



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLOGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**RESPUESTA DE LA ASOCIACION MAIZ-MICORRIZAS
VA-*Azospirillum* A LA APLICACION DE DIFERENTES
FUENTES DE FOSFORO EN UN ANDISOL.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS (EDAFOLOGIA)

P R E S E N T A

VIANNEY ARROYO AVILA

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. SERGIO PALACIOS MAYORGA

MEXICO, D. F.

ENERO DE 2006.



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.

DEDICATORIAS

Esta memoria representa tan solo una parte de mi vida, donde cada uno de ustedes han sido los protagonistas en el momento adecuado.

A DIOS

Por darme la vida, permitir que siga mi ser existiendo, darme ánimos y conocimiento.

A MIS PADRES

GLORIA AVILA DÍAZ Y EULALIO ARROYO ATRISTAIN Con una inmensa gratitud amor y cariño. Por su esfuerzo y apoyo brindado que hicieron posible lograr esta nueva meta en mi vida. Por estar conmigo y mi familia apoyándome en todos los sentidos sin esperar nada, solo que se cumpla esta etapa.

Muchas Gracias.....Los quiero

A MI HIJA

VIVIAN Por ser una de las cosas maravillosas que me ha dado dios, darme tu inocencia, alegría y entusiasmo, pero sobretodo por tu amor y compañía. Y esperando que esta memoria sea tu estímulo para que seas la futura universitaria

Te quiero..... mi chiquita linda y bella.

A MI ESPOSO

VICTOR MANUEL Por ayudarme en todo el trabajo que implico esta memoria desde campo hasta el escritorio. Así también por darme tu compañía, amor y comprensión, esperando que juntos sigamos saliendo adelante en todo.

Muchas Gracias.....Te quiero

A MIS HERMANOS

NANCY Por demostrar tus ganas, entusiasmo y carácter de lucha en todas tus acciones pero sobre todo por ser mi gran hermana y esperando que así me consideres tu también y formar una bonita familia. Y

ALFONSO Por ser mi ángel de la guarda que esta conmigo siempre, darme recuerdos bonitos que jamás olvidare.

A MIS SOBRINAS

DANIELA Y VALENTINA Por formar parte de mi vida como unas hijas, decirles que cuentan conmigo y esperando sean también las mejores universitarias.

Las quiero.

VIANNEY

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN *vii*

I. INTRODUCCIÓN 1

II. MARCO TEÓRICO..... 4

 2.1 Rizósfera.....4

 2.2 Micorrizas Arbusculares 5

 2.2.1. Desarrollo de la colonización 8

 2.2.2. Función 11

 2.2.2.1. Demanda de carbohidratos..... 11

 2.2.2.2. Fosfonutrición 12

 2.2.2.3. Absorción de nitrógeno 14

 2.2.2.4. Reciclaje de nutrimentos 15

 2.2.3. Prácticas de fertilización 16

 2.2.3.1. Fuentes de fósforo 17

 2.2.3.2. Fuentes de nitrógeno 18

 2.2.3.3. Composta..... 19

 2.3 Composta..... 21

 2.3.1. Etapas del Proceso 21

 2.3.2. Funciones en el Suelo 24

 2.4 *Azospirillum*26

 2.4.1 Función.....27

 2.4.2 Factores que afectan la actividad30

 2.4.3 Aspectos agrotécnicos.....33

III.	PROBLEMA, SUPUESTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	35
3.1	Problema.....	35
3.2	Supuesto e Hipótesis.....	35
3.3	Objetivos.....	36
3.3.1.	Objetivos Generales.....	36
3.3.2.	Objetivos Específicos.....	36
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
4.1	Descripción del suelo.....	38
4.2	Maíz.....	41
4.3	Fuentes de fósforo orgánicas.....	41
4.4	Mineralización de las fuentes de fósforo.....	42
4.5	Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos.....	43
4.6	Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i>	45
4.7	Análisis Estadístico.....	46
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
5.1.	El suelo.....	47
5.2.	Efecto del suministro de las fuentes de fósforo en su liberación.....	50
5.3.	Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos.....	55
5.3.1.	Efecto de la Harina de Hueso en la colonización MA.....	55
5.3.2.	Efecto de la Harina de Hueso en el desarrollo radical....	59
5.3.3.	Efecto de la Harina de Hueso en la acumulación de P...	62
5.3.4.	Efecto de la Harina de Hueso en la acumulación de N ..	65
5.3.5.	Efecto de las Harina de Hueso en la producción de biomasa seca.....	69

5.3.6. Efecto de las Harina de Hueso en la altura de la parte aérea.....	72
5.4. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> ..	74
5.4.1. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en la acumulación de fósforo	74
5.4.2. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en la acumulación de N	77
5.4.3. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en la altura de la parte aérea	81
5.4.4. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en la colonización MA	83
5.4.5. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en la longitud total de raíz	87
5.4.6. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en Peso de raíz.....	88
5.4.7. Efecto de la relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i> en Biomasa seca de la parte aérea	90
VI. CONCLUSIONES	92
VII. ANEXOS	95
VIII. APÉNDICES	99
A. Mineralización de las fuentes de fósforo.....	99
B. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos	100
C. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i>	103
IX. LITERATURA CITADA	107

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Propiedades físicas y químicas determinadas en el suelo	41
Cuadro 2.	Propiedades físicas y químicas de las harinas.....	42
Cuadro 3.	Tratamientos del Experimento 1. Mineralización.....	43
Cuadro 4.	Tratamientos del Experimento 2. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos	44
Cuadro 5.	Tratamientos del Experimento 3. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos- <i>Azospirillum</i>	46
Cuadro 6.	Determinaciones químicas y físicas del suelo de Villa Victoria	48
Apéndice A-1	Análisis de correlación entre las cuatro fuentes y P asimilable liberado en el suelo	99
Apéndice A-2	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de mineralización de P asimilable	99
Apéndice B-1	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de colonización MA total	100
Apéndice B-2	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de longitud radical total	100
Apéndice B-3	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de biomasa radical.....	101
Apéndice B-4	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de acumulación de fósforo en la parte aérea de maíz.....	101
Apéndice B-5	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de acumulación de N en la parte aérea de maíz.....	102
Apéndice B-6	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de biomasa seca de la parte aérea de maíz	102
Apéndice B-7	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de altura de la planta.....	103

Apéndice C-1	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de acumulación de fósforo en parte aérea de maíz	103
Apéndice C-2	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de acumulación de N en la parte aérea de maíz.....	104
Apéndice C-3	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de altura de la planta.....	104
Apéndice C-4	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de colonización MA total en maíz de 80 días.....	105
Apéndice C-5	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de longitud radical total	105
Apéndice C-6	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de biomasa radical.....	106
Apéndice C-7	Prueba de Tukey aplicada a los resultados de biomasa seca.....	10

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Colonización micorrízica.....	8
FIGURA 2. Variación de la temperatura y el pH en una composta	23
FIGURA 3. Comportamiento de la liberación de P asimilable	54
FIGURA 4. Colonización micorrízica en maíz híbrido y criollo	56
FIGURA 5. Longitud radical total a los 80 días.....	59
FIGURA 6. Biomasa radical seca.....	61
FIGURA 7. Acumulación de fósforo en parte aérea	63
FIGURA 8. Acumulación de N en parte aérea	66
FIGURA 9. Biomasa seca de la parte aérea.....	70
FIGURA 10. Altura de las plantas a los 80 días	72
FIGURA 11. Acumulación de fósforo en parte aérea	76
FIGURA 12. Acumulación de N en parte aérea	79
FIGURA 13. Altura de las plantas a los 80 días	81
FIGURA 14. Colonización micorrízica en maíz con la doble simbiosis	85
FIGURA 15. Longitud radical total en maíz	88
FIGURA 16. Biomasa radical seca de maíz	89
FIGURA 17. Biomasa seca de la parte aérea.....	91

RESUMEN

Con el propósito de evaluar el efecto de diferentes fuentes de fósforo sobre la colonización endomicorrízica arbuscular nativa del maíz, en un Andosol húmico y el efecto del mejor nivel y fuente de fósforo, sobre la producción de biomasa en el maíz y en su inoculación con *Azospirillum*, en condiciones de invernadero. Se establecieron tres experimentos, el primero permitió determinar, la mineralización de harina de hueso (HH), que liberó la mayor cantidad de fósforo 4.8 mg kg^{-1} . a las 6 semanas de exposición. En el segundo experimento, la producción de biomasa radical y longitud en los tratamientos con HH en dosis de 80 y 120 kg ha^{-1} para ambos tipos de maíz, superaron, a los tratamientos con superfosfato simple de calcio (SFS) así como en la acumulación de fósforo (P) y absorción de nitrógeno (N). Se mostró un buen micotrofismo y una intensa dependencia hacia los HMA; en baja dosis de P. En biomasa seca y altura de la planta, los tratamientos con SFS tuvieron los valores más altos, aunque, no hubo diferencia significativa con el tratamiento de HH. En la tercer siembra se encontró que el tratamiento con HH, y la doble simbiosis *Azospirillum*-hongos micorrízicos en maíz criollo favoreció, acumulación de P, altura de la planta, biomasa seca y la colonización por los HMA. El maíz híbrido tuvo mejores resultados en el tratamiento con *Azospirillum* y HMA, sobre la longitud y peso de la raíz. La acumulación de N es mayor con SFS, HH, HMA y *Azospirillum*. Los abonos orgánicos (harina de hueso), microorganismos como HMA y *Azospirillum* son una alternativa para sustituir los agroquímicos

I. INTRODUCCIÓN

Una de las principales preocupaciones para los investigadores, del área de nutrición vegetal es el efecto que la aplicación de fertilizantes químicos, puede tener sobre el suelo y la calidad del ambiente. Si bien es cierto que en algunos casos se ha abusado de los fertilizantes fosforados y nitrogenados, también es verdad que no es posible producir la cantidad de alimentos requeridos por la humanidad, sin complementar el suministro natural de los nutrimentos del suelo.

El empleo de fertilizantes químicos debe hacerse de una manera racional es decir, agregando sólo las cantidades requeridas por la planta, y así satisfacer tanto las necesidades de los alimentos del mundo, como la preservación del ambiente (Corlay-Chee *et al.*, 2001).

Por lo anterior y en aras de la conservación ambiental y la economía del campesino, deben adoptarse prácticas agrícolas que sin abatir los rendimientos, permitan minimizar el consumo de fertilizantes químicos. La agricultura orgánica es una técnica alternativa para la producción de alimentos. Uno de sus principales objetivos es mantener y fomentar la fertilidad natural del suelo mediante el uso de compostas, abonos verdes, y un manejo agronómico que estimule a los microorganismos indígenas; también sugiere la introducción de aquellos, considerados benéficos, por asociarse simbióticamente a las plantas, o bien los que tienen un papel activo en la mineralización de la materia orgánica, o en los ciclos biogeoquímicos de los nutrimentos (Dimas *et al.*, 2001)

Las compostas son, prácticamente, un inóculo microbiano inmerso en un excelente sustrato orgánico, siendo fuente de nutrimentos para las plantas (Guerrero, 1996). La aplicación de cantidades adecuadas de materia orgánica comportada, mejora la estructura del suelo, incrementa la capacidad de retención de agua, incrementa la aireación y promueve la actividad de los microorganismos (Cruz y Hernández 1996). Además, la mineralización paulatina en el suelo lo enriquece con nutrimentos solubles.

Casi la mitad de los microorganismos que regulan la mineralización de la materia orgánica en el suelo, tienen la capacidad de mineralizar fósforo orgánico, incluso los hongos micorrízicos arbusculares pueden participar en dicho proceso (Oehl *et al.*, 2001).

La aplicación de compostas favorece la actividad de los hongos micorrízicos arbusculares, las bacterias de género *Azospirillum* y los rendimientos de diferentes cultivos entre ellos el maíz (Andraky y Bandy 2003). Además, la materia orgánica estimula el crecimiento hifal (Dimas *et al.*, 2001); esto es importante porque la absorción de fósforo en plantas micorrizadas, está determinada más por la longitud de las hifas extrarradicales que por la afinidad del hongo por el fósforo (Joner, 2000). No obstante, *Azospirillum* en gramíneas incrementa el peso seco de éstas, la cantidad de nitrógeno en la plántula y en grano, así como el número de semillas fértiles. Además, *Azospirillum* acorta el tiempo de floración incrementando el número de mazorcas, granos por mazorca y el peso de los mismos, la altura de la planta y la talla de la hoja (Yoav Bashan y Luz E. de Bashan 2002).

La adaptación de los hongos nativos a su edafoclima permite que, en ocasiones, resulte más apropiado el manejo agro cultural de éstos, que la introducción de los exóticos. Son diversos los factores que pueden afectar el

desarrollo, supervivencia y eficiencia de los hongos micorrízicos arbusculares; dentro de los más importantes, se encuentran las prácticas agrícolas convencionales, particularmente la adición de fertilizantes, pesticidas y el manejo del suelo (Palacios y González, 1998; González y Ferrera, 1989;). Considerando estos factores, el suelo del presente estudio fue escogido por sus características: deficiente en fósforo asimilable, elevada capacidad de retención de fósforo (Hernández *et al.*, 1996; Martínez *et al.*, 1996), baja respuesta a la fertilización química, manejo mecanizado y con alto uso de agroquímicos. Pero principalmente, por los resultados obtenidos en un estudio previo (Arroyo y Martínez, 1997), en el que se menciona que los hongos micorrízicos arbusculares nativos de la zona son tan eficientes como algunos que fueron aislados e introducidos.

Con el propósito de lograr la selección de los niveles de fertilización óptimos en los agroecosistemas, sería deseable e importante también tener información sobre la respuesta de las especies nativas de hongos micorrízicos, en términos de colonización y de estimulación del crecimiento de las plantas de cultivo de maíz, así como de la interacción con otros microorganismos como *Azospirillum*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 RIZOSFERA

En 1904 Hiltner introdujo el término de RIZÓSFERA para describir la región del suelo que se relaciona biológicamente con las raíces de las plantas. En la rizósfera se distinguen a menudo en dos áreas generales: la rizósfera más interior localizada en la superficie de las raíces y la rizósfera exterior que corresponde al suelo adyacente. La población microbiana es mayor en la zona interior, donde las interacciones bioquímicas entre los microorganismos y las raíces son más pronunciadas. La superficie de las raíces y el suelo adherido a ella, es a veces llamada rizoplano.

A nivel del rizoplano el organismo superior aporta productos de excreción y tejido muerto; la mayoría de las especies de la flora microbiana a este nivel probablemente no tiene una influencia perjudicial sobre las plantas que las albergan. Considerándolo de esta manera se derivan ciertos beneficios de los organismos microscópicos hacia la planta (Alexander, 1990).

Las ventajas potenciales que repercuten sobre las plantas han obtenido recientemente renovada atención, a partir del descubrimiento de la existencia de bacterias que fijan el nitrógeno atmosférico en la rizósfera, tales como el *Azotobacter paspali* y *Azospirillum brasiliense*. También se ha estudiado el aporte de fosfatos y de otros iones, estimulados por el efecto de los contaminantes bacterianos. El aumento en el intercambio de nutrimentos hacia las plantas es incierto, y cualquier mejora en la respuesta pudiera ser debida a sustancias promotoras del crecimiento vegetal, sintetizadas por los microorganismos de la rizósfera. La formación de simbiosis micorrizica, una

derivación del efecto de la rizósfera, produce asociaciones ecológicamente importantes. Los hongos micorrízicos son abundantes en la rizósfera, absorben nutrimentos que traspasan a la planta, segregan hormonas que propician el crecimiento y contribuyen a la protección de la raíz frente a organismos patógenos. En compensación, las micorrizas dependen de la planta en los que se refiere a los carbohidratos (Thompson y Troeh, 1982).

2.2 MICORRIZAS ARBUSCULARES

Los hongos que forman las micorrizas arbusculares pertenecen a los géneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*. Se caracterizan por la producción de hifas, vesículas y arbusculos en el parénquima radical. *Gigaspora* no produce vesículas en el interior de la raíz y *Glomus* puede formarlas intra o extrarradicalmente (Sieverding, 1991). Las endomicorrizas se caracterizan por la presencia de una extensa red de micelio en el suelo, unida al sistema radical de la planta huésped.

Desde el punto de vista funcional, el micelio externo es el sistema de absorción de nutrimentos, mientras que el interno, es el sistema de translocación e intercambio de sales minerales y carbohidratos. En el micelio externo se desarrollan las estructuras reproductivas del hongo, en tanto que en el interno se concentran las actividades metabólicas y de almacenamiento de carbono (Guerrero, 1996). Dichas actividades dependen del pH y el valor que alcanza el citoplasma celular de una hifa en un HMA, está entre 6.6 y 7.0. El pH puede variar dependiendo: del diámetro de las hifas (más ácido en las puntas delgadas), de la cercanía con la raíz (básico si está próximo al haustorio) y de las condiciones del suelo (básico bajo estrés nutrimental o de sequía) (Jolicoeur *et al.*, 1998).

El micelio externo tiene una estructura dimórfica, con hifas de pared gruesa (20- 30 μm de diámetro) y, a menudo, con protuberancias de las que se ramifican hifas finas (2-7 μm de diámetro), de pared delgada y efímeras, las cuales se forman septas antes de morir (Mosse y Hepper, 1975). Por cada metro de raíz colonizada, se producen entre 7 y 250 m de hifas externas del HMA, dependiendo de la especie de hongo implicada y de las condiciones de crecimiento (Bago *et al.*, 2000)

Los arbúsculos son estructuras altamente ramificadas, típicamente intracelulares, que se localizan en las células cercanas al cilindro vascular, y cuya función es la transferencia de nutrimentos desde y hacia el huésped. Dichas estructuras se forman a partir de una hifa inter o intracelular, que sufre ramificaciones dicotómicas sucesivas, hasta formar una serie de ramas bifurcadas de diámetro menor a 1 μm (Guerrero, 1996). Las finas ramificaciones de los arbúsculos, realmente no entran en contacto con el protoplasma de las células de la planta, sino que penetran como dedos en un guante, en una tortuosa trama de invaginaciones de la membrana celular (Harrison, 1997); al formarse, desaparecen los gránulos de almidón, el núcleo aumenta de tamaño, en la cercanía de las ramas arbusculares pueden detectarse abundantes mitocondrias, el retículo endoplásmico y proplástidos (Guzmán y Ferrera, 1990). La formación de arbúsculos, incrementa la actividad metabólica de la célula del huésped la cual es, principalmente, debida a la transferencia bidireccional de metabolitos y nutrimentos, desde y para el hongo. Los arbúsculos viven sólo de 4 a 15 días. Se degeneran y son digeridos por la célula del huésped. Después de que los arbúsculos declinan, las células de la planta regresan a su función normal (Sieverding, 1991).

Cuando han aparecidos los arbusculos, el micelio empieza a acumular reservas de carbono en forma de trihalosa, glucógeno (BeCARD *et al.*, 1991) y lípidos de reserva, como los triacilglicéridos (Guerrero, 1996), lo cual se manifiesta por medio de ensanchamientos terminales en las hifas, llamados vesículas, que se pueden formar inter o intracelularmente. En su juventud, contienen citoplasma homogéneo y su pared es delgada y estratificada; con su maduración, los materiales lipídicos coalescen gradualmente y el protoplasma se torna denso (Hayman, 1983). Las vesículas son estructuras comunes en todos los HMA, sin embargo, los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* no las producen (Morton y Bentivenga, 1994). Las reservas contenidas en las vesículas, son utilizadas por el hongo durante situaciones de estrés (bajo suministro de metabolitos desde la planta huésped dando lugar a su degeneración (Sieverding, 1991). Incluso, se ha observado una relación entre la producción de arbusculos o vesículas y la etapa fenológica del huésped; ya que predominan los arbusculos antes de floración, y las vesículas después (Sánchez-Colín, 2001; Arroyo y Martínez, 1998).

