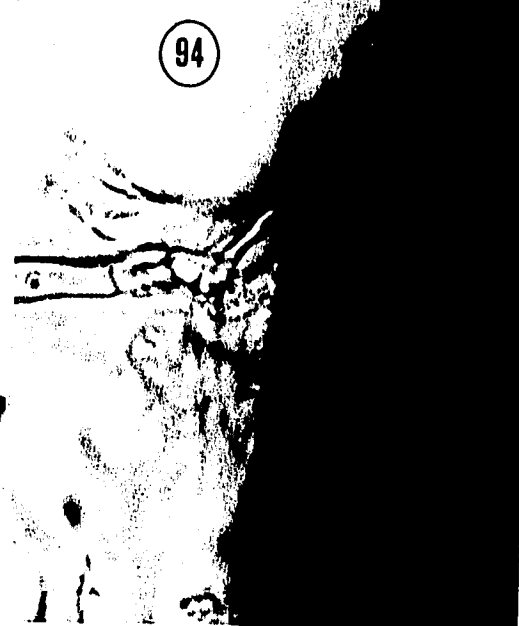
95



92



94



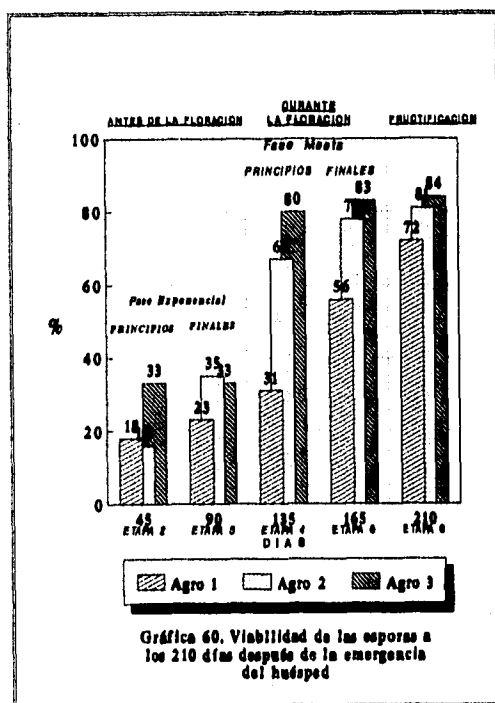


300, 180, y 100 X, respectivamente). Figura 84. Hifas que sujetan o unen al esporocarpio, muy gruesas y sin tabiques. Figura 85. Se observan las diferentes capas de la pared, la externa hialina o translúcida. Figura 86. Se hace notar el vacuolado y la unión de la hifa sujetadora recta. Figura 87. Observe las características de la hifa sujetadora. Las figuras anteriores pertenecen al agroecosistema 2. (Fotomicrografías ópticas 150, 280, 150, y 200 X, respectivamente). Figura 88. Se muestran las capas internas membranosas, dos externas gruesas y una exterior pelucida. Figura 89. Se observan las características de la pared y de la hifa sujetadora. Figura 90. Notar el grosor de la pared y las características de la hifa sujetadora. Figura 91. Se muestra el contenido vacuolar, el cual es muy semejante al que aparece en la fig. 86 del agroecosistema 2. Estas figuras pertenecen al agroecosistema 3. (Fotomicrografías ópticas 300, 300, 200, y 180 X). Figura 92. Esporocarpio de los agroecosistemas 2 y 3. Se observa la ornamentación de la superficie de las esporas. (Fotomicrografía óptica, 150 X). Figura 93. Observe el recubrimiento de los esporocarpos constituido, probablemente, por residuos orgánicos del suelo. Figura 94. Se observa la envoltura, constituida por hifas gruesas y tabicadas, y las características de la pared. Figura 95. Características del micelio interno a finales del ciclo biológico. Se muestra la tabicación del micelio interno así como el contenido vacuolar. Estos pertenecen al agroecosistema 3. (Fotomicrografías ópticas 150, 300, y 300 X, respectivamente).

suspensora gruesa de 30 micrómetros de diámetro con la unión recta (Figura 86); y (d) esporas de color pardo oscuro de 120 a 150 micrómetros de diámetro, la unión hifal recuerda a *Glomus sp.*, (Figura 87). Estos esporotipos constituían, aproximadamente, el 27, 20, 18 y 15%, respectivamente; el 20% restante de la población estuvo formado por los 3 esporotipos ya antes mencionados, los cuales se encuentran en proporciones poco más o menos iguales, ya que constituyeron entre el 6 y 7% de la población total. Finalmente, en el agroecosistema 3 (sorgo) se encontraron 8 esporotipos, de los cuales los 4 más frecuentes o dominantes tuvieron las siguientes características: (a) esporas de color pardo, de 150 a 170 micrómetros de diámetro, con una pared gruesa que parece dividirse en dos, con varias capas internas delgadas, sin unión hifal aparente (Figura 88); (b) esporas de color de amarillo a pardo claro, de 130-150 micrómetros de diámetro, con una pared de 25 micrómetros de grosor, la unión hifal de tipo curva (Figura 89); (c) esporas de color pardo claro a pardo rojizo claro, con diámetros de 120 a 130 micrómetros, la unión hifal recta y con un tabique que las separa de la base (Figura 90); y (d) esporas de color ambar, vacuoladas, con diámetros de 140 a 150 micrómetros (Figura 91). Estos esporotipos constituían el 15, 18, 20 y 25% de la población total; el material restante ya fue descrito anteriormente y cada uno constituyó entre el 5 y 7%. De los 19 esporotipos encontrados, de 4 a 5 se repiten en los agroecosistemas 2 y 3. Además, se observaron algunas estructuras no definidas que constituyen entre el 3 y 5% de la población total de propágulos y que, probablemente, se trata de esporocarpos de HMA (Figuras 92 y 93). En los tres agroecosistemas se encontró un total de 14 esporotipos diferentes de los cuales, tentativamente, se han indentificado como los dominantes los siguientes: en el agroecosistema 1 (cacahuete) *Acaulospora sp.* y *Glomus etunicatum*; en el agroecosistema 2 (maíz) *Glomus mosseae*, *Glomus albidum* y *Glomus glomerulatum*; y en el agroecosistema 3 (sorgo) *Glomus mosseae*, *Glomus agregatum* y *Glomus albidum*. La identificación se corroborará con los resultados obtenidos en los cultivos monospóricos. Es importante hacer notar la similitud morfológica tanto de las hifas intrarradicales como de las que envuelven a un esporocarpio (Figuras 94 y 95).

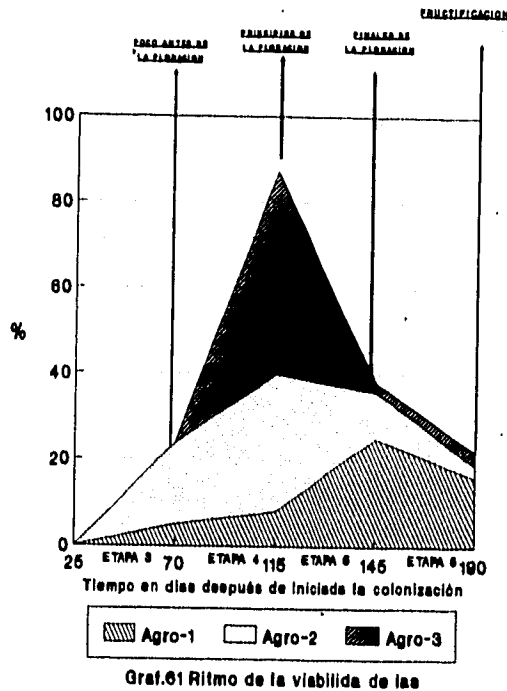
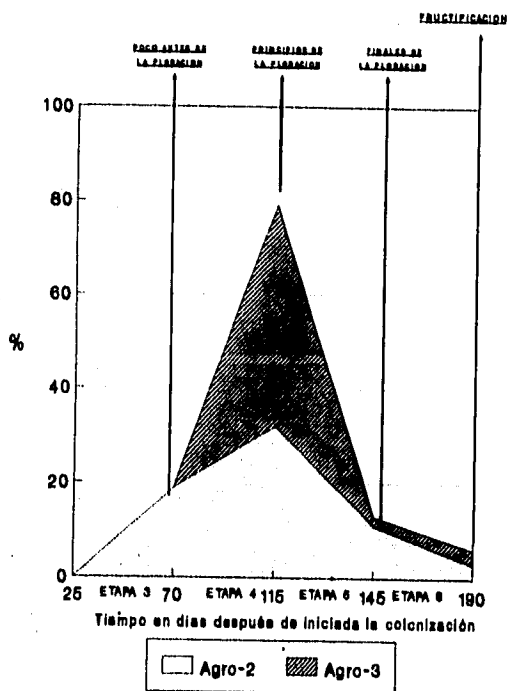
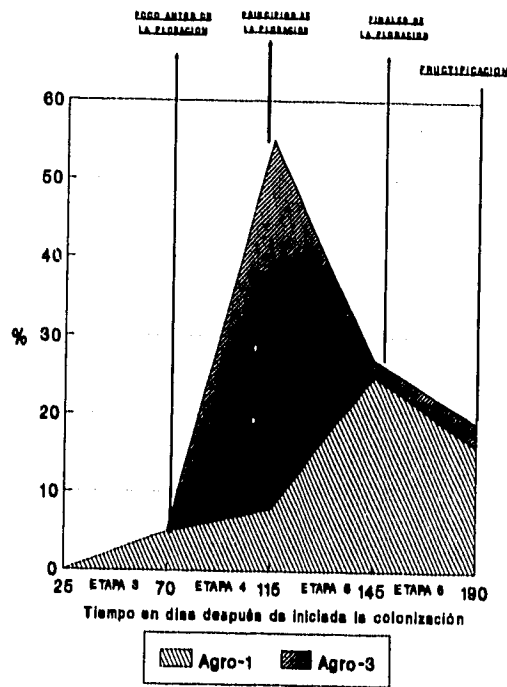
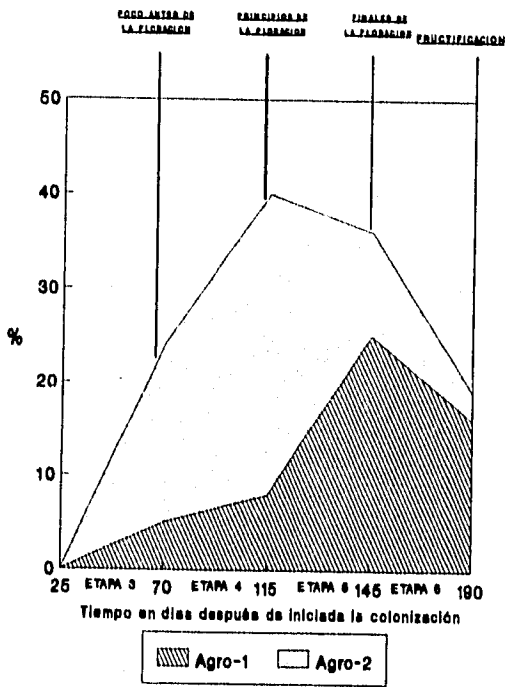
### 2.7.4 Porcentaje de viabilidad de las esporas.

Los porcentajes de viabilidad, de la etapa 5, anterior de 56, 78 y 82 en comparación con los de esta etapa 72, 81 y 84% en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (gráfica 60); indican porcentajes de incremento de 29, 4 y 2%, respectivamente. La prueba Tukey al 95 y 99% (Tabla 20 del apéndice) muestra que los agroecosistemas 2 y 3, son iguales pero diferentes al 1, de manera muy significativa.

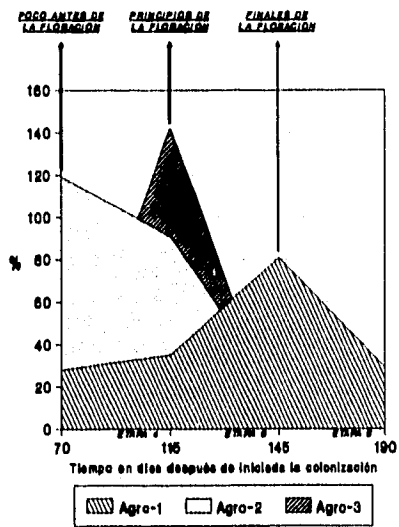


#### 2.7.4.1 Ritmo de la viabilidad de las esporas.

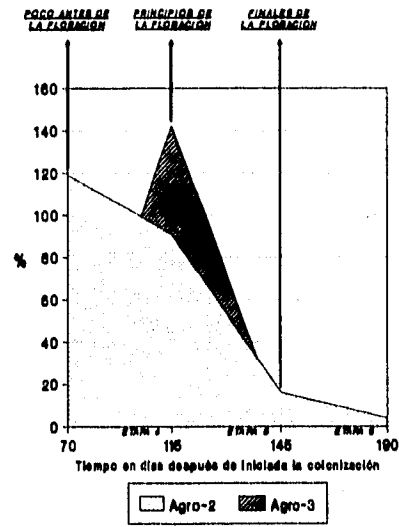
Los ritmos obtenidos en los agroecosistemas 1, 2 y 3, de la etapa 4 a la 5 (finales de la floración) de 25, 11 y 2% respectivamente, y los de esta etapa 6 (a los 30 días de fructificación) de 16, 3 y 3, indican que el ritmo de la viabilidad descendió 1.6, 3.6 y 1.5 veces de finales de la floración a la fructificación, en los tres agroecosistemas, respectivamente (Gráfica 61). Los agroecosistemas 1 y 3, presentaron la misma velocidad en la madurez de sus esporotipos pero con ritmos muy diferentes, ya que el ritmo del agroecosistema 1 es 5.3 veces mayor que el del agroecosistema 3. Los agroecosistemas 2 y 3, en esta última etapa, presentaron el mismo ritmo (3) notándose que la velocidad a la que maduraron las esporas las del suelo de sorgo, fue la mitad de la correspondiente al agroecosistema 2 (maíz). Sin embargo, en relación al ritmo de la viabilidad de las esporas, en los



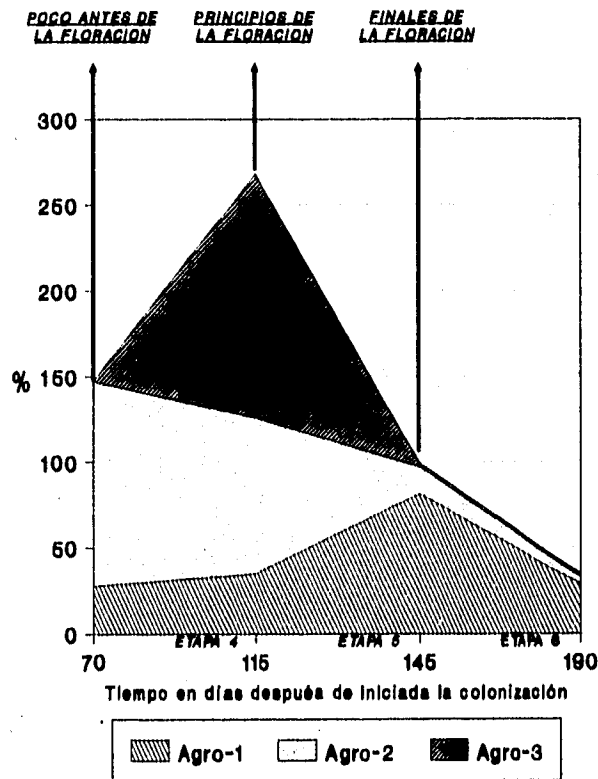
Graf.61 Ritmo de la viabilidad de las esporas de la etapa 2 a la 6, antes de la floración a la fructificación.



