



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HONGOS
ENDOMICORRIZICOS ARBUSCULARES DURANTE EL
ESTABLECIMIENTO Y TRASPLANTE DE PORTAINJERTOS DE
CITRICOS OBTENIDOS DE CULTIVO IN VITRO Y TOLERANTES
AL VIRUS DE LA TRISTEZA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRICOLA
P R E S E N T A :
VICTOR HERNANDEZ MEZA

DIRECTOR: M.C. MA. DEL CARMEN GONZALEZ CHAVEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1997

**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.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
 FEDERAL NACIONAL
 DE EDUCACIÓN
 PÚBLICA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES
 U. N. A. M. FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la IECIS:

" Efecto de la inoculación con Hongos Endemicorrizicos
Arbusculares, durante el establecimiento y trasplante de
portainjertos de cítricos obtenidos de cultivo in vitro y
tolerantes al Virus de la Tristeza".

que presenta el pasante: Víctor Hernández Meza,
 con número de cuenta: 8602605-7 para obtener el TITULO de:
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Edo. de Méx.. a 25 de Noviembre de 1996.

PRESIDENTE M. en C. Ma. del Yasmín Cuervo Usan
 VOCAL M. en C. Otilio Arturo Acvedo Sandoval
 SECRETARIO Ing. Guillermo Basante Putrón
 PRIMER SUPLENTE Ing. Francisco Cruz Pizarro
 SEGUNDO SUPLENTE Ing. Angel López Cortez

Efecto de la inoculación con Hongos Endomicorrízicos-Arbusculares durante el establecimiento y trasplante de portainjertos de cítricos obtenidos de cultivo *in vitro* y tolerantes al Virus de la Tristeza

Proyecto CONACYT 3262-N.

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Biotecnología del PROFRUT* y en el Área de Microbiología de Suelos del PROEDAF** IRENAT*** del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México; bajo la siguiente dirección y asesoría:

M.C. Ma. del Carmen González-Chávez
Director C.P.

M.C. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Co asesor UNAM

Dr. Ronald Ferrera-Cerrato
Asesor C.P.

Dr. Angel Villegas Monter
Asesor C.P.



MICROBIOLOGIA

- * Programa de Fruticultura
- ** Programa de Edafología
- *** Instituto de Recursos Naturales

DEDICATORIA

A DIOS

Por enseñarme a creer en ti al regresarme a la vida, en la que formo parte de una familia hecha a base de virtudes y defectos, alegrías y tristezas, triunfos y fracasos; los cuales también son componentes de mi persona y de este trabajo.

A MIS PADRES

Ausencio y Ma. Encarnación, para quienes mi infancia fué parte de sus mayores retos y sacrificios como pareja, enseñandome desde aquel momento, que en la vida todo es posible cuando existe unidad, responsabilidad, decisión y sobre todo amor por lo que queremos.

*** MI ETERNO AGRADECIMIENTO ***

A MIS HERMANOS

Ricardo, Mundo, Gude, Sergio, Ismael, Mary, Beto, Javier y Jaime; con quienes compartí gran parte de mi vida como persona y como estudiante y ahora comparto este

*** NUESTRO TRIUNFO ***

A MI ESPOSA

FABY, Por que tu simbolizas una nueva y definitiva fase de mi vida, en la cual tu has sembrado para mi, cariño, apoyo, y comprensión o sea **"AMOR VERDADERO"** y en recompensa hoy cosechamos juntos uno de los mejores frutos **" NUESTRA TESIS "**, con lo cual, inicio una vida de lucha y entrega para ti. *** TE AMO ***

A LAS FAMILIAS

Hernández Muñoz, Perez Hernández, Hernández López, Hernández González ², Villegas Hernández, Juarez Ramirez y García Nieto; por su incondicional apoyo durante mi formación profesional, lo cual me hace sentir parte de su familia.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente en la comunidad universitaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan a la que pertenezco y también agradezco.

A la 14^{ma} generación de Ingenieros Agrícolas de la FES-C a quienes considero parte de mi formación y hoy los recuerdo con profundo afecto, respeto y un poco de nostalgia: Cesar Salinas, Cesar Lorenzo, Beto Rodríguez, Julio, Angela, etc. sin hacer menos a nadie.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico a este trabajo de investigación a través del proyecto 3262-N

A la M.C. Ma. del Carmen González Chávez, por dirigir y orientar tan acertadamente la última etapa de mi formación profesional, brindandome en todo momento su valiosísimo tiempo, confianza, apoyo y sobre todo su amistad; además de transmitirme parte de su enorme conocimiento y experiencia.

Al Dr. Ronald Ferrera-Cerrato Jefe del Area de Microbiología (PROEDAF) del Colegio de Postgraduados, por su absoluto apoyo y acertada e indispensable asesoría durante el desarrollo de esta investigación y por permitirme ser parte de su excelente grupo.

A los compañeros tesisistas de Micorrizas y Fijación de Nitrógeno, así como a los académicos Jesús Perez-Moreno, Juan José Almaraz Suárez, Alejandro Alarcón, Andres Ortiz Catón, por sus atinados comentarios y sugerencias a este trabajo.

A todo el personal laboral y administrativo del Area de Microbiología, por su puntual colaboración, durante el desarrollo de esta investigación.

Un agradecimiento muy especial al eficiente personal del centro de computo del Area de Microbiología: Sandy, Juan y Benito, por su valiosísimo apoyo e inagotable paciencia para su servidor * **GRACIAS AMIGOS** *

A mis amigos de toda la vida por que me honran con su amistad y su música, la cual siempre llevo conmigo como un alimento para mi espíritu que lucha por ser cada día mejor en todos los aspectos de la vida.

*La sabiduría exalta a sus hijos
y acoge a los que la buscan.*

*El que la ama, ama a la vida,
y los que madrugan para salir a su
encuentro, serán llenos de alegría.*

*El que la abraza heredará la gloria,
y por donde vaya le bendecirá el Señor
Los que la sirven, sirven al Santo
y el Señor ama a los que la aman.*

*El que la escucha juzgará a las naciones
y el que se allega a ella, habitará confiado.*

*Si te confías a ella, la tendrás por heredad
y tus descendientes la poseerán.*

*Hijo mío, desde tu mocedad date a la doctrina
y hasta tu ancianidad hallarás sabiduría*

*Allegate a ella como ara y siembra el labrador
y espera buenos frutos*

*Sigue su rastro y se te dará a conocer
y una vez apresada, no la sueltes;
Por que al fin hallarás en ella,
tu descanso y tu gozo.*

CONTENIDO

	Pag.
INDICE DE CUADROS	i
CUADROS DEL APENDICE	ii
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III.HIPOTESIS	4
IV.REVISION DE LITERATURA	5
1.- Portainjertos	5
1.1. Portainjertos de los principales países productores de cítricos	6
1.2. Características de los portainjertos utilizados en el presente trabajo	6
2.- Cultivo de tejidos	8
2.1. Uso e importancia del cultivo de tejidos	8
2.2. Fases del cultivo de tejidos	9
2.2.1. Establecimiento	9
2.2.2. Multiplicación	9
2.2.3. Enraizamiento	9
2.2.4. Trasplante	9
2.3. Antecedentes del cultivo de tejidos en cítricos	10
3.- Rizosfera	11
3.1. Micorrizosfera	12
4.- Micorriza	13
4.1. Clasificación	13
5.- Endomicorriza Arbuscular (EMA)	14
5.1. Generalidades	14
5.2. Distribución	15
5.3. Taxonomía	16
5.4. Morfología y Fisiología de la EMA	17
5.5. Nutrición mineral	19
5.5.1 Fósforo	19
5.6. Colonización endomicorrizica	20
5.7. Factores que afectan la simbiosis	22
6.- Importancia de la endomicorriza arbuscular en frutales	23

7.- Interacción Cítricos - Endomicorriza-arbuscular	25
7.1. Efecto sobre crecimiento	25
7.2. Efectos fisiológicos	26
7.3. Dependencia micorrizica en cítricos	27
8.- Interacción Hongos endomicorrízicos arbusculares - cultivos micropropagados	29
V. MATERIALES Y METODOS	31
1.- Material microbiológico	31
1.1. Cepas utilizadas	31
2.- Material vegetativo y su propagación <i>in vitro</i>	31
2.1. Portainjertos	31
2.2. Medio de cultivo empleado	32
2.3. Condiciones de incubación	32
3.- Establecimiento en invernadero	33
3.1. Sustrato	33
3.2. Manejo de plántulas durante el establecimiento	33
3.3. Proceso de inoculación	34
3.4. Proceso de aclimatación	34
4.- Diseño experimental	35
4.1. Simbología y tratamientos utilizados	35
4.2. Variables evaluadas	36
4.2.1. Fase 1. Inoculación durante el establecimiento	36
4.2.2. Fase 2. Inoculación durante el trasplante	36
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	38
1. Fase 1: Inoculación durante el establecimiento	38
2. Fase 2: Inoculación durante el trasplante	55
VII. CONCLUSIONES	72
Inoculación durante el establecimiento	72
Inoculación durante el trasplante	72
Conclusiones generales	73
VIII. BIBLIOGRAFIA	74
IX. APENDICE	89

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Efectos primarios y secundarios del patrón sobre la variedad injertada	5
Cuadro 2.- Tipos de micorriza y su distribución en el reino vegetal.	14
Cuadro 3.- Clasificación taxonómica de los hongos endomicorrizicos	17
Cuadro 4.- Porcentaje de supervivencia, durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados	38
Cuadro 5.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el establecimiento, en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados.	39
Cuadro 6.- Efecto del tratamiento, en la supervivencia durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados	40
Cuadro 7.- Efecto del tiempo en la supervivencia durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados	40
Cuadro 8.- Efecto de la inoculación durante el establecimiento, en el volumen radical de tres portainjertos de cítricos micropropagados (120 días)	46
Cuadro 9.- Colonización endomicorrizica a 120 días de la inoculación y establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados.	47
Cuadro 10.- Área foliar (AF), Peso seco (PS) y Volumen radical (VR) de Citrange carrizo a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento	51
Cuadro 11.- Concentración (%) y contenido de fósforo foliar (mg g ⁻¹) de Citrange carrizo a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento	52
Cuadro 12.- Colonización endomicorrizica a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento de Citrange carrizo	53
Cuadro 13.- Porcentaje de supervivencia en la fase de inoculación durante el trasplante, de tres portainjertos de cítricos micropropagados	55
Cuadro 14.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el trasplante, en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados	56
Cuadro 15.- Efecto del tratamiento, en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el trasplante	57
Cuadro 16.- Efecto del tiempo en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el trasplante	57
Cuadro 17.- Peso seco de plantas micorrizadas y plantas no micorrizadas, de tres portainjertos de cítricos micropropagados a 150 días de la inoculación y trasplante	63
Cuadro 18.- Volumen radical de tres portainjertos de cítricos inoculados con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el trasplante (150 días)	66
Cuadro 19.- Colonización endomicorrizica a 150 días de la inoculación y trasplante de tres portainjertos de cítricos micropropagados	71

CUADROS DEL APENDICE

Cuadro A1.- Medio de cultivo empleado en cada una de las fases de propagación in vitro de cítricos	89
Cuadro A2.- Porcentaje de colonización y número de esporas de las cepas utilizadas en este trabajo	90
Cuadro A3.- Análisis de las propiedades físicas y químicas del sustrato utilizado	90
Cuadro A4.- Solución nutritiva de Hoagland, utilizada para la aplicación de fósforo	91
Cuadro A5.- Fórmula de Dependencia Micorrízica (DM)	91

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1.- Diferentes regiones que forman la rizosfera	12
Fig. 2.- Estructuras típicas de la endomicorriza arbuscular	18
Fig. 3.- Representación esquemática de la exploración en el suelo por raíces micorrizadas y no micorrizadas.....	24
Fig. 4.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento, en la altura de tres portainjertos de cítricos micropropagados. a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo	42
Fig. 5.- Diámetro de tallo de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento (120 días)	43
Fig. 6.- Área foliar de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento (120 días)	44
Fig. 7.- Peso seco de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento (120 días)	45
Fig. 8.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento, en la altura de Citrange carrizo a 250 días	49
Fig. 9.- Diámetro de tallo de Citrange carrizo a 250 días del establecimiento e inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares	50
Fig. 10.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento, en el contenido (mg g ⁻¹) de fósforo en el follaje y colonización (%) de Citrange carrizo a 250 días	53
Fig. 11.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares durante el establecimiento, en la altura de tres portainjertos de cítricos micropropagados: a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo	59
Fig. 12.- Diámetro de tallo de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares, durante el trasplante: a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo	61
Fig. 13.- Área foliar de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el trasplante (150 días)	62
Fig. 14.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizos arbusculares durante el trasplante, en el peso seco y dependencia micorrizica (DM) de tres portainjertos de cítricos micropropagados	65
Fig. 15.- Tasa fotosintética de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el trasplante: a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo	68
Fig. 16.- Contenido (mg g ⁻¹) de fósforo en el follaje de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizos arbusculares durante el trasplante (150 días)	69

RESUMEN

En este trabajo, se evaluó una alternativa biológica de adaptación y desarrollo de cítricos micropropagados, basada en la inoculación de hongos endomicorrizicos-arbusculares, con el fin de conocer su potencial benéfico en la propagación de cítricos a nivel vivero.

Plantas de tres portainjertos micropropagados de cítricos tolerantes al (VTC): Dragón volador (*Poncirus trifoliata*), Citrange troyer y Citrange carrizo (*Poncirus trifoliata* L. Raf. x *Citrus sinensis* L. Osbeck); fueron inoculados con tres hongos endomicorrizicos, utilizándose suelo-inóculo con raíces colonizadas de las siguientes cepas: *Glomus* sp. Zac-19 (83.7%), *Glomus aggregatum* (74.6%) y *Glomus intraradix* extranjera (68.5%), durante el establecimiento (30 días de aclimatación + 90 días) y trasplante (150 días).

Ambas fases fueron evaluadas en condiciones de invernadero, para lo cual se utilizó una mezcla de suelo agrícola, arena y agrolita en proporción 1:2:1 v/v, con un diseño experimental completamente al azar con 12 tratamientos y 15 repeticiones durante el establecimiento y 12 repeticiones durante el trasplante.

A 120 días de inoculación y establecimiento, Citrange carrizo obtuvo la mayor supervivencia de los tres portainjertos (83.3%), perteneciendo a plantas inoculadas con *Glomus intraradix* el mayor porcentaje; Dragón volador presentó 64.9% con la mayor supervivencia en plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19; mientras que Citrange troyer obtuvo la más baja (29.9%) y menor supervivencia en plantas inoculadas.

A 120 días de la inoculación, plantas de Dragón volador y Citrange troyer inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, presentaron incrementos respecto al testigo en: altura (215 y 268%), diámetro de tallo (97 y 42%), área foliar (15,000 y 2,600%), peso seco (1,800 y 700%) y volumen radical (260 y 210%) respectivamente, observándose una correlación positiva entre efectividad e infectividad, de acuerdo a en ambos portainjertos la colonización fué > 48%.

Aunque Citrange carrizo obtuvo la mayor supervivencia en plantas inoculadas a 120 días del establecimiento, los efectos de la inoculación en su desarrollo fueron tardíos, en las plantas inoculadas con *Glomus intraradix* a 250 días, obtuvieron incrementos respecto al testigo en: altura (450%), diámetro de tallo (155%), área foliar (1,600%), peso seco (2,200%), volumen radical (1,200%) y contenido de fósforo foliar (190%).

En la segunda fase a 120 días de la inoculación y trasplante, Citrange troyer obtuvo la mayor supervivencia (87.5%) con los mayores porcentajes en plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19; Citrange carrizo obtuvo 75.0% con el mayor porcentaje al inocular *Glomus intraradix*; mientras que Dragón volador presentó 67.0% de supervivencia.

A 150 días del trasplante, Citrange troyer inoculado con *Glomus* Zac-19 presentó el mayor beneficio de la inoculación, con incrementos significativos respecto al testigo en: altura (280%), diámetro de tallo (110%), área foliar (1,100%), peso seco (1,140%), volumen radical (390%) tasa fotosintética (520%); además, este portainjerto obtuvo el mayor contenido de fósforo foliar (2.5 mg g⁻¹) de plantas inoculadas, respecto a su testigo (0.7 mg g⁻¹) y colonización en el siguiente orden: *Glomus* sp. Zac-19 > *G. intraradix* > *G. aggregatum*.

En Citrange carrizo los hongos tuvieron efectos estadísticamente similares entre sí y diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) respecto a su testigo, con un nivel de colonización en el siguiente orden: *Glomus intraradix* > *Glomus aggregatum* = *Glomus* sp. Zac-19.

La dependencia micorrízica de los portainjertos evaluados se dio de la siguiente manera: Citrange carrizo > Citrange troyer > Dragón volador.

Concluyendo, la inoculación endomicorrízica en las dos etapas evaluadas, resultó indispensable para el crecimiento y desarrollo de los portainjertos, de los cuales, Citrange troyer inoculado con *Glomus* sp. Zac-19, resultó la combinación más eficiente y con grandes posibilidades de éxito en programas de propagación de cítricos en vivero.

I. INTRODUCCION

Las especies cultivadas de cítricos son un grupo muy importante de frutas producidas en las regiones subtropicales y tropicales (Ochse *et al.*, 1982); originarios del sud-este de Asia, donde se inició su propagación en el primer milenio de nuestra era (Loussert, 1992).

Las principales regiones productoras se localizan en los subtropicos, aunque su cultivo abarca más de 90 países alrededor del mundo (Krezdorn, 1988). La producción mundial de cítricos, en el ciclo 91-92, se calculó en 70.8 millones de toneladas, siendo los principales productores : Brasil, Estados Unidos, China, España y México, los cuales aportaron el 55.6% de la producción mundial (SARH, 1994).

México ocupa el quinto lugar como productor de cítricos y el cuarto lugar en producción de naranja con 5.1 y 4.9% de la producción mundial respectivamente, con una superficie estimada en 340,000 hectáreas, de las cuales 63% corresponden a naranja, el 23% a limón y el resto a otras especies cítricas como toronja y mandarina (SARH, 1994).

Actualmente, existen problemas potenciales que pueden ocasionar un colapso serio en la citricultura nacional, como el "Virus de la Tristeza de los Cítricos" (VTC); la cual es de las enfermedades virales más importantes que afectan a estas especies a nivel mundial, disminuyendo gradualmente el rendimiento y la calidad de los frutos, matando a los árboles en un corto período. A nivel mundial, se calculan cerca de 50 millones de árboles perdidos o improductivos a consecuencia de esta enfermedad (SARH, 1993). Los daños ocasionados por el VTC están estrechamente vinculados con la utilización del naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) como portainjerto, puesto que las variedades comerciales, sólo son sensibles a la enfermedad cuando son injertadas sobre éste patrón (Praloran, 1977 y SARH, 1993).

Algunos países como Estados Unidos, renuevan constantemente sus plantaciones de cítricos incorporando variedades cada vez más tolerantes al VTC (Lee, 1994), lo cual representa una ventaja respecto a México, donde naranjo agrio es el portainjerto tradicional (FIRA, 1989) y la mayoría de las plantaciones alcanzan entre 30 y 40 años, existiendo una urgente necesidad de sustituir patrones y renovar plantaciones a nivel nacional.

Una medida cultural para la prevención de brotes de infección, es la utilización de patrones tolerantes al VTC como: Citrange troyer y Citrange carrizo (*Poncirus trifoliata* L. Raf. x *Citrus sinensis* L. Osbek), entre otros (González *et al.*, 1986 ; SARH, 1993); los cuales propagados por cultivo *in vitro*, técnica de gran aplicabilidad en la multiplicación rápida y masiva de materiales vegetales; puede representar una alternativa, con la cual también se garantiza la obtención de plantas libres de enfermedades.

En los viveros donde se puede asegurar plantaciones o huertos sanos y de alta calidad, resulta importante también considerar modificaciones en su manejo (Ferreira-Cerrato y González Chávez, 1993 a); como el uso de hongos endomicorrizicos-arbusculares de los que su estudio, cobra cada vez más importancia mediante el conocimiento de sus efectos sobre la nutrición y la fisiología de las plantas. Estos son aspectos de vital interés en la comprensión de la importancia de estos organismos en la naturaleza y que permitirá el aprovechamiento efectivo de sus propiedades como fertilizante biológico (Bouza 1989).

II. OBJETIVOS

GENERALES

Evaluar el potencial benéfico de los hongos endomicorrízicos-arbusculares en portainjertos de cítricos micropropagados; con el fin de promover su utilización como alternativa biotecnológica de la propagación y producción cítrica.

Aprovechar algunas ventajas de la micropropagación o cultivo *in vitro*, en la propagación de especies de importancia económica como los cítricos.

PARTICULARES

Analizar el efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos-arbusculares, en la supervivencia, crecimiento, desarrollo y procesos fisiológicos, durante el establecimiento y trasplante de tres portainjertos de cítricos de cultivo *in vitro*.

Conocer la(s) combinación(es) portainjerto-hongo endomicorrízico-arbustular más eficiente(s), tanto en la fase de establecimiento como en la de trasplante; con el fin de proponer su utilización en programas de propagación de cítricos a nivel vivero.

Determinar el grado de dependencia micorrízica de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

III. HIPOTESIS

La inoculación con hongos endomicorrizicos-arbusculares durante la etapa temprana de desarrollo de portainjertos de citricos micropropagados, estimula la proliferación de raíces, lo cual favorece la aclimatación y supervivencia de las plántulas.

Los hongos endomicorrizicos-arbusculares incrementan el crecimiento y desarrollo de las plántulas micropropagadas, al participar en el proceso de nutrición de las mismas.

La inoculación endomicorrizica durante el trasplante de portainjertos de citricos, garantiza la obtención de patrones sanos y de características deseables para su utilización, en menor tiempo al requerido comunmente.

IV. REVISION DE LITERATURA

1.- Portainjertos

El uso de portainjertos en cirrcultura, permite la adaptación de especies y variedades en diferentes tipos de suelo y clima (Gravina, 1989). El metabolismo de los dos individuos unidos, produce influencias modificadoras en la variedad injertada (Friedrich, 1984), llegando a afectar más de 20 características, entre estas: calidad de la fruta, adaptación al frío, sequía, salinidad, susceptibilidad o resistencia a patógenos y plagas (Castle, 1988).