El diámetro de las esporas depende de las especies del hongo y pueden medir de 15 a 800 μm ; su forma puede ser globosa, elíptica, ovoide, reniforme, claviforme o irregular. Algunas especies de HMA (géneros *Acaulospora* y *Glomus*, además de todas las especies de *Sclerocystis*), son esporocápicos (Sieverding, 1991).

2.2.1. DESARROLLO DE LA COLONIZACIÓN

El desarrollo de la colonización micorrízica arbuscular, se lleva a cabo en seis fases y puede empezar a partir de propágulos tales como: esporas infectivas, hifas del hongo en el suelo y fragmentos de raíz con estructuras de estos hongos (Sieverding, 1991).

(a) Precolonización. Ocurre con la germinación de las esporas iniciando el crecimiento primario del tubo germinativo. Los núcleos son redistribuidos, forman estructuras de germinación y las esporas contienen entre 2000 y 3000 núcleos. Cuando los tubos germinativos no están en contacto con la raíz de un huésped potencial, la oportunidad de colonización a partir de un propágulo germinado, se pierde dentro de un período que va de pocos días a varias semanas (Figura 1).

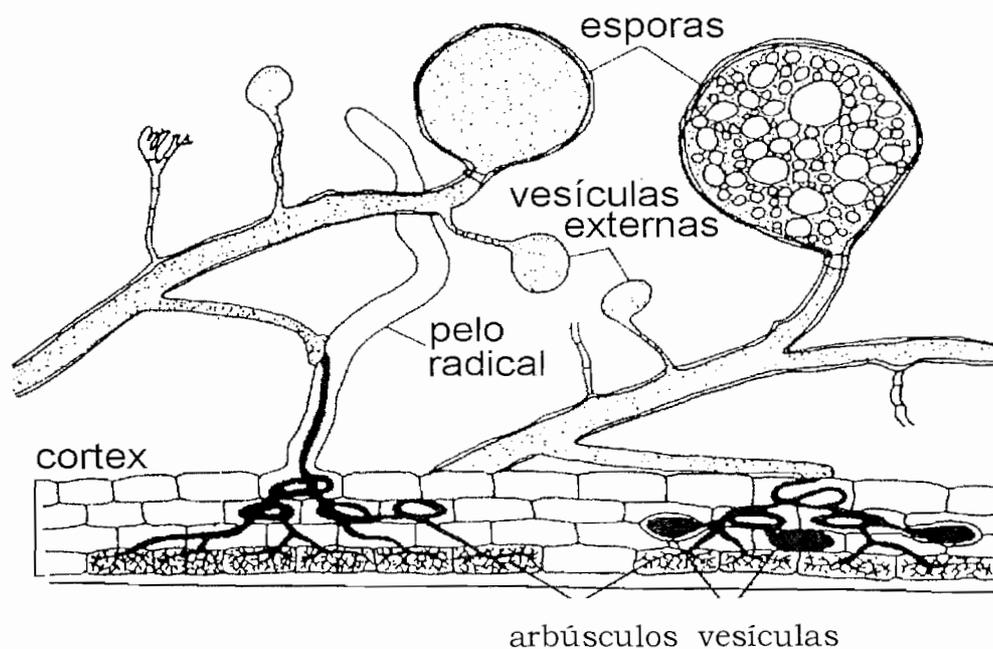


Figura 1. Colonización micorrízica.
(Tomado de Richards, 1987).

- (b) Colonización primaria** (penetración a la raíz). Normalmente el hongo penetra a la raíz, ocupando los espacios que existen entre las células epidérmica; al establecer el contacto físico con la primera capa de células, la hifa sufre un hinchamiento dando lugar a una estructura distintiva denominada apresorio (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1989). Del apresorio se origina una hifa infectiva, “el haustorio”, el cual se mueve intercelular e intracelularmente en los tejidos del huésped. El subsecuente desarrollo del HMA dentro de la raíz, es fuertemente influenciado por los tejidos del huésped (Hodge, 2000).
- (c) Formación de arbúsculos y vesículas.** Después de la penetración a la raíz, la hifa crece inter e intracelularmente. El crecimiento del hongo es restringido a la epidermis; no ocurre colonización en endodermis, xilema, floema, tejido meristemático, ni partes clorofílicas de la planta (Figura 1). Los arbúsculos son, frecuentemente, formados dentro de las células poco después de la penetración (2-5 días). Los procesos de formación y degeneración de los arbúsculos, ocurren simultáneamente en la raíz. Frecuentemente, todos los estados de los arbúsculos son observados en la raíz (Hayman, 1983). Al poco tiempo de formación de los arbúsculos, algunos HMA forman vesículas inter e/o intracelularmente.
- (d) Extensión del hongo en la raíz y en la rizósfera.** Durante la extensión de la colonización en la raíz, se reconocen tres fases: (1) fase inicial, fase durante la cual la colonización primaria tiene lugar, (2) fase exponencial, en la que el hongo se expande y crece rápidamente en la raíz, (3) fase de reposo, donde la raíz y el hongo continúan creciendo a la misma velocidad. La especie de la planta y del hongo, y especialmente, las condiciones físicas y químicas del suelo (además de los niveles de

captación de nutrimentos por la planta), se incluyen en la duración de la fase lag; ésta continúa durante la fase de reposo (Harrison, 1997). En la fase exponencial, el hongo crece inter o intracelularmente, especialmente en las raíces secundarias finas; el desarrollo de la colonización en el sistema radical, también tiene lugar, con hifas sobre la superficie de la raíz. La hifa sigue creciendo y penetrando la raíz una y otra vez, a distancias irregulares. Los arbusculos y vesículas, son continuamente formados y degradados durante las fases exponencial y de reposo de la colonización (Sieverding, 1991).

(e) Extensión del hongo en el suelo. Después de la colonización primaria y durante la fase de extensión de la colonización en la raíz, las hifas crecen fuera de la raíz y en la rizósfera. En general, el micelio externo joven no está septado y consta de bastas ramificaciones dicotómicas, las hifas principal y secundarias, de 5-20 y 1-5 μm de diámetro, respectivamente (Sieverding, 1991); su crecimiento está influenciado por factores abióticos y bióticos del suelo (Hodge, 2000; Harrison, 1997).

(f) Estructuras reproductivas. El HMA forma esporas a partir del micelio externo, aunque algunos hongos, también las forman intrarradicalmente. La formación de esporas puede comenzar muy tempranamente, de 3-4 semanas después de colonizada la raíz, con algunas especies de hongos, mientras que en otras se inicia 6 meses después (Sieverding, 1991; Hayman, 1983). Las especies de hongos, la planta huésped y las condiciones ambientales del suelo afectan el tiempo y grado de esporulación (Hodge, 2000). La esporulación es un proceso dinámico; mientras algunas esporas se forman, otras germinan al mismo tiempo. El micelio del hongo, dentro y fuera de la raíz, es otra estructura reproductiva del hongo (Harrison, 1997). Éste puede germinar y colonizar

nuevas raíces. Las esporas pueden sobrevivir por varios años en el suelo, en cambio, la viabilidad del micelio el hongo aislado de la planta huésped o después de muerte esta es sólo de 2-4 semanas (Sieverding, 1991).

2.2.2. FUNCIÓN

En los edafecosistemas naturales, casi todas las plantas están colonizadas por hongos micorrízicos arbusculares, pero es difícil demostrar su función en el campo.

2.2.2.1. Demanda de carbohidratos.

En la simbiosis mutualista que existe entre plantas y hongos micorrízicos arbusculares, para la sobrevivencia del hongo, la planta proporciona productos de la fotosíntesis. No obstante, la extensión de los requerimientos del hongo no ha sido totalmente investigada. Parece ser que la regulación del flujo de carbohidratos oscila según la especie de planta huésped y del HMA (Hodge, 2000). El costo energético de la simbiosis micorrízica es alto. Según algunas estimaciones, el HMA requiere entre 6 y 10 % del carbono fijado por la planta huésped (Tinker *et al.*, 1994). Únicamente la biomasa del hongo micorrízico, puede representar entre 4 y 17 % del peso seco de la raíz (Peng *et al.*, 1993). Ese costo se manifiesta, en una mayor demanda de sustancias carbonadas que se dirige a la raíz, y se traduce en una mayor biomasa radical, en niveles altos de carbono en el suelo y en una mayor actividad respiratoria del sistema raíz-suelo (Guerrero, 1996). Adicionalmente, el hongo micorrízico arbuscular necesita carbohidratos para la producción de esporas. La materia seca de esporas en campo, puede variar de 10-1000 Kg/Ha (Sieverding, 1991). La demanda del hongo micorrízico arbuscular, por elementos nutritivos tales como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, es baja (Liu *et al.*, 2000).

Los productos de la fotosíntesis de la planta, son absorbidos por el hongo micorrízico arbuscular en la raíz, especialmente por arbusculos donde la superficie de contacto entre el hongo y la planta huésped es muy grande (Sieverding, 1991). Sólo el tejido intrarradical del hongo, puede absorber azúcares como la hexosa, pero no el tejido del micelio externo (Pfeffer *et al.*, 1999). Aunque no se ha identificado con certeza, el mecanismo fisiológico del flujo de carbohidratos de la planta huésped al HMA, Pfeffer y colaboradores (1999) encontraron que la hexosa es absorbida por tejido intrarradical del HMA, pero nunca por el micelio externo. Esta hexosa es convertida en trihalosa y glicógeno, que sirven como buffer en la concentración intracelular de la glucosa. La fuente intrarradical de hexosas está sujeta a intensa actividad oxidativa, vía pentosa fosfato para la producción de pentosa, síntesis de ácidos nucleicos y/o sus equivalentes reducidos para el anabolismo. Los lípidos sintetizados por el hongo dentro de la raíz y exportados de ésta forma al micelio extrarradical, quedando almacenados o metabolizados mediante gluconeogénesis para producir hexosa, el precursor de la trihalosa (Pfeffer *et al.*, 1999).

2.2.2.2. Fosfonutrición.

La colonización por el HMA, modifica la respuesta de crecimiento de las plantas al incrementar el suministro de fósforo. El grado de modificación depende del nivel inicial de P y de la especie de hongo. Las características simbióticas, que pueden ser responsables de la variación entre el HMA y su capacidad para influenciar el crecimiento de la planta son:

- Proporción de formación de micorriza y producción de hifas extrarradicales.
- Capacidad del hongo para transportar fósforo, y

- Compatibilidad funcional entre el huésped y el hongo, respecto al transporte de nutrimentos del hongo o la respuesta de crecimiento de la planta (Jakobsen *et al.*, 2001).

Aunque se desconocen los mecanismos de absorción y extracción de fósforo por las hifas del hongo, la captación podría efectuarse debido a que las concentraciones de P, son más bajas en la solución del suelo, que en las hifas del hongo (Sieverding, 1991). La teoría más aceptada (Solaiman y Saito, 2001), indica que el fosfato en la solución del suelo, es absorbido mediante un transportador de P presente en la hifa extrarradical (Harrison y van Buuren, 1995). El fosfato absorbido es condensado en polifosfato (poly-P) y conducido a través del torrente protoplásmico, dentro de la hifa intrarradical (Cooper y Tinker, 1981). Finalmente, el polifosfato puede ser hidrolizado y liberado como fosfato, por medio de la membrana del hongo, probablemente en el arbusculo (Solaiman y Saito, 2001). La eficiencia del hongo para transportar P no depende del grado de colonización, sino de su propia capacidad o habilidad (Hodge, 2000). El transporte de fósforo de la hifa a la raíz, se ha calculado con una velocidad de $1-2 \times 10^{-9}$ mol/cm² de raíz por segundo (Sieverding, 1991). Asimismo, la concentración de P en la hifas, indica un gradiente de 1000:1 entre ellas y la solución del suelo (Guerrero, 1996); esto apoya la existencia de un mecanismo activo de transporte. La mejor transferencia de fósforo, del hongo a la planta, ocurre en las células de la raíz que contienen arbusculos; sin embargo, también las hifas internas de la raíz, pueden liberarlo en la planta huésped, Mientras esto ocurre, la hifa intracelular puede absorber compuestos de carbono (Solaiman y Saito, 2001). La planta huésped parece controlar el desarrollo y actividad del hongo, mediante la regulación de carbohidratos moviéndose hacia el hongo (Espinosa-Victoria, 2000).

Se sabe que el hongo micorrízico arbuscular extrae iones de fósforo, de las mismas fuentes de fosfatos en la solución del suelo, que son, también absorbidas por raíces sin micorriza (Joner y Jakobsen, 1995). La fertilización con fósforo, condiciones químicas del suelo y los procesos microbiológicos, influyen en la cantidad de este elemento en las fuentes disponibles (Ivanoff *et al.*, 1998).

2.2.2.3. Absorción de nitrógeno.

Existen muchas evidencias, de que el HMA favorece el crecimiento de las plantas al incrementar el suministro de fósforo; posteriormente se encontró, que también favorecen el de nitrógeno, ya que las micorrizas son capaces de mejorar la transferencia de N, entre las plantas y el suelo (Cliquet *et al.*, 1997). Se ha observado que las hifas externas, pueden absorber N en forma de amonio, ion nitrato y aminoácidos (Ravnskov *et al.*, 1999). El micelio MA, puede utilizarlo muy eficientemente y transportarlo 10-30 cm a través del suelo (Subramanian y Charest, 1999), aunque aún se desconoce, cómo ocurre el traslado y transferencia de este elemento, a las raíces de las plantas.

Bago y colaboradores (2001), proponen un modelo simple para el flujo de N del suelo al huésped, a través del HMA, en el que se involucra el ciclo de la urea y el transporte de arginina, del micelio extrarradical al intrarradical y después a la planta huésped. Dicho modelo indica que el HMA, puede tomar y usar el N en forma de nitrato y de amonio del suelo. Estos son metabolizados a glicina (Gln) en la hifa extrarradical, y luego a arginina (Arg) por la ruta anabólica del ciclo de la urea. La Arginina es importada dentro de vacuolas mediante un transportador específico. La Arginina básica está ligada al fosfato polianiónico (poly-P), dentro de las vacuolas fúngicas; éste

se mueve al micelio intrarradical por torrentes citoplásmicos o por un sistema peristáltico tubular-vacuolar. Desde dentro de la raíz, la Arginina y el P son liberados al citoplasma del hongo. Gran parte del N es metabolizado a través de la ruta catabólica del ciclo de la urea, produciendo urea y ornitina (Orn), y finalmente amonio, que posteriormente es transferido a la raíz del huésped. Los esqueletos de C resultantes dentro del micelio intrarradical, son reincorporados al almacén del hongo (Bago *et al.*, 2001).

La absorción de N por el HMA, depende de la disponibilidad y movilidad del N en el suelo (Hawkins *et al.*, 2000). Sin embargo, muchos HMA pueden ser capaces de utilizar directamente las fuentes orgánicas de N, como la glicina (Hodge, 2001; Hodge *et al.*, 2000; Cliquet *et al.*, 1997). De este modo, las plantas micorrizadas tienen acceso a formas de N, no disponibles para las no micorrizadas. No obstante, un trastorno en la red hifal, puede producir complicaciones en la adquisición de este nutriente (Subramanian y Charest, 1999). A pesar de que se ha encontrado relación entre la densidad hifal y la asimilación de N, no siempre la mayor adquisición de N, ya sea de fuentes orgánicas o inorgánicas, produce un mayor nivel nutricional en las plantas micorrizadas, que en las no-micorrizadas (Hawkins *et al.*, 2000; Hodge *et al.*, 2000).

2.2.2.4. Reciclaje de nutrientes.

Las esporas del hongo micorrízico arbuscular, son sólo fuentes menores de nutrientes en ecosistemas naturales. Los nutrientes en esporas de hongos, pueden ser de 10 a 60 g N/ha⁻¹, 1-30 g P/ ha⁻¹, 1-18 g K/ ha⁻¹, 4-50 g Ca/ ha⁻¹ y 1-10 g Mg/ ha⁻¹. El cambio en los porcentajes de esporas de hongos micorrízicos, puede ser bastante lento, ya que son inactivas. Sin embargo, la biomasa del micelio del hongo puede ser muy alta en algunos suelos. Al respecto, se ha calculado que 42m de hifas micorrízicas

arbusculares, equivalen a 1mg de materia seca (Herrera *et al.*, 1986). Asumiendo que la hifa micorrízica arbuscular, tiene concentraciones de nutrimentos similares a las esporas (17 mg N/g⁻¹, 2.67 mg P/ g⁻¹, 0.88 mg K/ g⁻¹, 3.97 mg Ca/ g⁻¹ y 0.91 mg Mg/ g⁻¹ de materia seca de esporas, promedio de cinco diferentes especies de hongos), los nutrimentos en el micelio del hongo, podrían ser iguales a 4-32 kg N/ha⁻¹, 0.6-5 kg P/ ha⁻¹, 0.2-1.7 kg K/ ha⁻¹, 1-7.5 kg Ca/ ha⁻¹ y 0.2-1.7 kg Mg/ ha⁻¹. Este cálculo asume que todos los micelios tuvieran contenido citoplásmico, lo que puede no ser el caso bajo condiciones naturales. El hongo micorrízico arbuscular, posiblemente juega un importante papel como transportador de nutrimentos, en el proceso cíclico de los mismos. A través de la exploración del suelo por el micelio externo de la raíz, la micorriza es capaz de extraer eficientemente, nutrimentos solubles de dicho suelo. De esta manera, solubilizando o mineralizando y absorbiendo los nutrimentos, se reduce significativamente el efecto de la fijación química o lixiviación. La función del hongo micorrízico arbuscular, está concentrada en el horizonte más alto del suelo, donde se encuentra la materia orgánica y ocurre el mayor crecimiento de la raíz. Se han encontrado muy bajas densidades del hongo micorrízico arbuscular en horizontes profundos del suelo, debido a que, probablemente, su papel en el reciclaje de nutrimentos del suelo no es importante (Sieverding, 1991).

2.2.3. PRÁCTICAS DE FERTILIZACIÓN

La disponibilidad de nutrimentos en la zona rizosférica es modificada por las rizobacterias, cuyo efecto potencial cambia en presencia de micorrizas. Estos cambios son motivados por modificaciones en la fisiología de la raíz, tasa fotosintética, distribución de fotoasimilados, permeabilidad de la membrana celular de las células radicales y cambios en la cantidad o calidad de la exudación (Azcón, 2000).

2.2.3.1. Fuentes de fósforo.

La aplicación de fertilizantes orgánicos o químicos, puede o no afectar a la colonización micorrízica; sin embargo, la funcionalidad del hongo en el transporte de P, puede disminuir junto con la producción de algunas estructuras del hongo, por ejemplo las vesículas (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1983). Las fuentes de fósforo soluble en agua, los superfosfatos, tienen efectos negativos en el aumento de colonización, en cambio, la roca fosfórica ofrece efectos positivos (Sieverding, 1991).

En algunos suelos, la aplicación de fuentes de fósforo presenta efectos positivos sobre la producción de esporas del HMA (Ravnkov *et al.*, 1999); sin embargo, la humedad parece ser el factor regulador más importante, ya que se ha visto que el estrés hídrico en el suelo, dispara la esporulación (Guerrero, 1996).