Gráfica 62. Ritmo de incremento en la viabilidad de las esporas de la etapa 3 a la 6.



Gráfica 62. Ritmo de incremento en la viabilidad de las esporas de la etapa 3 a la 6.



Gráfica 62 Ritmo de incremento de la viabilidad de las esporas de poco antes de la floración a la fructificación.

tres agroecosistemas, la población de HMA respondió de igual manera al metabolismo del hospedero, apreciándose marcado descenso que indica el final del ciclo biológico y la madurez de las esporas (gráfica 61).

#### 2.7.4.2 Ritmo del porcentaje de incremento.

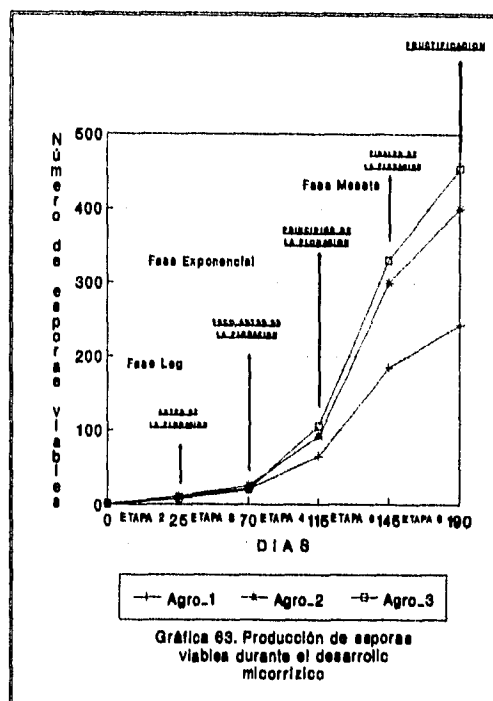
El ritmo de incremento de la viabilidad, en esta última etapa 6, en los agroecosistemas 1, 2 y 3 con 29, 4 y 2% respectivamente, en comparación con el ritmo de la etapa 5 anterior con 81, 16 y 2, el ritmo de incremento se reduce en 3, 4 y 0 veces, respectivamente, a finales de la fructificación. Esto significa que el agroecosistema 3 (sorgo) ya no tuvo incremento y los agroecosistemas 1 y 2 (cacahuate y maíz), con ritmos significativamente muy diferentes en las etapas anterior, en esta etapa obtienen la misma reducción de incremento (3 y 4; respectivamente). Estos descensos marcan claramente el final del ciclo biológico de los HMA, (gráfica 62).

#### 2.7.5 Producción de esporas viables.

El número total de esporas viables encontradas en esta última etapa 6 (fructificación) en los agroecosistemas 1, 2 y 3 fué de 243, 400 y 454 esporas por 5 g de suelo seco, respectivamente (Gráfica 63). La prueba Tukey al 95 y 99% (tablas 21 y 22), al primer nivel de confiabilidad, indicó en los tres agroecosistemas, que el número de esporas viables fue diferente, estadísticamente, de manera significativa y, con el segundo nivel, indicó que los agroecosistemas 2 y 3 (maíz y sorgo) son iguales entre sí pero diferentes de manera muy significativa al agroecosistema 1 (cacahuate).

##### 2.7.5.1 Ritmo de la producción.

Al comparar el ritmo de la etapa 5 anterior (finales de la floración) de: 120, 209 y 223, con el de esta etapa 6 (finales de la fructificación) de 60, 101 y 124 esporas por 5 g de suelo seco en los agroecosistemas 1 (cacahuate), 2 (maíz) y 3 (sorgo), respectivamente, se observa que el ritmo desciende en un 50, 48 y 57% respectivamente, (Gráfica 64). La tendencia, muy parecida en los tres agroecosistemas, marca claramente el final del ciclo biológico de los HMA, resultando

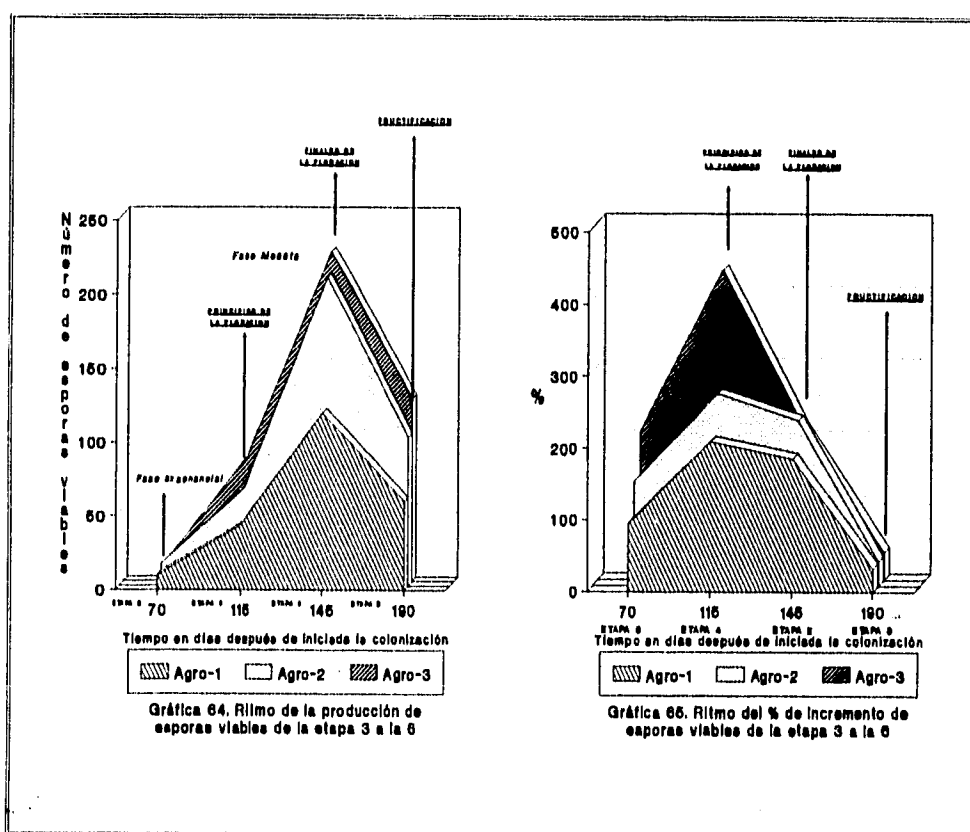


curvas en forma de campanas de Gauss, en las que se aprecia que, si bien las tendencias y la respuesta de los diferentes HMA a los cambios metabólicos del hospedero son iguales, la diferencia en los ritmos pudiera deberse a las características de la "huella antrópica" que se imprimió por la relación : planta-HMA-manejo del suelo y/o a la planta de cultivo (Gráficas 62, 64 y 65).

### 2.7.5.2 Ritmo del porcentaje de incremento.

El ritmo del porcentaje de incremento en la producción de las esporas viables de la etapa 5 anterior (finales de la floración) de 185, 230 y 212%, comparado con el de esta etapa 6 (fructificación) de 32, 34 y 38 en los agroecosistemas 1, 2 y 3, respectivamente, (Gráfica 65); denota un descenso de 83, 85 y 82% en los tres agroecosistemas, respectivamente. Este descenso resulta congruente con el final del ciclo biológico de ambos simbiontes (Gráficas 64 y 65). La máxima producción de esporas coincidió, en los tres agroecosistemas, con la etapa de fructificación de las plantas hospederas ya que, como fue observado por Hayman (1970 y 1982), la producción de esporas se incrementa cuando el crecimiento de la raíz se torna más lento o cesa por completo. Sieverding (1991) considera, también, que las esporas son más abundantes al finalizar el ciclo biológico de las plantas hospederas. La prueba Tukey al 95% (Tabla 21 del apéndice) indicó que los tres agroecosistemas resultaron estadísticamente diferentes en lo relativo al total de esporas viables. El agroecosistema 3 (sorgo) resultó 85 y 13% mayor en producción de esporas viables, que los agroecosistemas 1

(cacahuete) y 2 (maíz) respectivamente; y el agroecosistema 2 (maíz) 64% mayor que el agroecosistema 1 (cacahuete). De tal manera que, por cada gramo de suelo seco de los agroecosistemas 1, 2 y 3, encontramos 49, 80 y 91 esporas viables, respectivamente. Se observó una probable correlación entre la producción total de esporas y la biodiversidad. Un ejemplo se tiene en el agroecosistema 1 (cacahuete), en el que la menor producción de esporas, corresponde al reconocimiento de solamente 3 esporotipos. Sin embargo, en los agroecosistemas 2 y 3 (maíz y sorgo), con una mayor producción de esporas, presentan 5 y 6 esporotipos, respectivamente. En los tres agroecosistemas predominó *Glomus sp.* Sin embargo, en el agroecosistema 1 destacó, además, la presencia de *Acaulospora sp.* Al respecto Sutton y Barron, (1971) en monocultivos de Maíz, Trigo, Fresa y Tomate, en suelos de Ontario, encontraron una población de 20 a 70 esporas por gramo de suelo seco, identificando 7 esporotipos en el suelo de maíz y 8 en los restantes. Estos valores



coinciden con los correspondientes a este trabajo, tanto en la producción de esporas por gramo de suelo como en la producción y número de esporotipos. Igualmente, Abbott y Robson (1977) al estudiar tres localidades al oeste de Australia, encontraron en todas las 104 muestras colectadas esporas de HMA, caracterizando 5 esporotipos (*Honey-coured*

*sessile*; *Bulbous-based*; *crenulate*; *Yellow vacuolate*; y *White reticulate*). Cada muestra, contenía de uno a dos y algunas de tres a cuatro esporotipos, con la excepción de 6 sitios vírgenes, que carecían de esporas pero que presentaban colonización MA. Los suelos muestreados, comprendieron suelos vírgenes, donde destacó la presencia de *Honey-coloured sessile*, suelos de pasto, en los que se distingue la presencia de *Bulbous-based* y *Crenulate*; y suelos de cultivo, donde sobresalió la presencia de *Yellow vacuolate*. Un resultado importante de estos autores es el que, de todos los suelos, los que presentaron un menor número de esporas, fueron los vírgenes; encontrando que el mayor número de esporas y número de esporotipos diferentes correspondió a los suelos de cultivo. Estos resultados coinciden con los de este trabajo en lo siguiente: (a) un mayor número de esporas y la mayor biodiversidad en los suelos con un mayor impacto antrópico agrícola; como el caso de los suelos cultivados con maíz y sorgo, de este trabajo, en los cuales, además, coincide con la dominancia del esporotipo *Yellow vacuolate*; y (b) en suelos sin agroquímicos o con poco impacto agrícola, como son los de pastizal y vírgenes o el agroecosistema (1) de cacahuate, de este trabajo, se encontro el menor número de esporas. Por otro lado, Hayman y Stovold (1979), en 73 muestras de suelos colectadas de diferentes partes de New South Wales encontraron, en todas, esporas de HMVA y mas de 2 esporotipos por muestra. Además, los cultivos de maíz y sorgo fueron los que presentaron un mayor número de esporas y en el número esporotipos diferentes; de manera similar al comportamiento de los HMA, de los tres agroecosistemas de este trabajo. En los 5 cultivos de maíz muestreados por estos autores encontraron; *Glomus microcarpus*, *White reticulate*, *Glomus fasciculatus*, *Glomus moseae* y *Glomus "lamine"*; en los 3 cultivos de sorgo se presentaron los mencionados anteriormente excepto, *Gl "lamine"* pero, además, fueron identificados, *Gigaspora spp.* y *Acaulospora*. Los resultados de estos autores, coinciden en que los cultivos de gramíneas (maíz y sorgo) pueden mantener poblaciones de HMA interrelacionadas, pero que difieren en la frecuencia de su crecimiento y en la afinidad con la planta hospedera. Por otra parte, Schenck y Kinloch (1980) coinciden, también, tanto en la población total de esporas como en el número de esporotipos diferentes. El mayor número de especies lo encontraron en el sorgo; sin embargo, el mayor número de esporas estuvo asociado al cultivo de soya. Otro aspecto importante mencionado por estos autores fué el que la mayor población de *Gigaspora* y *Acaulospora* estuviera asociada con cultivos de dicotiledóneas (soya, algodón y cacahuate), y la mayoría de las especies de *Glomus*, con excepción *Gl. macrocarpus* var. *geosporus*, con los cultivos de monocotiledóneas como el maíz, sorgo y bahía grass. Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que *Acaulospora* siempre se detectó en el agroecosistema 1 (cacahuate) y en los agroecosistemas de maíz y sorgo, dominaron las especies de *Glomus*.

Es muy importante considerar las obsevaciones de Schenk y Kinloch (1980) en el sentido de que, 7 años después de haber iniciado la actividad agrícola en un suelo, observó, anualmente, un cambio en la biodiversidad de los esporotipos, aumentando la población de unas especies, como fue el caso de *Gigaspora margarita*, *Gigaspora heterógama*,



*Glomus macrocarpus* y *Gl. mosseae*, disminuyendo drásticamente otras como por ejemplo: *Acaulospora trapei* y *Gigaspora heterógama*, o desapareciendo algunas como ocurrió con *Glomus clarus*. Al respecto, Sutton y Barron (1971) consideran que las esporas de *Endogone* recuperadas de suelos agrícolas, parecen estar relacionados al tipo de cultivo. Anderson y Liberta (1987) y Daft (1992) mencionan que las diferentes relaciones micorrízicas pueden depender de la arquitectura del sistema radical. Sin embargo, Azcón y Barea (1980) consideran que la especificidad de los HMA en los agroecosistemas dependen más de la interacción con el tipo de suelo y condiciones o manejo del cultivo, que de una planta hospedera en particular. Estas observaciones coinciden con las de otros autores en el sentido de que los HMA son afectados por las prácticas agrícolas, particularmente, por la adición de fertilizantes y pesticidas. Además, la rotación de cultivos influye marcadamente en el suelo y en la actividad de las poblaciones micorrízicas, en términos de cantidad de propágulos, grado de colonización y producción de esporas resistentes (Hayman, 1970; Bevege, 1975; Khan, 1975; Kruckelmann, 1975; Hayman, Barea y Azcón, 1976 y Hayman, 1982). Generalmente, suelos con niveles de fertilización altos tienden a dar porcentajes bajos de colonización. Sin embargo, en muchos suelos cultivados, con fertilización elevada, se tienen niveles de colonización altos. Esto se relaciona con las observaciones recientes de muchos otros investigadores, en relación a que los suelos con cultivo anuales son más ricos en esporas. Además, en estos agroecosistemas, el manejo del suelo ejerce una presión tal, que se traduce en una selección natural de los endófitos MA, de tal modo, que son favorecidos aquellos hongos capaces de sobrevivir, en forma de esporas, el período de reposo en un suelo carente de plantas, que transcurre entre la cosecha de un cultivo y el establecimiento del siguiente (Hayman 1978; Hayman, Johnson y Ruddlesdin 1975). En apoyo a lo anterior, algunos autores asumen que, en aquellos ecosistemas con vegetación perenne, se encuentra mucho menor cantidad de esporas que en aquellos campos de cultivo sometidos a una perturbación anual. Esto se debe a que la flora micorrízica arbuscular, en este último caso, sometida a una fuerte presión de sobrevivencia y selección natural, es más capaz para producir esporas (propágulos de resistencia). Este hecho constituye una estrategia que les asegura su permanencia aún en los períodos de sequía carentes de vegetación (Dowding, 1959 y Kessler y Blank, 1972).