Cada patrón, ofrece en combinación con distintas especies y variedades ciertos grados de conveniencia o inconveniencia en muy diferentes aspectos, que determinan su posibilidad de elección (Calderón, 1985).

Algunas de las características más importantes que deben considerarse en un portainjerto son: compatibilidad, adaptación a condiciones climáticas adversas, resistencia a plagas y enfermedades, facilidad de propagación, peculiaridades de desarrollo y tamaño (Ochse *et al.*, 1982).

La influencia ejercida por el patrón en la variedad injertada, causa efectos principales y secundarios (ver Cuadro 1).

Cuadro 1.- Efectos primarios y secundarios del patrón sobre la variedad injertada (Friedrich, 1984).

Efectos Primarios		Efectos Secundarios
Vigor	Generativos	Comienzo de fertilidad
Eativos	floración	Nivel y curso de fertilidad
Vigor de desarrollo	Inicio de floración	Tamaño de fruto
Longevidad	floración	Color de fruto
Capacidad de resistencia	Terminación de brotación	Curso de maduración
	Forma de fruto	
	Contenido de sustancias en la savia.	

1.1.- Portainjertos de los principales países productores de cítricos

Los portainjertos más utilizados en el mundo son : naranjo agrio, limón rugoso, Citrange troyer, Citrange carrizo y naranjo trifoliado; otros de menor importancia son: mandarina Cleopatra y *Citrus macrophylla* (Castle, 1988).

Brasil. De 150 millones de plantas cítricas, 93 millones en el estado de Sao Paulo estan injertadas en el portainjerto limero Rangpur (*Citrus limonia* Osbeck); además, en suelos ligeros de Brasil, se utiliza el portainjerto limón rugoso (Sampson,1991).

Estados Unidos. Actualmente Citrange troyer, es el principal portainjerto en California; mientras que en Texas y Florida, Citrange carrizo es el más utilizado (Sampson, 1991).

España. Es el primer productor europeo; en sus plantaciones existe un solo patrón, que es el naranjo agrio; sin embargo debido a problemas de enfermedades virósas como "Tristeza", se estan formando nuevas plantaciones con portainjertos tolerantes a éste virus.

México. En nuestro país, el naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) es el más utilizado en las especies comerciales (PIISCI, 1991). Con el fin de encontrar alternativas en productividad y resistencia al VTC, se han evaluado portainjertos como: Citrange troyer, Citrange carrizo y mandarina Cleopatra, encontrándo que estos igualan o superan al naranjo agrio en producción y calidad (González *et al.*,1986).

1.2.- Características de los portainjertos utilizados en el presente trabajo

a) Citrange troyer (*Poncirus trifoliata* L. Raf. x *Citrus sinensis* (L). Osbeck).

Este portainjerto fué obtenido en 1909 por E.M. Savage en Riverside Cal., polinizando flores de Washington navel (*Citrus sinensis* (L) Osbeck), con polen de *Poncirus trifoliata* (L)

Raf.; es el patrón de cítricos más ampliamente utilizado y se considera como tolerante a VTC, psorosis y xiloporosis, con moderada resistencia a *Phytophthora sp.* pero sensible a exocortis (Forner-Valero, 1984); tiene buena afinidad con todas las variedades cultivadas, induciendo vigor, precocidad en la producción y frutas de buena calidad (Ramírez, 1986).

b) Citrange carrizo (*Poncirus trifoliata* L. Raf. x *Citrus sinensis* L. Osbeck).

Este patrón procede vegetativamente del mismo híbrido que originó al Citrange troyer, por lo que morfológicamente son iguales (Ramírez, 1986). Se obtuvo por hibridación y ha demostrado valor como portainjerto. Actualmente está sustituyendo al naranjo agrio como patrón para naranja en áreas donde es necesaria la tolerancia al VTC (Ochse *et al.*, 1982). En los últimos 20 años ha tomado gran importancia, debido a su adaptación a distintas condiciones edáficas, exceptuando suelos con alto contenido de calcio (11-12%). Presenta susceptibilidad a exocortis, sequía, salinidad del suelo y frío (Castle, 1988); además denota rápidamente deficiencia de elementos menores (Palacios, 1978). La producción y calidad del fruto resulta excelente, superando al portainjerto naranjo agrio, sobre todo, cuando se utiliza como patrón para limonero (Viveros 1985 y Padrón-Chavez, 1990).

c) Dragon volador (*Poncirus trifoliata*).

Este portainjerto produce semillas gordas y pesadas, las cuales germinan fácilmente, las plántulas crecen bastante lento y el 50%; presentan un crecimiento torcido. Este trifoliado, es uno de los más resistentes al frío y comparte algunas cualidades de resistencia con la variedad injertada y con el vástago descendiente; es considerado tolerante a gomosis, pudrición de la raíz, xiloporosis y al VTC. Los rendimientos de naranja y mandarina sobre este trifoliado son buenos y de excelente calidad, con alto contenido de ácido, sólidos solubles y jugo. La maduración ocurre antes que en el portainjerto de naranja dulce, lo cual es una tendencia en favor de la fruta producida sobre este portainjerto (Mc/Carty y However, 1982).

2.- Cultivo de tejidos.

El cultivo de tejidos, micropropagación o propagación *in vitro*, se define como un método de propagación, que consiste en cultivar en medios nutritivos adecuados y condiciones asépticas, pequeñas fracciones de tejidos vegetales como: ápices de raíz y de tallo, primordios de hoja, primordios o partes inmaduras de flores, frutas, órganos aislados, embriones maduros o inmaduros, segmentos de órganos de tallo y hoja y algunas veces ovarios, óvulos, anteras y polen (Hurtado, 1987).

La micropropagación, se basa en la totipotencia celular, que es la capacidad que tienen las células vegetales de reconstruir a partir de algunas de ellas, organismos similares a los que pertenecen, lo cual constituye la base de la multiplicación clonal; donde las plántulas producidas, son fenotípica y genotípicamente idénticas a la planta de la que se derivan.

La micropropagación, difiere sobre los sistemas tradicionales (estacas, acodos etc.), por la eficiencia con la que son obtenidas las plantas; además en ocasiones es asociada con producción en masa a precio competitivo (Deberg y Zimmerman, 1991).

2.1.- Uso e importancia del cultivo de tejidos

1) Propagación rápida de clones

Este método ofrece la oportunidad de incrementar rápidamente nuevas selecciones, que se evalúan en campo a corto plazo.

2) Desarrollo, mantenimiento y distribución de clones libres de organismos patógenos

El control de organismos patógenos en plantas madre, se facilita mediante el sistema *in vitro*; su aplicación principal es la combinación de la multiplicación rápida con programas de control de organismos patógenos.

3) Preservación de germoplasma agronómico y silvestre

De esta manera se puede preservar la variabilidad genética de la mayoría de las plantas cultivadas y silvestres.

2.2.- Fases del cultivo de tejidos

a) Establecimiento

La función de esta etapa es cultivar un explante (el tejido tomado de su sitio original) y transferirlo a un medio de cultivo estéril, para crecimiento y/o mantenimiento.

b) Multiplicación

En esta etapa se incrementa el número de propágulos, para su enraizamiento posterior. La multiplicación depende de la producción continua de brotes axilares o de la iniciación de brotes adventicios en la base de los tallos.

c) Enraizamiento

Esta etapa consiste en poner los explantes en un medio para promover y favorecer su enraizamiento; este período puede transcurrir en un tiempo de 2 a 4 semanas.

d) Trasplante

Abarca la transferencia de la plantita del medio aséptico, al ambiente de invernadero y luego a su sitio final. Al principio de esta etapa, la plantita puede estar enraizada o no. En ambos casos, la plántula pasa por un período de aclimatación (Hartman y Kester, 1989).

2.3.- Antecedentes del cultivo de tejidos en cítricos

Ploper *et al.* (1977), comentaron que las experiencias iniciales sobre el cultivo *in vitro* de cítricos, las obtuvieron Sobrinho y Gurgel en 1963, con embriones inmaduros, logrando crecimiento de estos hasta de 2 mm en una solución de Sachs.

Los estudios de Murashige (1969), citado por Button y Kochba (1977), determinaron que para la organogénesis y el crecimiento de cítricos, las condiciones de cultivo es mantener una intensidad luminosa de 3,000 luxes, por un periodo diario de 12 a 16 hrs a una temperatura de 25-30 °C.

En la proliferación de cítricos, se ha reportado variación en la habilidad para regenerar plántulas *in vitro*, como función del origen y madurez del explante, dependiendo de la edad, posición y época del año. Por otra parte, se ha generalizado el uso del medio de cultivo de Murashige y Skoog (1962), en el establecimiento de secciones vegetativas, variando según la fase los complementos y la concentración nutrimental (Rodríguez, 1986)

Rodríguez (1986), comentó que el éxito de la propagación *in vitro* radica en el origen y edad del órgano, método de desinfección, época del año en que se obtiene, tamaño del explante, los cuales son factores que pueden hacer al material fisiológicamente heterogeneo, provocando que en la proliferación y enraizamiento haya variación de respuesta. Al respecto Raj-Bhansali y Aria (1978), comentaron que los tejidos provenientes de partes jóvenes de plantas, presentan mayor capacidad generativa que tejidos adultos.

El establecimiento de plantaciones con clones vegetativamente propagados son limitados en ocasiones, por la presencia de patógenos, por lo que actualmente algunos países productores de cítricos han establecido programas de liberación de material clonal que son reportados libres del VTC, al haber sido micropropagados de meristemos, obteniendo plántulas para portainjerto *in vitro* (Zimmerman, 1989).

3.- Rizosfera

Lorenz Hiltner, introdujo en 1904 el término Rizosfera, para describir la porción del suelo inmediata a las raíces, que es directamente influida por sustancias provenientes de éstas en la solución del suelo. (Barea y Azcón-Aguilar, 1982 a y García, 1987). En la rizosfera de las plantas se llevan a cabo importantes procesos que definen el desarrollo y la producción de las plantas, mediante el flujo de compuestos producto de la fotosíntesis, que son exudados por la raíz haciendo de este lugar un sitio ideal para la proliferación de una gran variedad de microorganismos, que tienen diferentes funciones relacionadas con las plantas (Ferrera-Cerrato, 1995) (Fig. 1).

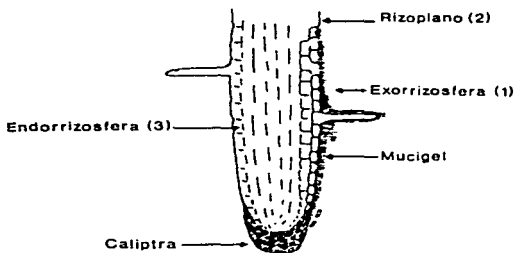


Fig.1.-Diferentes regiones que forman la rizosfera (Ferrera-Cerrato, 1995)

1) Ectorrizosfera; zona alrededor de la raíz; 2) rizoplasma, superficie de la raíz; 3) endorrizosfera, involucra a la epidermis y a células corticales de la raíz (Ferrera-Cerrato, 1989; Campbell y Greaves, 1990); en estas zonas se encuentran compuestos exudados por la raíz, que liberan las plantas mediante efectos físicos y ambientales (Clapp *et al.*, 1990).

Los principales organismos que se encuentran en la rizosfera, son hongos, bacterias, actinomicetos, algas, protozoarios, nemátodos e insectos. Por su parte, los tipos de exudados que frecuentemente se encuentran son: azúcares, aminoácidos, péptidos, enzimas, vitaminas, ácidos nucleicos, celulosa, lignina, mucilagos, hormonas, lisatos, gases, flavinas, sustancias del tipo de saponinas, ácido cianhídrico, glucósidos, entre otros (Foster, 1986 y Anderson, 1988).

El efecto rizosférico como proceso dinámico, tiene como causa primaria la presencia de compuestos solubles e insolubles, que se liberan tanto de las células vivas como muertas de la raíz (Barea y Azcón-Aguilar, 1982 a). Las sustancias orgánicas que se encuentran disponibles, influyen directa o indirectamente sobre los microorganismos que habitan en la rizosfera (Ferrera-Cerrato, 1989).

3.1. Micorrizosfera

Se define como la zona de influencia que tiene efecto sobre los procesos físicos, químicos y microbiológicos en la raíz asociada con hongos micorrizicos. Cuando se establece la micorrización en la raíz, la relación simbiótica entre planta-hongo influye significativamente en la fisiología y morfología de la raíz y de la planta en general (Ferrera-Cerrato, 1989).

Los exudados de raíz establecen cambios en la población microbiana, al elevar cuantitativamente el contenido de hongos micorrizicos, resultado de la interacción metabólica directa de la rizosfera con la hifa micorrizica o por efectos indirectos dado por el hospedante (Linderman, 1988). Las interacciones microbianas en la micorrizosfera influyen en el crecimiento y la resistencia a enfermedades de las plantas; algunas asociaciones de bacterias con las micorrizas, incrementan el crecimiento vegetal, debido a efectos micorrizicos sobre el metabolismo y función bacteriana (Linderman, 1993).

4.- Micorriza

La palabra micorriza, fué introducida por Frank en 1885 y proviene del griego *mikes* = hongo y *rhiza* = raíz es decir hongo de raíz (Powell, 1976). Es un órgano especializado en forma de raíces, producto de la asociación simbiótica mutualista de ciertos hongos del suelo con las raíces de las plantas superiores; la expresión principal de esta simbiosis es la nutrición vegetal (Janerette, 1991).

La abundancia e influencia de la micorriza resulta de gran trascendencia fisiológica y ecológica para el buen funcionamiento y estabilidad de las comunidades vegetales (Deacon, 1980; Ferrera-Cerrato, 1989 y Jaen, 1989).

4.1.- Clasificación

Frank (1885), clasificó a las micorrizas en dos tipos: ectótrofa y endótrofa. Peyronel (1969), propuso la siguiente división: ectomicorriza, endomicorriza y ectoendomicorriza; Lewis (1973), dividió la endomicorriza de la siguiente forma:

- a) vesículo-arbuscular
- b) ericáceas
- c) orquidáceas

La clasificación de Harley y Smith (1983), basada en función de: la penetración del hongo a las células del hospedante, la formación de estructuras fúngicas y los simbiontes involucrados; fué complementada por Marks (1991), considerando también su distribución en el reino vegetal (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Tipos de micorriza y su distribución en el reino vegetal (Marks, 1991).

TIPO DE MICORRIZA	INTERACCIÓN CON SU HOSPEDANTE	HOSPEDANTE QUE ABARCA
Endomicorriza Arbuscular	Desarrollo de hifas enrolladas y arbuscúlos intracelulares.	Representatividad en muchos grupos del reino vegetal.
Ectomicorriza	Hifas intercelulares, en forma de puente.	Gimnospermas Angiospermas
Ectoendomicorriza	Hifas inter e intracelulares, con cubierta o sin ella.	Gimnospermas Angiospermas
Arbuscúloide	Cubierta intercelular; hifas intracelulares enrolladas.	Muy restringida Ericales
Nonotropoide	Cubierta inter e hifas intracelulares y haustorios en forma de estacas.	Muy restringida Monotropaceae
Ericoide	No produce manto, no presenta hifas intercelulares, sólo hifas largas intracelulares.	Muy restringida Ericales
Orquídoide	Sólo produce hifas intercelulares enrolladas.	Muy limitada Orchidaceae

5.- Endomicorriza-arbuscular (EMA)

5.1.- Generalidades

Los hongos endomicorrízicos forman parte integral de más del 90% de las plantas superiores (González-Chavez, 1995), a las cuales influyen en diversos aspectos de su fisiología: nutrición vegetal (Sieverding, 1991 a), aprovechamiento del agua (Nelson, 1987), producción de fitohormonas (Allen *et al.*, 1982), resistencia a enfermedades radicales (Perrin, 1990) y tolerancia al estrés hídrico (González-Chávez, 1993), mediante la asociación resultado de la colonización de sus raíces (Gianninazzi *et al.*, 1990), esta asociación es de carácter mutualista y benéfica para ambos (Ocampo, 1980).

Los hongos endomicorrízicos presentan diferentes estructuras como: hifas, esporas, arbuscúlos intracelulares ramificados complejos en el interior de las células vegetales y vesículas inter o intracelulares largas e hinchadas (Fig. 2), excepto en los géneros: *Gigaspora* y *Scutellispora* (González-Chávez, 1993; Deacon, 1980; Morton y Benny, 1990).

Los hongos endomicorrízicos arbusculares son constituyentes de la microflora natural del suelo en ecosistemas naturales (Jaen, 1989), por lo que influyen en la composición microbiana de casi todos los suelos (González, 1993 a). Rotwell (1984), mencionó que los hongos endomicorrízicos participan en la unión de partículas del suelo, dando como resultado agregados estables al humedecimiento, lo que se refleja en una mejor estructura del suelo.

Existen diferentes grados de micotrofia en las plantas a la acción fisiológica, funcional y nutricional de los hongos endomicorrízicos-arbusculares; en algunas plantas es tan fuerte dependencia del endófito, que no sobreviven si no son colonizadas por este tipo de hongos (Janos, 1980).

Los propágulos endomicorrízicos se encuentran en cualquier época del año, en raíces de plantas anuales, perennes, herbáceas y leñosas (González, 1993) y pueden estar ausentes en suelos erosionados, fumigados y perturbados (Abbott y Robson, 1991).

5.2.- Distribución

Los hongos endomicorrízicos se presenta de los trópicos hacia el ártico; sin embargo, en los trópicos la endomicorriza arbuscular es predominante (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989). Las variaciones existentes de presencia y distribución de estos hongos está relacionada con la planta hospedante (Mc Graw y Kormanik, 1982). Este sistema raíz-hongo puede presentarse en diversas áreas ecológicas como: áreas cultivadas y vírgenes, bosques, pantanos, etc. (González-Chávez, 1993), pero no en comunidades de plantas acuáticas, o en lugares donde existen árboles los cuales, son ectomicorrizados y no permiten crecer a otras plantas (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989).

Por otra parte, aún cuando la asociación endomicorrízica en cítricos fué reportada hace varias décadas, poco se conoce de la distribución de la endomicorriza arbuscular en suelos cultivados con cítricos.

Investigadores como Davis (1982), Nemeč *et al.*, (1981), Tzean y Huang (1980), realizaron trabajos sobre la ocurrencia de hongos micorrízicos en suelos cultivados de cítricos y encontraron en California, Florida, Texas y Taiwan, que de las especies que forman micorriza con especies de cítricos, 12 de estas pertenecen al género *Glomus*, siendo el más común en suelos cultivados (Nemeč, 1981).

5.3.- Taxonomía

La simbiosis endomicorrízica-arbuscular es formada por un grupo de hongos de la clase Zigomicetos (Mosse *et al.*, 1981).

Gerdemann y Trappe (1974), realizaron la primer revisión de la familia Endogonaceae, formadora de endomicorriza, basándose en características morfológicas y de germinación y presentaron los géneros: *Glomus*, *Endogone*, *Modicella*, *Scleroecystis* y describieron los géneros: *Acaulospora* y *Gigaspora*, dando un total de 43 especies, ubicándolas en el orden Mucorales y clase Zygomicetos.

Janos (1984), reportó cuatro géneros de hongos de la familia Endogonaceae, que tenían especies formadoras de micorriza: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* y *Scleroecystis*; además de los géneros: *Entrophospora* y *Scuttilospora*. Pirozynski y Dalpé (1989), describieron una nueva familia, la Glomaceae, conteniendo dos géneros: *Glomus* y *Scleroecystis*.

Morton y Benny (1990), enmendaron a la familia Glomaceae y eligieron un nuevo orden: Glomales y dos nuevas familias: Acaulosporaceae y Gigasporaceae; dando a conocer la siguiente clasificación taxonómica (Cuadro 3).

Cuadro 3.- Clasificación taxonómica de los hongos endomicorrízicos (Morton y Benny, 1990).

Reino : Fungi División : Eumycota Sub div. : Zygomycotina Clase : Zygomycetes Orden : Glomales		
SUB ORDEN	FAMILIA	GENERO
Glomiales	Glomaceae	<i>Glomus</i> <i>Sclerocystis</i>
	Actinosporaceae	<i>Actinospora</i> <i>Entrophospora</i>
Gigasporineae	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i> <i>Scutellispora</i>

5.4.- Morfología y Fisiología de la EMA

Debido a que los hongos endomicorrízicos no crecen en cultivo puro por períodos largos, la información de su fisiología es obtenida de las estructuras fúngicas asociadas a la raíz (Fig. 2), donde el hongo es influenciado por la interacción simbiótica (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983).

Las hifas constituyen el aparato vegetativo o micelio, el cuál se extiende como una malla en el suelo (Carling y Brown, 1982), crecen fuera de la raíz, en forma dimórfica y se componen por una pared delgada irregular y no septada; por lo que pueden extenderse hasta 7 cm de la raíz (Rhodes y Gerdemann, 1975). Estas estructuras pueden ser intra o intercelular, además traslocan fósforo por difusión (Carling y Brown, 1982), penetran las células corticales, donde continúan creciendo, sin invadir la zona de crecimiento (meristemas), ni interfieren en el desarrollo normal de la raíz (Kinden y Brown, 1975 ; Moser y Haselwandfer, 1983).

El arbusculo se desarrolla dentro de las células en la parte más cercana al cilindro vascular, pudiendo desarrollarse más de un arbusculo en cada célula. Esta estructura inicia su desarrollo al penetrar la hifa en la pared celular del hospedante, la cual puede convertirse en el tronco del arbusculo (Carling y Brown, 1982), ya dentro de la célula del hospedante los arbusculos se ramifican en forma dicotómica, incrementando el área superficial y desempeñando un doble papel: al penetrar a las células del hospedante, pone a disposición las sustancias nutritivas que vienen del exterior de la raíz a través de las hifas; además trasloca los carbohidratos provenientes de la planta necesarios para el desarrollo del hongo (Kinden y Brown, 1975 ; Mosser y Haselwandfer, 1983).