Suelos con altas concentraciones de P y micronutrientos, tienen un impacto negativo en la colonización y desarrollo, tanto interno como externo, de los HMA. Es decir, hay mayor desarrollo de hifas extrarradicales en suelos sin aplicación de micronutrientos, pero con un bajo nivel de P, que en los de alto contenido (Liu *et al.*, 2000).

No se ha comprobado aún, que los HMA tengan un papel activo en la mineralización de P (Joner y Jakobsen, 1995); sin embargo, está claro que no participan en la degradación temprana de la materia orgánica, aunque la presencia de la simbiosis estimula los procesos de liberación de minerales, particularmente de P, retenidos en las partículas del suelo (Schweiger *et al.*, 1999). Se ha observado que durante las primeras etapas del crecimiento, las

plantas micorrizadas, respecto a las que no lo están, utilizan una mayor cantidad de P liberado de la materia orgánica (Joner y Jakobsen, 1995).

Sin embargo, Jayachandran y colaboradores (1992) mencionan que las micorrizas, si participan en la mineralización de P orgánico, de manera tanto directa como indirecta; directa mediante la hidrólisis enzimática del P orgánico por la producción de fosfatasas u otras enzimas, e indirecta, si la hifa micorrízica absorbe P después de que éste haya sido mineralizado por otros microorganismos del suelo o por aquellos asociados con el hongo micorrízico (Jayachandran *et al.*, 1992).

2.2.3.2. Fuentes de nitrógeno.

El nitrógeno es el nutrimento más frecuentemente aplicado en los cultivos. Los altos niveles de fertilización nitrogenada, pueden inhibir la formación de micorriza arbuscular y afectar negativamente la población del hongo. La urea (el fertilizante nitrogenado más comúnmente usado en el suelo), se convierte en amonio y éste inhibe más que los nitratos (Sieverding, 1991). De cualquier modo, los efectos de la aplicación de éste material sobre el HMA, no son constantes (Brinson *et al.*, 1994). El desarrollo de las micorrizas varía de un sitio del suelo a otro y puede depender de la disponibilidad de fósforo (Sieverding, 1991).

La fertilización nitrogenada no influye en la colonización micorrízica en maíz o la abundancia de hifas, al menos en suelos arenosos. Pero en los arcillosos, las hifas metabólicamente activas, son más abundantes con la aplicación de compuestos orgánicos, que con fertilizantes inorgánicos (Kabir *et al.*, 1997). También se ha observado, que la colonización por el HMA no depende del sustrato (Murphy, 2000).

Por otra parte, la humedad parece afectar la eficiencia del HMA en la absorción de N. Subramanian y Charest (1999), observaron que bajo condiciones de sequía, las plantas micorrizadas tuvieron un 33% más de N ($K^{15}NO_3$) que las no micorrizadas. Por esta razón, la simbiosis micorrízica resulta menos importante en la adquisición de N, para las plantas bajo condiciones de buena humedad, que en caso de sequía. Algunos autores consideran que el HMA, sólo mejora el desarrollo de la raíz, pero no interviene en una mayor absorción de N (Hodge 2001; Hodge *et al.*, 2000). Contradictoriamente, Hawkins y colaboradores (2000), indican que el HMA ayuda a la planta en la adquisición de N, tanto de fuentes orgánicas como inorgánicas; aunque este incremento, no siempre produzca una mejora en el nivel nutricional de las plantas micorrizadas.

Asimismo, el contenido de N en plantas de maíz, correlaciona estadísticamente con la intensidad de colonización micorrízica (Alvarez-Solís *et al.*, 2000). Respecto a las gramíneas, la micorriza promueve la absorción de N, lo que hace más eficiente el aprovechamiento de este nutrimento (Frey y Shüepp, 1993). Es notorio que en plantas de maíz micorrizadas, incrementaron las actividades nitrato-reductasa y glutamino-sintetasa en raíces y tallos. Esto indica que el NO_3^- absorbido del suelo por el hongo, puede ser transferido directamente a las células de la raíz, para fomentar la reducción y asimilación (Cliquet y Stewart, 1993).

2.2.3.3. Composta.

La aplicación de composta tiene varias funciones en el suelo: mejora la estructura, retiene humedad, promueve la aireación, almacena nitrógeno, nivela el pH, neutraliza algunas toxinas, sirve de abono y libera nutrientes del suelo (Dalzell *et al.*, 1991; Jeavons, 1991). Con ella incrementa la

actividad microbiana y, por ende, favorece el reciclaje de nutrientes; estos beneficios no se obtienen al aplicar fertilizantes inorgánicos (Willson *et al.*, 2001). De hecho se ha observado, que la formación y desarrollo de la micorriza, disminuye con la aplicación de fósforo como fertilizante químico, en comparación con la misma concentración de fósforo, pero como materia orgánica composteada (Boddington y Dodd, 2000a).

Con la aplicación de composta se mejoran las condiciones del suelo, beneficiando así el desarrollo de la raíz y el establecimiento de la micorriza. Las raíces, son intensamente colonizadas por el HMA cuando se aplica composta; además, no se altera la diversidad de las especies del HMA en el suelo, ni afecta la composición relativa de esporas de la comunidad fúngica (Sieverding, 1991). Se ha visto que el desarrollo de las hifas está muy relacionado con la materia orgánica, tanto la longitud (total y activa al fluorosín diacetato) como el grosor, se incrementaron en tratamientos con alto contenido de materia orgánica composteada y viceversa (Schnürer *et al.*, 1985). Por el contrario, Boddington y Dodd (2000a) encontraron que la longitud del micelio extrarradical de un HMA, asociado a plantas tropicales, fue mayor bajo el sistema de agroforestería, pero disminuía si se adicionaba materia orgánica composteada al suelo. Por su parte, Corlay-Chee y colaboradores (2000), indican que la aplicación simultánea de HMA y composta (8 ton ha⁻¹) a cultivos de cebolla, no tuvo ningún efecto sinérgico.

El HMA es capaz de aprovechar directamente las fuentes de N orgánico, sin previa mineralización microbiana (Hodge, 2000). Se ha observado que la aplicación de composta, para incrementar el suministro de N a cultivos de maíz, también incrementó las cantidades de N y K asimilables en el suelo (Douds Jr. *et al.*, 1997).

La combinación HMA y composta resulta muy benéfica para muchas plantas, ya que favorece el incremento significativo del rendimiento de materia seca y la concentración de P, Ca, Mg, Cu, Mn y Zn, tanto en suelo, como en planta. También se ha observado que se reduce significativamente la longitud de la raíz, al menos en plantas de trébol (Sáinz *et al.*, 1998).

Obviamente, la calidad de la composta es importante para la formación óptima de la micorrización (Sieverding, 1991). Pero quienes mencionan que el HMA puede crecer saprofiticamente en el suelo, siempre y cuando éste contenga, al menos 0.15 % de materia orgánica (Hepper y Warner, 1983). De cualquier forma, existe poca información acerca de los efectos específicos de fertilizantes orgánicos, sobre las asociaciones micorrízicas y sus dinámicas de población.

2.3 COMPOSTA

El compostaje ha sido definido como un proceso biológico por el cual los desperdicios orgánicos, son estabilizados y convertidos en un producto usado como acondicionador del suelo o como fertilizante orgánico (Douds Jr. *et al.*, 1997). Es un proceso de síntesis y descomposición de la materia orgánica, por una gran cantidad de microorganismos en un medio húmedo, caliente y aireado, para dar como producto final un humus, llamado “composta” (Dalzell *et al.*, 1991).

2.3.1. ETAPAS DEL PROCESO

Los microorganismos requieren humedad, oxígeno y alimento que toman del aire y del material orgánico, y emiten dióxido de carbono, agua y energía. Parte de ésta la usan para su crecimiento, movimiento y reproducción y el

resto es liberada en forma de calor. Como resultado, la pila del material en compostaje se calienta, los cambios de temperatura fluctúan de un rápido incremento, a un gradual decremento (Dalzell *et al.*, 1991). La temperatura es el parámetro físico-químico dominante y significativo, que controla la actividad microbiana durante el compostaje y, por ende, la relativa ventaja de una población sobre otra (Ishii *et al.*, 2000). En base a los cambios de temperatura, se han reconocido cuatro etapas (Figura 2): mesofílica, termofílica, enfriamiento y maduración (Golden *et al.*, 1983).

Etapa Mesofílica. En el inicio del procedimiento, el material se encuentra a temperatura ambiente, los microorganismos presentes en este se multiplican rápidamente y su actividad produce el calentamiento de la pila. Durante este período, muestran descomposición todos los compuestos fácilmente atacables, tales como azúcares, almidones y grasas y el material se vuelve ligeramente ácido, por la descomposición de los ácidos orgánicos simples (Dalzell *et al.*, 1991).

Etapa Termofílica. Es una fase muy importante, porque hace fácilmente degradable a la materia orgánica estable, contenida en las sustancias húmicas (Ishii *et al.*, 2000). La temperatura alcanza entre 60 y 70°C, cesa la actividad de los hongos, la descomposición es llevada a cabo por los actinomicetos y las cepas de bacterias que forman esporas. La velocidad de descomposición se modera alcanzando el máximo de temperatura y en este punto, la pila pierde tanto calor, como el que los microorganismos producen. La pila se vuelve ligeramente alcalina a medida que las proteínas son atacadas, liberándose amoníaco. El material no produce malos olores, ni atrae insectos (Dalzell *et al.*, 1991).

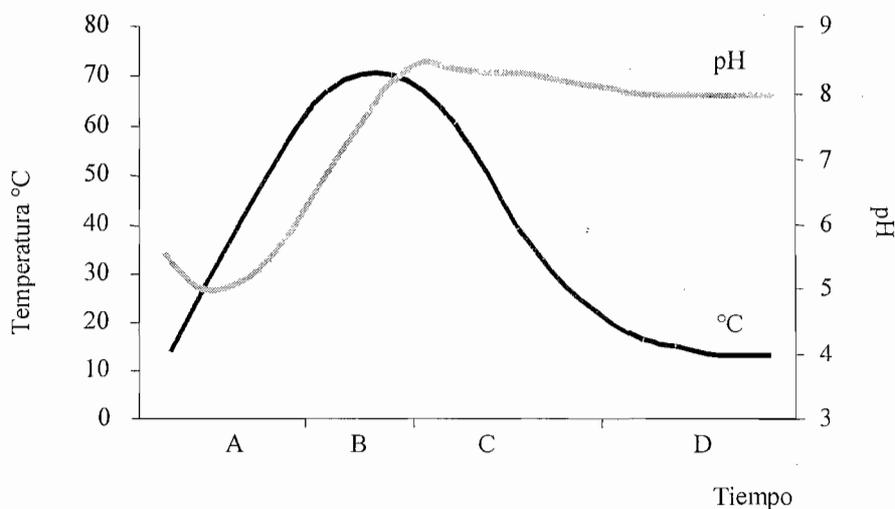


Figura 2. Variaciones de temperatura y de pH en una pila de composta. A, Mesofílica; B, Termofílica; C, Enfriamiento; D, Maduración.

Etapa de Enfriamiento. La temperatura baja gradualmente, los hongos se multiplican desde las regiones más frías de la pila, y atacan los compuestos menos reactivos (hemicelulosa y celulosa), descomponiéndolos en compuestos azucarados más sencillos, que quedan a disposición de todos los demás microorganismos. Los actinomicetos también participan durante este periodo. Al finalizar el enfriamiento, desaparece la mayoría del suministro de alimento, se incrementa la competencia entre microorganismos y la liberación de antibióticos. El pH no sufre grandes cambios, teniendo a la neutralidad (Dalzell *et al.*, 1991).

Etapa de Maduración. La tasa de descomposición es baja y el desprendimiento de calor pequeño. La temperatura y el pH casi permanecen constantes. El tiempo total del proceso de compostaje, depende de la

naturaleza de los materiales orgánicos, condiciones de aireación, humedad de la pila y o factores ambientales (Dalzell *et al.*, 1991).

2.3.2. FUNCIONES EN EL SUELO

La adición de composta, ayuda a crear un medio favorable para los procesos físicos, reacciones químicas y actividad biológica del suelo (Saggar *et al.*, 2001). Algunas de sus funciones son:

- *Mejorar la estructura.* El humus separa la arcilla y los terrones, y aglutina a los suelos arenosos. También favorece una mejor aireación en los suelos arcillosos y arenosos (Jeavons, 1991).
- *Retener la humedad.* El humus retiene 6 veces su peso de agua (Eriksen *et al.*, 1999). Un suelo con buen contenido de materia orgánica, absorbe el agua de lluvia como una esponja y la pone a disposición de las plantas a medida que van necesiéndola. Un suelo desprovisto de materia orgánica no permite la penetración del agua, lo que propicia la formación de costras, la erosión e inundación (Jeavons, 1991).
- *Promover la aireación.* Las plantas pueden obtener del aire, el sol y el agua, el 96% de los nutrimentos que necesitan. Una tierra sana y suelta ayuda a que el aire se difunda en el suelo, además de contribuir al intercambio de nutrimentos y humedad. El bióxido de carbono, que se desprende durante el proceso de descomposición de la materia orgánica, se difunde hacia el exterior y es absorbido por la "bóveda" que forman las hojas de las plantas, cuando éstas se siembran cerca unas de otras y crean un microclima (Dalzell *et al.*, 1991; Jeavons, 1991).

- *Servir de abono.* La composta contiene nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio y azufre, su importancia radica en el contenido de estos nutrimentos. El principio básico es regresar a la tierra todo lo que se le ha extraído, mediante el aprovechamiento de los residuos vegetales y el estiércol (Eriksen *et al.*, 1999; Jeavons, 1991).
- *Almacenar nitrógeno.* La pila de composta es un almacén de nitrógeno. Durante el período que dura el proceso de descomposición de la materia orgánica, hasta la formación de la composta, este nutrimento soluble en agua, permanece retenido, evitándose la lixiviación o su oxidación en el aire (Jeavons, 1991) y la volatilización, sobre todo en forma de amoníaco (Brinson *et al.*, 1994).
- *Nivelar el pH ("efecto buffer").* Incrementa considerablemente el número de sitios de intercambio catiónico (Eriksen *et al.*, 1999). Un suelo con un contenido adecuado de composta, ayuda a que las plantas resistan mejor los cambios de pH (Jeavons, 1991).
- *Neutralizar las toxinas del suelo.* Recientemente se han realizado estudios importantes, que muestran que las plantas cultivadas en suelos con composta orgánica, asimilan cantidades inferiores de metales pesados, como el plomo, y otros contaminantes urbanos, en comparación con las plantas que se cultivan en otro tipo de suelo (Dalzell *et al.*, 1991; Jeavons, 1991).
- *Liberar nutrimentos.* Los ácidos orgánicos disuelven los minerales del suelo y los hacen accesibles para las plantas (Jeavons, 1991). Al descomponerse la materia orgánica, libera nutrimentos para las plantas y la población de microorganismos del suelo (Eriksen *et al.*, 1999)

- *Servir de alimento para la vida microbiana.* Una buena composta aumenta las actividades microbianas y enzimáticas, al crear condiciones saludables para los organismos que viven en el suelo (Eriksen *et al.*, 1999). La composta protege a las lombrices de tierra y hongos benéficos que atacan a los nemátodos y otras plagas del suelo (Jeavons, 1991).

También hay quienes consideran a las compostas como “fertilizantes pobres”, porque su contenido de fósforo y nitrógeno es de aproximadamente un 1%, y la tasa de mineralización del N es lenta (aproximadamente del 10%). Por ello, se piensa que no aportan la cantidad suficiente de N disponible a las plantas, ni incrementan los rendimientos (Sikora y Enkiri, 2001). Debido a esto, se recomienda el uso combinado de fertilizante inorgánico y composta, ya que el primero estimula la mineralización del segundo (Sikora y Enkiri, 2000).

2.3 *Azospirillum*

En 1978 Tarrand y sus colaboradores, propusieron a *Azospirillum* como género con base en diferencias morfológicas y fisiológicas, en experimentos sobre homología de ADN distinguiendo dos especies *A. brasilense* y *A. lipoferum*. Se han descrito tres especies más: *A. amazonense*, aislada de pastos del Amazonas en Brasil; *A. halopraeferans*, la especie halo-tolerante asociada al pasto Kallar y *A. irakense*, degradadora de pectina encontrada en raíces de arroz. Sin embargo, son más importantes las dos primeras (Bashan y Levanony, 1990).

2.4.1. FUNCIÓN

a) Fijación de nitrógeno por *Azospirillum*

El nitrógeno no puede entrar por sí solo a los sistemas biológicos, a menos que sea fijado o combinado con otros elementos (oxígeno o hidrógeno).

En la naturaleza, la fijación biológica de nitrógeno sólo es una facultad reservada a unos cuantos géneros de bacterias (incluidas las denominadas cianobacterias). Ningún organismo superior ha desarrollado esta capacidad, aún cuando varios participan indirectamente, formando asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno.

Estudios sobre la inoculación de trigo y maíz, han indicado que un 5-10% y hasta 18% del N total de la planta, se deriva de la fijación del mismo; además, las plantas inoculadas crecieron normalmente, con solo una cantidad parcial del fertilizante requerido para tal crecimiento, aún en zonas templadas (en las cuales *Azospirillum* es menos efectivo) y bajo cultivo intensivo. Esta cantidad de nitrógeno fijado es insuficiente como para explicar incrementos totales en la acumulación del mismo, en las plantas inoculadas.

Niveles altos de fertilización nitrogenada (lo que inhibe la fijación de nitrógeno) no suprimieron la respuesta positiva de la planta, a la inoculación (Bashan y Levanony, 1989).

Azospirillum utiliza una amplia variedad de fuentes de nitrógeno (N_2 , NO_3^- , NH_4Cl , extracto de levadura, casaminoácidos y peptona), ya que parece tener capacidad, para participar en varios procesos de transformación del nitrógeno en la naturaleza. Fue el primer microorganismo que se reportó con habilidad para realizar, tanto la fijación de nitrógeno, como la desasimilación del NO_3^- a gas (desnitrificación).

Los procesos de transformación de nitrógeno en la naturaleza, en los cuales participa *Azospirillum* son:

- 1) Procesos de fijación de nitrógeno en las raíces y suelo, con sustratos de carbono, proporcionados por la fotosíntesis de la planta o descomposición de la materia orgánica.
- 2) Reducción desasimilatoria de NO_3^- a NO_2^- .
- 3) Desnitrificación de NO_3^- , liberado en el suelo o adicionado como fertilizante, con consecuente pérdida de gas.
Síntesis de materia orgánica.

b) Mecanismos de acción de *Azospirillum* sobre el crecimiento vegetal

No se ha definido el mecanismo principal, por medio del cual *Azospirillum* promueve el crecimiento vegetal. Sin embargo, se han propuesto algunos mecanismos de acción: a) fijación de nitrógeno, que contribuye con nitrógeno a las plantas, b) efectos hormonales, que promueven el metabolismo y crecimiento vegetal, c) incremento en el crecimiento del sistema completo de raíces, lo cual puede estar relacionado con cambios hormonales, originando una mayor capacidad de absorción de agua y minerales, d) alteración del funcionamiento de la membrana, por medio de moléculas de comunicación celular las de bajo peso molecular, pueden ser responsables de alterar actividad y funciones de membranas relacionadas con la absorción de iones) y e) la hipótesis aditiva, que propone la intervención de todo los mecanismos arriba mencionados(Bashan *et al.*, 1996).

c) Efectos hormonales de *Azospirillum* sobre la planta.