En algunos casos, las condiciones ambientales que propician una elevada colonización, tienden a reducir el número de esporas; es el caso de algunas praderas en Inglaterra en donde se ha observado que, a una elevada colonización corresponde una población baja de esporas (Read et al., 1976; Tinker, 1978 y Hayman, 1982). Por otra parte, se ha encontrado, en diferentes partes del mundo, que el manejo agrícola puede producir cambios en la biodiversidad de los hongos micorrízicos arbusculares, al grado de que, en los suelos no cultivados se llega a reducir la biodiversidad a uno o dos tipos de esporas, mientras que en suelos cultivados se han encontrado hasta siete o más tipos de esporas (Mosse y Bowen, 1968; Herrera y Ferrer, 1980 y Sieverdin, 1991).

Finalmente, es necesario insistir en que la calidad y cantidad de los agroquímicos utilizados, ya sean fertilizantes o pesticidas, son factores que pueden no solamente producir cambios cualitativos y cuantitativos en

la flora micorrízica arbuscular sino que, además, se pueden relacionar con algunas características fisiológicas específicas de los HMA (Hayman, 1982).

### **3.0 Recapitulación del Desarrollo Micorrízico durante el Ciclo Biológico de Chloris gayana.**

(1) después de la germinación, con la aparición de las plántulas, se inicia la germinación de las esporas de los hongos arbusculares; (2) la emergencia de las plántulas y el inicio del desarrollo de la raíz, precede a la extensión de los tubos germinativos; (3) el desarrollo del follaje y de la raíz, se relaciona con la fase lag y el principio de la fase exponencial del desarrollo micorrízico; (4) el crecimiento rápido y paralelo de ambos simblontes, continúa hasta poco antes de la floración; (5) a los 40 días de la floración, se aprecian los primeros cambios estructurales y patrones morfológicos de la micorrización, observándose un efecto muy marcado del metabolismo de la planta sobre la maduración de los endófitos micorrízicos (finales de la fase exponencial y principios de la fase meseta); (6) la disminución significativa del ritmo de crecimiento del sistema radical, durante la floración, coincide con una disminución del desarrollo micorrízico extensivo, aumentando el crecimiento volumétrico de la micorriza, después de los 40 días de floración acentuándose, drásticamente, el efecto de ésta, sobre la maduración de los endófitos micorrízicos; (7) a finales de la floración se incrementa notablemente la producción de esporas, la viabilidad de las mismas y la sucesión de los esporotipos (finales de la fase meseta); (8) durante la floración y fructificación, las vesículas se multiplicaron, aumentando de tamaño e incrementando su contenido lipídico, como lo mostraron los resultados cualitativos y cuantitativos de la colonización; (9) durante la fructificación, la colonización externa alcanzó su máximo desarrollo en esta etapa (finales del ciclo biológico de ambos simblontes) el micelio extramatricial presentó la mayor población y biodiversidad de esporotipos.

## VII CONCLUSIONES:

- 1.- La evaluación cualitativa y cuantitativa del desarrollo de la micorriza arbuscular nativa, de los tres agroecosistemas estudiados (cacahuate, maíz y sorgo) permitió observar diferencias estadísticamente significativas, atribuibles al efecto de la interacción: planta-hongos micorrízicos arbusculares-manejo agrícola.
- 2.- El suelo de los tres agroecosistemas fue clasificado como *Pheozem calcárico*, caracterizado por tener una capacidad elevada de retención de fósforo y, por consiguiente, muy baja disponibilidad de este nutrimento.
- 3.- La planta *Chloris gayana* Kunth (Rhodes grass) demostró ser un hospedero excelente de la micoflora micorrízica arbuscular nativa, en los tres agroecosistemas estudiados, habiendo permitido observar diferencias, estadísticas significativas, a través de su ciclo biológico, en el ritmo de las siguientes variables de respuesta: (a) colonización; (b) producción de esporas y (c) viabilidad de las esporas.
- 4.- Además, se pudo observar una sucesión de esporotipos (biodiversidad) en los tres agroecosistemas, a través del ciclo biológico de esta planta, encontrándose que el efecto antrópico (manejo agrícola) se reflejó en la frecuencia y diversidad de la población endomicorrízica arbuscular nativa. De tal modo, que fue posible detectar las siguientes especies dominantes en cada agroecosistema: en el 1 (de cacahuate) *Acaulospora* sp. y *Glomus etunicatum*; en el 2 (de maíz) *Glomus mosseae* y *Glomus glomerulatum* y, finalmente, en el 3 (del sorgo) *Glomus mosseae*, *Glomus glomerulatum* y *Glomus albidum*.
- 5.- Durante los primeros 45 días después de la emergencia de *Chloris gayana*, fase lag y principios de la fase exponencial de la curva del crecimiento micorrízico, no se observaron diferencias cuantitativas en los niveles de colonización, entre los tres agroecosistemas. Sin embargo, se reconocieron diferencias morfológicas en el patrón de la colonización, es decir, en la distribución del micelio intramatricial y en la abundancia de vesículas. En el agroecosistema de cacahuate, durante este período, se observó un buen desarrollo micelial, en forma de una red carente de vesículas. En cambio, en el agroecosistema de maíz, el micelio se encontró distribuido más laxamente y con vesículas bien desarrolladas. Finalmente, en el del sorgo, el micelio fue menos abundante pero con una mayor densidad de vesículas.
- 6.- Durante la fase exponencial del desarrollo micorrízico ( de los 45 a los 90 días después de la emergencia de *Chloris gayana*), se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre los porcentajes de colonización alcanzada en los tres agroecosistemas; encontrándose que el del cacahuate y el del sorgo fueron iguales entre sí pero diferentes al

del maíz. Sin embargo, estos resultados no pueden ser concluyentes ya que la metodología, hasta ahora utilizada, toma en cuenta la presencia pero no la densidad del desarrollo micorrízico para la cuantificación de la colonización. Al respecto, fue notable la mayor densidad de colonización producida por los HMA del agroecosistema del cacahuate, en comparación con la observada en el del sorgo. Esto se corrobora con el hecho de que los ritmos de la colonización, en los tres agroecosistemas, tuvieron la misma tendencia pero diferente magnitud; en este caso, los agroecosistemas de maíz y sorgo fueron similares entre sí pero diferentes al del cacahuate. En relación a la esporulación, no hubo diferencias significativas entre los del maíz y sorgo pero sí entre estos dos y el del cacahuate. No obstante, en los ritmos del incremento de la producción de esporas fueron notablemente diferentes los tres agroecosistemas. Finalmente, en cuanto a la viabilidad de las esporas, los tres agroecosistemas fueron iguales entre sí pero diferentes en sus ritmos de incremento.

7.- El inicio de la floración de *Chloris gayana* (a los 100 días después de la emergencia) determinó el final de la fase exponencial y el principio de la fase meseta del desarrollo micorrízico. El cambio metabólico del hospedero indujo a la maduración del desarrollo micorrízico caracterizado por: (a) la mayor densidad de micelio intramatricial y la abundancia de vesículas; (b) el máximo incremento en la esporulación y en la viabilidad de las esporas y (c) la aparición de los diferentes esporotipos en cada agroecosistema, es decir, una mayor biodiversidad.

Respecto a la hipótesis planteada en el presente trabajo, los resultados obtenidos corroboran lo propuesto en relación a la posibilidad de encontrar evidencias del impacto antrópico, que ocurre durante el manejo de tres especies de plantas de cultivo, bajo condiciones edáficas y climáticas similares, sobre los hongos micorrízicos arbusculares nativos.

De las relaciones entre el inicio de la colonización, el establecimiento de la micorriza y la formación, abundancia y distribución de los propágulos, de los diferentes HMA nativos en suelos de cultivo, queda aún mucho por conocer. Consecuentemente, la dinámica de la colonización micorrízica nativa en diferentes plantas de cultivo, dentro de la raíz y durante las estaciones del año, así como las causas que determinan los cambios en la abundancia y viabilidad de los propágulos dentro del suelo, deben ser mucho más estudiadas.

## VIII Bibliografía.

- Abbott, L.K. (1982): Comparative anatomy of vesicular-arbuscular mycorrhizas formed on subterranean clover. *Australian Journal of Botany*, 30: 485-499.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1977): The distribution and abundance of vesicular arbuscular endophytes in some Western Australian soil, *Australian Journal of Botany*, 25, 515-522.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1977): Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas, *Australian Journal of Agricultural Research*, 28, 639-649
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1979): A Quantitative Study of the Spores and Anatomy of Mycorrhizas Formed by Species of *Glomus*, with Reference to its Taxonomy. *Australian Journal of Botany*, 27, 363-375.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1982): The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi inoculation. *Australian Journal of Agricultural Research*, 33: 389- 401.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1984): The effect of mycorrhizas on plant growth, In: *Mycorrhizae*. Powell, C. Ll., and Bagyaraj., D. J. (eds), CrC Press, Boca Raton, Florida., pp 113-130.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1984): The effect of root density and infectivity of inoculum on the development of VA mycorrhizas. *New Phytologist.*, 97: 285-299.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1984): The effect of mycorrhizas on plant growth. In: *VA Mycorrhizae*. Powell, C.Ll., and Bagyaraj, D.J. (eds), CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 113-130.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1985): Formation of external hyphae in soil by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist.*, 99: 245-255.
- Abbott, L.K. and Robson, A.D. (1985): Formation of external hyphae in soil by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist.* 99, 245-255.
- Abbott, L.K. and Gazey. (1994): An ecological view of the formation of micorrhizas. *Plant and Soil*, 159, 69-78.
- Aguilar, C.A.; Rodriguez, R.D. and Barea, J.M. (1986): Effect of soil micro-organisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Transactions of the British. Mycological Society.*, 86 (2) pp 337-340.
- Alexander, T., Meier, R., Toth, R., and Weber, H.C. (1988): Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. *New Phytologist.*, 110: 363-370.
- Allen, M. F., Moore, T.S. and Christensen, M. (1980): Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant, *Canadian Journal of Botany*, 58, 371-374.
- Allen, M.F. (1982): Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on water movement trough *Bouteloua gracilis* *New Phytologist.*, 91, 191-196.
- Ames, R.N., and Benthlenfalvay, G.J. (1987): Mycorrhizal fungi and the integration of plant and soil nutrient dynamics. *Journal of plant Nutrition* 10, 1313-1321.
- Ames, R.N. and Schneider, R.W. (1979): *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae, *Micotaxon*, 8, 347-352.
- Ames, R.N., Reid, C.P.P., Porter, L.K., and Cambardella, C. (1983): Hyphal uptake and transport of nitrogen from two N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New phytologist.*, 95, 381-396.
- Anderson, R.C. y Liberta, A.E. (1987): Variation in vesicular arbuscular mycorrhizal relationships of two sand prairie species. *American Midland Naturalist.* 118, 56-63.
- Armenta, B.A.D.; Ferrera-Cerrato, R.; Trinidad, S.A. y Volke, H.V. (1986): Fertilización e inoculación con *Rhizobium* y endomicorrizas VA en garbanzo blanco (*Cicer arietinum* L.) en suelos del noroeste de México. *Agrociencias*, 65: 141-160.
- An, Z-Q. y J.W. Hendrix. (1988): Determining viability of endogonaceous spores with a vital stain. *Mycologia* 80: 259- 261.
- Azcón-Aguilar, C., Díaz-Rodríguez, R.M., y Barea, J.M. (1986): Effect of soil microorganisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Transactions of the British Mycological Society.*, 86: 337-340.

- Azcón G. A. y Barea J. M. (1980): Micorrizas. *Investigación y ciencia*, pp 8-16. Barcelona España.
- Azcón, R., Barea, J. M. and Hayman, D.S. (1976): Utilization of rock phosphate in alkaline soil by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria, *Soil Biology and Biochemistry*, 8: 135-138
- Azcón, R. and Ocampo, J.A. (1981): Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars, *New Phytologist*, 105: 221-237.
- Azeon, R. y Barea, J.M. (1992): Nodulation N fixation(<sup>15</sup>N) and N nutrition relationships in mycorrhizal or phosphate-amended alfalfa plants. *Symbiosis*, 12: 33-41.
- Bagyaraj, D.J. (1984): Biological interactions with VA Mycorrhizal fungi, pp. 131-153. In: *VA Mycorrhiza* (Edited by Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J.) CRC Press, Boca Raton.
- Bagyaraj, D.J. and Manjunath, A. (1980): Selection of a suitable host for mass production of VA Mycorrhizal inoculum. *Plant and Soil*, 55: 495-498.
- Bagyaraj, D.J.; Manjunath, A. and Patil, R.B. (1979): Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in some tropical aquatic plants. *Transactions of the British Mycological Society*, 72: 164-167.
- Baltruschat, H. and Dehne, H.W. (1988): The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in agroecosystems. I. Influence of nitrogen fertilization and green manure in continuous monoculture and in crop rotation on the inoculum potential of winter wheat. *Plant and Soil*, 107: 279-284.
- Barrow, J.B. and Roncadori, R.W. (1977): Endomycorrhizal syntesis by *Gigaspora margarita* in poinsettia. *Mycologia*, 69: 1173-1184.
- Baylis, G.T.S. (1959): The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of *Griselinia littoralis* (Cornaceae). *New Phytologist*, 58: 274-280.
- Baylis, G.T.S. (1967): Experiments on the ecological significance of phycomycetous mycorrhizas. *New Phytologist*, 66: 231-243.
- Baylis, G.T.S. (1975): The magnolioid mycorrhizal and mycotrophy in root systems derived from it, pp. 373-389 In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Bécard, G., and Fortin, J.A. (1988): Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytologist*, 108: 211-218.
- Becker, W.N. and Hall, I.R. (1976): *Gigaspora margarita*, a new species in the Endogonaceae. *Mycotaxon*, 4: 155-160.
- Beilby, J.P. (1983): Effects of inhibitors on early protein, RNA and lipid synthesis in germinating vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores of *Glomus caledonium*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29: 596-601.
- Beilby, J.P., and Kidby, D.K. (1980a): Sterol composition of ungerminated and germinated spores of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus caledonium*. *Lipids*, 15: 375-378.
- Beilby, J.P., and Kidby, D.K. (1980b): Biochemistry of ungerminated and germinated spores of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus caledonium*: Changes in neutral and polar lipids. *Journal of Lipid Research*, 21: 739-750.
- Beilby, J.P., and Kidby, D.K. (1982): The early synthesis of RNA, protein, and some associated metabolic events in germinating vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores of *Glomus caledonium*. *Canadian Journal of Microbiology*, 28: 623-628.
- Berch, S.M. (1988): Copilation of the Endogonaceae. Mycologue Publications. Canada.
- Bethlenfalvay, G. J., Brown, M.S. and Pacovsky, R.S. (1982): Relationships between host and endophyte development in mycorrhizal soybeans. *New Phytologist*, 90: 537-543.
- Bethlenfalvay, G. J., Pacovsky, R.S., Brown, M.S. and Fuller G. (1982): Mycotrophic growth and mutualistic development of host plant and fungal endophyte in an endomycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 68: 43-54.
- Bevege, D.I. and Bowen, G.D. (1975): Endogone strain and host plant differences in development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. pp. 77-86. In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Bird, G.W.; Rich, J.R. and Glover, S.U. (1974): Increased endomycorrhizae of cotton roots in soil treated with nematodes. *Pytopathology*, 64: 48-51.
- Blair, D.A., Peterson, R.L. and Bowley, S.R. (1988): Nuclear DAN content in root cells of *Lotus* and *Trifolium* colonized by the VAM fungus, *Glomus versiforme*. *New Phytologist*, 109: 167-170