Las vesículas, son estructuras terminales, ovaladas o esféricas, que ocupan el extremo de la hifa y contienen abundantes gotas de fosfolípidos, por lo que se les considera órganos de reserva (Bonfante, 1984).

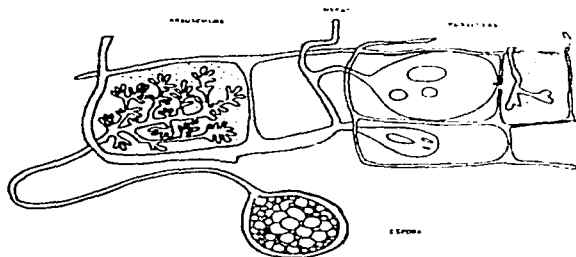


Fig.2.- Estructuras típicas de la endomicorriza-arbuscular (EMA) (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989).

5.5.- Nutrición mineral

En la asociación simbiótica planta-hongo participan: la fase biotrófica manifestada por la compatibilidad estructural y fisiológica entre los simbiontes y la habilidad de ambos para contribuir en su nutrición (Harley y Smith, 1983).

El principal efecto de la endomicorriza es la habilidad para captar y trasladar el fósforo asimilable del suelo a las plantas (Gerdemann, 1975); sin embargo, existen reportes de incrementos en la absorción de otros elementos como: Zn, S, Sr, K, Cu (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983).

5.5.1.- Fósforo

Las plantas micorrizadas pueden absorber fósforo del suelo más eficientemente que aquellas plantas no micorrizadas; además de que la eficiencia de los endófitos suele ser mayor cuando este elemento se encuentra en concentraciones bajas (Janerette, 1991). Esta eficiencia difiere de acuerdo a la capacidad para colonizar la raíz del hospedante, de su desarrollo extensivo en el suelo y de la capacidad del micelio externo para absorber fósforo del suelo y trasladarlo al tejido radical (Gianinazzi-Pearson, 1985), lo cual queda reflejado en el crecimiento de las plantas (Cress *et al.*, 1979).

El movimiento del fósforo se da por difusión a través del sistema de hifas (Mosse, 1973) y es trasladado como gránulos de polifosfato dentro del tejido de la raíz cuando el arbúsculo es degradado (Carling y Brown, 1982).

Algunos investigadores han encontrado que aplicación de altas concentraciones de fósforo a la rizósfera de plantas de cítricos, inhibe la colonización micorrizica en raíces (Bouza, 1989) y reduce o inhibe la producción de esporas de hongos endomicorrizicos (Timmer y Leyden, 1980).

Menge *et al.*, (1978 b), al inocular naranjo agrio Brazilian y Citrange troyer, con *Glomus fasciculatum* y fertilizar con fósforo en niveles de: 0, 6, 28, 56, 278 y 556 ppm; encontraron que las plántulas micorrizadas tenían una altura similar a la fertilizadas con 278 ppm de fósforo; además, estas plantas tuvieron incrementos significativos en peso seco respecto a las plántulas no micorrizadas y a las fertilizadas con: 0, 6, 28 y 56 ppm respectivamente. En base a los anteriores resultados, estos investigadores propusieron que la inoculación endomicorrízica en viveros de cítricos, puede reducir costos de fertilización hasta en dos tercios, sin disminuir el contenido de fósforo en las plantas.

5.6.- Colonización endomicorrízica

La colonización endomicorrízica en la raíz está en función de la especie vegetal y el tipo de exudados que ésta libera, ya que cada especie exuda compuestos característicos, los cuales estimulan el desarrollo de ciertos hongos. También influye el número de microorganismos presentes en el suelo y los factores físicos y químicos del mismo; los cuales, alteran la difusión de sustancias liberadas por la raíz (Campbell, 1987).

La distribución de la colonización endomicorrízica en campo es muy variable y el crecimiento del hongo esta correlacionado con el de la planta y es afectado por los períodos climáticos, que determinan el crecimiento activo, la captación de nutrimentos y la senescencia de la simbiosis (Allen, 1983).

La colonización endomicorrízica es baja en las etapas tempranas del desarrollo del hospedante, ya sea por ausencia de raicillas o bien por falta de carbohidratos disponibles para el hongo (Douds-Chaney, 1986). En relación a las vesículas y arbuscúlos, su aparición o presencia se determina por la etapa fenológica del hospedante (Allen, 1983). Al colonizar nuevas raíces, el hongo micorrízico produce arbuscúlos y hace posible el intercambio de nutrimentos; mientras que en las especies que forman vesículas, estas se desarrollan al final de la etapa de crecimiento (Vanduin *et al.*, 1989).

La colonización endomicorrízica reduce los efectos patológicos de las enfermedades que se dan a nivel de raíces, mediante la exclusión física de los sitios ya ocupados por el hongo (Hayman, 1980); esto debido a que la colonización provoca la producción de fitoalexinas e isoflavonoides, que son moléculas asociadas con el desarrollo de resistencia del hospedante hacia patógenos (Gianinazzi, 1991).

Por otra parte, Coleman y John (1983), afirmaron que una misma especie vegetal puede responder de diferente forma cuando las condiciones edáficas, biológicas y ambientales difieren; por ejemplo, *Geranium potentillaeifolium* en una asociación *Alnus firmifolia*-*Pinus hartwegii*, presentó porcentaje de colonización total de 78%, mientras que en una asociación *Pinus hartwegii*, fué de 21%, lo cual se atribuyó al estado fisiológico de la planta.

Graham y Fardelman (1986), al utilizar diferente densidad de inóculo de *Glomus intraradix* (como *G. intraradices*) en Citrange carrizo, señalaron que las densidades de: 20 y 40 mg de raíz colonizada en 100 cm³ de suelo, presentaron el mayor efecto sobre la colonización endomicorrízica, ya que se obtuvo un 100% de colonización; en cambio al disminuir la densidad de inóculo a 2.5 mg en 100 cm³ de suelo, se redujo el porcentaje de colonización, pero no el crecimiento de la planta, ni la absorción de P y Cu.

Same *et al.*, (1983), reportaron que el incremento del contenido de fósforo en la planta restringe la colonización endomicorrízica, mediante un decremento en la concentración de metabolitos como carbohidratos solubles y exudados radicales que el hongo consume.

Por su parte Dixon *et al.*, (1989), reportaron que la fertilización foliar con Boro, mejoró la colonización en raíces de limón Rugoso, al incrementar el contenido de azúcares y aminoácidos de los exudados radicales. Al respecto Graham *et al.*, (1981), mencionaron que la infección micorrízica es regulada por la cantidad de nutrimentos exudados por la raíz.

5.7.- Factores que afectan la simbiosis

a) Factores ambientales

Allen *et al.*, (1981), afirmaron que el contenido de agua en la planta puede afectar la colonización endomicorrízica por alteraciones en la corteza de la raíz; inhibiendo la penetración de la hifa (por suberización). Fitter (1985), reportó que la humedad edáfica también determina la respuesta a la micorrización tanto por efectos en el desarrollo radical, como por aumento en la disponibilidad de fósforo en la solución del suelo.

La alta intensidad de luz estimula una mayor síntesis de arbusculos, lo cual esta correlacionado con alto suministro de carbohidratos en las raíces (Hayman, 1974); como un mayor flujo de fósforo hacia la planta y un aumento de biomasa (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990). Otros factores ambientales importantes que afectan la colonización endomicorrízica son la temperatura y la precipitación (St. John y Coleman, 1983).

b) Factores edáficos

Mosse y Hayman (1980), mencionaron de la interacción: suelo-planta-hongo, que la cama de siembra y el nivel de nutrimentos en el suelo repercuten directamente en la planta, mientras que el pH y la temperatura del suelo afectan el establecimiento del hongo. Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato (1990), al respecto afirmaron que valores extremos de pH disminuyen la solubilidad y disponibilidad del fósforo y de otros elementos, los cuales son más difíciles de trasladar cuando las plantas no están micorrizadas.

De acuerdo a Hayman (1980) y Trappe (1984), la mesofauna del suelo también tiene gran trascendencia sobre la actividad micorrízica, sobresaliendo: los colémbolos, nemátodos y ácaros.

c) Prácticas culturales

Ocampo y Hayman (1980), indicaron que la población de hongos endomicorrizicos en campo son afectados drásticamente por el uso de nematicidas y fungicidas entre otros agroquímicos, afectando la germinación de esporas. Prácticas como el encalado y alta fertilización NPK, también pueden afectar la colonización (Jaen, 1989); por lo que es difícil encontrar abundante micorriza en suelos fertilizados intensamente (Sieverding, 1991).

Jaen (1989), mencionó que son cuatro los factores que determinan la eficiencia de la simbiosis entre los hongos endomicorrizicos y las plantas: 1) el genotipo de la planta hospedante para el reconocimiento y aceptación de la relación gene-gene; 2) la infectividad y efectividad de las cepas para promover e inducir efectos morfológicos y fisiológicos en las plantas hospedantes; 3) cantidad de fósforo presente en el suelo y 4) requisitos de fósforo de la planta.

6.- Importancia de la endomicorriza-arbuscular en frutales

El estudio de la endomicorriza-arbuscular en los frutales está basado en que la mayoría de estas plantas son leñosas y tienen raíces con diámetro > 0.5 mm, y con escaso número de pelos radicales haciéndolas más dependientes de los hongos endomicorrizicos, los cuales funcionan como una extensión del sistema radical y le permite a la planta una mayor capacidad para la absorción de nutrimentos como: P, Zn, Cu, Mo, N, K, B; repercutiendo favorablemente en su crecimiento (Ferrera-Cerrato y González-Chávez, 1993 b).

En observaciones microscópicas en raíces de árboles frutales pueden encontrarse las estructuras características de la endomicorriza en el interior de las células como: arbuscúlos y vesículas; además, paralelo al desarrollo de la raíz, las hifas del hongo se ramifican aumentando la superficie de absorción (Gianinazzi y Gianinazzi-Pearson, 1983).

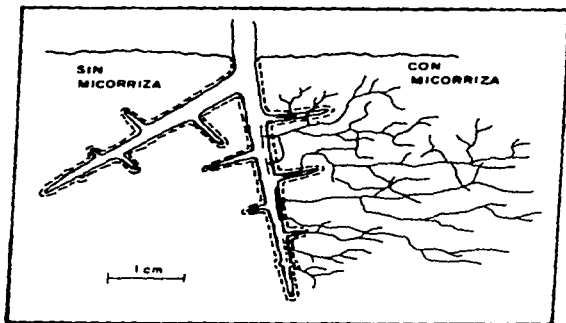


Fig.3.- Representación esquemática de la exploración en el suelo por raíces micorrizadas y no micorrizadas (Gianinazzi y Gianinazzi-Pearson, 1983)

En el manejo de la endomicorriza-arbuscular en frutales mexicanos, se han obtenido resultados bastante prometedores, como en el caso de: papaya, guanabana, chirimoya, café, mango, cítricos, aguacate y fresa. Además el uso de la endomicorriza-arbuscular tiene entre otros propósitos mejorar la producción y recuperación de zonas erosionadas con frutales nativos como el capulín (Gomez-Cruz y Ferrera-Cerrato, 1990)

Otros beneficios de la inoculación con hongos endomicorrizicos son: garantizar la obtención de plantas con mayor producción de biomasa y crecimiento relativo (Ferrera-Cerrato y González-Chávez, 1993 a), menor estancia en vivero y adelanto en el tiempo de injertación (Godínez *et al.*, 1986 y Torres 1992), mayor supervivencia al trasplante, menor gasto de insumos agrícolas y pesticidas (Sieverding, 1991).

7.- Interacción Cítricos - endomicorriza arbuscular

7.1.- Efectos sobre crecimiento

Normalmente las plantas micorrizadas crecen más rápido y saludables que plantas no micorrizadas debido a que los hongos endomicorrízicos incrementan la absorción de elementos esenciales para el crecimiento (Menge *et al.*, 1975) el cual, también puede verse incrementado mediante la inducción a una mayor producción de fitohormonas como giberelinas y citocininas (Allen *et al.*, 1980, 1982; Barea, 1982 b)

Menge *et al.*, (1982), observaron que al inocular *Glomus fasciculatum*, en plántulas Citrange troyer en suelos fumigados con bromuro de metilo, existió un incremento significativo del crecimiento y la concentración foliar de: P, K y C en relación a plantas no inoculadas.

Edriss *et al.*, (1984), al estudiar la respuesta de: naranjo agrio, Citrumelo, mandarina Cleopatra, limón volkameriano y Citrange troyer; a la inoculación con *Glomus etunicatum*, *Glomus microcarpum* y dos cepas de *Glomus fasciculatum*, encontraron que *Glomus etunicatum* incrementó el crecimiento de todos los portainjertos excepto el de limón volkameriano.

Torres (1992), estudió la respuesta de cuatro portainjertos de cítricos: naranjo agrio (NA), Macrofila (MA), Citrange carrizo (CC) y Citremion (CIT) a la inoculación con hongos endomicorrízicos: *Glomus etunicatum*, Becker et Gerd; *Glomus intraradix*, Schenck et Smith y *Glomus sp.* Zac-19; obteniendo con esta última cepa mayores efectos en los portainjertos; con el doble de altura y área foliar de tres a cuatro veces superior al testigo. *Glomus intraradix* al igual *Glomus sp.* Zac-19 incrementó la altura, área foliar y peso seco, en el portainjerto Macrofila.

Botello *et al.*, (1993), reportaron el efecto de diferentes niveles de inóculo de cuatro hongos endomicorrizicos en naranjo agrio (*Citrus aurantium*), donde las plantas inoculadas, presentaron incrementos en: altura, peso seco, contenido de fósforo en el follaje y volúmen radical; en relación a plantas no inoculadas. Los hongos endomicorrizicos más eficientes fueron: *Scutellispora calospora* (Nicolson y Gerdemann) Walker y Sanders; *Glomus versiforme* (Karsten y Koske). La producción de materia seca y el volúmen radical fueron incrementados hasta en 1449% y 515% respectivamente con *Scutellispora calospora*.

González-Chávez (1993 a), al estudiar la interacción de cinco portainjertos de naranjo agrio y cuatro hongos endomicorrizicos de origen mexicano: *Glomus sp. Zac-1*, *Zac-5*, *Zac-6* y *Zac-15*; observó que en naranjo agrio Australiano y Brazilian las plantas inoculadas tuvieron mayor altura, diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, peso seco de la parte aerea y volúmen radical en relación a las no inoculadas.

Ferrera-Cerrato y González-Chávez (1993 c), en Citrange carrizo y Citrange troyer, inoculados con *Gigaspora sp. Zac-5*, *Glomus sp. Zac-6* y *Glomus fasciculatum* y fertilizados con dos niveles de fósforo (75 y 200 mg de P /maceta); reportaron que la cinética de crecimiento de Citrange troyer fué mayor en plantas inoculadas y menor cuando las plantas fueron fertilizadas; además las plantas inoculadas presentaron diferencias estadísticas en altura y diámetro de tallo, respecto al testigo desde los 75 días después de la inoculación. En Citrange carrizo estas diferencias fueron observadas a los 90 días; además observaron efecto sinérgico entre fertilización e inoculación.

7.2.- Efectos fisiológicos

A pesar de las repercusiones que tiene en el metabolismo de la raíz, la invasión de las células corticales por los hongos endomicorrizicos-arbusculares junto con el consumo de carbohidratos de la planta hospedante, la formación de la endomicorriza influye

positivamente en varios aspectos fisiológicos de la planta como: la producción de fitohormonas, fijación de nitrógeno, resistencia a las enfermedades de la raíz, nutrición de fósforo, índice de absorción de agua y nutrientes. (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983 y Dixon *et al.*, 1988).

Nemec y Guy (1982), determinaron el contenido de carbohidratos y lípidos en cuatro portainjertos de cítricos y encontraron incrementos en los contenidos de azúcares totales, sacarosa, azúcares reductores, almidón y carbohidratos totales no estructurales, en hojas de plantas inoculadas con especies de *Glomus* spp. en comparación con los testigos.

Hayman (1983), resumió los cambios fisiológicos que se producen al mejorar la absorción de nutrientes: a) se mantienen raíces funcionales por más tiempo, b) las raíces infectadas absorben fósforo de suelos con bajas concentraciones de este elemento, c) raíces colonizadas son más activas por contener más energía metabólica que permite absorber fósforo contra el gradiente de concentración.

7.3.- Dependencia micorrízica

Como resultado de la coevolución de plantas y hongos, estos han desarrollado determinadas relaciones de interdependencia, en las cuales el hongo necesita de las plantas para completar su ciclo de vida y las plantas muestran un amplio grado de dependencia a la acción de los endófitos (Azcón-Aguilar *et al.*, 1984).

La dependencia micorrízica (DM) fué definida por Gerdemann (1975) y Bagyaraj. (1992), como el grado en el cual una planta es dependiente de la condición micorrízica para producir su máximo crecimiento o rendimiento, a un nivel dado de fertilidad del suelo, el cual se expresa como la relación entre los pesos secos de plantas micorrizadas y no micorrizadas.

La dependencia de las plantas a la acción micorrízica se puede deber a determinadas características genéticas, tales como: la morfología de la raíz, la razón de crecimiento o el reparto de carbohidratos; sin embargo, la fertilidad del suelo también determina el porcentaje de beneficio potencial que es proporcionado por la simbiosis micorrízica (Hetrick, 1989).

En relación con los factores que afectan la dependencia micorrízica, se ubican: especie de hongo micorrízico, temperatura, humedad, microorganismos del suelo y tipo de suelo, fertilidad y disponibilidad de fósforo (Powell, 1977; Menge, 1978 b y Nemeč, 1987).

Menge *et al.*, (1978 b), reportaron al naranjo agrio y al Citrange troyer como los dos extremos de la dependencia micorrízica en los cítricos. La respuesta al crecimiento en Citrange troyer al inocularse con *Glomus fasciculatum* fué menor que la observada en naranjo agrio. Éstos investigadores señalaron que la alta dependencia micorrízica de los cítricos, se atribuye a las raíces de estos, las cuales presentan pelos radicales cortos y pobremente distribuidos.

Edriss *et al.* (1984), sugirieron que existen diferencias substanciales en dependencia entre los portainjertos y que generalmente naranjo agrio y mandarina Cleopatra son los más dependientes de todos los trifoliados.

Graham y Sivertsen (1985), inocularon *Glomus intraradix* a cinco portainjertos de cítricos y reportaron que el orden de dependencia micorrízica fué el siguiente: naranjo agrio, mandarina Cleopatra, citrumelo Swingle, Citrange carrizo y *Poncirus trifoliata*. Además, concluyen que los portainjertos menos dependientes presentaron mayor concentración de fósforo foliar, raíces más finas (mayor longitud por unidad de raíz seca), así como mayor conductividad hidráulica, transpiración y tasa de asimilación de CO₂.

8.- Interacción hongos micorrízicos arbusculares - cultivos micropropagados.

El cultivo de tejidos facilita y apresura la propagación especies vegetales; sin embargo, la adaptación de las plantas a condiciones in vivo resulta muy baja (De Fossard, 1986); por lo que una alternativa biológica de adaptación de plantas obtenidas mediante esta técnica, son los hongos endomicorrízicos-arbusculares, importantes en la supervivencia, nutrición, crecimiento de las plantas cultivadas (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1986).

Fortuna *et al* (1992), trabajaron con plantas micropropagadas de ciruela *Prunus cerasifera* inoculadas con *Glomus mosseae*, *Glomus coronatum*, obteniendo después de cuatro semanas un porcentaje de supervivencia de 100% en los tratamientos inoculados, además el peso fresco de raíces de estas plantas con *G. mosseae*, fué significativamente mayor que el de plantas inoculadas con *G. coronatum* y al del testigo. El porcentaje de colonización de *Glomus mosseae* fué de 38.5% mientras que el de *Glomus coronatum* fué de 8.0% .

Azcón *et al.* (1992), al inocular *Glomus sp.* durante la aclimatación de plantas micropropagadas de aguacate (*Persea americana* Mill) en dos sustratos (arena y turba-perlita), reportaron incrementos respecto a plantas testigo en desarrollo, altura de planta y número de hojas en ambos sustratos; además, reportaron que después de 16 semanas, el porcentaje de supervivencia en el sustrato a base de arena (85%) fué superior al del testigo.

Barea *et al.*, (1992), al trabajar con dos leguminosas micropropagadas (*Anthyllis cystisoides* L. y *Spartium juncifolium* L.), inoculadas con *Glomus fasciculatum* durante la etapa *post in vitro*, lograron acortar el periodo de aclimatización de las plántulas de ambas especies a 8 semanas, además, en *Anthyllis cystisoides* el hongo promovió mayor supervivencia, crecimiento y contenido de nutrimentos, principalmente de fósforo después del trasplante. Por otra parte, el nivel de colonización micorrizica en plántulas micropropagadas, fué similar al obtenido en plántulas obtenidas mediante semilla.

Branzati *et al.*, (1992), inocularon con hongos endomicorrizicos plántulas micropropagadas de dos portainjertos de manzano (M9 y M26) y un cultivar (Golden); durante su aclimatación, suministrándole fósforo mediante solución nutritiva, obteniendo que las plantas del portainjerto M9 inoculadas tuvieron una colonización micorrizica entre 37 y 49%, además, incrementaron su diámetro de tallo y peso seco. Plantas no micorrizadas tuvieron un pobre crecimiento al igual que plantas inoculadas de M26 y Golden fertilizadas a razón de 4 y 8 ppm de fósforo, mostrando un mínimo aumento en altura, diámetro de tallo y peso fresco de raíz. Estos resultados indicaron que la inoculación temprana garantiza máximo crecimiento de plantas micropropagadas de manzana, aún en condiciones de bajo contenido de fósforo, además de tener efecto positivo en la uniformidad de plantas producidas *in vitro*.