En 1979, Tien *et al.* encontraron que las auxinas (en particular el ácido indol-3-acético, IAA y las giberelinas y citocinas, producidas por las plantas y esenciales para su crecimiento y desarrollo, son producidas por varias bacterias del suelo fijadoras de nitrógeno. Estas en algún momento, pueden incrementar la velocidad de desarrollo y rendimiento de las plantas huésped (Weier, 1980).

La inoculación de *Azospirillum* a maíz cv. Hazera 851 (para harina de maíz), incrementa la producción de mazorcas (10.5%), el peso seco de la mazorca (10.4%), la altura de la planta (8.4%), la punta fresca (10.5%), el peso seco (23.2%), el número de semillas/mazorca de maíz (18.6%), el peso seco de las semillas (28.2%), el peso de la mazorca de maíz (34.4%), el promedio del peso de una semilla (8.6%), el peso seco de raíces y retoños, tallo y acumulación de N total. La inoculación a semillas aumenta la producción de la materia seca (29.8%). La inoculación de *Azospirillum* a maíz desarrollada bajo condiciones templadas, incrementa la producción y N total (Ortega, 1989).

d) Otras funciones de *Azospirillum*.

En la mayor parte de los efectos de la inoculación con *Azospirillum* en la planta, se encuentran los cambios morfológicos en el sistema de la raíz.

Efectos positivos de la inoculación han sido demostrados en varios parámetros radiculares, incluyendo incremento en el largo de la raíz particularmente en la zona de elongación, aumento en el número y longitud de raíces laterales, volumen radical, número, densidad y apariencia superior de pelos radicales, aumento en el área de superficie radical, división celular

en el meristemo radical, cambios del arreglo celular en el cortex y estimulación del exudado radical. Sin embargo, otros estudios indican claramente un decremento en longitud, masa y volumen radical, después un incremento en el crecimiento de vástagos y un cambio no aparente en el arreglo celular del cortex.

Se ha propuesto que el aumento en la absorción de minerales, se debe a un incremento general en el sistema de raíces y no a un mecanismo de absorción de iones más eficaz. Por otro lado se cree que la inoculación con *Azospirillum*, puede provocar que la absorción de iones en el suelo sea más eficiente (se desconoce el mecanismo de este proceso), lo que explica la acumulación de compuestos de nitrógeno en la planta, sin existir una aparente fijación de nitrógeno. La planta puede asimilar el nitrógeno del suelo de manera más eficiente, requiriendo menos fertilización nitrogenada (Bashan *et al.*, 1996).

2.4.2 FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD DE *Azospirillum*

a) Fluctuaciones estacionales o temporales

La actividad nitrogenásica en los cereales fluctúa en todo el ciclo de crecimiento, observándose actividad máxima en el otoño durante el desarrollo reproductivo de la planta.

En el maíz, existen dos puntos máximos de actividad nitrogenásica asociados con el estado de crecimiento de la planta: el primero asociado con la producción de seda o estado sedoso, es decir, cuando los óvulos son fertilizados, presentándose después la rápida división celular (estado de florecimiento). El segundo cuando las células se multiplican rápidamente en el endospermo y ha comenzado el hinchamiento del cereal (período de crecimiento activo e hinchamiento del grano).

b) Nitrógeno combinado

La actividad nitrogenosa, en sistemas intactos suelo-planta de raíces de maíz, sorgo y pastos, puede ser reprimida por la adición de niveles altos de nitrógeno combinado o la excesiva aplicación de fertilizantes nitrogenados.

La actividad de la nitrogenasa en las raíces de maíz y sorgo, es inhibida variadamente cuando son expuestas a NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ durante el período de preincubación se inhibe severamente después de la aplicación de grandes dosis de fertilizantes ($200 \text{ kg de N/ ha}^{-1}$).

c) pH del suelo

La máxima actividad se observa en suelos con pH de 7.3-7.6. Sin embargo, también es posible encontrarla a un pH tan bajo como 4.8, siempre y cuando la concentración de aluminio sea baja.

Se ha observado que si ningún factor en el suelo (energía, sustratos de carbono, nitrógeno, oxígeno, humedad y temperatura) está limitado, la ocurrencia y capacidad de *Azospirillum* para fijar nitrógeno, es altamente dependiente del pH del suelo (4-8). También la fijación de nitrógeno en cultivos de *Azospirillum*, varía ampliamente con el tipo de suelo, como a continuación se observa.

Suelos salinos muestran las más altas reducciones de C_2H_2 .

Suelos ácidos, también presentaron apreciables reducciones de C_2H_2 , a pesar del bajo pH y alta conductividad eléctrica.

Suelos con alto contenido de materia orgánica, muestran que *Azospirillum* tuvo baja actividad fijadora de nitrógeno.

Suelos alcalinos muestran apreciable reducción de C_2H_2 , aún con pH alcalino desfavorable y alta conductividad eléctrica.

d) Temperatura

Day y Döbereiner (1976), encontraron que la temperatura óptima para el desarrollo y fijación del N en cultivos puros de *A. brasilense* y *Digitaria*, está entre 31-40 °C y la temperatura óptima para la actividad nitrogenada de cultivos puros de *A. lipoferum* y raíces de maíz aisladas, es de 31 °C.

e) Fertilización del suelo.

En regiones o suelos cultivados, la presencia de *A. lipoferum* aumenta considerablemente, debido a que la cosecha y lixiviación eliminan gran parte del nitrógeno, haciendo más favorables las condiciones para que se lleve a cabo la fijación biológica, además de que rara vez es limitado este elemento en los sistemas en equilibrio.

2.4.3. ASPECTOS AGROTÉCNICOS

Un objetivo importante, es la aplicación comercial de *Azospirillum* en la agricultura moderna para el desarrollo de la comunidad. Sin embargo existen muy pocos estudios. Se han observado efectos potenciales de la inoculación con *Azospirillum* en conjunto con compuestos químicos y la inoculación aplicada en campos comerciales.

No se ha establecido la combinación óptima de *Azospirillum* y compuestos químicos. El problema es que no es continua la aplicación de este inóculo en los cultivos. No se ha podido determinar el tiempo requerido por las plantas, para interactuar con las bacterias. Falta de técnicas de inoculación que sean prácticas, económicas y cómodas para el agricultor. El producto empleado debe ser suficiente para la planta y poder combatir con estándares comerciales. Determinar la concentración del inóculo que tiene efectos inhibitorios sobre el desarrollo de la planta, al igual que una baja concentración. El nivel óptimo del inóculo para semillas de cereales, vegetales y cosechas industriales puede ser de 10^5 - 10^6 ufc/ml, para maíz 10^7 ufc/ml y para tomate *in vitro* $>10^8$ ufc/ml. Sin embargo la concentración de 10^8 - 10^{10} ufc/ml usualmente inhibe el desarrollo de la raíz. Como muchas células bacterianas por semilla o planta están requeridas para obtener respuesta de la planta.

Existen pocos métodos de inoculación. El más simple, consiste en la inoculación aplicada directamente en forma líquida, ya sea en el suelo o en la semilla. Esta técnica fue usada en numerosos experimentos de invernadero sobre producción, y solamente es inadecuada a causa de la mala sobrevivencia de *Azospirillum* en el suelo o en ausencia de un huésped durante un período largo. Los resultados de una alta producción han sido obtenidos por la suspensión en turba, suficiente agua por surco o por

aplicación granular del inóculo al tiempo de sembrar. Esta práctica de inoculación provee alguno de los requerimientos de un muy buen o adecuado inoculante bacteriano. Una práctica usada es el encapsulado frío-seco de la bacteria, de forma sintética con un uso simple uniforme y biodegradable por los microorganismos del suelo y no tóxico en la naturaleza. Una vez que la bacteria está en el suelo y junto a un huésped por largo tiempo se reproduce a gran escala.

III. PROBLEMA, SUPUESTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 PROBLEMA

Cuando a los suelos de aptitud forestal se les da un uso agrícola, tienden a degradarse biológicamente perdiendo su capacidad productiva. También se ha observado en estos suelos una baja respuesta de los cultivos a la fertilización fosfatada, debido a que el P liberado a la solución del suelo, es generalmente retenido por dicho suelo. Tal es el caso de los Andosoles húmicos, (WRB. FAO, 1994), de Villa Victoria, Estado de México que, presentan altos niveles de retención de P-disponible.

Como se sabe las micorrizas aumentan las posibilidades de las plantas para establecerse y desarrollarse en estos edafosistemas. Por su parte *Azospirillum* en gramíneas incrementa el peso seco de éstas, la cantidad de nitrógeno en la plántula y en grano así como el número de semillas fértiles, además de acortar el tiempo de floración, la altura de la planta y talla de la hoja, incrementando por ello el número, peso y granos por mazorca.

3.2 SUPUESTOS E HIPÓTESIS

SUPUESTOS. Las compostas, como otros compuestos orgánicos como la harina de hueso, aplicadas al Andisol actúan:

1. Como una fuente de P y N de la que, en particular el P, se libera gradualmente, lo que disminuye la retención de este nutrimento por los complejos órgano-minerales presentes en el suelo.
2. Como un promotor de la colonización micorrízica en el maíz, lo que propicia un aumento en la capacidad de absorción de P y N.

3. Como una fuente de P y N, con mayor permanencia que el superfosfato simple de calcio, detectable por su efecto residual, en la acumulación de estos nutrimentos en cultivos posteriores a su aplicación.

HIPÓTESIS. Mientras que la simbiosis micorrízica en maíz favorece la absorción de fosfatos y otros nutrimentos, aumenta el volumen de raíz, disminuye el estrés hídrico y previene el ataque de plagas a las plantas, en la simbiosis asociativa, *Azospirillum* libera hormonas de crecimiento y fija nitrógeno atmosférico que las plantas de maíz pueden absorber rápidamente mejorando el desarrollo total de la planta. Es por ello que la doble simbiosis micorriza arbuscular-*Azospirillum* con maíz, mejora la absorción de fósforo y nitrógeno en las plantas de esta especie lo que se refleja en el mayor rendimiento del cultivo.

3.3 OBJETIVOS

3.3.1. OBJETIVOS GENERALES

Determinar, el efecto de diferentes fuentes de fósforo sobre la colonización endomicorrízica arbuscular nativa del maíz, en un Andisol y el efecto del mejor nivel y fuente de fósforo, sobre el establecimiento de los hongos micorrízicos arbusculares nativos en el maíz y en su inoculación con *Azospirillum*, en un Andisol en condiciones de invernadero.

3.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el grado de mineralización de diferentes fuentes de fósforo (superfosfato simple, harina de pescado y hueso), que se alcanza en el suelo, durante diferentes periodos de incubación.

- 2 Valorar la relación harina de hueso-hongos micorrízicos, mediante la determinación del porcentaje de colonización micorrízica total, acumulación de P y N en las plantas, y producción de biomasa seca, así variables indicadoras del crecimiento tales como longitud y peso de raíz, altura y peso seco de planta

- 3 Estimar el suministro de harina de hueso en la doble simbiosis hongos micorrízicos-*Azospirillum* con maíz a través de la comparación de la colonización micorrízica total, acumulación de P y N y del rendimiento en biomasa seca.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 DESCRIPCIÓN DEL SUELO

El suelo utilizado en esta investigación, clasificado como Andosol húmico (FAO, 1994) proviene del ejido Las Peñas, municipio de Villa Victoria, Estado de México. Se ubica en 100° 04' de long. W y 19° 28' de lat. N. Colinda con la Presa Villa Victoria al N y con los poblados Dolores Vaquería al S, Cerritos del Pilar al E y Loma de Juárez al W. Pertenece a la provincia fisiográfica Mil Cumbres (INEGI, 2002).

La zona tiene clima templado subhúmedo con lluvias en verano (CW). Las temperaturas mínimas oscilan de -3 a -5 °C, mientras que las máximas alcanzan los 20°C (García, 1988). La vegetación predominante son los bosques de pino, encino y pino-encino; también existen manchones de gramíneas, arbustos y hierbas. El principal cultivo en esta área es el maíz, cultivado bajo condiciones de temporal y, en menor escala, avena, cebada y trigo (INEGI, 2002).

En la subprovincia donde se localiza el suelo objeto de estudio, existen once grupos de suelo, entre los que dominan el Andosol húmico, característico por su acidez, alto contenido de materia orgánica, elevada fijación de fósforo y su color oscuro. Están constituidos, mineralógicamente por vidrio volcánico 53.4%; plagioclasa 29.8%; piroxenos 13.3% y titanomagnetita 3.5%. Debido a que derivan de cenizas volcánicas, en su primera fase de intemperización, dan lugar a materiales amorfos, tales como alófanos, geles de alúmina, hierro y sílice, (Ortiz *et al.*, 1990).

La mayor parte de estos suelos son muy ligeros, con alta capacidad de retención de agua; fáciles de labrar en todos los grados de humedad. Sus limitaciones principales son la posibilidad de erosión y la pobreza de fósforo aprovechable por las plantas (Porta *et al.*, 1994).

La densidad aparente de estos suelos es baja, normalmente, se encuentra entre 0.45 a 0.75 g cm⁻³ (Porta *et al.*, 1994). La textura varía de franco a migajón arcillo-arenoso. Generalmente en estos suelos, la distribución con base a volumen de las fases sólida, líquida y gaseosa es de: 20%, 30% y 50%, respectivamente. Por otra parte, debido a la gran cantidad de poros pequeños (Egawa, 1980), a la gran superficie específica del alófono y a los altos contenidos de materia orgánica, estos suelos tienen una gran capacidad de retención de humedad, que los agricultores aprovechan en las siembras con humedad residual (Vergara, 1992).

Respecto a sus propiedades químicas, estos suelos tienen un alto contenido de materia orgánica (hasta 90%) en su horizonte A húmico, (Fassbender y Bornemisza, 1987). La relación C:N es generalmente, más alta que en los suelos minerales (Egawa, 1980). Cuando los suelos se abren por primera vez al cultivo, la materia orgánica comienza a mineralizarse y libera nitrógeno para los cultivos. Sin embargo, después de varios años y dependiendo de la intensidad de uso agrícola, se pueden presentar deficiencias de P y N (Tanaka, 1980).

El pH de los suelos es ácido y muestra generalmente, una gran cantidad de aluminio activo, que determina en gran medida, la poca disponibilidad del S, y la baja eficiencia de los fertilizantes fosfóricos (Porta *et al.*, 1994).

Comúnmente, la capacidad de intercambio catiónico es de 30 a 60 cmol⁺ kg⁻¹ de suelo. Muchos de estos suelos poseen una alta acidez intercambiable en su condición nativa proveniente, fundamentalmente, de las sustancias

orgánicas (Tisdale y Nelson, 1987). Además, estos suelos generalmente tienen bajo contenido de calcio intercambiable y, algunas veces, también de magnesio (Vergara, 1992).

Por otra parte, en este tipo de suelos puede haber deficiencia de algunos micronutrientes, tanto por los procesos de lixiviación, como por la formación de complejos, originada por las grandes cantidades de materia orgánica (Tanaka, 1980).

Cruz y Hernández (1996) encontraron para el suelo de la misma zona (municipio de Villa Victoria), las siguientes propiedades: pH activo 5.3, acidez hidrolítica 1.12 cmol (H⁺) kg⁻¹, CIC 44.74 cmol⁺ kg⁻¹, M.O. 6.8%, N total 0.286%, P disponible 13.38 mg kg⁻¹ y 60.88% de retención de P.

Asimismo, Arroyo y Martínez (1997) detectaron: densidad real 2.39 g cm⁻³, densidad aparente 0.86 g cm⁻³, espacio poroso 63.96%, textura areno-limosa, pH activo de 4.53, un pH de potencial 4.07, M.O. 7.70%, y valores de 7.5 ppm de P disponible y 0.12% de N total.

El suelo que se utilizó en la presente investigación, fue recolectado de la capa arable (de 0 a 30cm de profundidad) en terrenos dedicados al cultivo de maíz durante la época seca (noviembre), tomando 5 submuestras en zig-zag para obtener una compuesta de aproximadamente 100 kg de suelo. El suelo fue secado a la sombra dentro del invernadero posteriormente a la homogeneización fue tamizado por una luz de malla de 2 mm, para efectuar los análisis físicos y químicos (Cuadro 1) y de 5 mm para el establecimiento de las unidades experimentales en condiciones de invernadero.

Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas determinadas en el suelo.

Propiedad	Método	Fuente
Densidad Aparente (g cm ⁻³)	De la probeta	Gandoy 1991
Densidad Real (g cm ⁻³)	Del picnómetro	Gandoy, 1991
Espacio Poroso %	relación DA-DR	Foth, 1992
Humedad %	Diferencia de pesos	Foth, 1992
Textura	Bouyoucus	Foth, 1992
pH activo	relación 1:2.5 H ₂ O	Jackson, 1982
pH potencial	relación 1:2.5 KCl 1N	Jackson, 1982
Cap. Intercambio Catiónico cmol+kg ⁻¹	Acetato de Sodio	Jackson, 1982
Cationes Intercambiables cmol+kg ⁻¹	Acetato de Amonio	Jackson, 1982
Materia Orgánica %	Walkley-Black	Ruiz, 1979
P asimilable mg kg ⁻¹	Bray I	Bray y Kurtz, 1945
N total%	Kjeldhal	Ruiz, 1979

4.2 MAÍZ

Se trabajó con dos variedades de maíz, el híbrido “H-28”, el cual es recomendado por el INIFAP, Campus Toluca, para esta zona; y el criollo “Pico de Gorrión”, muy usado en Villa Victoria por ser de alto rendimiento y buena calidad de semilla.

4.3 SELECCIÓN DE LA FUENTE DE FÓSFORO ORGÁNICO

De dos grupos de harinas, se escogió la de mayor contenido de N-total, P-asimilable y total, para el experimento de relación harina de hueso-hongos micorrízicos (Cuadro 2).

A ambas harinas se les determino: % de humedad, pH activo (relación 1:5) y potencial (relación 1:5, KCl 1M), P total (%), P asimilable (mg kg⁻¹) y N total (%), de acuerdo a los métodos expuestos en el Cuadro 1.

Cuadro 2. Propiedades físicas y químicas de las harinas.

Determinación	HARINA DE PESCADO	HARINA DE HUESO
Humedad %	5.5	6.0
pH activo 1:5 (H ₂ O)	4.6	6.0
pH potencial 1:5 (KCl)	5.1	6.8
P total (%)	2.03	7.0
P asimilable -Bray I(mg kg ⁻¹)	90.4	88.0
N total -Kjeldhal (%)	9.25	5.6
Relación C:N	5	8

4.4 MINERALIZACIÓN DE LAS FUENTES DE FÓSFORO

Para determinar el tiempo de liberación de P, se estableció un diseño experimental de bloques al azar para el cual, una semana antes de iniciar el experimento, en frascos con tapa de cierre hermético, se colocaron 250 g de suelo humedecido al 60% de su capacidad de campo. Se aplicaron cuatro tratamientos de suministro equivalente a 1 t ha⁻¹ de P, harina de pescado (HP) y harina de hueso (HH) como fuente de P-orgánico y superfosfato simple de calcio (SFS) como P-inorgánico y un testigo sin suministro de P (T). La mineralización del P, fue evaluada en cuatro tiempos (2, 4, 6 y 8 semanas) con lo que se generó un factorial de cuatro dosis de P, cuatro tiempos de incubación con cuatro repeticiones de cada tratamiento lo que dio un total de 64 unidades experimentales (Cuadro 3).