- Blake, C.A. (1965): Bulk density: in *Methods of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties*. Madison, Wisc, American Society of Agronomy Inc, Agronomy, 9:771-1572.
- Bolan, N.S. (1991): A critical review of the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134: 189-207
- Bonfante-Fasolo, P. (1984): Anatomy and morphology of VA Mycorrhizae, pp. 5-34. In: *VA Mycorrhiza* (Edited by Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J) CRC Press, Boca Raton, Florida,
- Bonfante-Fasolo, P. (1987): Vesicular-arbuscular mycorrhizae: Fungus-Plant interactions at the cellular level. *Symbiosis*, 3: 249-268.
- Bonfante-Fasolo, P., Berta, G., and Fusconi, A. (1987): Distribution of nuclei in a VAM fungus during its symbiotic phase. *Transaction of the British Mycologist Society*, 88: 263-266.
- Bonfante-Fasolo, P. and Fontana, A. (1985): VAM fungi in *Ginkgo biloba* roots: Their interaction at cellular level. *Symbiosis*, 1: 53-67.
- Bonfante-Fasolo, P., and Gianinazzi-Pearson, V. (1986): Wall and plasmalemma modifications in mycorrhizal symbiosis, pp 65-73. . In: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. (Edited by Gianinazzi-Pearson, V., and Gianinazzi, S), INRA, Paris.
- Bonfante-Fasolo, P. Marzachi, C. and Testa, B. (1986): Structural modification of the fungal wall before and during VAM symbiosis. *Australian Journal of Botany*, 65: 539-546.
- Bonfante-Fasolo, P. and Schubert, A. (1987): Spores wall architecture of *Glomus* spp. *Canadian Journal of Botany*, 65: 539-546.
- Bonfante-Fasolo, P., Vian, B., and Testa, B. (1986): Ultrastructural localization of chitin in cell wall of a fungal spore. *Biological Cellular*, 57: 265-270.
- Bonfante-Fasolo, P.; Vian, B.; y Faccio, A. (1988): Texture of cell walls in VAM leeks, 2nd European Symposium on Mycorrhizae, Praga, pp 14-15.
- Bonfante-Fasolo, P; Vian, B.; Perotto, S.; Faccio A.; y Knox, J.P. (1990): Cellulose and pectin localization in roots of mycorrhizal *Allium porrum*: labelling continuity between host cell wall and interfacial material. *Planta*, 180: 537-547.
- Bouyoucos, G.J. (1962): Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. *Agronomy Journal*, 54: 464-465.
- Bowen, G.D. (1987): The biology and physiology of infection and its development ,27-57. In: *Ecophysiology of Mycorrhizal Plant* (Edited by Safir, G.R.) CRC Press, Boca Raton.
- Boyetchko, S.M. and Tewari, J.P. (1990): Root colonization of different hosts by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus dimorphicum*. *Plant and Soil*, 129: 131-136.
- Bray, H.H. y Kurtz, T.L. (1945): The determination of total organic and available forms or phosphorus in soils. *Soil Science*, 59: 439-445
- Brundrett, M.C. (1991): Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 21: 171-313.
- Brundrett, M.C., Piché, Y. and Peterson, R.L. (1984): A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. *Canadian Journal of Botany*, 63: 184-194.
- Burggraaf, A.J.P., and Beringer, J.E. (1987): Is nuclear division limiting in vitro culture of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. 7th North American Conference on Mycorrhizae, pp 190.
- Burns, R.G., and Davies, J.A. (1986): The microbiology of soil structure. *Biological Agricultural & Horticultural*, 3: 95-113.
- Butler, E, J. (1939): The occurrences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 22: 274-301.
- Busse, M.D. and Ellis, J.R. (1985): Vesicular-arbuscular mycorrhizal *Glomus fasciculatum* influence on soybean drought tolerance in high phosphorus soil. *Canadian Journal of Botany*, 63: 2290-2294.
- Buwalda, J.G., Stribley, D.P., and Tinker, P.B. (1983): Increased uptake of bromide and chloride by plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 93: 217-225.
- Buwalda, J.G., Stribley, D.P., and Tinker, P.B. (1984): The development of endomycorrhizal root systems. V. the detailed pattern of infection and the control of development of infection level by host in young leek plants. *New Phytologist*, 96: 411-427.
- Callow, J.A.; Capaccio, L.C.M.; Parish, G., and Tinker, P.B. (1978): Detection and estimation of

- polyphosphate in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 80: 125-134.
- Capaccio, L.C.M. and Callow, J.A. (1982): The enzymes of polyphosphate metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 91: 81-91.
- Carling D.E. and Brown M.F. (1982): Anatomy and Physiology of Vesicular-Arbuscular and Nonmycorrhizal Roots. *Phytopathology* Vol. 72, No. 8.
- Chaloner, W.G. (1970): The rise and fall of the first land plants. *Biological Reviews*, 45: 353-377.
- Chapman D.H.; Parker, F.P. (1981): Métodos de análisis para suelo, plantas y aguas. Ed. Trillas Mex.
- Clough, K. S., and Sutton, J. C. (1978): Direct observation of fungal aggregates in dune soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 24: 333-335.
- Coleman, N.T. et al. (1959): Cation exchange capacity and exchangeable cations in Piedmont soils of North Carolina. *Soil Science Society America Proceeding*, 23:146-149.
- Cooke, R. (1977): The biology of symbiotic fungi. Wiley, J. and Sons, New York.
- Cooper, K.M. (1984): Physiology of VA mycorrhizal associations, 155-186. In: *VA Mycorrhiza*. (Edited By Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J9) CRC Press, Boca Raton.
- Cooper, K.M. and Grandison, G.S. (1986): Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and root-knot nematode on cultivar of tomato and white clover Susceptible to *Meloidogyne hapla*. *Annals of Applied Biology*, 108: 555-565.
- Cox, G. and Sanders, F. (1974): Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 73: 901-912.
- Cox, G. and Tinker, P. B. (1976): Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study. *New Phytologist*, 77: 371-378.
- Crush, J.R. (1973): Significance of endomycorrhizas in tussock grassland in Otago. *New Zealand Journal of Botany*, 11: 645-660.
- Crush, J.R. (1975): Occurrence of endomycorrhizas in soil of the Mackenzie Basin, Canterbury. New Zealand, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 18, 361-364.
- Daft, M.J. (1983): The influence of mixed inocula on endomycorrhizal development. *Plant and Soil*, 71:331-337.
- Daft, M.J. (1992): Use of Mycorrhizas in Agriculture: Problems and Prospects, pp 198-201. In: *Mycorrhizas in Ecosystems* (Edited by Read D.J., Lewis D.H., Fitter A.H. and Alexander I.J) C A B International.
- Daft, M.J. and El-Ghahmi, A.A. (1975): Effect of *Glomus* infection on three legumes, p 581-592. IN: *Endomycorrhizas* (Edited by Sander, E.F., Mosse, B. and Tinker, P.B) Academic Press London.
- Daft, M.J. and Hacsakaylo, E. (1976): Arbuscular mycorrhizas in the anthracite and bituminous coal wastes of Pennsylvania. *Journal of Applied Ecology*, 13: 523-531
- Daft, M.J. and Nicolson, T.H. (1966): Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. *New Phytologist*, 65: 343-350.
- Daniels, B.A. y Graham, S.O. (1976): Effects of nutrition and soil extracts on germination of *Glomus mosseae* spores. *Mycologia*, 68: 108-116.
- Daniels, B.A. y Duff, D.M. (1978): Variation in germination and spore morphology among four isolates of *Glomus mosseae*. *Mycologia*, 70: 1261
- Daniels, B.A. y Menge, J.A. (1980): Hyperparasitism of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology*, 70: 584-588.
- Daniels, B.A. y Skipper H.D. (1982): Methods of recovery and quantitative estimation of propagules from soil. pp. 29-35. In: *Methods and principles of mycorrhizal research* (Edited By N.C. Shenck) American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Daniels, B.A. and Trappe. (1980): Factor affecting spore germination of the VAM fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia*, 72: 456-471.
- Deal, D. R., Boothroyd, C. W., and Mai, W. F. (1972): Replanting of vineyards and its relationship to vesicular-arbuscular mycorrhizal. *New Phytologist*, 62: 172-175.
- Dexheimer, J., Gianinazzi, S., and Gianinazzi-Pearson, V. (1979): Ultrastructural cytochemistry



- of the host-fungus interface in the endomycorrhizal association *Glomus mosseae*/*Allium cepa*. *Z Pflanzen physiol*, 92: 191-206.
- Dowding, E.S. (1959): Ecology of *Endogone*. *Transactions of the British Mycological Society*, 42: 449-457.
- Duchauffour, P. (1970): *Atlas Ecologico de los suelos del mundo* (eds) Toray-Masson, s.a. Barcelona: Suelos Calcimagnésicos., pp 35-50.
- Duchauffour, P y Souchier B. (1984): *Edafología, Capitulo VII Suelos Calcimagnésicos* (eds) Masson, S.A. Barcelona. 231-257.
- Duddridge, J.A.; Malibari, A and Read, D.J. (1980): Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport. *Nature* 287: 834-836.
- FAO-UNESCO. (1988): *Soil Map of the World Revised Legend*. p. 1-119. Prepared by Food and Agriculture
- Fassbender, H.W. (1975): *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. Inst. Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica. pp 183-237.
- Ferguson, J.J. and Woodhead (1982): A Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. pp 47-54. In: *Methods and principles of mycorrhizal research*. (Edited by N.C. Shenck). American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Ferreira, J.J.; Polero, H.J. and Jontza, C.A. (1982): Acción de las micorrizas vesiculo arbusculares en la nutrición y crecimiento del portainjerto cítrico liminero rugoso- Citrus Jambhiri Lusr. *Rev. Facultad de Agronomía*, 3: 293-298.
- Fitter, A.H. y Garbaye, J. (1994): Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil*, 159: 123-132.
- Fitter, A.H. y Merryweather, J.W. (1992): Why are some plants more mycorrhizal than others? An Ecological Enquiry. pp 26-36, In: *Mycorrhizas in Ecosystems* (Edited by, Read D.J.; Lewis; Fitter, A.H. and Alexander I.J.) C-A-B International.
- Fitts, J.W. & D.L. Waugh (1966): Soil test interpretation studies laboratory and potted plant. North Carolina University Agricultural Experimental Station Technology.
- Francis, R. y Read, D.J. (1994): The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure. *Plant and Soil*, 159: 11-25.
- Furlan, V. and Fortin, J.A. (1975): A flotation-bubbling system for collecting Endogonaceous spores from sieved soil. *Natureliste Canadien*, 102: 663-667.
- Fusconi, A; Berta, G.; Scannerini, S., and Trotta, A. (1986): Meristematic activity in mycorrhizal and uninfected roots of *Allium porrum*. In: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*. (eds), INRA, Paris, pp. 667-672.
- Gama Castro Jorge E. (1996): Los suelos tropicales de México: Génesis, Dinámica y Degradación. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, 320 p.
- Gavito Pardo M.E. (1991): Estudio de los hongos micorrízicos arbusculares asociados al maíz en el volcán Malintzin Tlaxcala. Tesis Profesional, U.N.A.M. 71 pag.
- Gemma, J.N. and Koske, R.E. (1988): Pre-infection interactions between roots and the mycorrhizal fungus *Gigaspora gigantea*: chemotropism of germ-tubes and root growth response. *Transactions of the British Mycological Society*, 91 (1), pp123-132.
- Gerdemann, J.W. (1955): Wound-healing of hyphae in a phycomycetous mycorrhizal fungus, *Mycologia*, 47, 916-918.
- George E. et al. (1992): Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants, pp 42-47, In: *Mycorrhizal in Ecosystems* (Edited by Red D.J.; Lewis D.H.; Fittler A.H. and Alexander I.J.) C-A-B International. pp. 419.
- Gerdemann, J.W. (1964): The effect of mycorrhiza on the growth of maize. *Micologia*, 56: 342-349.
- Gerdemann, J.W. (1968): Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Annual Review of Phytopathology*, 6: 397-418.
- Gerdemann, J.W. (1971): Fungi that form the vesicular arbuscular type of Endomycorrhiza, pp. 9-18. In: *Mycorrhizae* Edited by E. Hacskeylo) *Misc. Publs, U.S. Dep. Agric., N.*, 1189, 255p.
- Gerdemann, J.W. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhizae, pp. 575-591. In: *the Development and Funtion of Roots: 3rd Cabot Symposium*, Harvard Forest (Edited by J.G. Torrey and D.T. Clarkson) Academic Press, London.
- Gerdemann, J.W. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhizae, pp 575-591. In: *The Development and*