Alarcón (1993), al trabajar con plantas de fresa y vid micropropagadas; reportó en plantas de fresa var. Fern inoculadas con *Glomus fasciculatum*, *Glomus etunicatum* y *Glomus aggregatum*; incrementos respecto al testigo en número de estolones, plantas hijas, peso seco, producción de estolones, los cuales aparecieron desde los 45 días del primer trasplante, mientras en el testigo se presentaron a los 74 días. En plantas de Vid (*Vitis vinifera* L.) inoculadas con *Glomus fasciculatum* y *Glomus etunicatum*, obtuvo porcentaje de supervivencia de 64% con *Glomus etunicatum* y de 100% con *Glomus fasciculatum* mientras que plántulas testigo registraron 52% de supervivencia. También reportó diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) de plántulas inoculadas respecto al testigo en: número de hojas, altura, área foliar, peso seco, volumen radical y diámetro de tallo; contenido de nitrógeno y fósforo total; siendo *Glomus fasciculatum* el endófito mas eficiente.

Jaizme y Azeón (1988 y 1991), en plantas de Piña (*Ananas comosus* L.), micropropagadas, reportaron incrementos significativos respecto al testigo en el peso seco, área foliar y en los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio de plantas inoculadas con *Glomus fasciculatum* y *Glomus mosseae*.

V. MATERIALES Y METODOS

1.- Material microbiológico

Los hongos endomicorrízicos-arbusculares utilizados, fueron propagados en plantas de alfalfa por la sección de Microbiología de Suelos del Programa de Edafología-IRENAT, del Colegio de Postgraduados.

1.1.- Cepas utilizadas

Glomus sp. Zac-19

Glomus aggregatum

Glomus intraradix extranjera

Del material de inóculo (suelo con raicillas de alfalfa), se obtuvo el porcentaje de colonización endomicorrízica y número de esporas en 100 g. de inóculo, antes de la etapa experimental (ver apéndice A2). Esta determinación tuvo la finalidad de asegurar un porcentaje de colonización del inóculo empleado mayor al 50%, con lo que se asegura su potencial y altas posibilidades de efectividad e infectividad (González-Chávez, 1993).

2.- Material vegetativo y su propagación *in vitro*

2.1.- Portainjertos

1.-Dragon volador (*Poncirus trifoliata*).

2.-Citrange troyer (*Poncirus trifoliata* L Raf. x *Citrus sinensis* L Osbeck.

3.-Citrange carrizo (*Poncirus trifoliata* L Raf. x *Citrus sinensis* L Osbeck.

El material vegetativo (yemas nodales), de los portainjertos propagados por cultivo *in vitro* fué proporcionado por el invernadero del Programa de fruticultura del Colegio de Postgraduados y propagado en el Laboratorio de Biotecnología del mismo centro.

Las yemas utilizadas se obtuvieron de árboles de aproximadamente 2 años de edad, los cuales fueron propagados mediante cultivo *in vitro* y actualmente se encuentran creciendo bajo condiciones de invernadero.

Los brotes vegetativos empleados para obtención de yemas fueron crecimientos del mismo año, tomados del tercio medio de la copa, así a cada brote cortado se le contaron 5 yemas por posición (5 basales, 5 intermedias y 5 apicales), es decir 15 yemas.

2.2.- Medio de cultivo empleado

El medio básico de cultivo empleado fué el reportado por Villegas et al., 1994, el cual describe en el apéndice A1, para cada una de las fases de la micropropagación: establecimiento, proliferación y enraizamiento.

La propagación duró 95 días apartir de la fecha de establecimiento de explantes en el laboratorio y hasta el establecimiento de las plántulas en invernadero, lo cual estuvo en función de la respuesta de los portainjertos durante las diferentes fases de cultivo *in vitro*.

2.3.- Condlones de Incubación

Durante las diferentes fases de propagación, los materiales vegetativos (explantes y brotes), fueron mantenidos en un cuarto adaptado con ambiente controlado a temperatura de 20 a 25°C y con una intensidad lumínica emitida con lamparas fluorescentes.

3.- Establecimiento en Invernadero

3.1.- Sustrato

El sustrato utilizado, consistió en una mezcla de arena, agrolita y suelo agrícola proveniente de la localidad de Tequexquihuahac, Mpio. de Texcoco; preparado a una proporción de 1:2:1 (v/v). Posteriormente se aplicó la técnica de fumigación del sustrato con Bromuro de Metilo; por lo que la mezcla permaneció tapada durante 5 días y 5 días en ventilación. Posteriormente el sustrato fué depositado en bolsas de polietileno negras de 2 kg., para la fase de inoculación durante el establecimiento y en bolsas de 5 kg., para la fase inoculación durante el trasplante.

Al sustrato de este trabajo se le realizó un análisis físico y químico, indicándose las características del mismo en el apéndice A3. Las cuales en cuanto a textura y pH, resultan buenas para el establecimiento de los portainjertos; lo anterior de acuerdo a Maldonado y Osorio (1991). El contenido de M.O. Nitrógeno, Potasio y Fósforo, se reportaron de muy bajos a muy pobres, lo cual favorece el establecimiento y propagación de la endomicorriza-arbuscular de acuerdo a Guzmán-Plazola (1989); Brechelt (1989) y Vejsadova (1989).

3.2.- Manejo de las plántulas durante el establecimiento

En Abril de 1995 se establecieron los portainjertos Dragón volador y Citrange troyer. Citrange carrizo se estableció un mes después.

Las plántulas de Dragón volador y Citrange troyer fueron extraídas de los frascos donde se encontraban creciendo *in vitro* y fueron depositados en una charola con agua corriente para retirarles los residuos de agar.

Posteriormente, fueron cortadas las hojas más proximas a la base; enjuagandose nuevamente y depositandose en fungicida Captan ($1g L^{-1}$); en esa solución fueron mantenidos las plántulas hasta su establecimiento.

3.3.- Proceso de inoculación

La inoculación tanto en la fase de establecimiento como en la fase de trasplante, se realizó utilizando por cada plántula 10 g de suelo-inóculo con raíces colonizadas, aplicandose en la zona radical y depositando el resto del inóculo en el orificio donde se colocaría la plántula. Posteriormente se aplicó un riego a capacidad de campo y aspersión al follaje.

3.4.- Proceso de aclimatación

Posterior al establecimiento, las plántulas se sometieron a un proceso de aclimatación durante 30 días, tiempo en el cual fueron protegidas con vasos transparentes a los cuales se hicieron perforaciones periódicamente de acuerdo a dos factores: el desarrollo de las plántulas y las temperaturas registradas, las cuales oscilaron entre 25 y 30°C.

La primera perforación en la parte superior del vaso se hizo a los 7 días de establecido el experimento, la segunda a los 14 y dos perforaciones más se realizaron a los 21 días; a los 30 días fueron destapadas por completo las plántulas. Durante los primeros 30 días posteriores al establecimiento (aclimatación), los riegos que fueron a capacidad de campo, se realizaron diariamente junto con aspersiones de agua al follaje con un atomizador; además durante los primeros 15 días a los vasos se les eliminó el agua acumulada producto de la transpiración de las plántulas.

A un mes de establecido el experimento y de acuerdo a que las plántulas, aparentemente se habían aclimatado, se procedió a colocar en la superficie de cada contenedor tezontle

estéril, para evitar posibles contaminaciones entre tratamientos y mantener por más tiempo la humedad, la cual se mantuvo mediante riegos realizados conforme se fué necesitando a lo largo de la fase experimental. También para esa fecha, se procedió a aleatorizar los trataminetos.

4.- Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental "completamente al azar" con 12 tratamientos y 15 repeticiones para la fase de inoculación durante el establecimiento y 12 tratamientos con 12 repeticiones para la fase de inoculación durante el trasplante. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) y Prueba de Medias (Tukey $\alpha = 0.05$), para cada una de las variables evaluada eceptuando la supervivencia.

4.1.- Simbología y tratamientos utilizados

P = Portainjerto

H = Hongo endomicorrízico arbuscular.

P_1 = Dragon Volador

P_2 = Citrange Troyer

P_3 = Citrange Carrizo

H_0 = Testigo

H_1 = *Glomus* sp Zac-19

H_2 = *Glomus aggregatum*

H_3 = *Glomus intraradix* extranjera

TRATAMIENTOS

P_1H_0 P_1H_1 P_1H_2 P_1H_3

P_2H_0 P_2H_1 P_2H_2 P_2H_3

P_3H_0 P_3H_1 P_3H_2 P_3H_3

4.2.- variables evaluadas

4.2.1.- Fase 1 : Inoculación durante el establecimiento

- a) **Supervivencia (%)**: plantas vivas a 120 días de la inoculación.
- b) **Altura de planta (cm)**: se consideró desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja superior.
- c) **Diámetro de tallo (mm)**: se determinó a 10 cm de la base del tallo.
- d) **Area foliar (cm²)**: se cuantificó con un integrador de área foliar. (LI-COR modelo LI-3100)
- e) **Peso seco (g)**: se obtuvo al secar la parte aérea de las plantas a 70 C durante 72 hrs.
- f) **Volumen radical (cm³)**: se determinó mediante la técnica de volumen desplazado.
- g) **Colonización endomicorrízica** : se determinó mediante Tinción de raíces por el método de Phillips y Hayman (1970).
Colonización total (%): se evaluó en base a tres observaciones equidistantes en microscopio óptico con el objetivo de 100 x, de 100 segmentos de raíz por repetición los cuales fueron teñidos y montados en laminillas.
Arbúsculos (%): se determinó con la misma técnica y al mismo tiempo que la colonización total.
Vesículas (%): se determinó al mismo tiempo que la colonización total.

4.2.2.- Fase 2 : Inoculación durante el trasplante

Además de evaluarse las mismas variables de la fase 1, se incluyeron las siguientes:

- h) **Dependencia micorrízica (%)**: fué determinada de acuerdo a la fórmula propuesta por Menge et al (1978 b) mediante la relación de pesos secos de plantas inoculadas y plantas no inoculadas (apéndice 5).

I) **Fósforo foliar (mg g^{-1}):** determinado por el método de Vanadato-Molibdato amarillo modificado por Etchevers, (1988).

J) **Fotosíntesis ($\mu \text{ moles CO}_2 / \text{m}^2 \text{ s}^{-1}$):** se realizaron dos determinaciones con un aparato portátil (IRGA, LI-COR modelo LI-3000A)

En la fase experimental (inoculación durante el establecimiento), se establecieron plántulas de 95 días de edad a las que se realizaron tres evaluaciones de supervivencia y altura (60, 90 y 120 días después de la inoculación y establecimiento). El resto de las variables también fueron evaluadas a 120 días (cosecha).

Para la fase experimental (inoculación durante el trasplante) se utilizaron plantas de 195 días de edad, las cuales presentaron altura distinta de acuerdo al portainjerto teniéndose las siguientes alturas promedio:

Dragón Volador	5.9 cm
Citrange Troyer	5.1 cm
Citrange Carrizo	5.6 cm

También en la segunda fase se aplicaron 10.2 mg de Fósforo por maceta, contenidos en la solución nutritiva de Hoagland en forma de KH_2PO_4 (ver apéndice A4), mediante riegos periódicos.

Después de la inoculación y trasplante, se realizaron tres evaluaciones de supervivencia (60, 90 y 120 días) altura y diámetro de tallo (60, 120 y 150 días). La evaluación de el resto de las variables, también se realizó a los 150 días (cosecha)

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

FASE 1: INOCULACION DURANTE EL ESTABLECIMIENTO

SUPERVIVENCIA

En la supervivencia de plántulas por portainjerto, independiente a su condición (inoculadas o no inoculadas), Citrange carrizo obtuvo el mayor porcentaje de supervivencia, seguido de Dragón volador; mientras que Citrange troyer presentó el menor porcentaje de plántulas vivas a los 120 días de la inoculación y establecimiento (Cuadro 4). Al respecto De Fossard (1986), indicó que la adaptación de plantas provenientes de cultivo *in vitro* resulta baja en general, debido al elevado incremento en la transpiración, consecuencia de las condiciones adversas a las que son sometidas las plantas al pasar a un sistema *in vivo*.

Cuadro 4.- Porcentaje de supervivencia durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

PORTAINJERTOS	PORCENTAJE DIAS DESPUES DEL ESTABLECIMIENTO			
	1 * 30	31 - 60	61 - 90	91 - 120
Dragón volador	89.9	88.2	71.6	64.9
Citrange troyer	79.9	61.6	33.2	29.9
Citrange carrizo	89.9	88.3	86.6	83.3

* Periodo de aclimatación

Un efecto negativo en la supervivencia de plantas inoculadas en relación con plantas no inoculadas se observó a partir de los 60 días del establecimiento (Cuadro 5), lo que se atribuyó a la presencia de *Fusarium* durante los 60 y 90 días posteriores al establecimiento, el cuál junto con los hongos micorrízicos (simbiontes obligados) agotaron rápidamente el contenido de carbohidratos reserva de las plantas inoculadas, causandoles la muerte en mayor número que en plantas sin inocular.

A partir de los 90 días posteriores al establecimiento pudo controlarse el ataque de *fusarium*, impidiéndose que los porcentajes de supervivencia continuaran disminuyendo drásticamente. De esta experiencia pudo observarse, que la presencia de fitopatógenos en la etapa temprana de desarrollo de plantas micropropagadas puede ocasionar problemas si estas no cuentan con un sistema radical bien diferenciado, que compense la demanda de sustancias nutritivas de los hongos endomicorrizicos y permita establecer rápidamente la simbiosis evitando o disminuyendo el daño ocasionado por especies fitopatogenas.

Cuadro 5.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizicos arbusculares durante el establecimiento, en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

HONGO	PORCENTAJE			
	DIAS DESPUES DEL ESTABLECIMIENTO			
	1*30	31-60	61-90	91-120
Testigo	86.6	79.9	75.5	73.3
<i>Glomus</i> sp. <i>Zac-19</i>	82.2	73.3	66.6	66.6
<i>Glomus aggregatum</i>	88.8	79.9	57.7	55.5
<i>Glomus intraradix</i>	88.8	84.4	55.5	51.0

* Período de aclimatación

En la supervivencia por tratamientos, Dragón volador inoculado con *Glomus* sp. *Zac-19* y Citrange carrizo con los tres hongos, mantuvieron mayor supervivencia a partir de los 30 días posteriores a la inoculación y establecimiento (Cuadro 6); esto posiblemente se debió a una rápida emisión de raíces en estos tratamientos, que evito el agotamiento de reservas y la muerte de las plantas, como sucedió con Citrange troyer inoculado con *Glomus aggregatum*, perdiéndose por completo este tratamiento a partir de los 90 días posteriores a la inoculación. Alarcón (1993) reportó en plantas micropropagadas de vid inoculadas con *Glomus etunicatum* y *Glomus fasciculatum* 64 y 100% de supervivencia respectivamente, contra 52% de las plantas testigo. Fortuna *et al.* (1992) y Azcón *et al.* (1992), reportaron resultados similares con plantas micropropagadas de ciruela y aguacate respectivamente. Al respecto Jannerette (1991), mencionó que los hongos micorrizicos traen entre otros beneficios mayor supervivencia en plantas inoculadas y trasplantadas a sus sitios definitivos.

Cuadro 6.- Efecto del tratamiento en la supervivencia durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

TRATAMIENTO	PORCENTAJE DIAS DESPUES DEL ESTABLECIMIENTO			
	1*30	31-60	61-90	91-120
Dragón volador				
Testigo	86.6	86.6	80.0	80.0
<i>Glomus</i> sp. <i>Zae-19</i>	93.3	93.3	93.3	93.3
<i>Glomus aggregatum</i>	86.6	86.6	66.6	53.3
<i>Glomus invarada</i>	93.3	86.6	46.6	33.3
Citrango troyer				
Testigo	80.0	66.6	66.6	66.6
<i>Glomus</i> sp. <i>Zae-19</i>	73.3	46.6	26.6	26.6
<i>Glomus aggregatum</i>	86.6	60.0	13.3	0.0
<i>Glomus invarada</i>	80.0	73.3	26.6	26.6
Citrango carrizo				
Testigo	93.3	86.6	80.0	73.3
<i>Glomus</i> sp. <i>Zae-19</i>	80.0	80.0	80.0	80.0
<i>Glomus aggregatum</i>	93.3	93.3	93.3	86.6
<i>Glomus invarada</i>	93.3	93.3	93.3	93.3

* Período de aclimatación

En el Cuadro 7, se aprecian dos periodos críticos en la supervivencia, con elevados % de mortandad: 1) el periodo de aclimatación (30 días posteriores al establecimiento), atribuido a condiciones naturales y propias de las plantas que no resistieron las nuevas condiciones; 2) de 60 a 90 días posteriores al establecimiento, debido a la presencia de *Fusarium*, el cual se controló después de los 90 días; disminuyendo nuevamente la mortandad.

Cuadro 7.- Efecto del tiempo en la supervivencia durante el establecimiento de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

DIAS DE EVALUACION	% PLANTAS VIVAS	% PLANTAS MUERTAS.
1*30	86.6	13.4
31-60	79.4	7.2
61-90	63.8	15.6
91-120	59.4	4.4

* Período de aclimatación

ALTURA

En las tres evaluaciones de altura (60, 90 y 120 días después del establecimiento), existieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) de los tratamientos Dragón volador y C. troyer inoculados con *Glomus* sp. Zac-19 (Fig. 4), los cuales, alcanzaron incrementos de 215 y 268%, respectivamente en relación a plantas no inoculadas. Resultados similares con *Glomus* sp Zac-19 fueron reportados por Jaen (1986) en plantas de *Carica papaya* cvs. Solo y Cera, a 80 días de la inoculación con incrementos de 360 y 300%, respectivamente.

Las plantas de Dragón volador y Citrange carrizo inoculadas con *Glomus aggregatum*, obtuvieron valores por abajo de los testigos, mientras que en Citrange troyer el efecto de este hongo solo pudo evaluarse hasta 90 días posteriores a la inoculación, cuando este tratamiento presentaba ligera ventaja en altura sobre su testigo, pero desventaja en supervivencia, por lo que a 120 días no existieron individuos de este tratamiento.

La altura a 120 días de la inoculación y establecimiento de los tres portainjertos, presentó una correlación (r^2) > 95% con el volumen radical (VR), que de acuerdo a lo anterior fué un factor determinante en el desarrollo de las plantas.

Cabe señalar que las plantas inoculadas de Citrange troyer, mostraron mayor crecimiento que las inoculadas de Citrange carrizo, a partir de los 60 días del establecimiento, lo cual puede ser indicativo, del tiempo en que Citrange troyer estableció la simbiosis con los hongos endomicorrizicos. Estos resultados coincidieron con los reportados por Ferrera-Cerrato y González-Chavez, (1993 c), quienes estudiando la cinética de crecimiento de estos mismos portainjertos, propagados a partir de semilla, e inoculados con tres hongos endomicorrizicos, encontraron diferencia estadística ($\alpha = 0.05$) favorable a Citrange troyer a partir de los 60 días después de la inoculación. Cituk (1994), también reportó un mejor comportamiento en crecimiento de Citrange troyer respecto a Citrange carrizo, en plantas de cultivo *in vitro*, bajo condiciones de vivero.

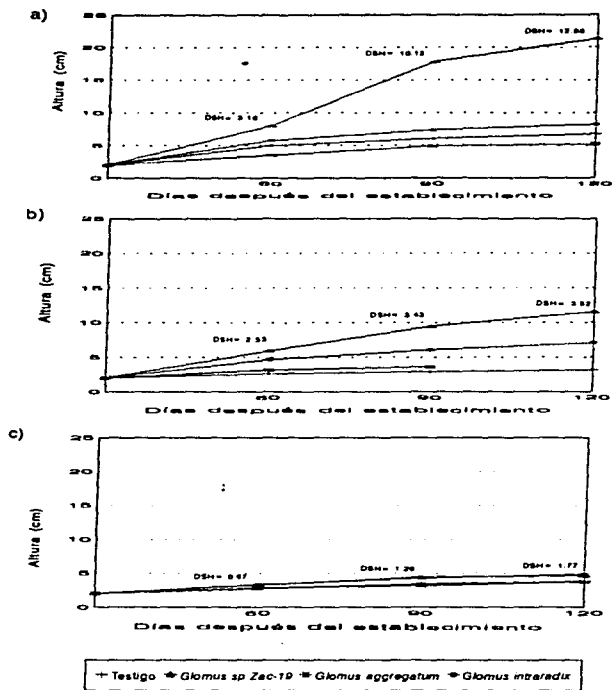


Fig. 4.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el establecimiento, en la altura de tres portainjertos de cítricos micropropagados: a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo

DIAMETRO DE TALLO

Las plantas de Dragón volador y Citrange troyer, inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, obtuvieron un diámetro de tallo significativamente mayor ($\alpha = 0.05$) al resto de los tratamientos inoculados y al testigo (Fig. 5). Resultados similares con este hongo reportaron: González-Chávez y Ferrera-Cerrato (1993 b), a 135 días de la inoculación, en naranjo agrio Australiano con incrementos > 2.0 mm respecto al testigo sin inocular y Jaen y Ferrera-Cerrato (1994), en: guanabana, chirimoya, papaya, zapote blanco y capulín.

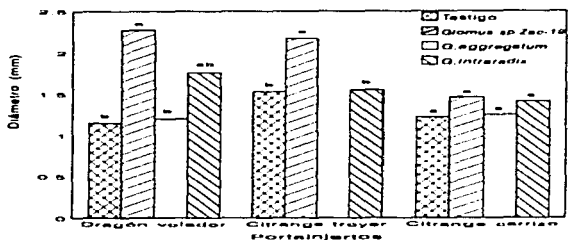


Fig. 5.- Diámetro de tallo de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el establecimiento (120 días)

De acuerdo a Godínez *et al.*, (1986), quienes mencionaron que la altura y el diámetro de tallo son los parámetros de mayor importancia para determinar el tiempo de injertación; los incrementos obtenidos en ambas variables, por Dragón volador y Citrange troyer inoculados con *Glomus* sp. Zac-19 respecto al testigo, demuestran que la inoculación endomicorrízica puede contribuir al ahorro de tiempo para el empleo de estos portainjertos, como patrones de variedades comerciales. En Citrange carrizo los tratamientos con *Glomus* sp. Zac-19 y *Glomus intraradix*, presentaron ligera ventaja numérica respecto al testigo, pero no fueron estadísticamente diferentes a este.