Para la determinación de P disponible en los tiempos establecidos, se retiraron cuatro unidades experimentales por cada tratamiento, se destaparon los frascos y manteniéndolos a la sombra se llevó el suelo hasta sequedad finalmente se tomó la muestra de suelo para hacer la determinación de P por el método Bray I.

Cuadro 3. Tratamientos del Experimento 1, Mineralización.

Tratamientos	Tiempo de mineralización de P- Orgánico			
	2	4	6	8
	Semanas			
	T	T	T	T
	HH	HH	HH	HH
	HP	HP	HP	HP
	SFS	SFS	SFS	SFS

T, Testigo con fósforo natural; HH, harina de hueso; HP, harina de pescado y SFS, Superfosfato simple de calcio.

4.5 RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRÍZICOS

En este experimento se evaluó la colonización micorrízica arbuscular y la producción de biomasa como respuesta al suministro de P-orgánico (HH) y al superfosfato simple de calcio (SFS). Se utilizaron dos maíces cultivados en Villa Victoria, un Criollo y un Híbrido de alto rendimiento. El suelo de los testigos fue sometido a un tratamiento de eliminación de propágulos de HMA nativos, en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos, repitiendo esta operación tres veces con un día de descanso, permitiendo ventilación entre cada esterilización. Se obtuvo un extracto bacteriano, a partir de una mezcla 1:1 de suelo natural y agua destilada y esterilizada, filtrado por papel de poro semifino (Whatman No. 4), que sirvió como inóculo en los tratamientos "C-T1, C-T2, H-T1 y H-T2, que se prepararon tres semanas antes de la siembra. Se colocó suelo en macetas con capacidad para 1.5 kg, dos semanas antes de la siembra se regó el suelo hasta llevarlo al 60% de su capacidad de campo. Una semana antes de la siembra se aplicó, según el tratamiento, la cantidad de nutrimentos indicada en el Cuadro 4, pero para el caso de la urea se suministro sólo la mitad de ella y la otra mitad, 60 días después de la emergencia (dde) de las plántulas. Con base en todo lo anterior, el diseño constó de 72 unidades experimentales, distribuidas en bloques al azar (Cuadro 4).

Para la siembra; se colocaron 5 semillas por maceta (previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 7.5% durante 15 minutos).

Para la determinación de la colonización de HMA, longitud radical y peso fresco fueron recolectadas 4 plantas al azar por tratamiento en 4 fechas: 20, 40, 60 y 80 dde. Para evaluar la colonización HMA en raíz se fijaron en solución FAA y tiñeron con azul tripano para la observación microscópica (Anexo 2), y determinar longitud colonizada y longitud total de raíces con ayuda del método de las intersecciones de cuadrantes (Giovanetti y Mosse, 1980). También fue determinado el peso fresco y seco de raíz. En la parte aérea de las plantas 80 dde, se midió la altura (cm); peso seco (g); acumulación de P y de N por los métodos vanadato-molibdato y Kjeldhal, respectivamente (Chapman y Pratt, 1979).

Cuadro 4. Tratamientos del Experimento 2. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrizicos

Criollo	Suministro N-P kg ha ⁻¹	Híbrido	Suministro N-P kg ha ⁻¹
C-T1	0-0	H-T1	0-0
C-T2	80-240	H-T2	80-240
C-HH	80-80	H-HH	80-80
C-HH	80-120	H-HH	80-120
C-SFS	80-80	H-SFS	80-80
C-SFS	80-120	H-SFS	80-120

(C), Criollo, Pico de Gorrión. (H) Híbrido de alto rendimiento. (T1), Testigo negativo sin hongos ni fertilizante químico. (T2) Testigo positivo suelo estéril con 80 y 240 kg ha⁻¹ de urea y superfosfato simple respectivamente. (HH) Harina de Hueso (SFS), superfosfato simple

4.6 RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRÍZICOS-*Azospirillum*.

Finalmente para el tercer experimento se utilizó inoculó de *Azospirillum* y la mejor dosis del experimento anterior (80 kg P ha⁻¹) tanto de harina de hueso, como superfosfato simple de calcio, y observar su efecto en la colonización micorrízica arbuscular y la producción de biomasa.

Se utilizaron igualmente dos maíces, Criollo e Híbrido de alto rendimiento. El suelo de los testigos fue sometido, nuevamente a un tratamiento de eliminación de propágulos de HMA nativos, en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos, repitiendo esta operación tres veces con un día de descanso, permitiendo ventilación entre cada esterilización. Se obtuvo un extracto bacteriano, a partir de una mezcla 1:1 de suelo natural y agua destilada y esterilizada, filtrado por papel de poro semifino (Whatman No. 4), que sirvió como inóculo en los tratamientos "C-T1, C-T2, H-T1 y H-T2, que se prepararon tres semanas antes de la siembra. Se colocó suelo en macetas con capacidad para 1.5 kg, dos semanas antes de la siembra se regó el suelo hasta llevarlo al 60% de su capacidad de campo. Una semana antes de la siembra se aplicó, según el tratamiento, la cantidad de nutrimentos indicada en el Cuadro 5, pero para el caso de la urea se suministro sólo la mitad de ella y la otra mitad, 60 días después de la emergencia (dde) de las plántulas. Los tratamientos inoculados con *Azospirillum*, recibieron la cantidad de 10⁶ ufc/ml. El inóculo fue donado por la Universidad de Puebla. Con base en todo lo anterior, el diseño constó de 72 unidades experimentales, distribuidas en bloques al azar (Cuadro 5).

Para la siembra; se colocaron 5 semillas por maceta (previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 7.5% durante 15 minutos).

Para la determinación de la colonización de HMA, longitud radical y peso fresco fueron recolectadas 4 plantas al azar por tratamiento en 4 fechas: 20, 40, 60 y 80 dde. Para evaluar la colonización HMA en raíz se fijaron en

solución FAA y tiñeron con azul tripano para la observación microscópica (Anexo 1), y determinar longitud colonizada y longitud total de raíces con ayuda del método de las intersecciones de cuadrantes (Giovanetti y Mosse, 1980). Para observar la presencia de *Azospirillum* se utilizó el método de aislamiento a partir de raíces que consistió en un lavado, desinfectado, la siembra en el medio semisólido Nfb (Anexo 2) y finalmente observarlas al microscopio. También fue determinado el peso fresco y seco de raíz. En la parte aérea de las plantas 80 dde, se midió la altura (cm); peso seco (g); acumulación de P y de N por los métodos vanadato-molibdato y Kjeldhal, respectivamente (Chapman y Pratt, 1979).

Cuadro 5. Tratamientos del Experimento 3. Relación Harina de Hueso-Hongos Micorrízicos-Azospirillum.

Criollo	Suministro N-P	Híbrido	Suministro N-P
	kg ha ⁻¹		kg ha ⁻¹
C-T1	0-0	H-T1	0-0
C-T2	80-240	H-T2	80-240
C-HH-M-A	0-80	H-HH-M-A	0-80
C-SFS -M-A	0-80	H-SFS -M-A	0-80
C-A-M	0-0	H-A-M	0-0
C-A-M-U	80-0	H-A-M-U	80-0

(C) Criollo, pico de gorrión e (H) Híbrido de alto rendimiento, (T1) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (T2) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (HH) 80 kg ha⁻¹ de harina de hueso, (SFS) 80 kg ha⁻¹. de superfosfato simple (A) Inoculación con *Azospirillum*, (U) Urea y (M) Suelo micorrizado.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

A los resultados de cada experimento, se les realizó un ANOVA y prueba de comparaciones de medias (Prueba de Tukey), para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($P \leq 0.05$). También se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson por tratamiento y entre todas las variables determinadas. Para la realización de dicha prueba, se usó el software de análisis estadístico "SAS, 1987".

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 DESCRIPCIÓN DEL SUELO

El suelo presentó un *pH* de 4.9 en agua (Cuadro 6), muy ácido (Benton y Wolf, 1984). Los suelos de origen volcánico son de naturaleza ácida, pero el manejo que se utilizó, pudo acidificarlo aún más, es decir, el cultivo intensivo reemplazó bases cambiabiles (Ca, Mg, K y Na) por iones de H y Al (Fassbender y Bornemisza, 1987). También debe tenerse en cuenta, que la descomposición de materia orgánica produce 6 Andisoles y que durante esta, como produce ácidos carboxílicos y fenólicos desprendiendo iones hidronio (Foth, 1992). La reacción del suelo incide en la abundancia y composición de microorganismos del mismo; bajo *pH* ácido se limita la acción bacteriana y de la macroflora y se puede favorecer la reproducción de hongos, lo que da por resultado una menor eficiencia en mineralización y humificación con la consecuente acumulación de materia orgánica (Schnürer *et al.*, 1987). Por otro lado, un *pH* muy ácido aumenta el Aluminio intercambiable, lo que estabiliza los complejos órgano minerales produciéndose deficiencias de calcio, azufre y magnesio en los microorganismos, que conducen igualmente a la acumulación de carbono (Fassbender y Bornemisza, 1987).

Materia Orgánica. El porcentaje en este suelo fue de 7.2, lo que indica que se trata de un suelo extremadamente rico (Fassbender y Bornemisza, 1987). En los Andisoles húmicos, donde la MO es alta, los materiales amorfos (como los alófanos) fijan aniones, formando complejos con los ácidos orgánicos dificultándose su descomposición (Cajuste, 1977). De esta forma, aunque el suelo registre altos contenidos de MO, la disponibilidad de nutrimentos es baja, principalmente de N y P (Fassbender y Bornemisza, 1987).

Cuadro 6. Determinaciones químicas y físicas del suelo de Villa Victoria.

Propiedad	Valor
pH activo 1:2.5 H ₂ O	4.90
pH potencial 1:2.5 KCl	5.00
Materia orgánica (%)	7.20
Carbono orgánico (%)	4.90
Relación C:N	13.00
P total (%)	0.25
P asimilable (ppm) Bray I	0.51
Retención de P (%)	67.30
N total (%)	0.23
CIC (cmol+ kg ⁻¹)	30.00
Catión Na ⁺ (cmol+ kg ⁻¹)	7.91
Catión K ⁺ (cmol+ kg ⁻¹)	1.34
DR (g cm ⁻³)	2.05
DA (g cm ⁻³)	0.90
EP (%)	56.10
Capacidad de campo (%)	72.84
Textura	Franco-arenosa (12.8% arcilla, 55.6% arena y 31.6% limo)

Fósforo. El contenido de P total fue alto, 0.25%, (Fassbender y Bornemisza, 1987). Al respecto, es importante mencionar, que en los suelos ácidos, como los que corresponden a este estudio, el complejo de intercambio generalmente contienen apreciables cantidades de aluminio adsorbido y pequeñas pero significativas cantidades de Fe y Mn que, al combinarse con los fosfatos forman compuestos insolubles de Al, Fe y quizá Mn. Cuanto más ácido es el suelo, mayor es la cantidad de P retenido (Tisdale y Nelson, 1987). Los compuestos resultantes se precipitan en la solución del suelo o son adsorbidos en la superficie de los óxidos de Al y Fe o en alumino-silicatos amorfos como el alófano (Cepeda, 1991).

Estos compuestos se convierten, al precipitarse en fosfatos de estos metales los que, al ser de muy baja solubilidad retienen o fijan el fósforo del suelo. (Tisdale y Nelson, 1987). Las características físicas, químicas y mineralógicas antes expuestas de estos suelos, propician la elevada capacidad de retención de P (Etchevers *et al.*, 1995) y, consecuentemente, la baja concentración de P-disponible (CSTPA 1980). Este es el caso del suelo objeto de estudio, el cual

tuvo de capacidad de retención de fósforo de 67.30% y 0.51 ppm, respectivamente. Cruz-Flores *et al.* (1998) encontraron suelos muy deficientes en P-asimilable, en la misma zona de estudio.

Nitrógeno. El suelo utilizado fue extremadamente rico en N total, 0.23%, (Moreno, 1978), lo cual se debe al alto contenido de materia orgánica, ya que ésta contiene en promedio 5% de N y 58% de C (Cajuste, 1977). Tanaka (1980) señala que cuando este tipo de suelos se abren por primera vez al cultivo; la materia orgánica comienza a mineralizarse y a suministrar N a los cultivos, sin embargo, si la descomposición es lenta, las plantas no pueden aprovechar con rapidez las reservas de nutrimentos (Fassbender y Bornemisza, 1987), principalmente N y P.

Capacidad de Intercambio Catiónico. Por el valor obtenido (30 cmol⁺ kg⁻¹ suelo) se considera que este suelo tiene una alta CIC (Cottenie, 1980) debida al elevado contenido de materia orgánica y materiales amorfos. En estos, algunos sitios de intercambio se comportan como ácidos débiles. La capacidad de los Andisoles para impedir la lixiviación de los cationes es baja, esto ocasiona que dichos suelos sean, generalmente, de carácter ácido y que gran parte del K⁺ y el NH₄⁺ se pierdan por lixiviación (Tanaka, 1980). Sin embargo, éste suelo aún tiene una alta concentración de cationes Na⁺ y K⁺, 7.91 y 1.34 cmol⁺ kg⁻¹, respectivamente (Etchevers *et al.*, 1971). Posiblemente el Al³⁺ presente en cantidades apreciables, ya que se registró un pH (menor a 5.5) en el que está más disponible (Foth, 1992).

Densidad Real y Aparente. El valor detectado de DR (2.05 g cm⁻³), indica que se trata de un suelo humífero y carente de minerales opacos (Gaucher, 1971). Los altos contenidos de materia orgánica reducen el valor de la DA (0.90 g cm⁻³), se refleja en un elevado porcentaje de *espacio poroso* (56.1%) y

humedad retenida a *capacidad de campo* (72.84%), demostrando que es un suelo ligero, absorbente y con buena aireación (Foth, 1992). Una característica de los Andisoles es su DA menor de 1.0 (FAO, 1994).

Textura. Los contenidos de arcilla, arena y limo (12.8, 55.6 y 31.6%, respectivamente) ubican al suelo en la clase textura Franco-arenosa, la cual se considera moderadamente gruesa, congruente con el alto espacio poroso (56%), lo que, aunado a una textura granular, gran cantidad de poros pequeños y enorme superficie específica del alófono, indica que estas propiedades le dan al suelo, una capacidad favorable para captar y retener agua, como lo muestra su capacidad de campo (72.8%).

El contenido de arcilla puede afectar la concentración de P-asimilable, ya que al ser liberado de los minerales primarios, residuos vegetales y fertilizantes, se combina primariamente con la fracción de arcilla (Black, 1975). En los Andisoles, la presencia de alófono (aluminio-silicato no cristalino) se relaciona con la retención de aniones. Entre éstos están los fosfatos, especialmente cuando el pH del suelo tiende a ser ácido y, con ello, aumentan las cargas positivas en el sistema, presentándose una fuerte adsorción de aniones (Fassbender y Bornemisza, 1987). Como resultado el contenido de fósforo disponible en el suelo es bajo.

5.2. EFECTO DEL SUMINISTRO DE LAS FUENTES DE FÓSFORO EN SU LIBERACIÓN.

Los resultados obtenidos durante el monitoreo de P-asimilable con el suministro de SFS (Figura 2), indican la disminución paulatina en la concentración de P-disponible. Asimismo se observa una disminución de 7.57 mg kg⁻¹, a 5.2 mg kg⁻¹, para terminar en 4.92 mg kg⁻¹, valor que se

mostró estadísticamente igual, al resto de los tratamientos en la octava semana de incubación (Apéndice A-2). Este tratamiento, mostró una disminución importante de P-asimilable en las dos últimas semanas, lo que podría indicar que la mineralización de este fertilizante, se pierde por la rápida fijación de fósforo en los compuestos de origen volcánico (alofano). También a los óxidos de hierro y aluminio que caracterizan a estos suelos (Akanbi y Togun, 2002).o bien a la alta concentración del fertilizante que afecta la actividad de los microorganismos (Jayachandran *et al.*, 1992), siendo éstas las principales causas de la disminución del P-asimilable, a través del tiempo de incubación. La retención química resultó tanto mayor, como más soluble fue la fuente de P aplicado (Mullen, 1999).

Es posible ver en la Figura 3, los datos de P-asimilable en el suelo con la aplicación de HH; el comportamiento de esta fuente con el resto de los tratamientos, fue diferente; en la segunda semana mostró una concentración de 2.84 mg kg⁻¹, superando a la harina de pescado en este lapso e incluso en la cuarta semana donde la harina de hueso aumentó a 3.73 mg kg⁻¹, En este tiempo, para la sexta semana subió a 4.27 mg kg⁻¹ lo que corrobora lo escrito por (Allison ,1973), quien afirma que los materiales orgánicos en el suelo, son una fuente directa de nutrimentos (N, P y C) para las plantas, que constantemente se están liberando a través de reacciones de intercambio por descomposición y como elementos quelatados (Maldonado 1992). En la octava semana llegó a 4.80 mg kg⁻¹, y la concentración nunca mostró una disminución o un comportamiento constante, lo que hace suponer que la descomposición es lenta, pero al mismo tiempo es una fuente que al descomponerse, libera el fósforo mineralizado dentro de la solución del suelo.(Oehl *et al.* , 2001)

Esto indica que la materia orgánica en el proceso degradativo, aporta los nutrimentos que la componen, integran por lo que al adicionarse en cantidades suficientes, se tendrán más y mejores respuestas de los cultivos aún en condiciones limitantes, como es el caso de los suelos andisoles (Maldonado, 1992). Se ha observado que durante el proceso de descomposición de los materiales orgánicos, se forman sustancias como los ácidos húmicos que forman una superficie protectora alrededor de los óxidos e hidróxidos de aluminio, incapacitándolos para absorber fosfatos, es decir, que estas sustancias compiten con los fosfatos por los sitios de adsorción, reduciendo por lo tanto, la fijación de este elemento (Willson *et al.*, 2001).

En cuanto a la harina de pescado, durante la segunda y cuarta semana se mantuvo constante la concentración con (2.56-2.59 mg kg⁻¹) respectivamente, pero a la sexta semana aumentó a 4.0 mg kg⁻¹, lo que hace suponer que hasta entonces se llevo a cabo la descomposición de este material y por ende la liberación de fósforo. Se ha observado que la mineralización es apreciablemente retardada en suelos ácidos (Rodríguez, 1994), sin embargo a la octava semana se observó una ligera disminución a 3.7 mg kg⁻¹, la cual no es significativamente diferente

Los datos de P del tratamiento testigo (Figura 3), muestran que esta variable permaneció todo el tiempo por debajo de 2 mg kg⁻¹. Éstos fueron los valores más bajos de todo el experimento. Cabe recordar que el testigo, careció del suministro de una fuente externa de P; la liberación de dicho nutrimento, se debió a la mineralización de la materia orgánica propia del suelo.

Los resultados obtenidos en P-asimilable, indican baja concentración de éste en el suelo de todos los tratamientos (CSTPA, 1980). Sin embargo, destacaron las harinas con los valores que fueron en aumento, al pasar el

tiempo de incubación. La máxima concentración con el suministro de SFS (semana 2), fue estadísticamente diferente a los puntos más bajos de los tratamientos HH y HP (Apéndice A-2). Pero el suministro de SFS a la octava semana, es estadísticamente similar al de las HH y HP. Estos resultados indican que, el suministro de la fuente inorgánica libera menor cantidad de P al paso del tiempo, o bien que éste es rápidamente retenido, de tal forma que el suelo se comportó con una tendencia parecida a la del testigo (sin suministro de P), durante el tiempo de incubación (Eghball y Power, 1999).