- Function of Roots** (Edited by Torrey, J.C., and Clarkson, D.T.) Academic Press, London.
- Gerdemann, J.W. and Nicolson, T.H. (1963): Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet-sieving and decating. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 235-244.
- Gerdemann, J.W. and Trappe, J.M. (1974): The Endogonaceae in the Pacific Northwest, *Mycologia Memoir*, No. 5, 1-76 pp.
- Gerdemann, J.W. and Trappe J.M. (1975): Taxonomy of the endogonaceae. pp. 35-51. In: **Endomycorrhizas** (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Gianinazzi-Pearson, V., and Gianinazzi, S. (1978): Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. Soluble alkaline specific to mycorrhizal infection in onion root. *Physiological Plant Pathology*, 12: 45-53.
- Gianinazzi-Pearson, V., and Gianinazzi, S. (1983): The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. *Plant and Soil*, 71: 197-209.
- Gianinazzi-Pearson, V., and Gianinazzi, S. (1986): The physiology of improved phosphate nutrition in mycorrhizal plant. In: **Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizas**. Paris, INRA, pp. 101-109.
- Gianinazzi, S; Gianinazzi-Pearson, V., and Dexheimer, J. (1979): Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. Gerd.). *New Phytologist*, 82: 127-132.
- Gibson, J. L. (1984): *Glaziella aurantiaca* (Endogonaceae): Zygomycete or ascomycete? *Mycotaxon*, 20: 325-328.
- Gibson, J.L. (1985): Morphology, cytology, and ultrastructure of selected species of Endogonaceae (Endogonales; Zygomycetes). Ph.D. dissertation. University of Florida. Gainesville, FL.
- Gilmore, A.E. (1968): Phycomycetous mycorrhizal organisms collected by open-pot culture methods, *Hilgardia*, 39: 87-105.
- Giovannetti, M. and Mosse, B. (1980): An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.
- Giovannetti, M.; Avio, L. y Salutini, L. (1990): Morphological, cytochemical, and ontogenetic characteristics of a new species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *Canadian Journal of Botany*, 69: 161-167.
- Giovannetti, M.; Avio, L.; Sbrana, C. y Citernesi, A.S. (1993 a): Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol & Gerd) Gerd & Trappe. *New Phytologist*, 123: 114-122.
- Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Avio, L.; Citernesi, A.S. y Logi, C. (1993 b): Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. *New Phytologist*, 125: 587-594.
- Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Citernesi, A.S.; Avio, L.; Gollotte, A.; Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi (1994): Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In: **Impact of Arbuscular Mycorrhizal on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems** (Edited by S. Gianinazzi and H. Schliepp) Birkhauser Verlag Basel/Switzerland.
- Graham, J.H. (1982): Effects of citrus root exudates on germination of chlamydospores of the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeum*. *Mycologia*, 74: 831-835.
- Graham, R.D. (1983): Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. *Advances in Botanical Research*, 10: 221-276
- Grandmaison, J., Benhamou, N., Furlan, V. and Visser, S.A. (1988): Ultrastructural localization of N-acetylglucosamine residues in the wall of *Gigaspora margarita* throughout its lifecycle. *Biological Cellular*, 63: 89-100
- Gray, L.E. and Gerdemann, J.W. (1975): Uptake of sulphur-35 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Plant and soil*, 39: 687-689.
- Greenall, J.M. (1963): The mycorrhizal endophytes of *Griselinia littoralis* *Griselinia littoralis* (Cornaceae), *New Zealand Journal of Botany*, 1: 389-400.
- Green, N.E., Graham, S.O., and Schenck, N.C. (1976): The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia*, 68: 929-933.
- Hall, I.R. (1975): Endomycorrhizas of *Metrosideros umbellata* and *Weinmannia racemosa*, *New Zealand*

- Journal of Botany*, 13: 463-472.
- Hall, I.R. (1977): Species and mycorrhizal infections of New Zealand Endogonaceae, *Transactions of the British Mycological Society*, 68: 341-356.
- Hall, I.R. and Fish, B.J. (1979): A key to the Endogonaceae, *Transactions of the British Mycological Society*, 73: 261-270.
- Hardie, K and Leyton, L. (1981): The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover. *New Phytologist*, 89: 599-608.
- Hardy, F. (1970): Edafología Tropical., (eds) Herrero hermanos, sucesores, S.A. México. pp. 151-193, Suministro de nutrientes.
- Harinikumar, K.M. and Bagyaraj, D.J. (1988): Effect of crop rotation on native vesicular arbuscular mycorrhizal propagules in soil. *Plant and Soil*, 110: 77-80.
- Harley, J.L. (1969): *The biology of Mycorrhiza*, 2nd ed., Leonard Hill, London.
- Harley, J.L., and Smith, S.E. (1983): *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London.
- Hayman, D.S. (1970): Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment, *Transactions of the British Mycological Society*, 54: 53-63.
- Hayman, D.S. (1974): Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytologist*, 73: 71-80.
- Hayman, D.S. (1975): The occurrence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. pp. 495-509 In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Hayman, D.S. (1978 a): Mycorrhizal populations of sown pasture and native vegetation in Otago, New Zealand, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 21: 271-276.
- Hayman, D.S. (1978): Endomycorrhizae, in *Interactions between Non-pathogenic Soil Microorganisms and Plants* (Edited by Y.R. Dommergues and S.V. Krupa), Elsevier, Amsterdam pp. 401-442.
- Hayman, D.S. (1987): VA mycorrhizas in field crop systems, p. 171-192. In: *Ecophysiology of Mycorrhizal Plants* (Edited by Safir, G.R.) CRC Press, Boca Raton.
- Hayman, D.S. (1980): Mycorrhizae and production of crops. *Nature*, 287: 487-488.
- Hayman, D.S. (1981): Influence of soil and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizae and plant disease. *Research Phytologist*, 72: 1119-1125.
- Hayman, D.S. (1982): Influence of soil and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* Vol. 72 No. 8 pp 1119-1125.
- Hayman, D.S. (1983): The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany*, 61: 944-963.
- Hayman, D.S., Barea, J.M. and Azcón, R. (1976): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Southern Spain: its distribution in crops growing in soil of different fertility, *Phytopathologia Mediterranea*, 15: 1-6.
- Hayman, D.S., Johnson, A.M. and Ruddlesdin, I. (1975): The influence of phosphate and crop species on Endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions, *Plant and Soil*, 43: 489-495.
- Hayman, D.S. and Mosse, B. (1979): Improved growth of white clover in hill grasslands by mycorrhizal inoculation, *Annals of Applied Biology*, 93: 141-148.
- Hayman, D.S. and Stovold, G.E. (1979): Spore populations and infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales, *Australian Journal of Botany*, 27: 227-233.
- Hepper, C.M. (1979): Germination and growth of *Glomus caledonium* spores: the effects of inhibitors and nutrients. *Soil biology and Biochemistry*, 14: 269-277.
- Hepper, C.M. (1981): Techniques for studying infection of plants by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions. *New Phytologist*, 88: 641-647.
- Hepper, C.M. (1984): Isolation and culture of VA mycorrhizal (VAM) fungi, pp. 95-112. IN: *VA Mycorrhizae*. (Edited by Powell, C.Ll., y Bagyaraj, D.J.) CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Hepper, C.M. (1985): Influence of age of roots on the pattern of vesicular-arbuscular mycorrhizal

- infection in leek and clover. *New Phytologist*, 101: 685-693.
- Heeper, C.M., and Oshera, J. (1984): Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in lettuce (*Lactuca sativa*) in relating to calcium supply. *Plant and Soil*, 82: 61-68.
- Hepper, C.M., and Smith, G.A. (1976): Observations on the germination of *Endogone* spores. *Transaction of the British Mycological Society*, 66: 187-194.
- Herrera Martinez M., (1995) Efecto de la fertilización química y biofertilización (*Bradyrhizobium-Glomus*) en el contenido de proteínas, aceite y fósforo en soya (*glycine max L. Merrill*) var BM. Tesis profesional de químico en alimentos, Facultad de Química, UNAM., 135p.
- Herrera, R.A. and Ferrer, R.L. (1980): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in Cuba. In: Mikola, P. ed. *Tropical Mycorrhiza Research*. Clarendon Press, Oxford.
- Hewitt, E.J., (1966): Sand and water culture methods used, in the study of plant nutrition. Technical communication No. 22 (2nd ed., revised) CAB, London. 547 p.
- Hirrel, M.C., Mehravaran, H. and Gerdemann, J.W. (1978): Vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Chenopodiaceae* and *Cruciferae*: do they occur? *Canadian Journal of Botany*, 56: 2813-2817.
- Holevas, C.D. (1966): The effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of phosphorus by Strawberry. *Journal of Horticultural Science*, 41: 57-64.
- Iqbal, S.H. and Qureshi, K.S. (1976): The influence of mixed sowing (cereals and crucifers) and crop rotation on the development of mycorrhiza and subsequent growth of crop under field conditions, *Biologia (Pakistan)*, 22:287-298.
- Jacson, M.L. (1964): *Análisis Químico de Suelos*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España, 662 p.
- Jaen, C.D. (1987): Manejo de endomycorriza vesículo arbuscular en la producción de frutales perennifolios (*Carica papaya*, cvs-Cera y Sola) cultivados en vivero. Tesis Profesional. UNAM 195 p
- Jakobsen, I. (1987): Effects of VA mycorrhiza on yield and harvest index of field grown pea. *Plant and Soil*, 98: 407-415.
- Jakobsen, I.; Abbott, L.K. y Robson, A.D. (1992): External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.I. spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 120: 371-380.
- Janos, D.P. (1980): Vesicular-arbuscular mycorrhizae affects lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology*, 61: 151-162.
- Janos, D.P. (1988): Mycorrhiza application in tropical forestry: are temperate-zone approaches appropriate In: Ng, F.S.P. (ed) *Trees and Mycorrhiza*, 133-188. Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur.
- Jensen, A. and Jakobsen, I. (1980): The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in Barley and Wheat grown in some Danish soil with different fertilizer treatments. *Plant and Soil*, 55: 403-414.
- Jeffries, P. y Barea, J.M. (1994): Biogeochemical cycling and arbuscular mycorrhizal in the sustainability of plant-soil systems. pag 101-115. *IN: Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems* (Edited by Gianinazzi, S. and Schuepp) Birkhauser Verlag Basel/Switzerland.
- Kessler, K.J. and Blank, R.W. (1972): *Endogone* sporocarps associated with sugar maple. *Mycologia*, 64: 634-638.
- Khan, A.G. (1971): Occurrence of *Endogone* spores in West Pakistan soil, *Transactions of the British Mycological Society*, 56: 217-224.
- Khan, A.G. (1974): The occurrence of mycorrhizas in halophytes hydrophytes, and xerophytes of *Endogone* spores in adjacent soil. *Journal of General Microbiology*, 81: 7-14.
- Khan, A.G. (1975): Growth effects of VA mycorrhiza on crop in the field, pp.419-435. In *:Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Kinden, D.A. and Brown, M.F. (1976): Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. IV. Host-endophyte interactions during arbuscular deterioration, *Canadian Journal of Microbiology*, 22: 64-75.
- Kjeldhab A.O.A.C. (1970): Association of official Agricultural Chemis, official methods of analysis Washington, D.C. Broad. William and Herwats.
- Kleinschmidt, G.D. and Gerdemann, J.W. (1972): Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery

soil related to the

- Kormanik, P.P., Bryan, W.C., and Schultz, R.C. (1978): Endomycorrhizal inoculation during transplanting improves growth of vegetatively propagated yellow poplar.
- Kormanik, P.P., Bryan, W.C., and Schultz, R.C. (1980): Procedure and equipment for staining large numbers of plant samples for endomycorrhizal assay. *Canadian Journal of Microbiology*, 26: 536-538.
- Koske, R.E. (1975): *Endogone* spores in Australian sand dunes, *Canadian Journal of Botany*, 53, 668-672.
- Koske, R.E. (1981): *Gigaspora gigantea*: Observation on germination of a VA-mycorrhizal fungus. *Mycologia*, 73: 288-300.
- Koske, R.E. (1981): Multiple germination by spores of *Gigaspora gigantea*. *Transaction of British Mycological Society*, 76: 328-330
- Koske, R.E., Sutton, J.C. and Sheppard, B.R. (1975): Ecology of *Endogone* in Lake Huron sand dunes, *Canadian Journal of Botany*, 53: 87-93.
- Kothari, S.K. Marschner, H. y George, E. (1990): Effect of VA mycorrhiza and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations of maize. *New Phytologist*, 116: 303-311.
- Krishna, K.R. and Bagyaraj, D.J. (1983): Interaction between *Glomus fasciculatum* and *Sclerotium rolfsii* in peanut. *Canadian Journal of Botany* 61: 2349-2351.
- Krishna, K.R. and Bagyaraj, D.J. (1985): Mycorrhiza and plant water relations in *Arachis hypogea*. *Proceedings of the Sixth North American Conference on Mycorrhizae*. Bend, Oregon. E.U.A. pp 371.
- Kruckelmann, H.W. (1975): Effects of fertilizers, soil, soil tillage, and plant species on the frequency of *Endogone chamydospores* and mycorrhizal infection in arable soil, pp. 511-525. In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Lackie, S.M.; Garrioca, M.C.; Peterson, R.L., and Bowley, S.R. (1987): Influence of host plant on the morphology of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus versiforme*, (Daniels and Trappe) berch. *Symbiosis*, 3: 147-158.
- Lambert, D.H.; Cole, H. and Baker, D.E. (1980): Variation in the response of alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus, *Crop Science*, 20: 615-618.
- Le Tacon F. (1985): Las micorrizas: una cooperación entre plantas y hongos. *Mundo científico*. 49, 776-784.
- Lewis, D.H. (1973): Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biological Reviews*, 48: 261-278.
- Li, X-L.; George, E. y Marschner, H. (1991): Extension of the phosphorus depletion zone in V.A. mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil*. 136:41-48.
- Li, X-L.; Marschner, H. y George, E. (1991): Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant and Soil*, 136: 49-57.
- Louis, I. (1988): Ecto- and ectendomycorrhizae in the tropical dipterocarp, *shorea parvifolia*. *Mycologia*, 80 (6), 845-849.
- Macko, V. (1981): Inhibitions and stimulants of spore germination and infection structure formation in fungi, in *the fungal spore: Morphogenetic Controls*, Turian, G. and Hohl, H.R., Eds Academic Press, London. p 565.
- Maronek, D.M., Hendrix, J.W. and Kiernan, J. (1980): Differential growth response to the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus* of southern magnolia and bar harbor juniper grow in containers in composted hardwood bark-shale. *Journal American Society for Horticultural Science*, 105: 206-208.
- Marschner, H. and Dell, B. (1994): Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159: 89-102.
- Marsh, B. a.B. (1971): Measurement of length in random arrangements of lines, *Journal of Applied Ecology*, 8: 265-267.
- Mason, D.T. (1964): A survey of numbers of *Endogone* spores in soil cropped with barley, raspberry and strawberry, *Horticultural Research*, 4: 98-103
- Manjunath, A. and Habte, M. (1988): Development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and