AREA FOLIAR

Plantas de Dragón volador y Citrange troyer con *Glomus* sp. Zac-19 (Fig. 6), presentaron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) respecto al testigo con incrementos de área foliar de 15,000 y 2,700% respecto al mismo. Efecto similar con *Glomus* sp. Zac-19 en cítricos fué reportado por Torres (1992), en cuatro portainjertos (naranja agrio, Macrofila, Citremón y C. carrizo). Lara (1987) con el mismo hongo, obtuvo diferencias significativas respecto al testigo en plantas de *Acacia cyanophylla* y *Culliantra eriophylla*

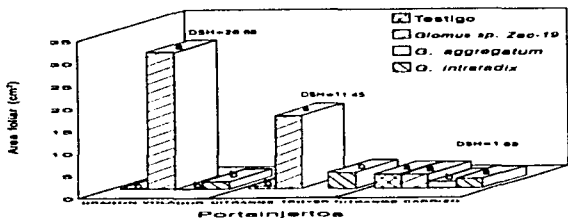


Fig. 6.-Área foliar de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el establecimiento (120 días).

Glomus intraradix también incrementó significativamente el área foliar de ambos portainjertos (700 y 500%, respectivamente). En Citrange carrizo plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 y el testigo, obtuvieron área foliar estadísticamente similar y superior a la obtenida con *Glomus aggregatum* y *Glomus intraradix*, lo cual nos indica que existió un efecto de la inoculación en el área foliar muy variable. Al respecto Nemeč (1978), mencionó que los cítricos son influenciados inconsistentemente por las diferentes especies endomicorrízicas. Los resultados obtenidos hasta el momento, nos sugirieron que los mayores beneficios de la simbiosis en Citrange carrizo estaban condicionados a un tiempo mayor al requerido en los otros portainjertos de acuerdo a las variables anteriormente analizadas.

PESO SECO

A 120 días de la inoculación y establecimiento, el mayor peso seco se obtuvo en plantas de Dragón volador y Citrange troyer inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, las cuales fueron significativamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$) a plantas testigo, con incrementos de 1,870 y 710%, respectivamente (Fig. 7). Incrementos similares con el mismo hongo reportaron Torres (1992) en: naranjo agrio (1,500%), *Macrofila* (2,500%), Citremón (860%) y Citrange carrizo (1,100%) y Wang *et al.*, (1993) en plantas micropropagadas de *Gerbera jamesonii* y *Nephrolepis exaltata* 16 semanas posteriores a la inoculación.

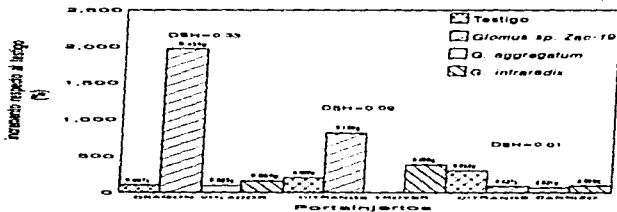


Fig. 7.- Peso seco de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el establecimiento (120 días).

Citrange troyer inoculado con *Glomus intraradix*, registró un incremento de 270% respecto a plantas testigo. Barrera y Valdéz (1990) reportaron con el mismo hongo incrementos en peso seco de apenas 20% a 240 días de la inoculación en *Casuarina equisetifolia*, lo cual muestra el efecto tardío de algunas especies micorrízicas con algunas plantas.

En Citrange carrizo no se observaron diferencias entre tratamientos inoculados con respecto a los testigos, manteniéndose este portainjerto sin efecto a la inoculación; mientras que, *Glomus aggregatum* no tuvo efecto positivo respecto al testigo en ninguno de los portainjertos, lo cual fué un signo de incompatibilidad con estos.

VOLUMEN RADICAL

Plantas de Dragón volador y Citrange troyer inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 obtuvieron volumen radical significativamente (Tukey $\alpha = 0.05$) superior al del testigo; con una correlación (r^2) > 95% con la altura, área foliar y el peso seco, lo que nos indicó que al desarrollar mayor superficie de exploración y captación, estas plantas favorecieron su desarrollo considerablemente. *Glomus intraradix* en estos portainjertos también tuvo un efecto importante respecto al testigo (Cuadro 8). Al respecto Planchette *et al.*, (1982) indicaron que el efecto de incremento del volumen radical en los cítricos, es una respuesta a la inoculación; sin embargo, advierte que en algunos casos este efecto no se observa; lo cual sucedió en Citrange carrizo donde a 120 días de la inoculación y establecimiento, no existieron diferencias estadísticas entre plantas inoculadas y el testigo.

Cuadro 8.- Efecto de la inoculación durante el establecimiento en el volumen radical (cm³) de tres portainjertos de cítricos micropropagados (120 días).

	Testigo	<i>Glomus</i> sp Z-19	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. intraradix</i>
	(cm ³)			
Dragón volador	0.27 B	0.98 A	0.20 B	0.31 AB
Citrange troyer	0.20 B	0.64 A		0.35 B
Citrange carrizo	0.26 A	0.25 A	0.21 A	0.26 A

* tratamientos con la misma letra dentro de cada portainjerto, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

Las plantas inoculadas con *Glomus aggregatum* obtuvieron el menor volumen radical, incluso respecto al testigo, por lo que su escasa área de captación e intercambio, repercutió en un mínimo desarrollo de estas plantas. En comparación con plantas inoculadas con los otros hongos. Efectos similares en volumen radical reportaron Aguirre (1985) y Alarcón (1993) en frijol y plantas micropropagadas de fresa, respectivamente.

COLONIZACION ENDOMICORRIZICA

En la colonización total de los tratamientos inoculados no existieron diferencias estadísticas, lo que significa que existió una susceptibilidad similar a la colonización en los tres portainjertos y que la eficiencia de los endófitos, no dependió de la colonización total (Cuadro 9). Fortuna *et al.*, (1992) en plantas micropropagadas de ciruela (*Prunus cerasifera*) inoculadas con *G. mosseae* y *G. coronatum*, después de catorce semanas obtuvieron colonización similar, pero *G. coronatum* tuvo un efecto menor sobre el crecimiento de plantas micorrizadas. Al respecto Hayman (1982), señaló que el hongo más eficiente no es necesariamente el más infectivo.

Cuadro 9.- Colonización endomicorrizica a 120 días de la inoculación y establecimiento, de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

PORTAINJERTOS	C.TOTAL %	ARBUSCULOS %	VESICULAS %
Dragón volador			
Testigo	00.0 B	00.0 D	00.0 D
<i>Glomus</i> sp.Zac-19	53.3 A	51.7 A	9.4 A
<i>Glomus aggregatum</i>	40.0 A	16.0 C	8.0 B
<i>Glomus invaradix</i>	29.8 A	23.7 B	7.2 C
	DSH=27.59	DSH=1.45	DSH=0.76
Cítrange troyer			
Testigo	00.0 B	00.0 C	00.0 C
<i>Glomus</i> sp.Zac-19	44.4 A	40.6 A	10.2 A
<i>Glomus aggregatum</i>	-----	-----	-----
<i>Glomus invaradix</i>	40.9 A	33.1 B	7.8 B
	DSH=25.57	DSH=0.66	DSH=0.75
Cítrange carrizo			
Testigo	00.0 B	00.0 C	00.0 C
<i>Glomus</i> sp.Zac-19	40.1 A	19.7 B	7.2 B
<i>Glomus aggregatum</i>	32.0 A	24.6 A	7.6 B
<i>Glomus invaradix</i>	31.0 A	22.9 A	10.5 A
	DSH=13.36	DSH=2.05	DSH=0.47

* tratamientos con la misma letra en cada portainjerto, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$).

Respecto al porcentaje de arbusculos, los tratamientos Dragón volador y Citrange troyer inoculados con *Glomus* sp. Zac-19 fueron estadísticamente superiores a los demás y obtuvieron una relación arbusculos-vesículas de 5:1 aproximadamente, mientras que al inocular *Glomus aggregatum* la relación fué de 2:1; En Citrange carrizo, la mayor relación arbusculo-vesícula se obtuvo precisamente con *Glomus aggregatum* (3:1).

Por lo anterior se puede pensar que la eficiencia de los hongos endomicorrizicos a 120 días, estuvo supeditada en gran medida a la cantidad de arbusculos presentes, cuya importancia en la simbiosis, radica en la transferencia de nutrimentos hacia el hospedante de acuerdo a Carling y Brown (1982) y Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi (1983); lo cual se fundamentó con la alta correlación r^2 ($> 70\%$) de los arbusculos con el resto de las variables en este trabajo.

En Citrange carrizo los escasos efectos de la inoculación obtenidos, sugirieron que para observar mayores efectos, sería necesario retardar la cosecha de este portainjerto, para lo cual, a 100 días de la inoculación y establecimiento, se trasplantaron 5 repeticiones por tratamiento a un contenedor de mayor capacidad (5 kg), donde se mantuvieron por espacio de 150 días, para sumar un total de 250 días a la inoculación y establecimiento, obteniéndose los siguientes resultados:

ALTURA

En Citrange carrizo el efecto tardío de la inoculación hizo que fuera hasta los 220 días posteriores a la inoculación cuando se observaron diferencias estadísticas entre plantas inoculadas y no inoculadas. Al cumplirse 250 días de la inoculación y establecimiento, las plantas inoculadas obtuvieron diferencias significativas respecto a su testigo, resultando *Glomus intraradix* el hongo más eficiente (Fig. 8). Efectos similares con el mismo endófito en altura reportaron Jaen y Ferrera-Cerrato (1994) en plantas de aguacate.

Los incrementos de altura en este portainjerto, indicaron que tal vez el efecto de la inoculación, se retardó por la escasa fertilidad del sustrato, al cual este portainjerto resulto más sensible que los otros dos de acuerdo a Palacios (1978) quien reportó que este portainjerto denota rápidamente la deficiencia de nutrimentos, sobre todo de elementos menores; aunque Branzati *et al.*, (1992) afirmaron que la inoculación temprana garantiza máximo crecimiento de plantas micropropagadas aún en condiciones de bajo contenido de nutrimentos, especialmente fosfatos.

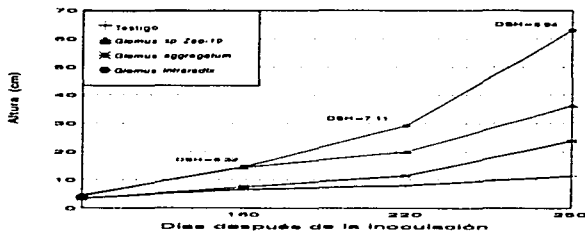


Fig. 8.-Efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el establecimiento, en la altura de Citrange carrizo, a 250 días.

DIAMETRO DE TALLO

El diámetro de tallo en Citrange carrizo, se vio aumentado considerablemente a partir de los 220 días posteriores a la inoculación y nuevamente *Glomus intraradix* resultó el más eficiente de los tres endófitos, seguido por *Glomus* sp. Zac-19 (Fig. 9). Efectos similares reportó Torres (1992) en el diámetro de tallo de naranjo agrio con incrementos de 240 y 230%, respecto a plantas testigo al inocular *G. etunicatum* y *Glomus* sp. Zac-19; también Branzati *et al.*, (1992) reportaron diferencias en diámetro de tallo de tratamientos inoculados, respecto a plantas sin inocular, en el portainjerto de manzano (M9).

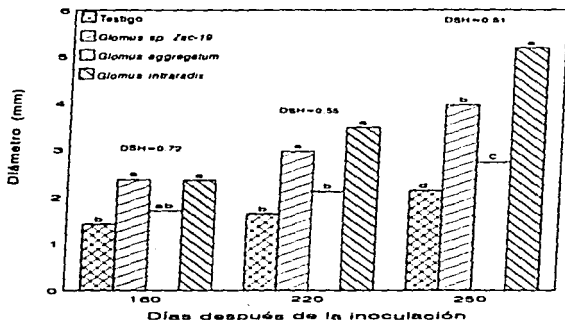


Fig. 9.- Diámetro de tallo de Citrange carrizo a 250 días del establecimiento e inoculación con hongos endomicorízicos arbusculares

El área foliar, peso seco y volumen radical, de plantas inoculadas con *Glomus intraradix* fué influenciado significativamente (Cuadro 10). Estas variables presentaron alta correlación (r^2) entre sí (> 95%), lo que indicó que en este portainjerto el incremento tardío del volumen radical, también retardó el desarrollo de las plantas y pudo ser al igual que la poca disponibilidad de nutrimentos como fósforo, uno de los factores que limitó los efectos a 120 días. González-Chávez y Ferrera-Cerrato (1993 b), reportaron incrementos de 716% en peso seco y 514% de área foliar en naranjo agrio Australiano inoculado con *Glomus* sp. Zac-19 y fertilizadas con 30 ppm de fósforo a partir de roca fosfórica.

Cuadro 10.- Área foliar (AF), peso seco (PS) y volumen radical (VR) de Citrange carrizo a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento.

HONGO	AF (cm ²)	PS (g)	VR (cm ³)
Testigo	11.10 C	0.16 B	0.70 C
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	77.66 B	1.00 B	2.95 B
<i>Glomus aggregatum</i>	42.71 CB	0.48 B	1.61 C
<i>Glomus intraradix</i>	189.23 A	3.72 A	9.17 A

*tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$)

FOSFORO FOLIAR

El potencial benéfico de los hongos endomicorrízicos en la traslocación y concentración de fósforo bajo condiciones de poca disponibilidad de este elemento, se hizo evidente en el follaje de plantas inoculadas de Citrange carrizo (Cuadro 11), las cuales superaron en contenido de P (mg g⁻¹) a su testigo de manera significativa, destacando el efecto de *Glomus intraradix*, el cuál mostró la mayor eficiencia, lo cual reflejó la gran compatibilidad de este hongo con Citrange carrizo. Al respecto Hetrick (1989), comentó que la fertilidad y en específico el nivel de fósforo disponible, también determinan el grado de afinidad del endófito con el hospedante.

Cuadro 11.- Concentración (%) y contenido de fósforo foliar (mg g⁻¹) de Citrange carrizo a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento.

HONGO	Fósforo foliar %	Fósforo foliar mg g ⁻¹
Testigo	0.086 B	0.86 B
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	0.243 A	2.43 A
<i>Glomus aggregatum</i>	0.263 A	2.63 A
<i>Glomus intraradix</i>	0.276 A	2.76 A

* tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$)

Jonhson (1984) reportó efectos similares con *Glomus intraradix* al encontrar altos contenidos de fósforo en el tejido foliar de naranjo agrio, después de 26 semanas. Por su parte Bredja *et al.*, (1993) en plantas de *Andropogon gerardii* y *Panicum vagatum* inoculadas con *Glomus deserticola* y cepas nativas de campos de Nebraska, encontraron mayor contenido de P en el tejido de estas plantas, en relación a plantas no inoculadas. Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi (1986) al respecto, afirmaron que el incremento de P en forma de fracción Ortofosfato, tanto en raíz como en tallo de plantas inoculadas, se debe al mecanismo de exploración en el perfil del suelo de la hifa extramatricial más allá de la zona de agotamiento de la raíz, lo cuál confiere un mayor aporte del elemento al hospedante (Owusu y Wild,(1979) y Clarkson (1985).

COLONIZACION ENDOMICORRIZICA

La eficiencia de *Glomus intraradix* en las variables evaluadas a 250 días, estuvo justificada por su nivel de colonización total; así este hongo fué estadísticamente superior a los otros, seguido por *Glomus aggregatum* y *Glomus* sp. Zac-19, respectivamente (Cuadro 12). Los arbusculos y las vesículas, presentaron una tendencia similar a la de colonización total, variable con la que tuvieron correlación (r^2) > 80%.

Cuadro 12.- Colonización endomicorrízica a 250 días posteriores a la inoculación y establecimiento de Citrange carrizo.

HONGO	COLTOTAL %	ARBUSCULOS %	VESICULAS %
Testigo	00.00 D	00.00 D	0.00 B
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	43.20 B	29.79 C	3.45 B
<i>Glomus aggregatum</i>	42.78 B	38.71 B	5.03 B
<i>Glomus intraradix</i>	59.90 A	50.60 A	19.56 A
	DSI=7.37	DSI=7.58	DSI=11.34

* tratamientos con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

El porcentaje de arbuscúlos también obtuvo correlación ($r^2 > 80\%$) con el contenido de P en el follaje, lo que indicó que la presencia de arbuscúlos, determinó el nivel de traslocación del fósforo al follaje. Al respecto Sieverding (1991), indicó que la mayor transferencia de este elemento por el hongo hacia la planta, ocurre en células de la raíz que contienen arbuscúlo, aunque mencionó que las hifas intramatriciales también pueden aportar fósforo a la planta hospedante.

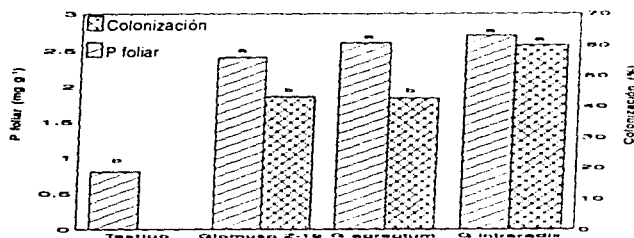


Fig. 10. Efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos-arbusculares durante el establecimiento, en el contenido (mg g⁻¹) de fósforo en el follaje y colonización (%) de Citrange carrizo a 250 días.

En la Fig. 10 se puede apreciar la relación del contenido de fósforo en el follaje con la colonización endomicorrízica, donde el contenido de fósforo de cada tratamiento estuvo por arriba de su nivel de colonización; aunque como se observa, en plantas inoculadas con *Glomus intraradix* el efecto estadísticamente no existió. Branzati *et al.*, (1992), reportó efecto similar del fósforo foliar en el porcentaje de colonización de los portainjertos de manzano M9 Y M26 micropropagado. Al respecto Cooper (1984) comentó que entre los hongos endomicorrízicos, existe diferente sensibilidad al contenido de P; mientras que Menge *et al.*, (1978 a) y Timmer y Leyden (1980), comentaron que la colonización de hongos micorrízicos son inhibidos por un alto contenido de fosfato en la rizosfera y en el follaje de cítricos.

FASE 2: INOCULACION DURANTE EL TRASPLANTE

En esta fase experimental, se utilizaron plantas de 195 días de edad; es decir 95 días de micropropagación más 100 días de establecimiento en el invernadero. Al igual que las plantas de la fase 1, estas plantas fueron sometidas a un proceso de aclimatación, pero sin inoculante, ya que este se aplicó hasta el momento del trasplante, es decir al cumplirse 100 de haberse establecido en el invernadero. Las plantas pasaron de un contenedor de 2 kg a uno con capacidad de 5 kg de sustrato, el cual fué otra parte de la mezcla realizada para las 2 fases experimentales.

SUPERVIVENCIA

A 120 días de la inoculación y trasplante, el portainjerto Citrange troyer obtuvo el mayor porcentaje de supervivencia, mostrando mayor resistencia a condiciones adversas y estresantes presentes durante y después del trasplante. La supervivencia en plantas de Citrange carrizo fué ligeramente menor a la de C. troyer (Cuadro 13). Un efecto similar con estos portainjertos reportaron Villegas y Aguilar (1994), con índices de supervivencia de 97% para Citrange troyer y de 94% para Citrange carrizo; por su parte Dragón volador obtuvo el menor porcentaje de plantas vivas.

Cuadro 13.- Porcentaje de supervivencia, en la fase de inoculación durante el trasplante, de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

PORTAINJERTOS	PORCENTAJE DIAS DESPUES DEL TRASPLANTE			
	1-30	31-60	61-90	91-120
Dragón volador	88.7	77.9	73.8	66.9
Citrango troyer	100.0	100.0	87.4	87.4
Citrango carrizo	92.3	84.6	82.6	74.9

La eficiencia de *Glomus intraradix* y *Glomus* sp. Zac-19 en la supervivencia de plantas, fué mayor a la obtenida en plantas testigo sin inocular a partir de los 60 días después del trasplante; mientras que la eficiencia de *Glomus aggregatum* superó al testigo sólo a los 120 días de la inoculación y trasplante (Cuadro 14). Lo anterior puede interpretarse como que el incremento en la supervivencia fué indicativo de el establecimiento de la simbiosis en los distintos tratamientos inoculados. Resultados similares fueron reportados por Sieverding y Toro (1987) en plantas de café (*Coffea arabica* var. Caturra) donde la inoculación confirió a las plántulas una mayor supervivencia durante el trasplante. Menge *et al.* (1978 a) en aguacate, atribuyeron mayor supervivencia de plantas inoculadas, a una mayor absorción de agua por estas plantas.

Cuadro 14.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrizicos-arbusculares durante el trasplante, en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

HONGO	PORCENTAJE DÍAS DESPUES DEL TRASPLANTE			
	1-30	31-60	61-90	91-120
Testigo	100.0	90.7	79.8	67.7
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	92.3	87.1	84.6	82.0
<i>Glomus aggregatum</i>	87.5	82.4	74.4	69.7
<i>Glomus intraradix</i>	94.8	89.7	86.3	86.3

Los tratamientos Citrange troyer y Citrange carrizo inoculados con *Glomus* sp. Zac-19 y *Glomus intraradix*; registraron la mayor supervivencia después de 60 días de la inoculación y trasplante (Cuadro 15). Johson y Hummel (1985) en plántulas de Citrange carrizo inoculadas con *Glomus intraradix* reportaron que la inoculación micorrizica favoreció la supervivencia durante el trasplante, mediante la disminución de la transpiración y reducción de las condiciones de estrés. Efectos similares reportaron Ponton *et al.*, (1990) en el helecho de Boston (*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott cv. Verona) propagado *in vitro* e inoculado con *G.intraradices* incrementando la supervivencia de plantas inoculadas, respecto al testigo.

Cuadro 15.- Efecto del tratamiento en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante.