Las fuentes de P que liberaron mayores cantidades de P-asimilable al suelo, fueron las harinas; HH fue numéricamente superior a HP, aunque no hubo diferencia estadística significativa (Apéndice A-2) hasta la octava semana. Esto podría deberse a que las harinas, además de ser una fuente de P, favorecieron el desarrollo de microorganismos, incrementándose la biomasa microbiana que también es una fuente de P importante, en suelos ácidos. Esta puede representar entre 2 y 5 % del P orgánico (Mullen, 1999). Además, los resultados obtenidos indican que las harinas podrían asegurar un mejor suministro de P, para el desarrollo de las plantas, ya que, por ser de liberación lenta, amortiguan la inmovilización y retención de P-asimilable, manteniendo un nivel superior al del tratamiento con suministro de SFS.

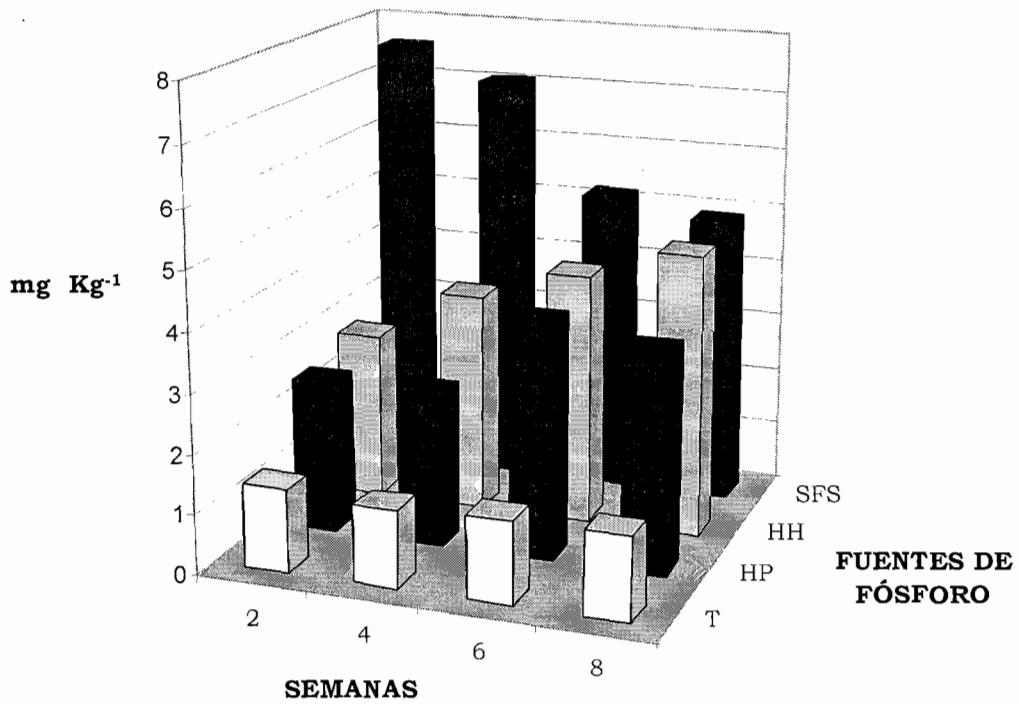


Figura 3. Mineralización de las fuentes de fósforo a las 2, 4, 6 y 8 semanas. T, testigo absoluto (sin fuente de P); HH, Harina de Hueso HP, Harina de Pescado y SFS Superfosfato Simple de Calcio.

5.3 RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS

En este experimento se evaluó el efecto de dos fuentes de fósforo: harina de hueso (HH) y superfosfato simple (SFS) en la colonización micorrízica total, acumulación de P, N, y producción de biomasa en dos genotipos de maíz (híbrido y criollo). La primera etapa, se llevó a cabo en el invernadero del Instituto de Geología, UNAM.

5.3.1. EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN LA COLONIZACIÓN MA

Las Figuras 4 muestran los resultados en abundancia micorrízica, obtenidos a lo largo de 80 días.

La colonización micorrízica observada a los 20 días, después de la emergencia (ddm) (Figura 4a) en maíz “Pico de Gorrión”, fue superior a la variedad “H-28”. Esto podría indicar que el maíz criollo “Pico de Gorrión”, es ligeramente más micotrófico que el Híbrido H-28, y permitió una rápida colonización (Sieverding, 1991). Los resultados mostraron que los tratamientos más intensamente colonizados, fueron Criollo HH—80 e Híbrido HH-80 (66 y 63 %) respectivamente, lo que indica que el bajo suministro de fósforo, favorece la colonización micorrízica (Vladimir Karandashov *et al.*, 2004)

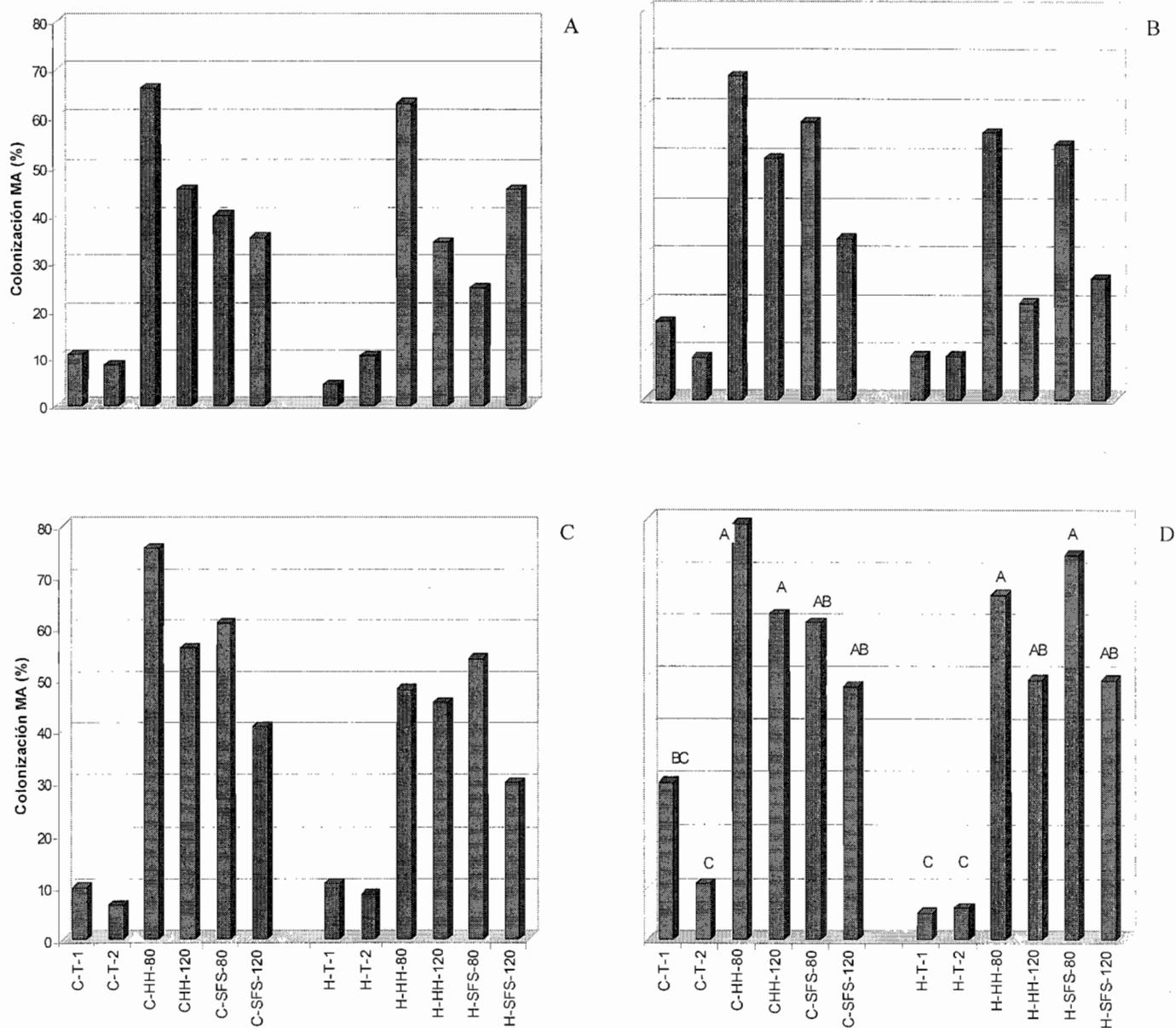


Figura 4. Colonización (%) en raíz a los 20 (A), 40 (B), 60 (C) y 80 (D) días. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

A los 40 dde (Figura 4b), los resultados mostraron que el maíz criollo siguió incrementando su porcentaje de colonización con respecto a el híbrido. La intensidad de colonización, se vio favorecida en los tratamientos criollo HH—80 , HH-120 y SFS-80 (66.33, 49,66 y 57 %).respectivamente.

Los resultados obtenidos a los 60 dde (Figura 4c), mostraron que la colonización MA en la variedad de maíz criollo, sigue incrementándose en los tratamientos con la fuente orgánica de fósforo en sus dos dosis. El maíz híbrido obtuvo un porcentaje de 48.8%, 45.33 y 54%, en los tratamientos H-HH-80, H-HH-120 y H-SPS-80 respectivamente, que en relación con la variedad criolla, también es un alto porcentaje cuando se aplica la fuente de fósforo orgánica.

El comportamiento de la colonización MA en la variedad criolla es importante, ya que esta aumenta conforme pasan los días. Sin embargo en la variedad híbrido el comportamiento por tratamiento fue muy variable, durante los primeros 60 dde. Esto podría deberse a la actividad fisiológica de la raíz, que pudo haber influenciado el establecimiento y desarrollo de la colonización; también fue posible la competencia entre HMA. Se ha observado que algunas raíces, llegan a ser colonizadas por varios morfotipos de hongo, produciendo una exclusión espacial y la disminución en la intensidad de colonización (Jacquot-Plumey *et al.*, 2001). Otra causa de dicho comportamiento, sería que el método de recolección de la raíz, impide pérdidas de material. Los datos de intensidad de colonización, podrían verse afectados al no obtener la raíz completa, sobretodo porque el HMA prefiere colonizar las raíces más jóvenes o periféricas (Harrison, 1997).

Los testigos tal como se esperaba, registraron porcentajes de colonización bajos con respecto al resto de los tratamientos, aunque se esperaba una nula colonización debido a la fumigación a que fue sometido el suelo (Materiales y Métodos). Sin embargo, se encontraron esporas de los géneros *Glomus*, *Gigaspora* y *Scutellospora*, que por la cercanía de las macetas, pudieron colonizar los tratamientos fumigados.

La Figura 4d, representa la colonización micorrízica obtenida a los 80 dde (cosecha). Los análisis estadísticos realizados a estos resultados, apoyan lo que se observó en fechas anteriores: la colonización depende de la condición del suelo. Se registraron diferencias estadísticas significativas entre suelo pasteurizado y natural (promedios de 29.66 y 79.00 %, respectivamente). La colonización en el maíz criollo, fue mayor que en el híbrido. Quintero-Ramos *et al.*,. (1993) encontraron una respuesta similar entre variedades de maíz.

5.3.2. EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN EL DESARROLLO RADICAL

La longitud total de la raíz se midió en cuatro fechas. Los resultados obtenidos en longitud de raíz, muestran un decremento de 40 dde a 60 dde.. Esto podría atribuirse al método de recolección, que limitó la obtención de una muestra de raíz completa; por ello, probablemente se incrementaron considerablemente los valores a 80 dde. Debido al problema en la recolección, en la Figura 5 se presentan sólo los resultados de la cosecha.

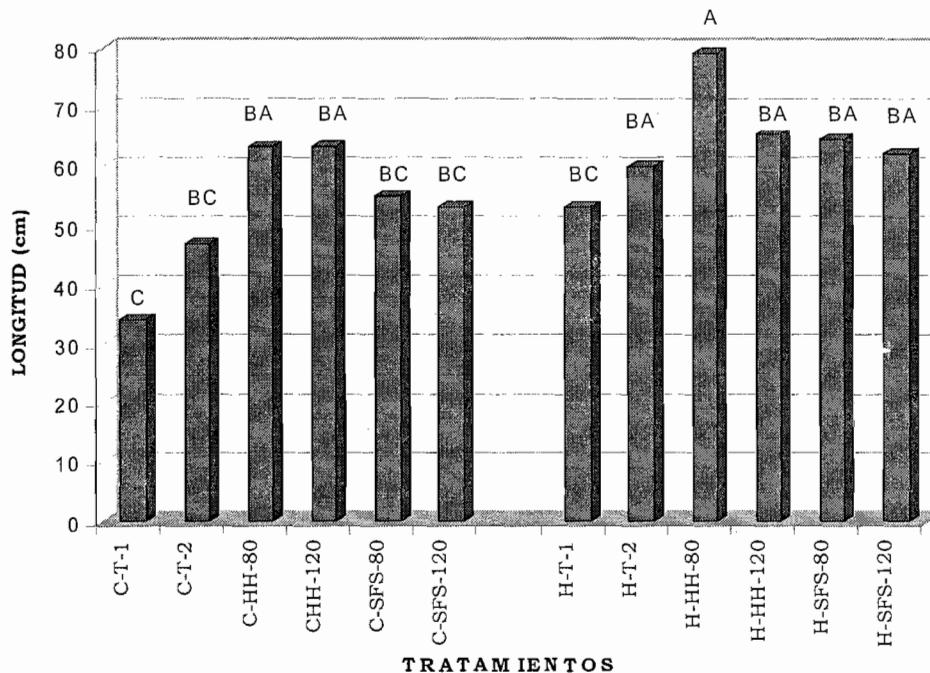


Figura 5. Longitud radical total (cm 1.5 kg⁻¹ suelo) a los 80 días. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

La longitud total de la raíz, fue estadísticamente igual entre variedades de maíz. La mayor longitud se tuvo en los tratamientos “H-HH-80, H-HH-120, C-HH-80 y C-HH-120, los cuales tienen en común harina de hueso como fuente

de fósforo y entre ellos estadísticamente son iguales, pero diferentes a los dos testigos de ambas variedades (Apéndice B-2). Existió correlación entre la longitud total de la raíz y el porcentaje de colonización MA (Apéndice B-1), lo que sugiere que la presencia del HMA, influyó en el desarrollo lineal de la raíz. (Burleigh *et al.*, 2002).

En contraste, las longitudes radicales menores se registraron en los tratamientos C-T-1 y H-T-1. Esto pudo ser reflejo del mecanismo de evasión de las plantas, ante la deficiencia de P, favoreciendo el alargamiento de las raíces para aumentar el área de absorción radical. Obviamente esta propiedad depende del genotipo de cada planta (Marschner, 1995). Estos resultados sugieren que la harina de hueso es una buena fuente de P, ya que la planta no recurrió al empleo de energía, para el desarrollo de raíces y búsqueda de nutrimentos.

La Figura 6 muestra los resultados de biomasa de raíz, obtenidos a los 80 dde. La variedad de maíz no influyó en este parámetro, los testigos negativos y positivos en ambas variedades presentaron valores estadísticamente diferentes, a los de la fuente de harina de hueso (3.14, 3.96, 3.58 y 3.90). De igual manera, la colonización MA fue menor en ambos testigos (Figura 4), lo que podría indicar que la biomasa fue influenciada por el desarrollo micorrízico. Shatnawi y Makhadmeh (2001)

Los tratamientos que registraron mayores valores de biomasa radical, correspondieron a aquellos con suministro de harina de hueso en la menor dosis 80 kg y son estadísticamente diferentes a los de menor valor. La aplicación de la fuente inorgánica limitó el desarrollo de la raíz, pero no su eficiencia para producir la misma biomasa, en la parte aérea de la planta (PAP), que el resto de los tratamientos (Figura 10).

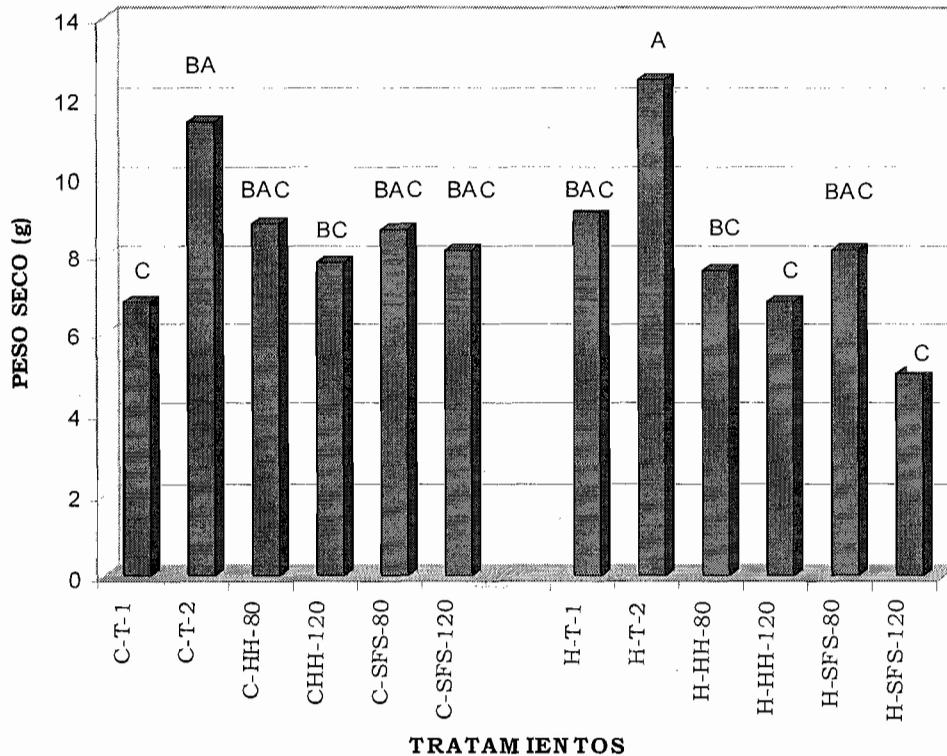


Figura 6. Biomasa radical seca (g 1.5 kg⁻¹ suelo). **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos en esta investigación, indican que las raíces del maíz híbrido y criollo crecen y se desarrollan mejor con harina de hueso, en ambas dosis, y que el aporte de fuentes inorgánicas, inhibe el desarrollo radical y micorrizico.

5.3.3. EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN LA ACUMULACIÓN DE P

Los resultados obtenidos demostraron que la acumulación de fósforo (Figura 7), pudo ser afectada por la condición del suelo; las plantas cultivadas en suelo esterilizado presentó $2.50 \text{ cmol kg}^{-1}$ y las de suelo natural, y $9.70 \text{ cmol kg}^{-1}$ en parte aérea de la planta con diferencias estadísticas significativas. La mayor acumulación en las primeras, podría atribuirse al tratamiento de pasteurización, el calor pudo liberar fosfatos retenidos en arcillas o compuestos orgánicos. Sin embargo, Joner (2000) no encontró que esto afectara significativamente la concentración de P extractable en el suelo.

Considerando las variedades, en la acumulación de P también hubo diferencias; el maíz criollo obtuvo valores estadísticamente superiores a los del híbrido, 9.70 y $6.30 \text{ cmol Kg}^{-1}$, respectivamente. Estos datos podrían indicar que el maíz criollo fue más eficiente en la absorción de fósforo (Figura 7), lo que se logró observar además, en la altura de la planta (Figuras 10).