- the uptake of immobile nutrients in *Leucaena leucocephala*. *Plant and Soil*, 106: 97-103.
- Marx, D. H. (1979): Synthesis of ectomycorrhizae by different fungi in Northern Red Oak seedlings. For Service Research Note, USDA, SE, 282.
- Mayo, K. Davis, E.R. and Motta, J. (1986): Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore-associated bacteria. *Mycologia*, 78 (3) 426-431.
- Mc Gee, P.A. (1986): Further sporocarpic species of *Glomus* (Endogonaceae) from South Australia. *Transactions of British Mycological Society*, 87: 123-129.
- Mejstrik, V.K. (1972): Vesicular-arbuscular mycorrhizas of the species of a *Molinietum coeruleae* L.I. association: the ecology. *New Phytologist*, 71: 883-890.
- Menge, J.A. (1982): Effect soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*, Vol. 72, No. 8, pp 1125-1132.
- Menge, J.A. and Timmer, L.W. (1982): Procedures for inoculation of plants with vesicular-arbuscular mycorrhizae in the laboratory, greenhouse, and field. pp 59-68. In: *Methods and principles of mycorrhizal research*. (Edited by N.C. Shennck) American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota.
- Meyer, F.H. (1973): Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests. In: *Ectomycorrhizae* (eds) Marks G.C. and Kozłowski, pp. 79-105. Academic Press, New York and London.
- Meyer, J.R. and Lindermann, R.G. (1986): Selective influence on populations of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhizas formed by *Glomus fasciculatum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 18: 191-196.
- Mikola, P. (1965): Studies on ectendotrophic mycorrhiza of pine. *Acta Forestalia Fennica*, 79: 1-56.
- Miller, R.M. (1979): Some occurrences of vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural and disturbed ecosystems of the Red Desert. *Canadian Journal of Botany*, 57: 619-623.
- Miller, M.; Mgonigle, T. y Addy, H. (1994): An economic approach to evaluate the role of mycorrhizae in managed ecosystems. *Plant and Soil*, 159: 27-35.
- Miller-Wideman, M.A. y Watrud, L.S. (1984): Sporulation of *Gigaspora margarita* on root cultures of tomato. *Canadian Journal of Microbiology*, 30: 642-646.
- Molina, R.J., Trappe, J.M. and Strickler, G.S. (1978): Mycorrhizal fungi associated with *Festuca* in the western United States and Canada. *Canadian Journal of Botany*, 56: 1691-1695.
- Montgomery, D.C. (1984): *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons., Inc. U.S.A. 538 p.
- Morley, C.D. and Mosse, B. (1976): Abnormal vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in white clover induced by lupin. *Transactions of the British Mycological Society*, 67: 510-513.
- Morton, J.B. (1988): Taxonomy of V.A. mycorrhizal fungi: classification nomenclature and identification. *Mycotaxon*. 32: 267-324.
- Morton, J.B. (1988): Procedimientos para la extracción, cultivo e identificación de hongos micorrizicos V-A. Curso de actualización. ENEP Iztacala, México.
- Morton, J.B. (1990): Species and clones of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales Zygomycetes): their role in macro- and microevolutionary processes. *Mycotaxon* 37: 493-515.
- Morton, J.N. y Benny, G.L. (1990): Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families Acalosporaceae, and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491
- Morton, J.B. y Bentivenga (1994): Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups. *Plant and Soil*, 159: 47-59.
- Mosse, B. (1953): Fructifications of an Endogone species causing endotrophic mycorrhiza on fruit plants. *Annales Botany (London)*. 20: 349-362.
- Mosse, B. (1959): The regular germination of resting spores and some observation on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular. *Transactions of the British Mycological Society*, 42: 273-286.
- Mosse, B. (1970): Honey-coloured, sessile *Endogone* spores. I. life history. *Arch. Mikrobiol.*, 70: 167-175.

- Mosse, B. (1956): Observation on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte, *Transactions of the British Mycological Society*, 42: 439-448.
- Mosse, B. (1972): Efficacy of different *Endogone* strains on the growth of *Paspalum notatum* (Batatai) in two Brazilian soils. *Nature, Lond.* 239: 221-223.
- Mosse, B. (1973): Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza, *Annual Review of Phytopathology*, 11: 171-196.
- Mosse, B. (1981): Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii, pp 5-82.
- Mosse, B. and Bowen, G.D. (1968): A key to the recognition of some *Endogone* spore type, *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 469-483.
- Mosse, B. and Bowen, G.D. (1968): The distribution of *Endogone* spores in some Australian and New Zealand soil, and in an experimental field soil at Rothamsted. *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 485-492.
- Mosse, B. and Hayman, D.S. (1973): Effects of mycorrhiza on phosphate uptake of some plant species from Meathop Wood soil. *Bulletin British Ecological Society*, 4: 6-13
- Mosse, B. and Hayman, D.S. (1982): Mycorrhiza, in *The Ecology of Meathop Wood, an Integrated Study* (Edited by J. E. Satchell).
- Mosse, B. and Hepper, C.M. (1975): Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ culture. *Physiological Plant Pathology*, 5: 215-223.
- Mosse, B. and Jones, G.W. (1968): Separation of *Endogone* spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns, *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 604-608.
- Mosse, B. and Phillips, J.M. (1971): Desinfección superficial de esporas de hongos micorrizicos vesiculo-arbusculares, pp 117, In: *Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesiculo-arbuscular en el Laboratorio*. 1a Edición. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali.
- Mugnier, J., and Mosse, B. (1987): Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically. *Phytopathology*, 77: 1045-1050.
- Munsell Soil Chart (1975): Edition Munsell Color, Co Marland, E.U.A.
- Murdoch, C.L.; Jakobs, J.A. and Gerdemann, J.W. (1967): Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. *Plant and Soil*, 27: 329-334.
- Nelson, C.E. (1987): The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems, pp 71-91. In: *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (Edited by SAFIR, G. R.) CRC Press, Boca Raton.
- Nemec, S. (1981): Histochemical characteristic of *Glomus etunicatus* infection of Citrus limon fibrous roots. *Canadian Journal of Botany*, 59: 609-614.
- Nielsen, J.D. y Jensen, A. (1983): Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and uptake of various nutrients as well uptake ratio of fertilizer P for lucerne (*Medicago sativa*). *Plant and Soil*, 70: 165-172.
- Nicolson, T.H. (1960): Mycorrhiza in the Graminae. II. Development in different habitats, particularly sand dunes. *Transactions of the British Mycological Society*, 43: 132-145.
- Nicolson, T.H. (1967): Vesicular-arbuscular mycorrhiza a universal plant symbiosis. *Sci. progr. Oxf.* 55: 561-581.
- Nicolson, T.H. (1975): Evolution of vesicular-arbuscular mycorrhizas, pp. 25-34. In: *Endomycorrhizas*. (Edited by Sanders, F.E., Mosse, B., and Tinker, P.B.) Academic Press, London.
- Nicolson, T.H. and Gerdemann, J.W. (1960): Mycorrhizal *Endogone* species, *Mycologia*, 60: 313-145.
- Nicolson, T.H. and Schenck, N.C. (1979): Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida, *Mycologia*, 71: 178-198.
- Ocampo, J.A. and Hayman, D.S. (1980): Effects of pesticides on mycorrhiza in field-grown barley, maize and potatoes, *Transactions of the British Mycological Society*, 74: 413-416.
- Ocampo, J.A., Martin, J. and Hayman, D.S. (1980): Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plants grown together, *New Phytologist*, 84: 27-35.

- Ohms, R.E. (1957): A flotation method for collecting spores of a phycomycetous mycorrhizal parasite from soil, *Phytopathology*, 47: 751-752.
- Olsen, S.R.; C.V. Cole; F.S. Watanabe & L.A. Dean (1954): Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Dept. Agr. Circ. 939
- Owusu-Bennoah; E. y Mosse, B. (1979): Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne and onion. *New Phytologist*, 83: 671-679.
- Palacios, M.S.; Chapa, S.C. y Shimada, M.K. (1986): Incremento en el crecimiento y en la absorción de fósforo en cebolla (*Allium cepa* L.), como respuesta a la micorriza V-A, en un suelo de origen volcánico. *Revista Latinoamericana de microbiología*, 29: 303-311.
- Palacios, M.S.; Shimada, M.K. y Chapa, S.C. (1987): Efecto de la inoculación de dos variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) con cuatro hongos endomicorrícicos, en suelos muy deficientes en fósforo. *Revista Latinoamericana de microbiología*, 29: 329-336.
- Palacios -Mayorga S., M.A. Jaime H., Urbano S; E. Cuenca A., K. Shimada M. (1994): Effect of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza on Growth of *Allium cepa* L. Under field conditions, in a Rendzic Leptosol. 15<sup>th</sup> World Congress of Soil Science, Acapulco, México; Vol 4b pp 34-35.
- Palacios-Mayorga S.; Gomez-Hernández y R. Rodrigues G; K Shimada M. y E. Cuenca A., 1994. The effect of nitrogen and phosphorus on *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis yield under field conditions in a degraded calcareous soil from a Mexican subtropic zone. Fourth European Symposium on Mycorrhizas, Granada Spain, abstract pp. 250.
- Pacovsky, R.S. (1968): Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus-fertilized soybeans. *Plant and Soil*, 95: 379-388.
- Pacovsky, R.S. and Fuller, G. (1986): Development of two endomicorrhizal symbioses on soybean and comparison with phosphorus fertilization. *Plant and Soil*, 95: 361-377.
- Pacovsky, R.S., Fuller, G. and Stafford, A.E. (1986): Nutrient and growth interactions in soybeans colonized with *Glomus fasciculatum* and *Rhizobium japonicum*. *Plant and Soil*, 92: 37-45.
- Pearson-Gianinazzi, V. and Gianinazzi, S. (1983): The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. *Plant and Soil*, 71: 197-209.
- Pearson, V. and Tinker, P.B. (1975): Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas, pp. 277-287. In: *Endomycorrhizas*, (Edited by Sanders, F.E.; Mosse, B. and Tinker) Academic Press, London and New York.
- Pérez Y. y Schenck N.C. (1990) A Unique code for each species of VA mycorrhizal fungi. *Mycologia* 82 (2) 256-260
- Peyronel, B., Fassi, B., Fontana, A. and Trappe, J.M. (1969): Terminology of Mycorrhizae. *Mycologia*, 61: 410-411.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S. (1970): Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Plenchette, C. (1982): Recherches sur les Endomycorrhizas a vésicules et arbuscules. Influence de la plante hôte du champignon et du phosphore sur l'expression de la symbiose Endomycorrhizienne. *These Doct. Québec*.
- Pond, E.C., Menge, J.A., and Jarrell, W.M. (1984) Improve growth of tomato in salinized soil and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi collected from saline soils. *Mycologia*, 76: 74-84.
- Potty, V.P. (1985): Cassava an alternate host for multiplication of VAM fungi. *Plant and Soil*, 88: 135-137.
- Powell, C.Ll. (1975): Potassium uptake and endotrophic mycorrhiza, pp. 461-468. In *Endomycorrhizas* (Edited by Sander, F. E., Mosse, B., and Linker, P.B) Academic Press. London.
- Powell, C.L. (1976): Development of mycorrhizal infections from *Endogone* spores and infected root segment. *Transaction of the British Mycological Society*, 66: 439-445.
- Powell, C.Ll. (1977): Mycorrhizas in hill-country soils. III. Effect of inoculation on clover growth in unsterile soils. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 20: 343-348.
- Powell, C.Ll. (1979): Inoculation of white clover and ryegrass sss with mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 83: 81-185.
- Powell, C.Ll. (1982): Selection of efficient VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 68: 3-9.



- Powell, C.L., and Daniel, J. (1978): Growth of white clover in undisturbed soils after inoculation with efficient mycorrhizal fungi. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 21: 675.
- Pyrozinski, K.A. and Malloch, D.W. (1975): The origin of land plants: a matter of mycotrophy. *Biosystems*, 6: 153-164.
- Ramírez, B.N. Mitchell, D.J. and Schenck, N.C. 1975. Establishment and growth effects of three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on papaya. *Mycologia*, 67: 1039-1041.
- Read, D.J., Kouchecki, H. K. and Hodgson, J. (1976): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection, *New Phytologist*, 77: 641-653.
- Redhead, J.F. (1968): Mycorrhizal associations in some Nigeria forest trees. *Transactions of the British Mycological Society*, 51: 377-387.
- Redhead, J.F. (1977): Endotrophic mycorrhizas in Nigeria: species of the Endogonaceae and their distribution. *Transactions of the British Mycological Society*, 69: 275-280.
- Reeves, F.B., Wagner, D., Moorman, T. and Kiel, J. (1979): The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed & natural environments. *American Journal of Botany*, 66: 6-13
- Rosendahl, S.; Dodd, J.C. y Walker, C. (1994): Taxonomy and phylogeny of the Glomales, p 1-12 In: *Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. (Edited by S. Gianinazzi and H. Schüepp) Birkhauser Verlag Basel/Switzerland.
- Ross, J.P. y Daniels, B.A. (1991): Hyperparasitism of Endomycorrhizal fungi, pp 55-58. In: *Methods and Principles of Mycorrhizal Research* (Edited by Schenk, N.C.) St. Paul Mn. American Phytopathological Society.
- Ross, J.P. and Harper, J.A. (1970): Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathology* 60: 1552-1556.
- Ross, J.P. y Ruttencutter, R. (1977): Population dynamics of two vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi and the role of hyperparasitic fungi. *Phytopathology*, 67: 490-496.
- Safir, G.R. (1980): Vesicular-arbuscular mycorrhizae and crop productivity, pp. 231-252. In: *The Biology of Crop Productivity* (Edited by P.S. Carlsson), Academic Press, New York.
- Saif, S.R. (1977): The influence of stage of host development on vesicular-arbuscular mycorrhizae and Endogonaceous spore population in field-grown vegetable crops. I. Summer-grown crop, *New Phytologist*, 79: 341-348
- Safir, G.R., Boyer, J.S. and Gerdemann, J.W. (1971): Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science*, 172: 581-583.
- Safir, G.R., Boyer, J.S. and Gerdemann, J.W. (1972): Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant Physiology*, 49:700-703.
- San Antonio, J. P. (1989): Mycorrhizal infection of adventitious of leek seedlings inoculated with one sporeling of *Glomus monosporum*. *Mycologia* 81 (4): 658-662
- Sánchez-Beltrán; Nava-Salaza J.R. y Palacios-Mayorga S. (1988): Respuesta de la Cebada (*Hordeum sativum* L.) a la micorriza VA, en suelos de Ando de la Sierra del Ajusco, Edo. de México. *Contribuciones a la Edafología Mexicana, Inst. de Geol., UNAM* pp. 105-119.
- Sandergaard and Laegaard, S. (1977): Vesicular-arbuscular mycorrhiza in some aquatic vascular plants. *Nature*, 268: 232-233.
- Sanders, F.E. and Sheikh, N.A. (1983): The development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems. *Plant and Soil*, 71: 223-246.
- Sanders, F. E., Tinker, P.B., Black, R.L.B., and Palmerley, S.M. (1977): The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytologist*, 78: 257-268.
- Scannerini, S., and Bonfante-Fasolo, P. (1983): Comparative ultrastructural analysis of mycorrhizal associations. *Canadian Journal of Botany*, 61: 917-943.
- Schenck, N.C. (1982): *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. The American Phytopathological Society, St. Paul.
- Schenck, N.C., Graham, S.O. and Green, N.E. (1975): Temperature and light effect on contamination and spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia*, 67: 1189-1192.
- Schenck, N.C. and Kinloch, R.A. (1980): Incidence of mycorrhizal fungi on six field crops in monoculture on a newly cleared woodland site. *Mycologia*, 72: 445-456.