	PORCENTAJE			
	DIAS	DESPUES DEL TRASPLANTE		
	1-30	31-60	61-90	91-120
Dragon volador				
Testigo	100.0	80.0	80.0	66.6
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	84.6	76.9	69.2	69.2
<i>Glomus aggregatum</i>	85.7	85.7	78.5	64.2
<i>Glomus intraradix</i>	84.6	69.2	67.5	67.5
Citrango troyer				
Testigo	100.0	100.0	75.0	75.0
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	100.0	100.0	100.0	100.0
<i>Glomus aggregatum</i>	100.0	100.0	83.3	83.3
<i>Glomus intraradix</i>	100.0	100.0	91.6	91.6
Citrango carrizo				
Testigo	100.0	92.3	84.6	61.5
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	92.3	84.6	84.6	76.9
<i>Glomus aggregatum</i>	76.9	61.5	61.5	61.5
<i>Glomus intraradix</i>	100.0	100.0	100.0	100.0

Existió un período crítico en la supervivencia de plantas, el cual se presentó durante los primeros 60 días posteriores al trasplante (Cuadro 6), en el que las plantas testigo murieron en mayor número. El efecto fué reflejo de una baja adaptación a condiciones estresantes; este mismo efecto, se observó en plantas inoculadas con *Glomus aggregatum*.

Cuadro 16.- Efecto del tiempo en la supervivencia de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante.

DIAS DE EVALUACION	PLANTAS VIVAS		PLANTAS MUERTAS	
	%		%	
0-30	93.6		6.3	
31-60	87.5		6.1	
61-90	81.5		6.1	
91-120	76.9		4.8	

ALTURA

A partir de los 60 días posteriores a la inoculación y trasplante, las plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 obtuvieron diferencias estadísticas (Tukey $\alpha = 0.05$) en altura, respecto a plantas testigo en los tres portainjertos; lo que indicó, que este hongo estableció la simbiosis con su hospedante en menor tiempo del requerido por los otros endófitos (Fig. 11). Efectos similares con el mismo hongo obtuvieron Aguas *et al.*, (1995) en *Carica papaya* a los 60 y 90 días después del trasplante.

Después de 120 días las plantas inoculadas con *Glomus intraradix* también obtuvieron diferencias estadísticas respecto a su testigo en los tres portainjertos. A 150 días plantas de los tres portainjertos inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 obtuvieron diferencias altamente significativa con un incremento en altura de 280%, respecto a plantas sin inocular. lo cual reflejó la alta eficiencia de la simbiosis. Siqueira y Colozzi-Filho (1986), afirmaron que la altura es uno de los principales parámetros para evaluar la efectividad de la endomicorriza.

Plantas inoculadas con *Glomus intraradix* también superaron en altura a plantas testigo con un incremento promedio de 250%, observandose el mayor efecto del hongo en plantas de Citrange carrizo. Efectos similares a estos, reportaron González-Chavez y Ferrera-Cerrato (1987) al inocular cuatro cultivares de fresa de cultivo *in vitro* con tres cepas endomicorrízicas, obteniendo incrementos de 230 hasta 340% en altura.

Plantas inoculadas con *Glomus aggregatum*, únicamente superaron en altura a plantas testigo en Citrange carrizo, donde además, las plantas inoculadas tuvieron altura similar y fueron estadísticamente superiores al testigo sin inocular, reflejando compatibilidad similar de los hongos con este portainjerto.

Los resultados anteriores fundamentan los efectos benéficos que en plantas de cultivo *in vitro* trae la inoculación con hongos endomicorrízicos.

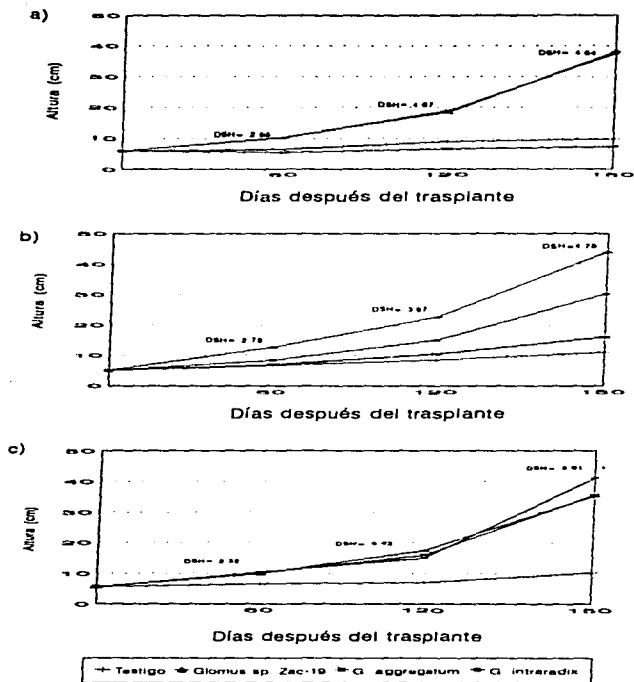


Fig. 11.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante, en la altura de tres portainjertos de cítricos micropropagados: a) Dragón volador, b) Citraage troyer y c) Citraage carrizo.

DIAMETRO DE TALLO

Importantes incrementos en diámetro de tallo de plantas inoculadas fueron observados a los 100 días posteriores al trasplante (Fig. 12). A 150 días del trasplante Citrange troyer inoculado con *Glomus* sp. Zac-19, obtuvo el mayor incremento (110%), respecto a plantas testigo (Fig. 12). Efectos similares con *Glomus* sp. Zac-19 fueron reportados por González-Chavez *et al.*, (1995) en este mismo portainjerto a 135 días de la inoculación. Quiñones *et al.*, (1995) también reportaron importantes incrementos en el diámetro de tallo de *Carica papaya* a 120 días de la inoculación y trasplante.

Plantas inoculadas con *Glomus intraradix* obtuvieron incrementos respecto al testigo de 70% en los tres portainjertos; mientras que en Citrange carrizo las plantas inoculadas con *Glomus aggregatum* obtuvieron incrementos de 65%.

Tomando de referencia los criterios de Sampson (1991) y González *et al.*, (1986); en relación a que el injerto se puede realizar en plantas con un diámetro de 8.0 mm, el cual se alcanza en un tiempo que varía entre 16 y 18 meses de acuerdo a la zona; se esperaría que en este trabajo, las plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, acortaran su estancia en vivero al alcanzar el diámetro para injertar, en un tiempo menor en relación a plantas sin inocular.

Vinayak y Bagyaraj (1990) al inocular plántulas de Citrange troyer con *Gigaspora margarita*, obtuvieron un diámetro de injertación (8.0-10 mm) en 13 meses posteriores a la inoculación, mientras en los testigos este mismo diámetro lo obtuvieron en un lapso de 19 meses; demostrando que si es posible acortar el tiempo de estancia en vivero, al inocular cítricos con hongos endomicorrízicos, lo cual, traducido en recursos materiales y humanos puede significar un importante ahorro.

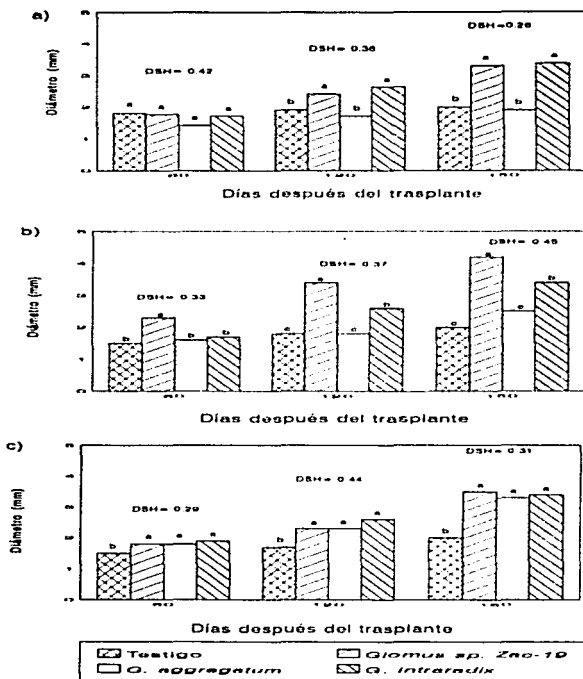


Fig. 12.-Diámetro de tallo de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante: a) Dragón volador; b) Citrange troyer y c) Citrange carrizo.

AREA FOLIAR

A 150 días posteriores a la inoculación y trasplante indicó que plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, desarrollaron mayor área foliar respecto a la de plantas testigo en los tres portainjertos (Fig. 13), alcanzando su mayor efecto en Citrange troyer (114.12 vs 8.96 cm²). Valores similares con *Glomus* sp. Zac-19 en relación a plantas sin inocular reportaron Trejo *et al.*, (1995) en café var. Typica a 270 días después de la inoculación con diferencias altamente significativas.

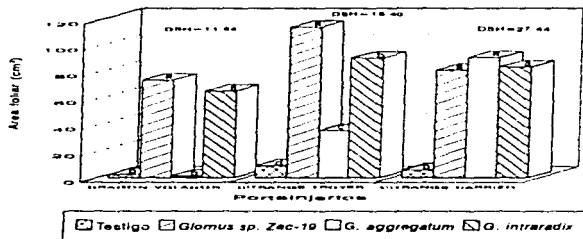


Fig. 13.- Área foliar de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante (150 días).

Como se aprecia (Fig. 13), las plantas inoculadas con *Glomus intraradix* también incrementaron el área foliar respecto a plantas testigo, aunque su efecto fué inferior al de *Glomus* sp. Zac-19. En Citrange carrizo plantas inoculadas con *Glomus aggregatum* presentaron superioridad numérica respecto a los otros hongos, aunque estadísticamente todas las plantas inoculadas tuvieron incremento de área foliar similar y superior respecto al testigo. Un efecto semejante al de *Glomus aggregatum* en este trabajo, fué reportado por González-Cabrera *et al.*, (1993) en capulín con un índice de área foliar de 1247.1 cm² de plantas inoculadas vs 415.0 cm² de plantas testigo.

PESO SECO

El peso seco de plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19, fué estadísticamente superior al de plantas sin inocular, lo cual fué más evidente en Citrange troyer (Cuadro 17), donde existió el mayor incremento (500 %) respecto al testigo. González-Chávez *et al.*, (1995) reportaron incremento de 1,700 % en el peso seco del mismo portainjerto a 135 días posteriores a la inoculación con *Glomus* sp. Zac-19. Bouhired *et al.*, (1984) y Guzmán-Plazola *et al.*, (1984), en naranjo agrio y *Leucaena* sp. respectivamente, reportaron incrementos similares en plantas inoculadas con *Glomus* sp.

Cuadro 17.- Peso seco de plantas micorrizadas y plantas no micorrizadas de tres portainjertos de cítricos micropropagados a 150 días de la inoculación y trasplante.

	Dragón volador	Citrange troyer (gm)	Citrange carrizo
Testigo	0.63 B	0.56 C	0.52 B
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	2.28 A	2.81 A	2.38 A
<i>Glomus aggregatum</i>	0.43 B	1.02 C	2.71 A
<i>Glomus intraradix</i>	1.63 A	1.58 B	2.48 A

* tratamientos con la misma letra en cada portainjerto, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$)

En Citrange carrizo las plantas inoculadas con *Glomus aggregatum* obtuvieron el mayor peso seco de los tratamientos inoculados, aún cuando no existieron diferencias estadísticas entre estos, pero sí con el testigo. Quiñones *et al.*, (1995) en *Carica papaya* cv. cera, obtuvo efectos similares con *Glomus aggregatum*. Por su parte Barea *et al.*, (1984), afirmaron que las micorrizas elevan la relación peso seco de la parte aérea/peso seco de raíz, mediante aumento en la capacidad de absorción de nutrimentos y su traslocación al follaje ocasionando menor transferencia de fotosintatos a las raíces, reteniendo gran cantidad en la parte aérea que es utilizada en la producción de materia verde.

DEPENDENCIA MICORRIZICA

La dependencia micorrizica (DM) definida por Gerdemann, (1975) y Bajyaraj, (1992) como el grado de dependencia que tiene la planta sobre la condición micorrizica, para producir su máximo crecimiento y/o rendimiento a un nivel dado de fertilidad del suelo; fué determinada de acuerdo a la fórmula propuesta por Menge *et al.*, (1978 b) (apéndice A5). Citrange carrizo resultó el más dependiente a la acción micorrizica alcanzando dependencia promedio de 485%, mientras que la de Citrange troyer y Dragón volador fué de 321.9 y 229.6 %, respectivamente; cabe mencionar que los tres portainjertos mantuvieron una dependencia $> 360\%$ con *Glomus* sp. Zac-19, mientras que Dragón volador y Citrange troyer mostraron con *Glomus aggregatum* la dependencia más baja, lo cual se atribuyo a su incompatibilidad (Fig. 14). Al respecto, Edriss *et al.*, (1984) afirmaron que existen diferencias substanciales en dependencia entre los portainjertos.

En general existió alto grado de dependencia de los portainjertos con las cepas utilizadas, lo cual se atribuye en gran medida al tipo de raíces que presentan los cítricos: raíces con pelos radicales escasos, gruesos ($> 0.5\text{mm}$ de diámetro) y cortos (Baylis, 1975), lo cual hace más dependientes a los cítricos que otras especies, ya que las micorrizas en estas especies, sustituyen la necesidad de los pelos absorbentes, siendo necesario el establecimiento de la simbiosis para satisfacer las demandas nutricionales de los cítricos.

Por otra parte Citrange carrizo presentó una correlación (r^2) $> 90\%$ de la dependencia micorrizica con el contenido de fósforo en el follaje; mientras que en Dragón volador y Citrange troyer la correlación fué $< 60\%$. Al respecto Mosse (1973) y Menge *et al.*, (1982) indicaron que la dependencia micorrizica está relacionada con el fósforo disponible en el suelo y su concentración en el follaje; mientras que Graham y Syversten (1984) afirmaron que también puede correlacionarse con la disponibilidad de nutrimentos diferentes al fósforo.

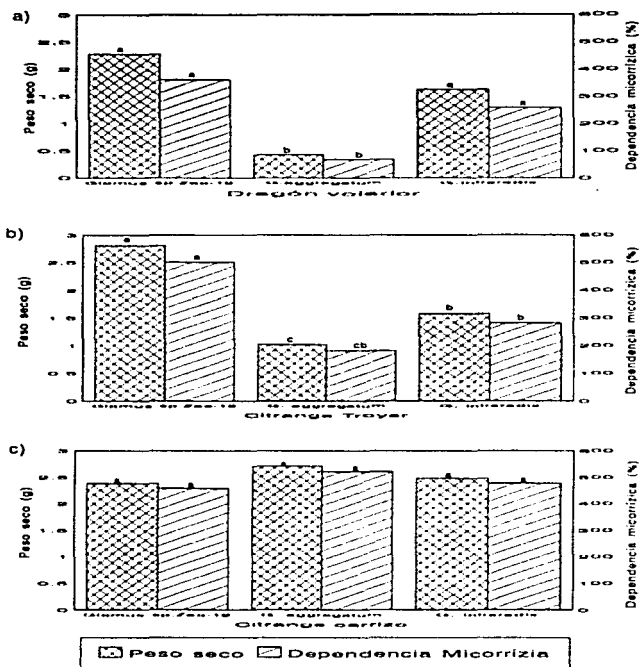


Fig. 14.- Efecto de la inoculación con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante, en el peso seco y dependencia micorrízica de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

VOLUMEN RADICAL

Las plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 superaron significativamente el volumen radical de plantas testigo en los tres portainjertos obteniéndose el mayor incremento en Citrange troyer (Cuadro 18). Resultados similares con *Glomus* sp. Zac-19 obtuvieron Trejo *et al.*, (1995) en plantas de café var. *Typica* a 270 días de la inoculación y Lara (1987) en plantas de *Acacia shufneri* (5.10 vs 2.33) y *Calliandra eriophylla* (3.0 vs 0.93).

Cuadro 18.- volumen radical (cm³) de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrizcos durante el trasplante (150 días).

	Testigo	<i>Glomus</i> sp. Zac-19	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. intraradix</i>
		(cm ³)		
Dragón volador	0.83 B	2.64 A	0.57 B	2.35 A
Citrange troyer	1.10 C	5.42 A	1.00 C	3.35 B
Citrange carrizo	0.51 B	3.45 A	3.60 A	2.95 A

*Tratamientos con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$)

Plantas inoculadas con *Glomus intraradix* también superaron a plantas testigo, pero en menor grado que las inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19. De los anteriores resultados se deduce que al disponer de una mayor zona de exploración por la presencia de micelio extramatricial, estas plantas incrementaron la captación de nutrientes (especialmente fósforo), lo cual favoreció la producción de mayor área foliar y peso seco, variables con las que el volumen radical tuvo alta correlación $r^2 (> 90\%)$.

Por otra parte *Glomus aggregatum* sólo en Citrange carrizo incrementó significativamente el volumen radical en relación a su testigo al igual que los otros hongos; lo cual fué producto de la alta compatibilidad de este hongo con este portainjerto a diferencia de la mostrada con los otros portainjertos de este trabajo.

FOTOSINTESIS

La tasa fotosintética a 120 y 150 días posteriores a la inoculación y trasplante indicó diferencias significativas (Tukey $\alpha = 0.05$), a favor de plantas inoculadas respecto a sus testigos sin inocular (Fig. 15). Trent *et al.*, (1989); Linderman (1988); Jakobsen y Rosendhal (1990), fundamentaron los resultados obtenidos en este trabajo afirmando que los hongos endomicorrizicos en los agroecosistemas incrementan la tasa fotosintética, así como la producción y distribución de fotosintatos a lo largo de toda la planta mediante su actuación como mediadores en una mayor captación de carbono requeriendo tanto para la planta como para la microbiota de la rizosfera.

En las dos evaluaciones realizadas, las plantas inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 y *Glomus intraradix* registraron diferencias respecto a plantas sin inocular de Dragón volador y Citrange troyer. Un resultado similar con *Glomus intraradix* obtuvieron, Ibrahim *et al.*, (1990) en plántulas de sorgo, las cuales aumentaron de manera altamente significativa su coeficiente fotosintético y la conductancia estomatal, en relación a su testigo bajo condiciones de sequía.

Cabe mencionar que las plantas de Dragón inoculadas con *Glomus aggregatum*, no fue posible su evaluación de acuerdo al escaso desarrollo de follaje presentado, lo cual de antemano nos indicó un escasa actividad fotosintética.

En Citrange carrizo la actividad fotosintética de plantas inoculadas con las tres cepas fue muy similar y superior a la de plantas testigo. Johnson (1984) mencionó que el incremento en la tasa fotosintética como resultado de la simbiosis, puede explicarse en el aumento en el área foliar y en la demanda de fotosintatos y/o biosíntesis de fitohormonas; lo cual en este trabajo, se justificó mediante el nivel de correlación (r^2) de la tasa fotosintética (> 85%), con el área foliar en los tres portainjertos.

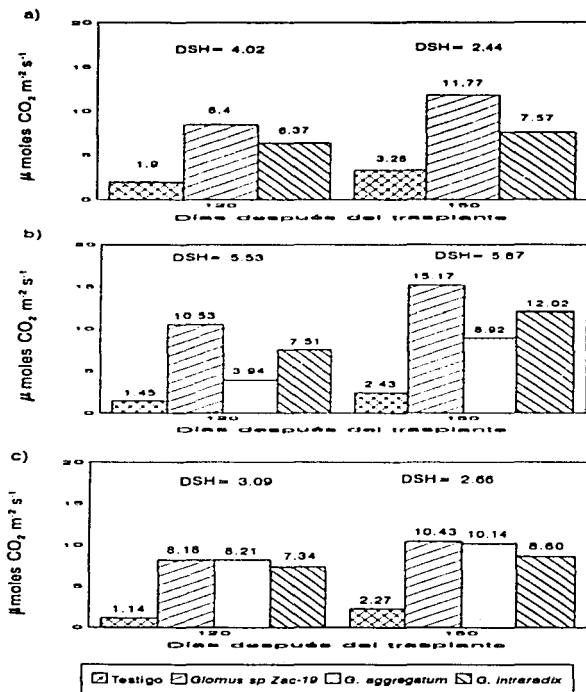


Fig. 15.- Tasa fotosintética de tres portalesjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante: a) Dragón volador, b) Citrange troyer y c) Citrange cerrizo.

FOSFORO FOLIAR

El contenido de fósforo en el tejido vegetal de las plantas inoculadas fué diferente de manera significativa (Tukey $\alpha = 0.05$), respecto al contenido de plantas sin inocular de los tres portainjertos (Fig. 16). Efectos similares reportó Botello *et al.*, (1993) en *Citrus aurantium* con hongos endomicorrízicos; incrementando hasta 2.5 mg g^{-1} el contenido foliar de fósforo respecto al testigo. Knight *et al.* (1989) también reportaron incremento en concentración de fósforo en plantas de *Agropitum smithii* inoculadas con *Glomus* spp.

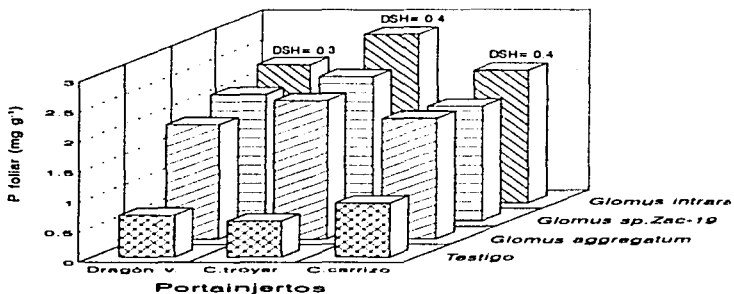


Fig. 16.- Contenido (mg g^{-1}) de fósforo en el folio de tres portainjertos de cítricos micropropagados e inoculados con hongos endomicorrízicos arbusculares durante el trasplante (150 días).

Las plantas inoculadas de Citrange troyer alcanzaron los mayores niveles de P en su follaje; mientras que *Glomus intraradix* resultó el más eficiente en la traslocación del elemento, lo cual seguramente se favoreció por el considerable desarrollo de raíces adventicias en las plantas y la extensión del micelio extramatricial, más allá de la zona de absorción radical, incrementando la captación.

En sus reportes, Chapín (1980) y Clarkson (1985) mencionaron que la exploración y captación de fósforo por la hifa extramatricial, fué el primer mecanismo que se conoció como suministro y factor de asimilación de nutrientes por la raíz de plantas micorrizadas. Al respecto Miller (1986) al detallar el mecanismo de transporte activo del fósforo en el hongo, explicó que este elemento es transferido del micelio al arbusculo y de ahí al interior de la planta.