La acumulación de P detectada con (SFS), fueron estadísticamente diferentes con respecto a la fuente natural (Apéndice B-4). Posiblemente, la disminución en la concentración de P en el suelo, se debió a una rápida fijación del fósforo al suelo (J.R. White y K.R.Reddy, 2000)

El tratamiento de maíz criollo con HH-80, fue el que registró la mayor acumulación de P (Figura 7), significativamente superior al resto de los tratamientos de la misma variedad (Apéndice B-4). El segundo lugar lo obtuvo el tratamiento HH-120, posteriormente los tratamientos con la fuente inorgánica y al final ambos testigos. Podría pensarse que dicha acumulación se debió a la asociación micorrízica y a la capacidad de la planta para absorber nutrimentos, que libera la constante mineralización de esta harina

de hueso, siendo la fuente que durante dicha mineralización emitió mayor cantidad de P-asimilable, que el resto de los tratamientos.

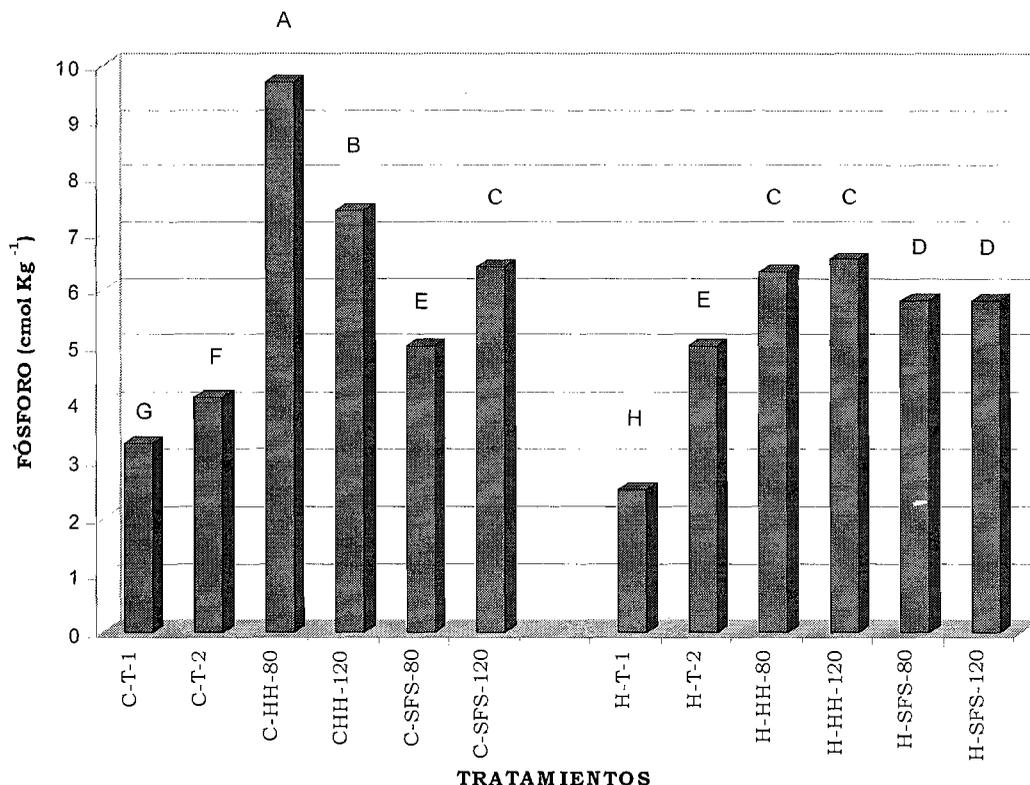


Figura 7. Acumulación de fósforo (cmol kg⁻¹) en parte aérea. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Las acumulaciones de P registradas en las plantas de los tratamientos SFS-80 y SFS-120, pudieron deberse a la baja concentración en el suelo o a la inmovilización biológica y retención química. El suministro de estos materiales pudo favorecer la colonización micorrízica (Figura 4d), lo que podría indicar una posible competencia por P, entre las plantas y HMA. También pudo deberse a que los HMA nativos, no fueron suficientemente efectivos. Aunque Solaiman y Saito (2001), encontraron que la cantidad de P

retenido por las células de HMA, no cambió en un lapso de 20 días (antes de la floración), en cambio, la masa fúngica se duplicó en el mismo periodo. Es decir, la pobreza de P en el tejido vegetal y la abundante colonización MA, no se deben a la “codicia” del hongo; las células de éste también podrían ser pobres en P, y aún así, desarrollarse para lograr una mayor colonización. Hubo alta correlación entre acumulación de P y colonización MA, en todos los tratamientos del maíz criollo.

Aunque las plantas del tratamiento SFS-120 y HH-120 tuvieron la mayor cantidad de fósforo aplicado, no son las que muestran la mayor acumulación de P y su vigor o apariencia física no fue mejor que la de los tratamientos con baja dosis.

Independientemente del tratamiento aplicado, ninguna de las plantas obtuvo acumulaciones que alcanzaran el grado de “suficiente”; todas fueron “bajas” en P (Benton *et al.*, 1991). Esto podría ser el resultado de la alta retención química del suelo, inmovilización biológica, o a la ineficiencia de los HMA nativos. Portilla y colaboradores (1998), encontraron que en suelos de pH ácido, sólo entre 8 y 10% de la fertilización fosfatada fue utilizada. El resto fue rápidamente inmovilizado. Posiblemente, a esto se debe que las cosechas de maíz en la zona sean, aproximadamente de 1.5 ton ha⁻¹ (Agro-Red, 2002). También podría deberse a un desequilibrio en la relación N:P. Cuando las acumulaciones de N son mucho mayores que las de P, se favorece el crecimiento vegetativo, pero se retrasa la floración y fructificación (PPI, 1997). Así, cuando las plantas están desarrollando el jilote o elote, se inician las heladas, un factor más que limita el desarrollo de mazorcas, afectando los rendimientos.

Los resultados obtenidos en maíz híbrido, sugieren que dicha variedad también sobresale en el tratamiento con HH-80 y HH-120, lo que tal vez se vio favorecido, por que estos tratamientos tuvieron un considerable porcentaje de colonización (66.33%). La comparación entre testigos “T-1” y “T-2”, indicó mayor acumulación en el segundo, que en el primero. Considerando que la única diferencia entre ellos fue la cantidad de fertilizante químico Solaiman y Saito (2001), mencionan que en suelos pobres, puede haber competencia entre planta y HMA por P-asimilable y que la carencia de P induce a las plantas a modificar la rizósfera durante su crecimiento, mediante la absorción de iones, producción de exudados, la rizodeposición (pérdidas de carbono de la raíz) y cambios en la acidez o alcalinidad (Burleigh *et al.*, 2002), de tal forma que las plantas del resto de los tratamientos pudieron haber absorbido mayor fósforo que ambos testigos.

5.3.4. EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN LA ACUMULACIÓN DE NITROGENO

La acumulación de N fue más diferente estadísticamente en plantas cultivadas en suelo natural (Figura 8), que en pasteurizado, 200 y 193.33 cmol kg^{-1} en la parte aérea de la planta de los tratamientos H-HH-80 y H-HH-120, respectivamente. Esto se debió posiblemente, a dos causas: (1) que el proceso de mineralización de la fuente orgánica, favoreció la liberación de N-disponible, y (2) a que estos suelos son ricos en materia orgánica y también en nitrógeno. Sin embargo, Joner (2000) encontró un comportamiento diferente cuando pasteurizó el suelo a 90°C.

El promedio de la acumulación de nitrógeno, obtenido en el maíz cultivado en suelo pasteurizado, fue de 160 cmol kg^{-1} en los tratamientos T1 y T2 en ambas variedades, sin diferencia estadística entre ambas. Estos resultados

podrían indicar que en T1, al no tener fósforo ni de forma orgánica ni artificial, afectó la absorción de nitrógeno. Al respecto, Magalhaes y colaboradores (2000) indican una situación similar, en la que plantas de maíz redujeron un 45% la absorción de amonio, después de estar dos días bajo estrés de P. Esto también pudo haber ocurrido en este tratamiento, ya que la concentración de fósforo en el testigo 1, fue baja. Sin embargo, el valor de nitrógeno se clasifica en el grado de “suficiente”, (Benton *et al.*, 1991).

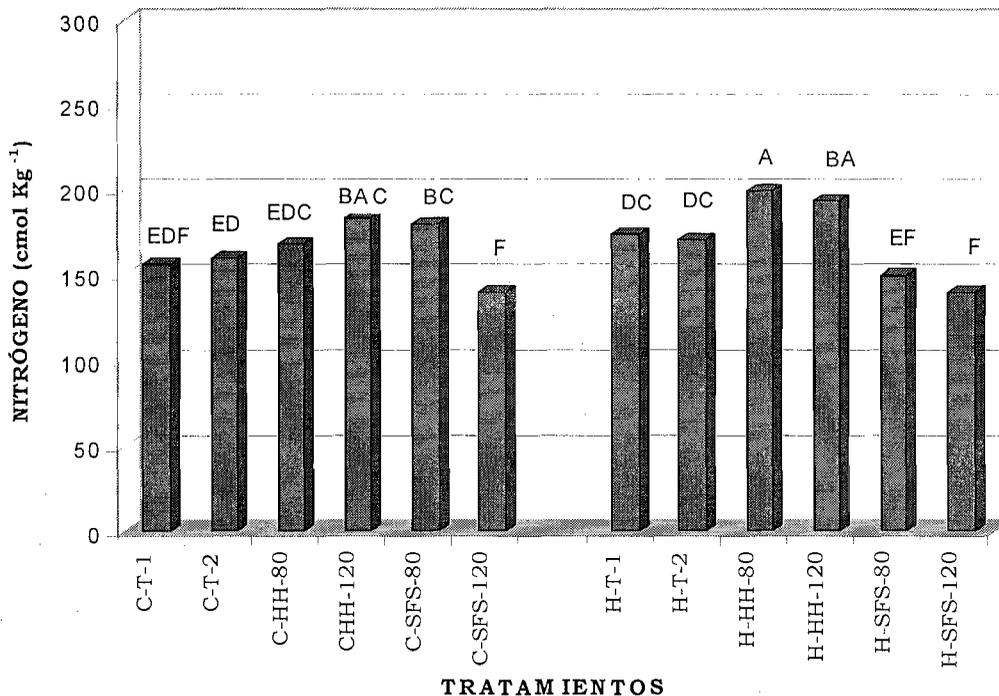


Figura 8. Acumulación de N (cmol kg⁻¹) en parte aérea. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.05).

El maíz criollo registró altas acumulaciones de nitrógeno (Benton *et al.*, 1991) en el tratamiento de HH-120, debidas posiblemente, por que el suelo es extremadamente rico en N total (0.40 %), la fuente de fertilización es orgánica

y además, se aplicaron dosis equivalentes a 80 kg N ha⁻¹. Además las plantas estaban a unos días la floración, un periodo de máxima demanda de nutrimentos.

Los tratamientos de maíz híbrido con suministro de HH-80 y HH-120, obtuvieron acumulaciones estadísticamente similares (Figura 8) y con los valores más altos. En ambos tratamientos, hubo presencia de harina de hueso por lo que este comportamiento se atribuye a la mineralización donde se liberó N-asimilable también la solubilización de urea, debió haber participado así como la descomposición de materia orgánica, del suelo. La formación de micorrizas posiblemente también influyó, tanto por absorber N, como por inducir cambios en la composición mineral del suelo y en la fisiología de las plantas, de tal manera, que su exudación radical (Azcón-Aguilar y Barea, 1996) pudo favorecer la nutrición de la planta.

Por otra parte, el maíz criolla, la mayor acumulación de N se obtuvo con el tratamiento HH-120. Dicho resultado podría indicar, que la planta respondió bien a la fertilización orgánica. Posiblemente esto se debió, a que el suministro de N favoreció la disponibilidad de P en el suelo (PPI, 1997), es decir, una mejor relación N:P. Azaizeh *et al.*, (1995) encontraron que el suministro adecuado de N, favoreció la absorción de P en plantas de maíz. De ahí que este tratamiento, fue el más alto en acumulación de P. Hubo correlación, aunque no fue significativa, entre ambas variedades (Apéndice B-5).

Asimismo, en las plantas con suministro de harina de hueso en dosis de 120, se detectó una alta acumulación de N, lo que podría indicar una óptima mineralización de estas harinas y, por tanto, una mayor liberación de N-disponible. Estos tratamientos no registraron alta colonización MA (Figura

4d), pero no fueron estadísticamente diferentes al el tratamiento HH- 80 del valor más alto. Igualmente, Alvarez-Solís y colaboradores (2000) encontraron alta correlación entre los contenidos de N en maíz (raza Olotón) y la intensidad de la colonización MA, en suelos ácidos. Los resultados de esta investigación, podrían sugerir que los HMA intervinieron directa o indirectamente en la acumulación de N. En el primer caso, Hodge (2000) encontró que el hongo fue capaz de aprovechar directamente las fuentes de N orgánico, sin previa mineralización microbiana. En el segundo, Joner (2000) y Azcón-Aguilar & Barea (1996), observaron que el hongo contribuyó a mejorar la absorción de N por parte de la planta, al modificar la respuesta fisiológica de la raíz.

Las plantas del tratamiento SFS-120 de ambas variedades, registraron los valores más bajos en acumulación de N, pese a que la dosis fue la misma para todos los tratamientos. Esto podría deberse al desequilibrio nutrimental; Cruz-Flores *et al.*, (1998) reportaron que la mala nutrición de N, no favorece el desarrollo radicular, ni la absorción de P en triticale.

En general, las altas acumulaciones de N en el maíz criollo e híbrido se obtuvieron en plantas que, fueron fertilizadas con la fuente orgánica de fósforo. Esto pudo ser el resultado de: (1) el efecto de la micorriza sobre la nutrición de las plantas; (2) la producción hormonal de la planta y (3) la estimulación de la actividad nitrogenasa (Burleigh *et al.*, 2002).

5.3.5 EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA SECA

La Figura 9, muestra los datos de biomasa seca obtenidos en la parte aérea de la planta. En general, se observaron valores semejantes en ambas variedades. El tratamiento que sobresalió, fue el testigo 2 con 11.40 g en la variedad criolla y 12.50 g en el híbrido, sin diferencia entre ambas.

Respecto a la variedad criolla, la mayor biomasa se obtuvo con la aplicación de 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea (T2), superiores al testigo "T-1" (Figura 9) y estadísticamente diferente. Esto podría deberse a que el suministro de fósforo, favoreció el crecimiento de la planta. Por otro lado, los tratamientos HH-80 y SFS-80 presentaron valores de 8.83 y 8.66g respectivamente, siendo estadísticamente iguales al testigo 2 (Apéndice B-6) esto permite suponer que la harina de hueso, no sólo añadió al suelo compuestos nutritivos provenientes de las actividades de descomposición y mineralización (Figura 3), por lo que el aporte constante, permitió el mejor desarrollo de las plantas. De manera similar, Joner (2000) encontró un mayor crecimiento en la parte aérea de la planta de trébol, cultivado en suelo con desperdicios de corral, con aquellas plantas cultivadas con fertilización mineral, aplicándose las mismas dosis de P. Asimismo Eghball y Power (1999), reportaron que con la aplicación de desperdicios naturales se incrementó el rendimiento de maíz, si se compara con el testigo.

El suministro de SFS, produjo una biomasa estadísticamente igual a la de la harina de hueso. Estos resultados sugieren que el mejor desarrollo del maíz, no dependió de la fuente de fósforo ni de la cantidad de nutrientes fosfatados o nitrogenados aplicados, sino de las características biológicas del suelo; es decir, de la actividad microbiana que asegura la mineralización de

la materia orgánica y la liberación de nutrientes. Lo anterior permite la opción de sustituir las fuentes inorgánicas por fuentes orgánicas, que además de ser costosas afectan las propiedades del suelo, y los rendimientos a corto y largo plazo son incomparables (FAO, 1994).

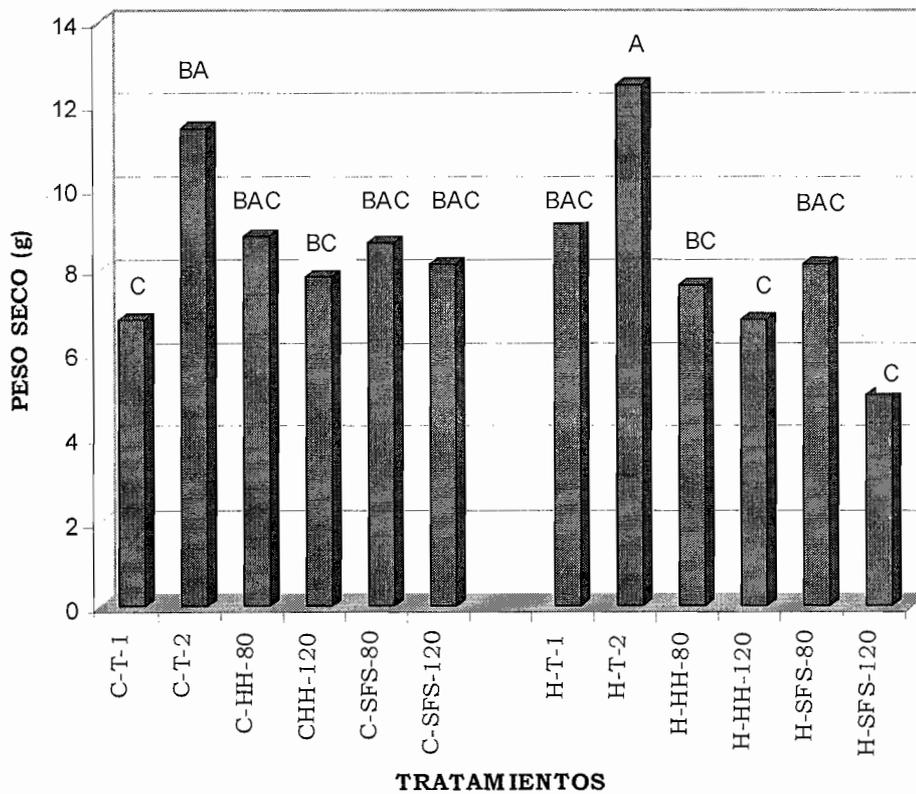


Figura 9. Biomasa seca de la parte aérea (g 1.5 kg⁻¹ suelo). **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Considerando sólo la variedad híbrida, se observó que el suministro superfosfato simple en 240 kg ha⁻¹ y 80 kg ha⁻¹ de urea, fue uno de los tratamientos con mayor biomasa. El siguiente lugar, lo ocuparon, sin diferencia estadística, los tratamientos T-1, SFS-80 y HH-80 (Apéndice B-6). El mismo comportamiento se observó en acumulación de N (Figura 8), lo que podría indicar que el adecuado suministro de N, favoreció la utilización de hidratos de carbono y aumentó la síntesis de proteínas, en las plantas (PPI, 1997). Estos resultados confirman los datos de las propiedades químicas del suelo, en lo relativo a su riqueza en materia orgánica y N (Cuadro 2).

En los tratamientos con suministro de una fuente de P, se encontró correlación entre la biomasa seca de la parte aérea de la planta y su colonización MA (Apéndice B-1), lo que podría indicar la posible influencia del hongo, en la producción de biomasa; sin embargo, los resultados obtenidos en el testigo T-1, no apoyan esta tesis, ya que aún carente de HMA, obtuvo la mayor biomasa seca. Aunque su apariencia física no fue la de una planta robusta, su tallo era delgado y quebradizo.