- Schenck, N.C. and Pérez Y. (1987): A manual for identification of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. INVAM. University of Florida. Gainesville, FL.
- Schenck, N.C. and Pérez Y. (1990): Manual for the Identification of V.A. Mycorrhizal Fungi: 3rd Ed. Synergistic Publ., Gainesville, Florida.
- Schenck, N.C. and Schroeder, V.N. (1974): Temperature response of *Endogone* mycorrhiza in soybean roots. *Mycologia*, 66: 600-605.
- Schollember, C.J. y Simon, R.H. (1945): Determination of exchange capacity and exchangeable bases in soil by ammonium acetate method. *Soil Science*, 59: 13-25
- Secilia, J. and Bagyaraj, D.J. (1988): Fungi associated with pot cultures of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Transactions of the British Mycological Society* 90 (1) pp 117-119.
- Sieverding, E. (1983): Manual de Métodos para la investigación de la Micorriza Vesículo-arbuscular en el Laboratorio. 1a Edición. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali.
- Sieverding, E. (1991): Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agroecosystems (ede) Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH.
- Sieverding, E., and Galvez A.,L. (1988): Soil and phosphate sources effect performance of VA mycorrhizal fungi with cassava. *Angew. Botanik*, 62: 283-293.
- Sieverding, E., and Toro T.,S. (1988): Influence of soil water regimes on VA mycorrhiza. V. Performance of different VAM fungal species with cassava. *Journal Agronomy & Crop Science*, 161: 322-332.
- Simpeon, D. and Daft, M.J. (1990): Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum*. *Plant and Soil*, 121: 171-178.
- Siqueira, J.O. (1987): Cultura axénica e monoxénica dos fungos micorrízicos vesículo-arbusculares. II Reuniao Brasileira sobre Micorrizas, Sao Paulo, pp. 44-70.
- Siqueira, J.O., and Hubbell, D.H. (1986): Effects of organic substrates on germination and germ tube growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus spores in vitro. *Pesq. Agropec. Bras.*, 21: 523-527.
- Siqueira, J.O., Hubbell, D.H. and Mahmud, A.W. (1984): Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 76: 115-124.
- Siqueira, J.O., Sylvia, D.M., Gibson, J., and Hubbell, D.H. (1985): Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 31: 965-972.
- Smith, S.E. and Bowen, G.D. (1979): Soil temperature, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago truncatula* and *Trifolium subterraneum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 11:469-473.
- Smith, S.E. y Gianinazzi-Pearson, V. (1988): Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology. Plant Mol. Biol.* 39: 221-244.
- Smith, S.E.; Pearson, V.G.; Koide, R. and Cairney, W.G. (1994): Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences for efficiency of the symbiosis. *Plant and Soil*, 159: 103-113.
- Smith, F.A.; and Smith, S.E. (1986): Movement across membranes, pp 75-84. In: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, Paris, INRA
- Smith, S.E.; St. John, B.J.; Smith, F.A., and Nicholson, D.J.D. (1985): Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Trifolium subterraneum* L. and *Allium cepa* L.: Effects of mycorrhizal infection and phosphate nutrition. *New Phytologist*, 99: 211-227.
- Sparling, G.P. and Tinker, P.B. (1978): Mycorrhizal infection in pennine grass-land. I. Levels of infection in the field, *Journal of Applied Ecology*, 15: 943-950.
- Spokes, J.R., Macdonald, R.M. and Hayman, D.S. (1981): Effects of plant protection chemical on vesicular-arbuscular mycorrhizas, *Pesticide Science*, 12.
- Sreenivasa M.N. and Bagyaraj, D.J. (1988) *Chloris gayana* (Rhodes grass), a better host for the mass production of *Glomus fasciculatum* inoculum. *Plant and Soil*, 106: 289-280.
- Stahl, P.D. y Christensen, M. (1991): Population variation in the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*, breadth of environmental tolerance. *Mycological Research*, 95 (3): 300-307.
- St. John, T.V. (1980): Root size hairs and mycorrhizal infection: a reexamination of Baylis

- hypothesis with tropical trees, *New Phytologist*, 84: 484-487.
- Strullu, D.G.; Gourret, J.P.; Garrec, J.P. and Fourcy, A. (1981): Ultrastructure and electron-probe microanalysis of the metachromatic vacuolar granules occurring in *Taxus* mycorrhizas. *New Phytologist*, 87: 537-545.
- Strzemska, J. (1975): Mycorrhiza in farm crops grown in monoculture, pp.527-535. In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Struble, J.E. and Skipper, H.D. (1988): Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spore production as influenced by plant species. *Plant and Soil*, 109 : 277-280.
- Sutton, J.C. (1973): Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants. *Canadian Journal of Botany*, 51: 2487-2493.
- Sutton, J.C. and Barron, G.L. (1972): Population dynamics of *Endogone* spores in soil. *Canadian Journal of Botany*, 50, 1909-1914.
- Sutton, J.C., and Sheppard, B.R. (1976): Aggregation of sand-dune soil by endomycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, 54: 326-333.
- Sutton, S.L., Whitmore, T.C. and Chadwick, A.C. (1983): Tropical rain forest, pp. 327-345 In: *Ecology and Management* (Edited by Blackwell) Scientific Publications Oxford London Edinburgh Boston Melbourne.
- Sward, R.J. (1981): The structure of the spores of *Gigaspora margarita*. I. the dormant spore. *New Phytologist*, 87: 761-768.
- Sward, R.J., Hallan, N.D. and Holland, A.A. (1978): *Endogone* spores in a heathland area of south-eastern Australia. *Australian Journal of Botany*, 26: 29-43.
- Sylvia, D.M. (1986): Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in florida foredunes. *Mycologia*, 78: 734-740.
- Sylvia, D.M. (1992): Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Methods in Microbiology*, vol 24 (Edited by J.R. Norris; D.J. Read and A.K. Varma) pp 53-65.
- Taxter, R. (1922): A revision of the Endogonaceae. *Proceeding American Academy of Arts and Sciences*, 57: 291-351.
- Tester, M., Smith, S.E., and Smith, F.A. (1987): The phenomenon of "nonmycorrhizal" plants. *Canadian Journal of Botany*, 65: 419-431.
- Thapar, H.S. and Khan, S.N. (1973): Studies on endomycorrhiza in some forest species. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 39: 687-694.
- Thomazini, L.I. (1974): Mycorrhiza in plants of the "cerrado". *Plant and soil*, 41: 707-711.
- Thomson, J.P. (1987): Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizae in long fallow disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency of sun flower. *Australian Journal of Agricultural Research*, 38: 847-867.
- Timmer, L.W., and Leyden, R.F. (1978): Relationship of seedbed fertilization and fumigation to infection of sour orange seedlings by mycorrhizal fungi and *Phytophthora parasitica*. *Journal American Society for Horticultural Science*, 103: 537-541.
- Tinker, P.B. y Gildon, A. (1983): Mycorrhizal fungi and ion uptake. In: *Metal and micronutrients uptake and utilisation by plants*. Robb, D.A. and Pierpoint, W.S. (eds), Academic Press, London, pp 21-32.
- Tisdall, J.M. and Oades, J.M. (1979): Stabilization of soil aggregates by the root systems of ryegrass, *Australian Journal of Soil Research*, 17: 429-441.
- Tommerup, I.C. (1983): Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 81: 37-45.
- Tommerup, I.C. (1984): Development of infection by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in *Brassica napus* L. and *Trifolium subterranean* L. *New Phytologist*, 98: 487-495.
- Tommerup, I.C. (1985): Inhibition of spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 82: 267-278.
- Trappe, J.M. (1984): Mycorrhizal reaction to pesticides. *Annual Review of Phytopathology*, 22: 331-359.
- Trappe, J.M. (1987): Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint, pp 5-25. In: *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants* (Edited by

- SAFIR, G.R.) CRC Press, Boca Raton.
- Trappe, J. M. and Schenck, N. (1982): A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonales) pp. 1-9. In: *Methods and principles of mycorrhizal research* (ed. Schenk, N.C.). St. Paul MN. American Phytopathological Society.
- Trinick, M.J. (1977): Vesicular-arbuscular infection and soil phosphorus utilization in *Lupinus spp.*, *New Phytologist*, 78: 297-304.
- Viera, A. and Glenn, M.G. (1990): DNA content of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores. *Mycologia*, 82 (2) pp 263-267.
- Vietti, A.J. and Staden, J.V. (1990) Histology of V-A mycorrhizal development in guayule seedlings. *Mycological Research*, 94 (6): 831-834.
- Walker, C. (1979): *Complexipes moniliformis*: a new genus and species tentatively placed in the Endogonaceae, *Mycotaxon*, 10: 99-104.
- Walker, C. (1983): Taxonomic concepts in the Endogonaceae: spore wall characteristics in the species descriptions. *Mycotaxon*, 18: 443-455.
- Walker, C. (1986): Taxonomic concepts in the Endogonaceae II. A fifth morphological wall type in Endogonaceous spores. *Mycotaxon*, 25: 95-99.
- Walker, C. y Sanders, F.E. (1986): Taxonomic concepts in the Endogonaceae III. the separation of *Scutellospora* gen. Nov. from *Gigaspora* Gerd & Trappe. *Mycotaxon*, 27: 169-182.
- Walker, C. and Smith, S.E. (1984): The quantitative study of mycorrhizal infection. II. The relation of rate of infection and speed of fungal growth to propagule density, the mean length of the infection unit and the limiting value of the fraction of the root infected. *New Phytologist*, 96: 55-64.
- Walkey, A. (1947): Critical examination for determining organic carbon in soil. *Soil Science*, 63: 251-264.
- Wambeke, A.V. (1992): *Soil of the Tropics*. (eds) McGraw-Hill, Inc, New York, pp. 1-92.
- Wilcox, H.E. (1975): Morphology of ectendomycorrhizae in *Pinus resinosa*. *Canadian Journal of Botany*, 52: 2145-2155.
- Wilson, J.M. (1984): Comparative development of infection by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 97: 413-426.
- Williams, S.E., Wollum, A.G. and Aldon, E.F. (1974): Growth of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. improved by formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae, *Soil Science Society of America Proceeding*, 38: 962-965.
- Woolhouse, H.W. (1975): Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate movements and the regulation of endotrophic mycorrhizal associations, pp. 209-239, In: *Endomycorrhizas* (Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker), Academic Press, London.
- Young, A. (1976): *Tropical Soil and Soil Survey*. Cambridge University Press.

**IX APENDICE**

Porcentaje de la Colonización						
DIAS	20	45	90	135	165	210
Agroecosistema 1	1.86	10.2	37.9	45.5	51	60
Agroecosistema 2	3.46	15.52	50.56	59.9	68	79
Agroecosistema 3	2.06	7.68	38.36	55.5	71	89

Ritmo de la Colonización					
DIAS	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	8	27	8	6	9
Agroecosistema 2	12	35	9	9	11
Agroecosistema 3	6	31	17	16	18

Ritmo de Incremento de la Colonización					
DIAS	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	448	272	23	12	17
Agroecosistema 2	348	226	18	13	16
Agroecosistema 3	273	399	45	28	25

Número de esporas/ 5 g de suelo seco						
DIAS	0	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	64	56	90	209	332	340
Agroecosistema 2	72	62	72	138	385	495
Agroecosistema 3	68	21	62	132	400	540

Ritmo de la Producción de Esporas						
DIAS	0	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	0	-8	34	119	123	8
Agroecosistema 2	0	-10	10	66	247	110
Agroecosistema 3	0	-47	40	70	268	140

Ritmo del Porcentaje de Incremento de la producción de esporas					
DIAS	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	-12	61	132	59	2.4
Agroecosistema 2	-14	16	92	179	28
Agroecosistema 3	-68	195	113	203	35

Porcentaje de Viabilidad de las Esporas					
DIAS	45	90	135	165	210
Agroecosistema 1	18	23	31	56	72
Agroecosistema 2	16	35	67	78	81
Agroecosistema 3	33	33	80	83	84

Ritmo de la Viabilidad de las Esporas					
DIAS	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	0	5	8	25	16
Agroecosistema 2	0	19	32	11	3
Agroecosistema 3	0	0	47	2	3

Ritmo del Porcentaje de Incremento de la Viabilidad				
DIAS	70	115	145	190
Agroecosistema 1	28	35	81	29
Agroecosistema 2	119	91	16	4
Agroecosistema 3	0	142	2	1.8

Número de Esporas Viables/5 g de suelo seco					
DIAS	25	70	115	145	190
Agroecosistema 1	10.8	21	65	185	243
Agroecosistema 2	10.2	25	92	300	400
Agroecosistema 3	7	20	106	330	454

Ritmo de la Producción de Esporas Viables				
DIAS	70	115	145	190
Agroecosistema 1	10	44	120	60
Agroecosistema 2	15	67	209	101
Agroecosistema 3	13	86	223	124

Ritmo del Porcentaje de Incremento de las Esporas Viables				
DIAS	70	115	145	190
Agroecosistema 1	95	209	185	32
Agroecosistema 2	145	268	230	34
Agroecosistema 3	205	430	212	38



Análisis de Varianza de una vía (Tabla 1 del apéndice)

SUELO.MIC20T1col

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	7.600000	2	3.800000	1.897	.1923
Dentro de Grupos	24.036000	12	2.003000		
Total	31.636000	14			

tabla de medias para SUELO.MIC20T1col by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estándar interno	Error estándar combinado	95 % de confianza para media	
1	5	1.860000	.8170679	.6329297	.6650252	3.0549748
2	5	3.460000	.5240229	.6329297	2.2650252	4.6549748
3	5	2.060000	.5095096	.6329297	.8650252	3.2549748
Total	15	2.460000	.3654221	.3654221	1.7700810	3.1499190

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC20T1col by SUELO.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5 1.860000	X
3	5 2.060000	X
2	5 3.460000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 2 del apéndice)

SUELO.MIC45T1COL

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	160.19733	2	80.098667	20.374	.0001
Dentro de Grupos	47.17600	12	3.931333		
Total	207.37333	14			

tabla de medias para SUELO.MIC45T1COL by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	10.200000	1.3277801	.8867168	7.956034 12.443966
2	5	15.520000	.5825805	.8867168	13.276034 17.763966
3	5	7.680000	.5063596	.8867168	5.436034 9.923966
Total	15	11.133333	.5119462	.5119462	9.837779 12.428887

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC45T1COL by SUELO.REPETICION

99 Percent Tukey HSD			
	Conteo	Promedio	Grupos Homogéneos
3	5	7.680000	X
1	5	10.200000	X
2	5	15.520000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 3 del apéndice)

SUELO.MIC45T1esp

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig
Entre Grupos	4954.1333	2	2477.0667	34.516	.0000
Dentro de Grupos	861.2000	12	71.7667		
Total	5815.3333	14			

tabla de medias para SUELO.MIC45T1esp by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media	
1	5	56.400000	5.1826634	3.7885793	46.812450	65.987550
2	5	62.400000	3.2649655	3.7885793	52.812450	71.987550
3	5	21.200000	2.3537205	3.7885793	11.612450	30.787550
Total	15	46.666667	2.1873373	2.1873373	41.131292	52.202041

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC45T1esp by SUELO.REPETICION

99 Percent Tukey HSD			
Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
3	5	21.200000	X
1	5	56.400000	X
2	5	62.400000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 4 del apéndice)