Los anteriores resultados demuestran que la inoculación endomicorrízica puede eficientar la captación de fósforo, en suelos con bajo contenido (Menge *et al.*, 1978 a; Janerette, 1991; González-Chávez y Ferrera-Cerrato 1993 b), como el sustrato utilizado en este trabajo, que reportó un contenido de 6 ppm.

COLONIZACION ENDOMICORRIZICA

En Dragón volador y Citrange troyer la eficiencia de las cepas inoculadas se correlacionó con su porcentaje de colonización total y al porcentaje de arbusculos (Cuadro 18), al respecto Menge (1983), mencionó que las diferencias en infectividad y efectividad de los hongos endomicorrízicos se relaciona a factores como: habilidad del hongo para dispersarse en la raíz y su capacidad para formar arbusculos; de ahí que *Glomus* sp. Zac-19 y *Glomus intraradix* tuvieran mayor índice de colonización y eficiencia que *Glomus aggregatum* en ambos portainjertos. González-Chávez y Ferrera-Cerrato (1993 c), reportaron un efecto similar de estas cepas en café (*Coffea arabica*) var. Bourbon.

En Citrange carrizo, *Glomus intraradix* fué estadísticamente más infectivo que los otros hongos, pero su eficiencia fué ligeramente menor a la de *Glomus aggregatum* en variables como: área foliar, peso seco, volumen radical y tasa fotosintética, lo cual puede atribuirse a la alta compatibilidad del hongo con este portainjerto y a la alta dependencia de este portainjerto con el hongo (> 800%).

Cuadro 19.- Colonización endomicorrízica a 150 días de la inoculación y trasplante de tres portainjertos de cítricos micropropagados.

PORTAINJERTOS	TOTAL %	ARBUSCULOS %	VESICULAS %
Dragón volador			
Testigo	0.00 C	0.00 B	0.00 C
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	65.13 A	59.61 A	5.04 B
<i>Glomus aggregatum</i>	13.20 B	6.35 B	3.49 C
<i>Glomus intraradix</i>	63.49 A	47.09 A	12.52 A
	DSH=4.23	DSH=18.21	DSH=4.95
Citrango troyer			
Testigo	0.00 C	0.00 C	0.00 B
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	70.76 A	59.38 A	24.88 A
<i>Glomus aggregatum</i>	32.48 B	25.20 B	4.32 AII
<i>Glomus intraradix</i>	64.19 A	54.33 A	13.68 AII
	DSH=18.07	DSH=23.73	DSH=21.55
Citrango carrizo			
Testigo	0.00 C	0.00 C	0.00 B
<i>Glomus</i> sp. Zac-19	32.42 B	28.05 B	3.11 B
<i>Glomus aggregatum</i>	36.84 B	32.61 B	14.28 A
<i>Glomus intraradix</i>	58.39 A	51.70 A	13.61 A
	DSH=12.86	DSH=14.36	DSH=4.19

* tratamientos con la misma letra en cada portainjerto, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$)

En el porcentaje de vesículas la situación fué más variable, ya que en Dragón volador *Glomus intraradix* obtuvo diferencia estadística respecto a los otros hongos, mientras que en Citrange troyer *Glomus* sp. Zac-19 produjo la mayor cantidad de vesículas y en Citrange carrizo *Glomus aggregatum* superó a los otros hongos sin ser diferente estadísticamente. Al respecto Azcón-Aguilar *et al.*, (1984) señalaron que aún cuando cualquier hongo micorrízico pueda infectar a determinada especie, existen diferencias en morfología de colonización, grado de micorrización y efectividad de la micorriza formada, de acuerdo a diferentes niveles de compatibilidad celular y tisular.

VII. CONCLUSIONES

FASE 1: INOCULACION DURANTE EL ESTABLECIMIENTO

Citrange carrizo incrementó el índice de supervivencia de plantas inoculadas respecto a plantas sin inocular a 120 días del establecimiento; pero los efectos de la inoculación en su crecimiento y desarrollo fueron tardíos, obteniendo con *Glomus intraradix* los mayores beneficios a 250 días del establecimiento.

Plantas de Dragón volador y Citrange troyer inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 obtuvieron los mayores incrementos en las variables evaluadas respecto al testigo sin inocular, definiéndose como los tratamientos más eficientes durante esta fase.

La eficiencia de los hongos endomicorrizicos arbusculares en esta fase, dependió en gran medida de la cantidad de arbusculos presentes y no de la colonización total.

FASE 2 : INOCULACION DURANTE EL TRASPLANTE

En Citrange troyer la inoculación endomicorrizica incrementó el índice de supervivencia a 120 días del trasplante; además, fué el único portainjerto donde el testigo tuvo menor supervivencia que plantas inoculadas.

Plantas de Citrange troyer y Dragón volador inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19 presentaron los mayores beneficios en relación a plantas sin inocular a 150 días posteriores al trasplante; resultando los tratamientos más eficientes durante la etapa de trasplante.

En Citrange carrizo la eficiencia mostrada por los tres endófitos indicó que la inoculación con cualquiera de ellos durante el trasplante de este portainjerto, resulta igualmente benéfica.

El orden de dependencia micorrizica (DM) de los portainjertos evaluados en este trabajo fué la siguiente: Citrange carrizo > Citrange troyer > Dragón volador.

CONCLUSIONES GENERALES

Glomus aggregatum no manifestó compatibilidad con el portainjerto Dragón volador, en ninguna de las fases experimentales, por lo que resulta la combinación portainjerto-hongo menos recomendable, tanto en periodo de establecimiento, como durante el trasplante.

Tanto en etapa de establecimiento como durante el trasplante, el incremento del volumen radical como efecto de la inoculación, aunado a la alta correlación r^2 (> 95%) de esta variable con la altura, área foliar y peso seco; demostró la importancia que tiene la endomicorriza-arbuscular, en el desarrollo de los cítricos, dada la escases de pelos radicales en las raíces de estas plantas.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Abbot, L. K. y A.O. Robson. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas. *Agric. Ecosystems and Environment* 35:121-150.
- Aguas, R. T., R. Ferrera-Cerrato, M.C. González-Chávez, A.V. Monter y A.M. Garza. 1995. Efecto del fósforo, vermicomposta, cachaza e inoculación micorrizica en el desarrollo de *Carica papaya* L. In: XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria Tamps. México pp. 96.
- Aguirre, M. J. F. 1985. Componentes morfológicos y fisiológico del rendimiento del frijol, al inocularse con micorriza VA y dinámica de las estructuras del hongo. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo Edo. de México.
- Alarcón, A. 1993. La endomicorriza vesículo arbuscular en el manejo de dos métodos de propagación de frutales. Tesis de licenciatura Universidad Veracruzana. Xalapa Ver. 91 p.
- Allen, M. F., T.S. Moore y M. Christensen. 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular arbuscular mycorrhizae. I Cytokinin increases in the host plant. *Canadian J. Bot.* 58:371-374.
- Allen, M. F., W.K. Smith y M. Christensen. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. H.B.K. lag ex stand. *New Phytol.* 88:683-693.
- Allen, M. F., T.S. Moore y M. Christensen. 1982. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular arbuscular mycorrhizae. II altered levels of giberellin like substances and abscisic acid in the host plant. *Canadian J. Bot.* 60:468-471.
- Allen, M. F. 1983. Formation of vesicular arbuscular mycorrhizae in *Atriplex gardneri* (Chenopodiaceae) seasonal response in a cold desert. *Mycologia* 75:773-776.
- Anderson, J. A. 1988. Mycorrhizae-Host specificity and recognition. *Phytopathology* 78(3):375-378.
- Azcón-Aguilar, C., J.M. Barea y B.E. Roldan-Fajardo. 1984. Avances recientes en el estudio de las micorrizas V.A. II factores que afectan su formación y función y aplicaciones prácticas en la agricultura. *Anales de Edafología y Agrobiología* 43 (5-6) 943-958.

Azcón, A. C., A. Barcelo, M.T. Vidal y G. de la viña. 1992. Forther studies on the influence of micorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie*: 837-840.

Bagyaraj, D. J. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhiza; application in the agriculture. *Methods of Microbiology* 24 : 359-373.

Barea, J. M. y C. Azcón-Aguilar. 1982 a. La rizosfera: interacciones microbio-planta. *Anales de Edafología y Agrobiología.* (7-8):1517-1532.

Barea, J. M. y C. Azcón-Aguilar. 1982 b. Production of plant growth regulating substances by the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Appl. Environ Microbiol.* 43: 810-813.

Barea, J. M., C. Azcón-Aguilar y B. Roldan-Fajardo. 1984. Avances recientes en el estudio de la micorrizas V.A. I formación, funcionamiento y efectos en nutrición vegetal. *Anales de Edafología y Agrobiología* 43:659-677.

Barea, J. M., M.A. Herrera y C.P. Salamanca. 1992. Mycorrhizal inoculation of micropropagated woody legumes used in revegetation programmes for desertified Mediterranean ecosystems. *Agronomie* 12:869-872.

Barrera, N. L. y M. Valdez. 1990 Efecto de diferentes hongos endomicorrizicos VA sobre *Casuarina equisetifolia* en: V Congreso Latinoamericano de Botánica. Palacio de las convenciones; La Habana 24-29 pag 10.

Baylis, G. T. S. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it on endomycorrhizas. in: Sanders, F.E., B. Mosse y P.B.Tinker (Eds). *Academic Press* London. pp. 372-389.

Bonfante, F. 1984. Anatomy and morphology of VA Mycorrhiza. In: Powell, C.I. y D.J. Bagyaraj (Eds). *CRC Press.* Florida pp. 6-33.

Botello, G. J. J., R. Ferrera-Cerrato y M.C. González-Chávez. 1993. Respuesta de *Citrus aurantium* L. a la inoculación con hongos endomicorrizicos arbusculares utilizando diferentes niveles de inóculo. *Terra* 11:178.

Bouhired, L., J.A. Fortin y V. Forlan. 1984. Vesicular arbuscular endomycorrhiza experimental production on *Citrus aurantium*. *Fruits* 39 (4):277-282.

Branzati, B., V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi. 1992. Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. *Agronomie* 12: 841-845.

- Brechelt, A. 1989. Effect of different organic manures on the efficiency of VA mycorrhiza. *Agric. Ecosistem. Environ.* 29:55-58.
- Bredja, J. J., D.H. Yocom, L.E. Mosser y S.S. Waller. 1993. Dependence of 3 Nebraska sandhills warm-season grasses on (VAM) vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Journal of Range Management* 1993. 46:1,14-20.
- Bouza, S. N. 1989. Las micorrizas vesículo arbusculares en el cultivo de los cítricos. Perspectivas de su utilización en viveros. *Boletín de reseñas de cítricos y otros frutales. Cuba No. 39:45 p.*
- Calderon, A. E. 1985. *Fruticultura general.* Limusa pp. 650-654.
- Campbell, R. 1987. *Ecología microbiana.* Edt. Limusa México. pp.229-253
- Campell, R. y M. P. Greaves. 1990. Anatomy and community structure of the rizosphere. pp.11-34. In: J.M. Lynch (Eds) *The rizosphere.* Nueva York. Estados Unidos de América.
- Carling, D. E. y M.F. Brown. 1982. Anatomy and physiology of vesicular and nonmycorrhizal roots. *Phytopathology* 72:1108-1114.
- Clapp, C. E., A.E. Molina y R.H. Dowy. 1990. Soil organic matter, tillage and the rhizosphere dynamics pp. 55-75 In: Box J.E. y L.C. Hammand (Eds). *AAA Selected symposium* 113. Westview Press Boulder Colorado; Estados Unidos de América.
- Castle, W. S. 1988. Patrones y variedades. *Memorias del seminario de citricultura.* Merida Yucatán. FIRA pp 45-60.
- Chapin, F. S. 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Ann Rev. Ecol Syst.* 11: 233-260.
- Cituk, C. D. E. 1994. Comportamiento en vivero de plantas obtenidas *in vitro* y por semilla de Citrange Troyer y Carrizo. En: XL Reunion anual de la Interamerican society for tropical horticulture. Noviembre 1994. Campeche México. pp 126.
- Clarkson, D. T. 1985. Factors affecting mineral nutrient adquisition by plants. *Ann Rev. Plant Physiol.* 36:77-115.
- Coleman, D. C. y T.V. John. 1983. The role of mycorrhizae. En : *Can. J. Bot.* 61:944-963.
- Cooper, K. M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. in: Powell, C. L. y D.J. Baganraj. (Eds) *VA micorrhizal.* CRC , Boca Raton Florida. pp. 155-186.

- Cress, W. A., O.O. Throneberry y D.L. Lindsey.** 1979. Kinetics of phosphorus absorption by mycorrhizal and nonmycorrhizal tomato roots. *Plant Physiol.* 63:484-487.
- Davis, R. M.** 1982. Mycorrhizal fungi associated with Citrus in South Texas, J. Rio Grande Valley. *Hort. Soc.* 35:127-129.
- Deacon, J. W.** 1980. Introduction to modern mycology. Basic Microbiology. Edt. Blackwell Scientific Publication. 17:163-167.
- Deberg, P. C. y D.H. Zimmerman.** 1991. Micropropagation Technology and application. Kluwer Academic Publishers. pp 2-3
- De Fossard, R. A.** 1986. Principles of plants tissue culture. In R.H. Zimmerman y R.J. Griesbach (Eds.) Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. Martinus Nijhoff Publishers. Boston. pp 1-14.
- Dixon, R. K., H.E. Garret y G.S. Cox.** 1988. Carbohydrate relationships of *Citrus jambhiri* inoculated with *Glomus fasciculatum*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113:239-242
- Dixon, R. K., H.E. Garret y G.S. Cox.** 1989. Boron fertilization, vesicular arbuscular mycorrhizal colonization and growth of *Citrus jambhiri* Lush. *Jour. Plant Nut.* 12:687-700.
- Douds, D. D. y W.R. Chaney.** 1986. The effect of high nutrient addition upon seasonal patterns of mycorrhizal development host growth and root phosphorus and carbohydrates content in *Fraxinus pensylvanica*. *New Phytol* 103:91-106.
- Edriss, M. H., M.M. Davis y D.W. Burger.** 1984. Increased growth responses of citrus by several species of mycorrhizal fungi. *Hort Sci.* 19:537-539.
- Etchevers, J. D.** 1988. Análisis químico de suelos y plantas; Notas de clase. Centro de Edafología, Colegio de postgraduados; Chapingo, México. pp. 366.
- Ferrera, C. R.** 1983. La micorriza en los diferentes agroecosistemas del Plan Zacapoaxtla. *Puc.* In: XVI Congreso nacional de Microbiología. 24-28 Abril. Chihuahua, Chih.
- Ferrera, C. R.** 1989. Rizosfera. In: R. Ferrera-Cerrato (Ed) Ecología de la raíz. Sociedad mexicana de Fitopatología. México. pp 1-21
- Ferrera-Cerrato, R. y M.C. González-Chávez.** 1993 a. Potencial de los hongos endomicorrízicos vesículo arbusculares en los viveros frutícolas de México. en: *Bioproducción de frutales, a nivel vivero.* Sección de Microbiología de suelos. Centro de Edafología, C.P., Montecillo, Edo. de México. pp 216.

- Ferrera-Cerrato, R. y M.C. González-Chávez. 1993 b.** Importancia de la simbiosis endomicorrízica VA, en los frutales En: Bioproducción de frutales a nivel vivero. Sección de Microbiología de suelos. Centro de Edafología C.P. Montecillo, México. pp 209.
- Ferrera-Cerrato, R. y M.C. González-Chávez. 1993 c.** Dinámica de crecimiento de cítricos, bajo el efecto de la inoculación de hongos endomicorrízicos y niveles de fertilización fosfatada. Sección de Microbiología de suelos, Centro de Edafología. C.P. Montecillo, México.
- FIRA 1989.** Programa demostrativo de producción de cítricos en Yucatán. Boletín informativo, No. 209 Vol. XXI, pp. 4-7.
- Fitter, A. H. 1985.** Functioning of vesicular-arbuscular under field conditions. *New Phytol.* 99:257-265.
- Forner-Valero, J. B. 1984.** Interacciones entre el injerto y el patrón, en los agrinos. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. Valencia España pp.1-17.
- Fortuna, S. P., S.M. Citernesi, M. Giovanaeti y F. Laurei. 1992.** infectivity and effectiveness of different species of arbuscular mycorrhizal fungi in micropropagated plants of MR s 2/5 plum rootstock. *Agronomie* 12:825-829.
- Foster, R. C. 1986.** The ultrastructure of the Rhizoplane and Rhizosphere. *Ann. Rev. Phytopathology* 24:211-234.
- Friedrich, K. S. 1984.** Fruticultura. Edit CECOSA. México pp 15-19
- Gerdemann, J. W. y J.M. Trappe. 1974** Endogonaceae the Pacific Northwest. *Micologia Memor* 5:1-75.
- Gerdemann, J. W. 1975.** Vesicular arbuscular mycorrhiza. In: Torrey, J.G. and D. T. Clarkson (Eds). The development and function of root. New York. Academic Press. pp. 575-591.
- Gianinazzi, S. y V. Gianinazzi-Pearson. 1983.** Les endomycorhizas importance dans la croissance development des arbres fruitiers. 38:659-662
- Gianinazzi, S., A. Trauvelot y V. Gianinazzi-Pearson. 1990.** Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production. *Adv. Hort. Sci.* 4:25-30.
- Gianinazzi, S. 1991.** Vesicular arbuscular (endo) mycorrhizas: cellular biochemical and genetics aspects. *Agric. Ecosystems Environ* 35:105-119.

Gianinazzi-Pearson, V. y S. Gianinazzi 1983. The physiology of vesicular arbuscular mycorrhizal roots. *Plant Soil* 71:197-209.

Gianinazzi-Pearson, V. 1985. Mycorrhizal effectiveness in phosphate nutrition; How, when and where?; Proceedings of the 6th. NACOM. Oregon, USA pp 150-154.

Gianinazzi-Pearson, V. y S. Gianinazzi 1986. The physiology of improved phosphate nutrition in micorrhizal plants. See Ref. 13 pp.101-109.

Godínez, R. M. A., R. Ferrera-Cerrato, J.J. Cortez y J.I. Domínguez. 1986. Response of avocado (*Persea americana*) to inoculation with endomycorrhiza VA. Fourth international symposium on microbial ecology. Ljubljana, Yugoslavia. pp. 108.

Gomez, C. G. y R. Ferrera-Cerrato 1990. *Prunus serotina* spp. capuli (cav. Mac. Vaugh) y la micorriza VA en tepetate amarillo del estado de México In V Congreso Latinoamericano de Botánica. La Habana Cuba

González-Cabrera, V., M.C. Gonzalez-Chavez y R. Ferrera-Cerrato 1993. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular, en plantas de capulín (*Prunus serotina*) var. capuli En Perez-Moreno, J. y R. Ferrera-Cerrato (Eds.) Avances de Investigación. Area de Microbiología de Suelos, PROEDAF, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados pp 91-99.

González-Chávez, M. C. 1993. La endomicorriza vesículo arbuscular In: Ferrera-Cerrato, R. (Eds.) Manual de agromicrobiología. Edit. Trillas pp 53-91.

González-Chávez, M. C. 1995. Interacción de la simbiosis endomicorrízica y la fijación biológica de nitrógeno. In: Ferrera-Cerrato, R. y J. Perez-Moreno (Eds.) Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados en ciencias agrícolas Montecillo, Estado de México. pp 166-183.

González-Chávez, M. C y R. Ferrera-Cerrato. 1987. Efecto del Captán y la endomicorriza (VA), sobre el desarrollo de fresa proveniente de cultivo *in vitro*. *Rev. Latinoamericana de Microbiología* 29:193-199.

González-Chávez, M. C y R. Ferrera-Cerrato 1993 a. Manejo de la endomicorriza vesículo arbuscular en cinco portainjertos de cítricos In: Perez-Moreno, J. y R. Ferrera-Cerrato (Eds.) Avances de investigación; Sección de Microbiología. PROEDAF-IRENAT. Colegio de Postgraduados. pp. 77-90.

González-Chávez, M. C. y R. Ferrera-Cerrato. 1993 b. Uso de la endomicorriza vesículo arbuscular (VA) y de la roca fosfórica, en Naranja agro Australiano. In: Simposio Internacional y II Reunion nacional sobre agricultura sostenible. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 562.30.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- González-Chávez, M. C. y R. Ferrera-Cerrato.** 1993 c. Influencia de la Endomicorriza V-A, en cuatro variedades de café En: Perez-Moreno, J. y R. Ferrera-Cerrato (Eds). Avances de Investigación, Area de Microbiología de Suelos. PROFIDAF; Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados pp. 100-112.
- González-Chávez, M. C., R. Ferrera-Cerrato y A.V. Monter.** 1995. Sustratos e inoculación en el crecimiento de plántulas micropropagadas de Citrange troyer. In: XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria Tamps. pp.67.
- González, G. R., J.E. Padrón, J.M. Ramírez, A. Sánchez, L.P. Vázquez y E. Villarreal.** 1986. Guía para el cultivo de cítricos en Nuevo León, Campo experimental "General Terán" INIA. pp. 6-20.
- Graham, J. H.** 1986. Citrus mycorrhizae: Potential benefits and interactions with pathogens. Hort Science Vol. 21:1302-1303.
- Graham, J. H., R.T. Leonard y J.A. Menge.** 1981. Membrane mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular arbuscular mycorrhiza formation. Plant Physiol 68: 548-552.
- Graham, J. H. y J.P. Siversten.** 1984. Influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstock. New Phytol. 97: 277-284.
- Graham, J. H. y J.P. Siversten.** 1985. Host determination of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings. New Phytol 101:667-676
- Graham, J. H. y D. Fardelman.** 1986. Inoculation of citrus with root fragments containing chlamydospores of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Can. J. Bot. 64:1739-1744.
- Gravina, T. A.** 1989. Características viveristas en nueve portainjertos de cítricos. Rev. Chapingo 62:133-136.
- Guzmán-Plazola, R. A, R. Ferrera-Cerrato, J.D.E. Barra y T. Corona.** 1984. The symbiosis *Rhizobium-Glomus* in *Leucaena leucocephala*, 6th NACOM. Brend Oregon USA pp. 237.
- Guzmán-Plazola, R. A.** 1989. Evaluación de sustratos y niveles de fósforo, potasio y solución nutritiva, para la producción de inóculo micorrizico (VA), en *Phaseolus vulgaris*. Tesis de Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo Edo. de México. pp.86-88.
- Guzmán-Plazola, R. y R. Ferrera-Cerrato.** 1990. La endomicorriza vesículo arbuscular en las leguminosas. Colegio de Postgraduados, México. 119 p.
- Harley, J. L. y S.E. Smith** 1983. Micorrizal symbiosis Academic Press. Londres, Reino Unido.

- Hartman, H. T. y D.E. Kester.** 1989. Propagación de plantas. Edt. CECSA. México 760 p.
- Hayman, D. S.** 1974. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. *New Phytol.* 73: 71-80.
- Hayman, D. S.** 1980. Mycorrhizae and production of crops. *Nature* 287: 487-488.
- Hayman, D. S.** 1982. Influence of soils and fertility on activity of vesicular arbuscular micorrhizal fungi: *Phytopathology* 72: 1119-1125.
- Hayman, D.S.** 1983. The physiology of vesicular arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.* 61:944-963.
- Hetrick, B. A. D.** 1989. Adquisition of phosphorus by VA mycorrhiza fungi and the growth responses of their host plants. In Boddy, L., R. Marchani y D.J. Reid (eds). Nitrogen, Phosphorus and sulphur utilization by fungi. Edit. Cambridge University Press. Nueva York. pp. 205-226.
- Hurtado, M. D. V.** 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Edt. Trillas. México. pp. 15.
- Ibrahim, M. A., W.F. Campbell, L.A. Rupp y F.B. Allen.** 1990. Effects of mycorrhizae on Sorghum growth; photosynthesis and stomatal conductance under drought conditions. in: *Arid soil Research and Rehabilitation 1990 Mogadishu Somalia.* 4:99-107.
- Jaen, C. D.** 1986. Manejo de la endomicorriza vesicular arbuscular en la producción de frutales perrenifolios (*Carica papaya* cv cera y solo) cultivado en vivo. Tesis profesional. Escuela Nacional de Estudios Profesionales. Iztacala. UNAM. México, D.F.
- Jaen, C. D.** 1989. Ecología y aplicación de los hongos endomicorrizicos VA, en la producción agrícola. In: R. Ferrera-Cerrato (Eds) Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de fitopatología. Colegio de Postgraduados: Montecillo, Edo. de Mexico. pp. 22-56.
- Jaen, C. D. y R. Ferrera-Cerrato** 1989. Aplicación tecnológica de los hongos endomicorrizicos en la producción de capulín (*Prunus scottina*, var. capulín). In: XII Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Montecillo, Edo. de México. pp. 151.
- Jaen, C. D. y R. Ferrera-Cerrato.** 1994. La micorriza vesículo-arbuscular en la fruticultura tropical y su componente de investigación en México. In: XI Reunion anual interamericana Society For Tropical Horticulture. (Programa y memoria de resúmenes). Campeche, Campeche; México. pp.163.
- Jaizme, V. M. C. y R. Azcon** 1988. Effect of VAM fungi on tropical fruit-trees. In: *Abstracts 2nd. European Symposium on Micorrhizae.* Praga. 51-52.

- Jaizme, V. M. C. y R. Azcon.** 1991. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on pineapple (*Annanas comusus* L. Merr.), in the Canary Islands. In: Abstracts on tropical agriculture. 16: 92.
- Jakobsen, I. y L. Rosendahl.** 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytol.* 115:77-83.
- Janerette, C. A.** 1991. An introduction to mycorrhizae. *The American Biology Teacher.* 53:13-19.
- Janos, P. D.** 1980. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae, effect lowland tropical rain forest plant growth. *Ecology* 61:151-162.
- Janos, P. D.** 1984. Methods for vesicular-arbuscular research in the lowland wet tropics. In: Medina, E., H.A. Mooney y C. Vázquez-Yañez (Eds.) *Physiological ecology of plants of the wet tropics* Junk, The Hague. pp. 173-187.
- Johnson, C. R.** 1984. Phosphorus nutrition on mycorrhizal colonization photosynthesis, growth and nutrient composition of citrus aurantium. *Plant Soil.* 80 35-42
- Johnson, C. R. y R.L. Hummel.** 1985. Influence of mycorrhizae and drought stress a growth of *Poncirus* x *Citrus* seedlings; *Hort Science* 1985 20:4 pp 754-755
- Kinden, D. A. y M.F. Brown.** 1975. Electron microscopy of vesicular arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. IV. Host-endophyte interaction. *Can J Microbiol.* 22:64-75
- Knigh, W. G., M.F. Allen, J.J. Jurinak y L.M. Dudley.** 1989. Elevated carbon dioxide and solution phosphorus in soil with vesicular arbuscular mycorrhizal western wheatgrass. *USDA-AES Great Plains Systems Res.* 1701.
- Kochba, J. y J. Button.** 1974. The simulation of embryogenesis and embryod development in habitued ovular callus from the Shamauti orange (*Citrus sinensis*), as affected by tissue age and sucrose concentration. *Plant Physiol.* 73: 415-421.
- Krezdorn, A. H.** 1988. Situación mundial de los cítricos y comportamiento de los cítricos en áreas tropicales. En: *Memorias del seminario de Citricultura.* FIRA, Merida Yucatán. pp. 9-17.
- Lara, F. V.** 1987. Estudio de la endomicorriza VA en los agroecosistemas de las zonas áridas y semiáridas del Altiplano Potosino-Zacatecano. Tesis Biólogo. FENEP Zaragoza; UNAM. pp. 53.
- Lee, R.** 1994. El virus de la tristeza ronda a los cítricos mexicanos. En: *Agrovisión* 8:28-29.

- Lewis, D. H.** 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biol. Rev.* 48:261-278.
- Linderman, R. G.** 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: The mycorrhizosphere effect. *Phytopathology*. 78:366-371.
- Linderman, R. G.** 1993. Effects of microbial interactions in the mycorrhizosphere on plant growth and health. In: Ferrera-Cerrato, R. y R. Q. Lizaola (Eds). *Agroecología Sostenibilidad y Educación*. Centro de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo Edo. de México. pp. 138-139.
- Loussert, R.** 1992. Portainjertos y variedades. En: Los agrrios. Edit. Mundi-Prensa. Madrid. pp. 63-84.
- Maldonado, T. R. y M. Osorio.** 1991. Fertilización de los cítricos. Universidad Autónoma Chapingo (Eds). pp. 5-8.
- Marks, G. C.** 1991. Casual morphology and evaluation of mycorrhizas. *Agric. Ecosistem Environ* 35:89-104.
- McCarty, D. y D.C. However.** 1982. Flying Dragon: A potential dwarfing rootstock. In *Citrograph*. 67:71-72.
- McGraw, A. C. y P. Kormanik.** 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Shenck, N.C. (eds) *Methods and principles of mycorrhizal research*. The Phytopathological Society, Minnesota.
- Menge, J. A., J.M. Gerdemann y H.W. Lembricht** 1975. Mycorrhizal fungi and citrus. *The Citrus Industry* 61:16-18.
- Menge, J. A., R. Davis, M.L. Johnson y G. A. Zentmyer.** 1978 a. Mycorrhizal fungi increase growth and reduce trasplant injury in avocado. *California Agriculture*. Davis California. USA.
- Menge, J. A., C.K. Labanuskas, E.L.V. Johnson y R. G. Platt.** 1978 b. Partial substitution of mycorrhizal fungi for phosphorus fertilization in the greenhouse culture of citrus. *Soil Sci. Soc-American J.* 42:926-930.
- Menge, J. A., W.M. Jarrel, C.K. Labanuskas, J.C. Ojala, C. Huszar, E.L.V. Johnson y D. Sibert.** 1982. Predicting mycorrhizal dependency of Troyer citrange on *Glomus fasciculatum* in California citrus soils and nursery mixes. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 46:762-768.
- Menge, J. A.** 1982. Effect of soil fumigents and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology*. 72:1125-1132.

- Menge, J. A. 1983. Utilization of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Can.J.Bot* 61:1015-1024.
- Miller, J. C., S. Rajapakse y R.K. Garber. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizal in vegetable crops *Hort Science* 21:974-984.
- Moore, G. A. 1986. *In vitro* propagation of citrus rootstock. *Hort Science* 21:300-301.
- Morton, J. B. y G.L. Benny. 1990. Revised clasification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zigomicetes): A new order Glomales, two news suborder: Glominae and Gigasporinae; and two news families: Acaulosporaceae and Gigasporaceae; with an enmendation of Glomaceae. *Micotaxon* 37:471-491.
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Rev. Phytopathol.* 11:171-196.
- Mosse, B. y D.S. Hayman. 1980. Plant growth to vesicular-arbuscular mycorrhiza in unsterilized field soils. *New Phytol.* 70:29-34.
- Mosse, B., D.P. Stribley y F. Le Tacon. 1981. Ecology of mycorrhizal and mycorrhizal fungi. In: M. Alexander. *Advances in Microbiol Ecology*. Plenum Press. pp. 137-210.
- Moser, M. y K. Haselandfer. 1983. Ecophysiology of mycorrhizal symbiosis. In: Lange, O.L., P.S. Nobel, C.V. Osmand, H. Ziegler (eds). *Physiological plant ecology* pp. 391-421.
- Nelson, S. D. 1987. Rooting and subsequent growth of woody ornamental softwood cutting treated with endomycorrhizal inoculum. *J. Amer. Soc Hort. Sci* 112 263-266.
- Nemec, S. 1978. Response of six citrus rootstocks to three species of *Glomus* a mycorrhizal fungus. *Proc. Hort. Soc.* 91:10-14.
- Nemec, S. 1981. Histochemical characteristic of *Glomus etunicatum* infection of Citrus limon fibrous roots. *Can. J. Bot.* 59 : 609-617.
- Nemec, S., G.A. Menge, R.G. Platt y E.L.V. Johnson. 1981. Vesicular-Arbuscular micorrhizal fungi associated with Citrus in Florida and California and notes on their distribution and ecology *Micologia* 73 (1):112-127.
- Nemec, S. y G. Guy. 1982. Carbohidrate status of mycorrhizal on nonmycorrhizal citrus rootstocks. *J. Am. Soc. Hort Sci.* 107:177-180.
- Nemec, S. 1987. Effect of storage temperature and moisture on *Glomus* species and their subsequent effect on citrus rootstocks seedling growth and mycorrhiza development. *Micol. Soc.* 89 : 205-212.

- Ocampo, J. A.** 1980. Micorrizas VA. Características generales. In :Anales de Edafología y Agrobiología. 39(1-2):351-365.
- Ocampo, J. A.** y D.S. Hayman. 1980. Effects of pesticides on mycorrhiza in field grow barley, maize and potatoes. Trans Brit. Mycol. Soc. 74:413-416.
- Ochse, J. J., M.S. Soule, M.S., Dijkman y C. Wehlborg.** 1982. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Edit. Limusa. pp. 433-586.
- Owusu, B. E.** y A. Wild. 1979. Autoradiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular arbuscular mycorrhiza. New Phytol 82:133-140.
- Padrón-Chávez, J. E.** 1990. Rendimiento y calidad de fruta de la naranja Valencia (*Citrus sinensis* Obs.) con diferentes portainjertos en General Terán N.L. Agric. Tec. Méx. 1:3-17
- Palacios, J.** 1978. Portainjertos y plantación En: Citricultura moderna. Edit. Hemisferio. Buenos Aires. pp. 394-410.
- Perrin, R.** 1990. Interactions between mycorrhizae and diseases caused by soil-borne fungi. Soil use and Management 6:189-195.
- Phillips, J. M.** y Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. Trans. Brit. Mycol. 55: 158 161.
- Pirozynski, K. A.** y Y. Dalpé. 1989. Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis. Symbiosis 7:1-36.
- PIISCI,** 1991. Producción de cítricos en México. En: Memorias del Simposium Internacional sobre sistemas de producción de cítricos. U.A.CH. pp. 1-17.
- Plenchette, C., V. Forlan y J.A. Fortin.** 1982. Effect of different endomycorrhizal fungi on five host plants grown on calcined montmorillonite clay. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107: 535-538.
- Ploper, L. D., C.A. Oeste y N.E.V. Ramallo.** 1977. Embriogenesis in vitro citrus. Rev. Industrial y agrícola de Tucumán. 54 (1) : 29-36.
- Ponton, F., Y. Piché, S. Parent y M. Caron.** 1990. The use of Vesicular Arbuscular Mycorrhizae in Boston Fern Production: I Effects of Peat-based Mixes HortScience 25 (2):183-189.
- Powell, C.** 1976. Mycorrhizal fungi stimulation clover growth in New Zealand hill country Soile, Nature. 264:436-438.

- Praloran, J. C.** 1977. Variedades y portainjertos. En: Los agríos. Edit. Blume. Barcelona. pp. 241-243.
- Quñones, A. E., D. Trejo, T.A. Rendon y R. Ferrera-Cerrato.** 1995. Respuesta de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación con la endomicorriza arbuscular en tres sustratos en: XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo; Cd. Victoria Tamps. México pp 96.
- Raj, B. R. y H.C. Arya.** 1978. Tissue culture propagation of citrus trees. Proc. Int. Soc. Citriculture: 135-140.
- Ramírez, D. J. M.** 1983. Técnicas de producción y utilización de los cítricos en México. SARH. México D.F. pp. 27-28.
- Ramírez, D. J. M.** 1986. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo de los cítricos. Publicación especial No. 87 INIA, SARH. México.
- Rhodes, L. M. y J.W. Gerdemann.** 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and nonmycorrhizal anions. New Phytol 75:555-561.
- Rodríguez, S. E. E.** 1986. Propagación *in vitro* de Limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm Swingle). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo de México.
- Rotwell, F. M.** 1984. Aggregation of surface mine soils by interaction between VAM fungus and lignin degradation products of lespezea. Plant and soil 80:99-104.
- Same, B. I., A.D. Robson y L.K. Abbot.** 1983. Phosphorus soluble carbohydrate status of mycorrhizal and nonmycorrhizal infection. Soil Biol. Biochem 15:593-597.
- Sánchez, E. E., M.C. González, R. Ferrera-Cerrato y D. Teliz.** 1993. Inducción de vigor en plántulas de *Carica papaya* L., bajo el efecto de la micorriza V-A, *Glomus sp.* como factor de desarrollo. En : Perez-Moreno, J. y R. Ferrera-Cerrato (Eds). Avances de investigación. Microbiología de Suelos. Centro de Edafología. C.P. Montecillo, Edo. de México. pp. 123-133.
- Sampson, J. A.** 1991. Cítricos. In: Fruticultura tropical. Edit. Limusa. pp. 95-199.
- SARH.** 1993. Norma oficial de emergencia 001 1-93. Plan de emergencia contra el virus de la tristeza de los cítricos. Diario oficial de la federación.
- SARH.** 1994. Frutales tropicales y subtropicales. Subsecretaría de agricultura. pp. 7.

- Sieverding, E. y T.S. Toro.** 1987. Growth of coffee and tea plants in nurseries inoculated with different VAM fungal species In: Silvia, D.M. L.L., Hung y J.M. Graham (Eds.) 7th NACOM. Gainesville, Florida. E.U.A pp. 58.
- Sieverding, E.** 1989. Ecology of VAM fungi in tropical agrosistem. Agric. Ecosistem Environ. 29:369-390.
- Sieverding, E.** 1991. Vesicular-arbuscular management in tropical agrosistem. Technical Cooperation. Federal Republic Germany. Eschborn, Alemania. 271 p.
- Siqueira, J. O. y A. Colozzi-Filho.** 1986. Micorriza vesiculo arbuscular en mudas de cafeiro. II Efeito do fosforo no estabelecimento e funcionamento da simbiose. R. Bras. Ci. Solo. 10:207-211.
- St John, T. V. y D.C. Coleman.** 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. Can. Jour. Bot. 61:1005-1014.
- Timmer, L. W. y R.F. Leyden.** 1980. The relationship of mycorrhizal infection to phosphorus-induced copper deficiency in sour orange seedlings. New Phytol. 85:15-23.
- Torres, A. M.** 1992. Respuestas de portainjertos de cítricos, a la inoculación con hongos VA y efecto de la aplicación de benomil y fósforo, sobre la simbiosis Naranja agro-hongo endomicorrízico. Tesis de Maestría: Colegio de Posgraduados; Montecillo, Edo. de México. 98 p.
- Torres, A. M. y J.J.M. Hernández.** 1995. Respuesta de *Prosopis* sp. y *Leucaena leucocephala* a la fertilización fosfatada e inoculación con hongos micorrizicos arbusculares. In: XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria Tamps. México. pp. 101.
- Trappe, J. M.** 1984. Mycorrhizal reaction to pesticides. Phytopathology. 22:331-359.
- Trejo, A. D., H.M. López, M.C.A. Zarate, R. Ferrera-Cerrato y A.R. Fernández.** 1995. Respuesta de café a diferentes niveles de fósforo y Nitrógeno y su interacción con la simbiosis micorrízica In: XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria Tamps. México pp.102.
- Trent, J. D., L.L. Wallace, T.J. Suejcar y S. Christensen.** 1989. Effect of grazing on growth carbohydrate pools, and mycorrhizae in winter wheat. Can. J. Plant Sci. 68:115-120.
- Tzean, S. S. y Y.S. Huang.** 1980. The occurrence and formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae of Citrus and maize. Bot. Bull. Academia Sinica 21:119-134.

- Vanduin, W. E., J. Rozema y W.H.D. Ernest. 1989. Seasonal spatial variation in the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in salt marsh plants. *Agric. Ecosystems Environ* 29:107-110.
- Vejsadova, H., H. Hrselova, Z. Prykryl y V. Vancura. 1989. Effect of different phosphorus and nitrogen levels on the development of VA mycorrhiza, rhizobial activity and soybean growth. *Agric. Ecosystem Environ* 29:429-434.
- Villegas, M. A. y A.C. Aguilar. 1994. Enraizamiento *in vitro* y sobrevivencia en invernadero de Citrange Troyer y Carrizo. In: XL Reunion Anual Interamerican Society for tropical Horticulture; Campeche México. pp. 125.
- Vinayak, K. y D.J. Bagyaraj. 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizae screened for troyer citrange in: *Biology and fertility of soils* 9:311-314.
- Viveros, A. 1985. Portainjertos de citricos. Tarragona, España.
- Wang, H., S. Parent, A. Gosselin y Y. Desjardins. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal peat-based substrates enhance symbiosis establishment and growth of three micropropagated species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118:896-901.
- Zimmerman, R. H. 1989. Cultivo de tejidos. In: J.M. Moore y J. Janik (Eds). *Métodos genéticos en frutales*. AGT Editor. México D.F. pp. 167-182.

IX. APENDICE

CUADRO A1: Medio de cultivo empleado en cada una de las fases de propagación *in vitro* de cítricos (Villegas et al., 1994).

SOLUCIONES	MEDIO DE ESTABLECIMIENTO (ml l ⁻¹)	MEDIO DE PROLIFERACION (ml l ⁻¹)	MEDIO DE ENRAIZAMIENTO (ml l ⁻¹)
NH ₄ NO ₃ (1M)	10.0	10.0	6.0
KNO ₃ (1M)	8.0	8.0	
Ca (NO ₃) ₂ (0.1M)	12.5	12.5	15.0
Mg SO ₄ (0.1M)	15.0	15.0	15.0
KH ₂ PO ₄ (0.1M)	12.5	12.5	12.5
EDTA (quelatos)	10.0	10.0	10.0
Micronutrientes	10.0	10.0	10.0
Tiamina	10.0	10.0	10.0
Miоinositol	10.0	10.0	10.0
Piridoxina	5.0	5.0	5.0
Acido nicotínico	5.0	5.0	5.0
S. adenina (mg l ⁻¹)	80.0	80.0	80.0
BA		8.0	
AIB		1.0	12.0
Sacarosa (gm)	30.0	30.0	30.0
Agar (gm)	6.0	6.0	6.0
pH	5.7	5.7	5.5

CUADRO A2.- Porcentaje de colonización y número de esporas de las cepas utilizadas en este trabajo.

HONGO	COL. TOTAL %	ARBUSCULOS %	VESICULAS %	No. ESPORAS (100 g de inóculo)
<i>Glomus</i> sp. Z-19	83.7	17.5	62.4	496
<i>G. aggregatum</i>	74.6	13.2	55.9	243
<i>G. intraradix</i>	68.5	7.4	35.1	341

CUADRO A3.- Análisis de las propiedades físicas y químicas del sustrato empleado.

FACTOR	RESULTADOS	INTERPRETACION	METODO
Textura		Franco arenoso	Etchevers 1988
pH	6.5	Ligeramente ácido	Moreno; 1978*
Materia orgánica	0.4 (%)	Muy pobre	Tavera; 1985*
Nitrógeno	0.04 (ppm)	Muy pobre	Tavera; 1985*
Fósforo	6.0 (ppm)	Muy bajo	Olsen; 1980*
Potasio	131 (ppm)	Bajo	Landon; 1984*

* Fuente: Etchevers (1988).

CUADRO A4 .- Solución nutritiva de Hoagland, utilizada para aplicación de fósforo.

Compuesto	Solución stock g l ⁻¹	Cantidad utilizada ml l ⁻¹
NH ₄ NO ₃	80.4	2.0
CaCl ₂	110.94	0.7
K ₂ SO ₄	87.14	0.5
MgSO ₄	120.39	0.1
Citrato férrico	19.2	0.2
KH ₂ PO ₄	136.04	0.2

A5.-FORMULA DE DEPENDENCIA MICORRIZICA

Menge *et al.*, (1978 b):

$$DM = \frac{PSPM}{PSPNM} (100)$$

Donde : **PSPM** = Peso seco de plantas micorrizadas
PSPNM = Peso seco de plantas no micorrizadas