: SUELO.MIC45T1via

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	835.7333	2	417.86667	4.281	.0395
Dentro de Grupos	1171.2000	12	97.60000		
Total	2006.9333	14			

tabla de medias para SUELO.MIC45T1via by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media	
1	5	17.600000	2.5019992	4.4181444	9.258519	25.941481
2	5	16.400000	.2449490	4.4181444	8.058519	24.741481
3	5	32.800000	7.2277244	4.4181444	24.458519	41.141481
Total	15	22.266667	2.5508169	2.5508169	17.450710	27.082623

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC45T1via by SUELO.REPETICION

99 Percent Tukey HSD			
Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
2	5	16.400000	X
1	5	17.600000	X
3	5	32.800000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 5 del apéndice)

SUELO.M45T1Esvia

SUELO.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	42.984013	2	21.492007	3.037	.0856
Dentro de Grupos	84.914480	12	7.076207		
Total	127.89849	14			

Table of means for SUELO.M45T1Esvia by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	95% de confianza para media
1	5	10.080000	1.6800000	1.1896392	12.326045
2	5	10.218000	.4841116	1.1896392	12.464045
3	5	6.560000	1.0903944	1.1896392	8.806045
Total	15	8.952667	.6868385	.6868385	10.249422

Análisis de rangos multiples para SUELO.M45T1Esvia by SUELO.REPETICION

95 Percent Tukey HSD			
Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
3	6.560000	X	
1	10.080000	X	
2	10.218000	X	

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 6 del apéndice)

SUELO.MIC90T1col

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	515.54533	2	257.77267	3.298	.0722
Dentro de Grupos	937.86400	12	78.15533		
Total	1453.4093	14			

tabla de medias para SUELO.MIC90T1col by SUELO.REPETICION

Agro		Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	95% de confianza para media	
1	5	37.900000	3.1236197	3.9536144	30.435554	45.364446
2	5	50.560000	.6772001	3.9536144	43.095554	58.024446
3	5	38.360000	6.0562034	3.9536144	30.895554	45.824446
Total	15	42.273333	2.2826203	2.2826203	37.963734	46.582933

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC90T1col by SUELO.REPETICION

95 Percent Tukey HSD			
Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
1	5	37.900000	X
3	5	38.360000	X
2	5	50.560000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 7 del apéndice)

SUELO.MIC90T1esp

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	2090.5333	2	1045.2667	17.258	.0003
Dentro de Grupos	726.8000	12	60.5667		
Total	2817.3333	14			

tabla de medias para SUELO.MIC90T1esp by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	90.200000	5.3609701	3.4804214	81.392288 99.007712
2	5	72.200000	2.1540659	3.4804214	63.392288 81.007712
3	5	61.600000	1.7204651	3.4804214	52.792288 70.407712
Total	15	74.666667	2.0094222	2.0094222	69.581532 79.751801

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC90T1esp by SUELO.REPETICION

99 Percent Tukey HSD			
Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
3	5	61.600000	X
2	5	72.200000	X
1	5	90.200000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 8 del apéndice)

SUELO.MIC90T1via

SUELO.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	428.1333	2	214.06667	1.768	.2124
Dentro de Grupos	1453.2000	12	121.10000		
Total	1881.3333	14			

tabla de medias para SUELO.MIC90T1via by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estándar interno	Error estándar combinado	95% de confianza para media
1	5	23.200000	1.0677078	4.9213819	32.491596
2	5	35.400000	3.2496154	4.9213819	44.691596
3	5	33.400000	7.8076885	4.9213819	42.691596
Total	15	30.666667	2.8413612	2.8413612	36.031172

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MIC90T1via by SUELO.REPETICION

95 Percent Tukey HSD		Promedio	Grupos Homogéneos
Conteo			
1	5	23.200000	X
3	5	33.400000	X
2	5	35.400000	X



Análisis de Varianza de una vía (Tabla 9 del apéndice)

SUELO1.M90T1ESvia

SUELO1.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	81.25137	2	40.625687	0.782	0.4796
Dentro de Grupos	623.61080	12	51.967567		
Total	704.86217	14			

tabla de medias para SUELO1.M90T1ESvia by SUELO1.REPETICION

Agro	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	21.138000	2.1319578	3.2238972	29.296540
2	25.600000	2.5454587	3.2238972	33.758540
3	20.296000	4.4895363	3.2238972	28.454540
Total	22.344667	1.8613179	1.8613179	27.055002

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M90T1ESvia by SUELO1.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
3	20.296000	X
1	21.138000	X
2	25.600000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 10 del apéndice)

SUELO1.MI135T1col

SUELO1.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	563.93233	2	281.96617	36.678	0.0000
Dentro de Grupos	92.25200	12	7.68767		
Total	656.18433	14			

tabla de medias para SUELO1.MI135T1col by SUELO1.REPETICION

evel	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	45.520000	1.6029348	1.2399731	42.382068 48.657932
2	5	59.910000	0.3695944	1.2399731	56.772068 63.047932
3	5	56.440000	1.3807969	1.2399731	53.302068 59.577932
Total	15	53.956667	0.7158988	0.7158988	52.144981 55.768353

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.MI135T1col by SUELO1.REPETICION

	Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	45.520000	X
3	5	56.440000	X
2	5	59.910000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 11 del apéndice)

SUELO.MI135T1esp

SUELO.REPETICION

Labels:

Tukey Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	326018.80	2	163009.40	2.446	.1286
Dentro de Grupos	799796.80	12	66649.73		
Total	1125815.6	14			

tabla de medias para SUELO.MI135T1esp by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	209.00000	17.20465	115.45539	-8.98041 426.98041
2	5	137.80000	4.04228	115.45539	-80.18041 355.78041
3	5	480.00000	199.19212	115.45539	262.01959 697.98041
Total	15	275.60000	66.65820	66.65820	149.74895 401.45105

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MI135T1esp by SUELO.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
3	5 131.60000	X
2	5 137.80000	X
1	5 209.00000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 12 del apéndice)

SUELO.MI135T1via

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	6428.1333	2	3214.0667	213.323	.0000
Dentro de Grupos	180.8000	12	15.0667		
Total	6608.9333	14			

tabla de medias para SUELO.MI135T1via by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	31.000000	1.1401754	1.7358955	35.392936
2	5	66.800000	2.0832667	1.7358955	71.192936
3	5	80.000000	1.8439089	1.7358955	84.392936
Total	15	59.266667	1.0022198	1.0022198	61.802929

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MI135T1via by SUELO.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5 31.000000	X
2	5 66.800000	X
3	5 80.000000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 13 del apéndice)

SUELO1.M135T1ESvi

. SUELO1.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de sig.
Entre Grupos	8198.2201	2	4099.1100	9.132	0.0039
Dentro de Grupos	5386.5947	12	448.8829		
Total	13584.815	14			

tabla de medias para SUELO1.M135T1ESvi by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	95% de confianza para media
1	5	50.84400	8.129399	9.4750503	68.73295
2	5	91.77800	1.757636	9.4750503	109.66695
3	5	105.99200	14.147555	9.4750503	123.88095
Total	15	82.87133	5.470423	5.4704228	93.19952

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M135T1ESvi by SUELO1.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	50.84400	X
2	91.77800	X
3	105.99200	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 13 del apéndice)

SUELO1.M135T1ESvi

SUELO1.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	8198.2201	2	4099.1100	9.132	0.0039
Dentro de Grupos	5386.5947	12	448.8829		
Total	13584.815	14			

tabla de medias para SUELO1.M135T1ESvi by SUELO1.REPETICION

Agro:	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	50.84400	8.129399	9.4750503	74.82199
2	5	91.77800	1.757636	9.4750503	115.75599
3	5	105.99200	14.147555	9.4750503	129.96999
Total	15	82.87133	5.470423	5.4704228	96.71503

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M135T1ESvi by SUELO1.REPETICION

N	Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	50.84400	X
2	5	91.77800	XX
3	5	105.99200	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 14 del apéndice)

SUELO.MI165T1col

: SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	1206.7343	2	603.36717	138.652	.0000
Dentro de Grupos	52.2200	12	4.35167		
Total	1258.9543	14			

tabla de medias para SUELO.MI165T1col by SUELO.REPETICION

Agrol	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media	
1	5	51.140000	1.2600000	.9329166	48.779119	53.500881
2	5	68.630000	.2517936	.9329166	66.269119	70.990881
3	5	71.400000	.9797959	.9329166	69.039119	73.760881
Total	15	63.723333	.5386196	.5386196	62.360278	65.086388

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MI165T1col by SUELO.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	51.140000	X
2	68.630000	X
3	71.400000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 15 del apéndice)

SUELO1.MI165T1esp

SUELO1.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	13043.333	2	6521.6667	4.831	0.0289
Dentro de Grupos	16200.000	12	1350.0000		
Total	29243.333	14			

tabla de medias para SUELO1.MI165T1esp by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estándar interno	Error estándar combinado	95% de confianza para media	
1	5	332.00000	16.324828	16.431677	300.97690	363.02310
2	5	385.00000	15.572412	16.431677	353.97690	416.02310
3	5	401.00000	17.349352	16.431677	369.97690	432.02310
Total	15	372.66667	9.486833	9.486833	354.75547	390.57786

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.MI165T1esp by SUELO1.REPETICION

		Tukey HSD		
	Conteo	Promedio	Grupos	Homogéneos
1	5	332.00000	X	
2	5	385.00000	XX	
3	5	401.00000	X	



Análisis de Varianza de una vía (Tabla 16 del apéndice)

SUELO1.MI165T1via

SUELO1.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	2074.8000	2	1037.4000	43.958	0.0000
Dentro de Grupos	283.2000	12	23.6000		
Total	2358.0000	14			

tabla de medias para SUELO1.MI165T1via by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estándar interno	Error estándar combinado	99% de confianza para media
1	5	55.600000	1.9131126	2.1725561	50.102031 61.097969
2	5	77.800000	0.8602325	2.1725561	72.302031 83.297969
3	5	82.600000	3.1240999	2.1725561	77.102031 88.097969
Total	15	72.000000	1.2543258	1.2543258	68.825746 75.174254

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.MI165T1via by SUELO1.REPETICION

Conteo	Promedio	Tukey HSD Grupos Homogéneos
1	55.600000	X
2	77.800000	X
3	82.600000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 17 del apéndice)

SUELO1.M165T1ESvi

SUELO1.REPETICION

: Tukey Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	58958.912	2	29479.456	33.791	0.0000
Dentro de Grupos	10468.987	12	872.416		
Total	69427.899	14			

tabla de medias para SUELO1.M165T1ESvi by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media	
1	5	184.79000	11.608170	13.209206	151.36219	218.21781
2	5	299.52000	12.479028	13.209206	266.09219	332.94781
3	5	330.56000	15.263473	13.209206	297.13219	363.98781
Total	15	271.62333	7.626338	7.626338	252.32378	290.92289

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M165T1ESvi by SUELO1.REPETICION

	Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	184.79000	X
2	5	299.52000	X
3	5	330.56000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 18 del apéndice)

SUELO.MI210T1col

SUELO.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	1010.0931	2	505.04653	20.589	.0001
Dentro de Grupos	294.3634	12	24.53029		
Total	1304.4565	14			

tabla de medias para: SUELO.MI210T1col by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	60.060000	3.1506507	2.0934241	54.762286 65.357714
2	5	79.208000	.9177004	2.0934241	73.910286 84.505714
3	5	89.250000	1.5422386	2.0934241	83.952286 94.547714
Total	15	76.172667	1.2086390	1.2086390	73.114030 79.231303

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MI210T1col by SUELO.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5 60.060000	X
2	5 79.208000	X
3	5 89.250000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 19 del apéndice)

SUELO1.MI210T1esp

SUELO1.REPETICION

Tukey

Nivel de confianza: 99

Tukey

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	110230.53	2	55115.267	19.152	0.0002
Dentro de Grupos	34533.20	12	2877.767		
Total	144763.73	14			

tabla de medias para SUELO1.MI210T1esp by SUELO1.REPETICION

Agro.	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar. combinado	99% de confianza para media	
1	5	340.00000	20.432817	23.990693	279.28807	400.71193
2	5	495.40000	30.645717	23.990693	434.68807	556.11193
3	5	540.00000	19.235384	23.990693	479.28807	600.71193
Total	15	458.46667	13.851033	13.851033	423.41462	493.51872

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.MI210T1esp by SUELO1.REPETICION

Conteo	Tukey HSD Promedio	Grupos Homogéneos
1	5 340.00000	X
2	5 495.40000	X
3	5 540.00000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 20 del apéndice)

SUELO.MI210T1via

SUELO.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	400.13333	2	200.06667	12.662	.0011
Dentro de Grupos'	189.60000	12	15.80000		
Total	589.73333	14			

tabla de medias para SUELO.MI210T1via by SUELO.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	71.800000	1.3190906	1.7776389	76.298573
2	5	80.800000	1.7435596	1.7776389	85.298573
3	5	84.000000	2.1679483	1.7776389	88.498573
Total	15	78.866667	1.0263203	1.0263203	81.463919

Análisis de rangos múltiples para SUELO.MI210T1via by SUELO.REPETICION

	Conteo	Tukey HSD	
		Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	71.800000	X
2	5	80.800000	X
3	5	84.000000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 21 del apéndice)

SUELO1.M210EST1Ev

SUELO1.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 99

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	119519.03	2	59759.515	24.162	0.0001
Dentro de Grupos	29679.40	12	2473.283		
Total	149198.43	14			

tabla de medias para SUELO1.M210EST1Ev by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	99% de confianza para media
1	5	243.82000	14.316726	22.240879	300.10377
2	5	400.79800	28.071224	22.240879	457.08177
3	5	454.12000	22.158696	22.240879	510.40377
Total	15	366.24600	12.840777	12.840777	398.74145

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M210EST1Ev by SUELO1.REPETICION

I	Conteo	Tukey HSD	
		Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	243.82000	X
2	5	400.79800	X
3	5	454.12000	X

Análisis de Varianza de una vía (Tabla 21 del apéndice)

SUELO1.M210EST1Ev

SUELO1.REPETICION

Tukey Nivel de confianza: 95

Análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	d.f.	Cuadrado media	Relación F	Nivel de Sig.
Entre Grupos	119997.04	2	59998.522	687423.675	0.0000
Dentro de Grupos	1.05	12	0.087		
Total	119998.09	14			

tabla de medias para SUELO1.M210EST1Ev by SUELO1.REPETICION

Agro	Rep	Promedio	Error estandar interno	Error estandar combinado	95% de confianza para media	
1	5	243.16400	0.1640000	0.1321214	242.91455	243.41345
2	5	400.15960	0.1596000	0.1321214	399.91015	400.40905
3	5	454.00000	0.0000000	0.1321214	453.75055	454.24945
Total	15	365.77453	0.0762803	0.0762803	365.63052	365.91855

Análisis de rangos múltiples para SUELO1.M210EST1Ev by SUELO1.REPETICION

	Conteo	Tukey HSD	
		Promedio	Grupos Homogéneos
1	5	243.16400	X
2	5	400.15960	X
3	5	454.00000	X