Entre variedades, se observó que el maíz criollo respondió mejor a los tratamientos de HH-80 y HH-120. Dado que todos los tratamientos, excepto los testigos, tuvieron las mismas dosis de nutrimentos, el mismo tipo de suelo, y los mismos factores ambientales, podría inferirse que dicho comportamiento se debió a los microorganismos introducidos por la harina y a la respuesta de las plantas hacia la actividad de ellos. Obsérvese que, en el maíz criollo, la respuesta en producción de biomasa fue estadísticamente superior en el tratamiento HH-80, lo que podría indicar que esta variedad está más adaptada que el híbrido, al tipo de suelo, a la harina y a sus respectivos microorganismos.

5.3.6 EFECTO DE LA HARINA DE HUESO EN LA PRODUCCIÓN
ALTURA DE LA PARTE AEREA

La Figura 10, muestra la altura promedio de la parte aérea de la planta a los 80 dde. En el testigo 1 en ambas variedades se registró la altura, menor 72.16 cm. en el maíz criollo y 86.16 cm. en maíz híbrido, sin diferencia estadística entre ellos (Apéndice B-7).

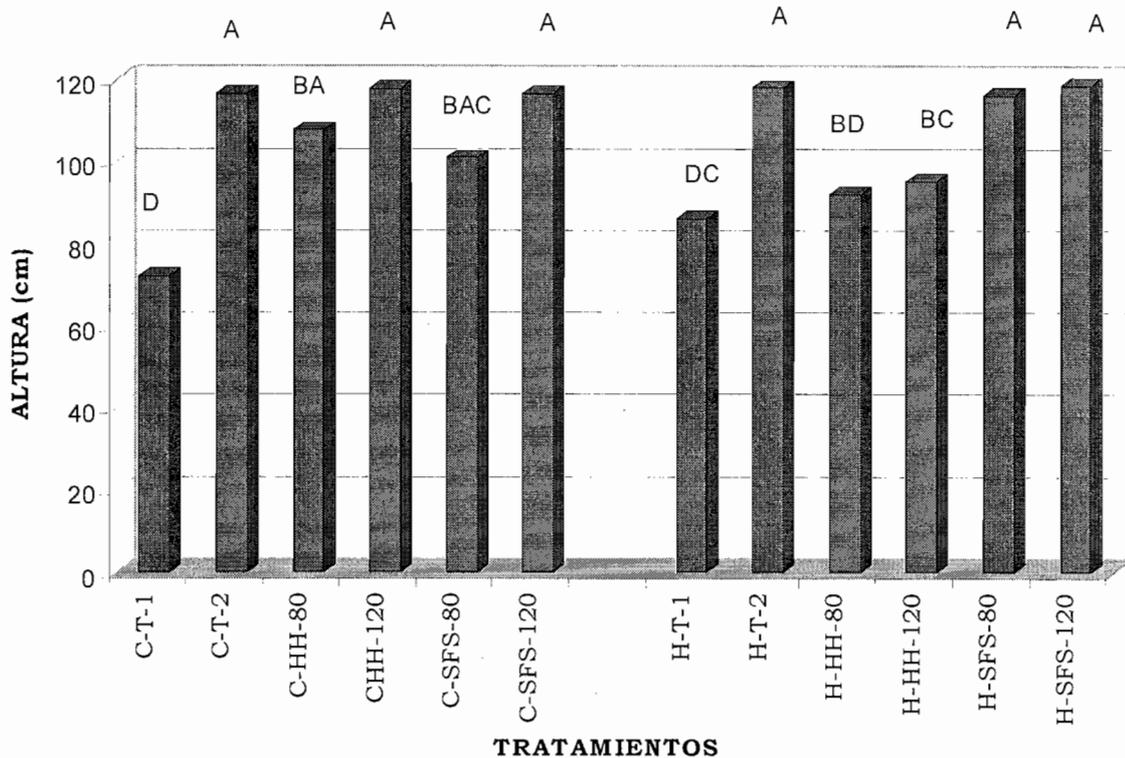


Figura 10. Altura (cm 1.5 kg⁻¹ suelo) de las plantas a los 80 días (**T1**) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (**T2**) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (**HH**) Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, (**SFS**) 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.05).

La mayor altura, se registró en plantas híbridas en los tratamientos SFS-120 y T-2 (118.66 y 118.16 cm) respectivamente, con diferencia estadística en los tratamientos HH-80 y HH-120, lo que permitió observar que en este parámetro y en esta variedad, el efecto del fósforo inorgánico favoreció el desarrollo de las plantas.

En el maíz criollo, los valores fueron estadísticamente iguales, lo cual define el beneficio al comparar fuentes orgánicas en vez de inorgánicas. Lo más importante de los resultados, es la colonización de las plantas con hongos micorrízicos, lo que no sólo favorece el crecimiento, sino también influye en las propiedades del suelo proporcionando una mejor estructura, aireación y retención de agua, que aumenta al mismo tiempo tanto la actividad de los microorganismos, y la disponibilidad gradual de los nutrimentos para las plantas, (Andraki y Bandy, 2003)

Al comparar la altura de la planta entre ambos tipos de maíz se observa que (Figura 10) el maíz criollo tiene comportamientos similares entre los tratamientos, y que en el híbrido se observa diferencia al recibir la fuente orgánica de fósforo. Aún cuando el híbrido también fue colonizado, por microorganismos, por que tal vez el suelo no favoreció su adaptación y crecimiento óptimo, lo que se observa en las plantas por sus tallos delgados y frágiles.

5.4 EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum*

Para determinar el efecto de la mejor dosis de fósforo, tanto orgánica como inorgánica (80 kg ha^{-1}), así como el efecto de un segundo simbionte que es la bacteria *Azospirillum*, en el desarrollo del maíz y el establecimiento de la micorriza arbuscular, se utilizó el mismo diseño experimental por bloques al azar y se determinaron los mismos parámetros en maíz híbrido-28 y criollo “pico de gorrión”.

5.4.1. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum* EN LA ACUMULACIÓN DE FÓSFORO

La Figura 11 muestra los datos de la acumulación de P, en la parte aérea de las plantas a los 80 ddm. Esta variable fue estadísticamente diferente entre los testigos-1 y 2 de ambos tipos de maíz (Apéndice C-1), siendo mayor en la maíz criolla $2.50 \text{ cmol kg}^{-1}$ para el testigo y en el testigo 2, fue mayor en el híbrido $3.20 \text{ cmol kg}^{-1}$. También hubo diferencia significativa entre los tratamientos C-HH-M-A y C-SFS-M-A, de maíz criollo e híbrido, (7.30 y $5.83 \text{ cmol kg}^{-1}$) respectivamente, siendo mayor en el tratamiento C-HH-M-A

La acumulación de P en plantas con suministro de harina de hueso, fue significativamente mayor a la obtenida con SFS (Apéndice C-1). Estos resultados confirman lo observado en el Experimento 1. Las fuentes orgánicas incrementaron la concentración de P en la solución del suelo, a través de su constante mineralización y liberación; de tal forma, que se incrementó la acumulación en la parte aérea (Oehl *et al.*, 2001). Igualmente, Dimas López-Mtz y colaboradores (2001), encontraron que la acumulación de

P en tratamientos con abonos orgánicos, fue mayor o similar a la obtenida con el suministro de fertilizantes, con el beneficio de agregar materia orgánica y micronutrientes al suelo.

En los tratamientos C-A-M y C-A-M-U, se registró una acumulación de fósforo de 3.40 y 4.10 cmol kg respectivamente, en el maíz criolla con diferencia estadística, sin embargo los valores son inferiores, a los que se obtuvieron cuando se aplicó, harina de hueso. Cabe comparar estos tratamientos, ya que se tuvo mayor concentración cuando se utilizó urea y la bacteria *Azospirillum*, lo cual pudo haber contribuido a tener mejor asimilación de fósforo.

En los tratamientos H-HH-M-A y H-SFS-M-A hubo diferencia estadística, siendo mayor en el tratamiento con harina de hueso 5.83 cmol kg. Para el caso de los tratamientos H-A-M y H-A-M-U, también hubo diferencia entre ellos siendo mayor en esta variedad cuando no se aplicó urea 5.03 cmol kg. Los tratamientos con igual diferencia en ambos tipos de maíz, son aquellos donde se utilizó superfosfato simple y urea, lo cual podría sugerir que la cantidad de P liberado en la aplicación de urea, o la retención química e inmovilización biológica, dejaron concentraciones similares de P-disponible en la solución del suelo. Es decir, si uno u otro liberó más P, de todos modos el suelo lo retuvo, de tal forma que la planta llegó a concentraciones muy similares. Esto podría indicar una capacidad limitada del suelo, para mineralizar y liberar P inorgánico (Atlas y Bartha, 1998). El suministro de harina de hueso tal vez significa un ahorro, ya que la acumulación de P fue mayor en ambas variedades y experimentos.

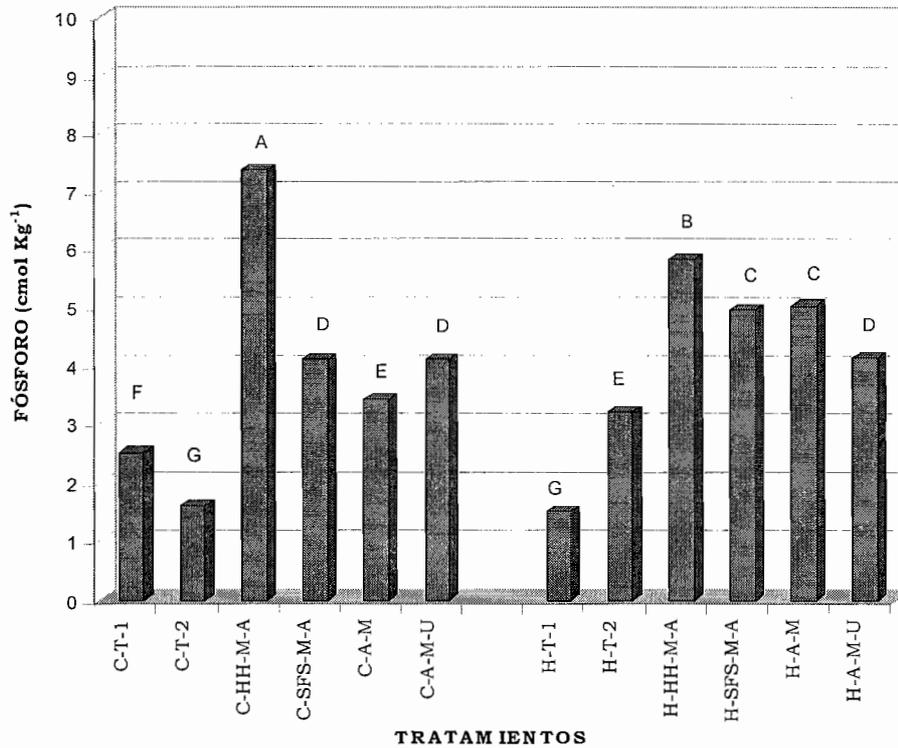


Figura 11. Acumulación de fósforo (cmol kg⁻¹) en parte aérea..(T1) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (T2) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (HH) Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, (SFS) 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

5.4.2. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum* EN LA ACUMULACIÓN DE NITRÓGENO

La acumulación de N obtenida con los tratamientos CT2 y C-HH-M-A fue significativamente la más alta (283.33 y 280.0 cmol kg^{-1} , respectivamente); el segundo lugar lo ocuparon, con diferencia estadística, las plantas de los tratamientos C-A-M-U y H-T2. En los testigos 1 y en el tratamiento SFS-M-A de ambos tipos de maíz, se presentaron las concentraciones más bajas sin diferencia estadística entre ellos.

Los resultados de esta investigación, no mostraron diferencias importantes entre los testigos 1 y el tratamiento con SFS y microorganismos en el maíz híbrido. Esto podría indicar que las fuentes de P, no intervinieron en la acumulación de N. (Figura 12)

Es importante señalar que el tratamiento C-HH-M-A, permitió una mayor acumulación de N (280 cmol kg^{-1}), posiblemente debido a la mineralización de la harina de hueso, dando lugar a una mayor liberación y conservación como iones amonio (NH_4^+), en el complejo de intercambio del suelo. La cantidad de N orgánico mineralizado durante los periodos de cultivo, aportó una mayor cantidad del requerido por las plantas (Eghball, 2000). Los resultados de esta investigación, al igual que los de Joner (2000) y Eghball & Power (1999), mostraron que la aplicación de fuentes naturales, es igual a la fertilización inorgánica en cuanto a la acumulación de N y P (Figuras 11 y 12). Posiblemente este comportamiento se debe, a que el suministro de compostas incrementó la concentración de P-asimilable y de K en el suelo (Douds Jr. *et al.*, 1997). Asimismo, estimuló el crecimiento hifal, favoreciendo la absorción de N y P por los HMA (Ravnoskov *et al.*, 1999), que incrementaron la acumulación en las plantas.

El resto de los demás tratamientos, no mostró diferencias estadísticas entre ellos: esto no es raro, ya que todos los tratamientos recibieron una dosis equivalente a 160 kg N ha^{-1} .

Se detectó una amplia diferencia, entre las acumulaciones obtenidas con CT2 y C-HH-M-A y con H-SFS-M-A y HT1. Esto reflejó la falta de N, de CT1 y HT1 aplicada en el momento de la siembra. Sin embargo todos los tratamientos presentaron concentraciones de nitrógeno, lo que se debe a las características del suelo en su alto porcentaje de materia orgánica y por ende, de nitrógeno.

En los tratamientos C-HH-M-A, C-A-M, H-HH-M-A y H-A-M, favoreció la acumulación de N. Eghball y Power (1999), reportaron resultados similares a éstos. También pudo influir la naturaleza de los materiales orgánicos, con producción de humus poco evolucionado, cuya mineralización es rápida (Cepeda, 1991). Esto se observó desde el experimento de Mineralización, e indicó una mayor liberación de N-asimilable en el suelo y, por ende, favoreció la absorción y acumulación en PAP. Al respecto, Eghball (2000) encontró que la tasa de mineralización de N en las compostas de estiércol, fue de 12, 12 y 8% para el primero, segundo y tercer año, respectivamente.

Hawkins *et al.*, (2000) y Ravnoskov *et al.*, (1999), observaron separadamente, que los HMA ayudan a la planta en la adquisición de N, tanto de fuentes orgánicas como inorgánicas. Los resultados de esta investigación, al igual que los de Alvarez-Solís *et al.*, (2000), mostraron que los tratamientos con composta, tuvieron altos índices de correlación estadística entre la acumulación de N y la intensidad de colonización (Apéndice C-4). Sin embargo, los tratamientos CT2 y HT2 presentaron la mayor acumulación, pese a su baja colonización (Figura 14); aunque debe tenerse en cuenta que la absorción de N por los HMA, depende de la disponibilidad y movilidad del

nutrimento en el suelo (Hodge, 2001), y que no siempre la mayor adquisición de N, produce un mayor nivel nutrimental en las plantas micorrizadas, con respecto a las no micorrizadas (Hawkins *et al.*, 2000; Hodge *et al.*, 2000).

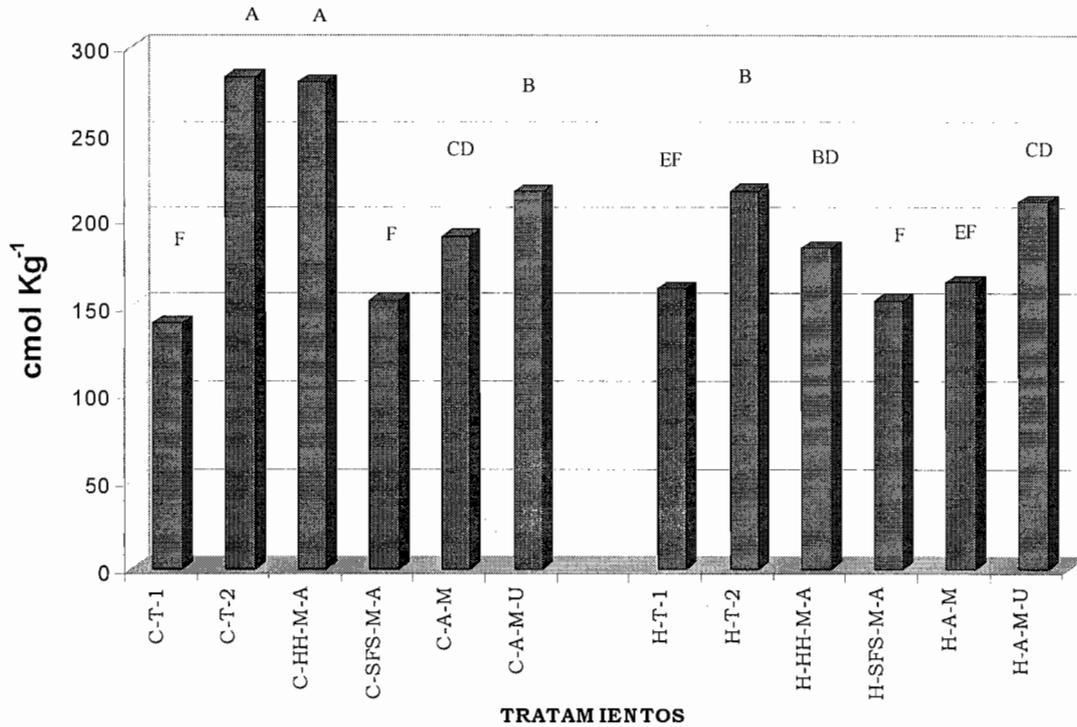


Figura 12. Acumulación de nitrógeno (cmol kg⁻¹) en parte aérea..(T1) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (T2) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (HH) Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, (SFS) 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.05).

Es interesante observar que entre los tratamientos de ambos tipos de maíz en su testigo1 (suelo libre de HMA nativos, pero con su flora bacteriana) y el testigo 2 (suelo con fertilizantes químicos) se detectaron diferencias estadísticamente significativas (Apéndice C-2); el T-1 fue inferior al T-2 en ambos tipos de maíz. Esto podría indicar, como ya ha sido mencionado por

varios autores (Bago *et al.*, 2001; Hawkins *et al.*, 2000; Cliquet *et al.*, 1997; Frey y Shüepp, 1993), que la micorriza contribuye también, a la absorción de nitrógeno.

Estos tratamientos difieren en el nivel de colonización MA (Figura 14), por lo que dicho resultado, podría deberse a la actividad de los HMA, en lo que corresponde al transporte de compuestos nitrogenados hacia las plantas del T-2. Aunque también pudo haber pérdida de N en el suelo de T-1, al someterlo a calentamiento, como parte del proceso de esterilización.

Sin olvidar que en este segundo experimento se inoculó con *Azospirillum*, el tratamiento C-HH-M-A fue uno de los más altos, lo que permite comprobar la actividad de *Azospirillum* fijando N atmosférico y produciendo hormonas (Yoav Bashan y Luz E. de Bashan 2002) y que los hongos micorrízicos transportan nitrógeno asimilable a la planta o la planta misma absorbiendo nutrimentos.

5.4.3. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-Azospirillum EN LA ALTURA DE LA PLANTA

La altura de la parte aérea de la planta, fue mayor en los tratamientos C-HH-M-A, H-HH-M-A y C-A-M-U con 108.50, 95.16 y 89.66cm. respectivamente. (Figura 13). Hubo una diferencia estadística, únicamente entre el tratamiento C-HH-M-A y los no mencionados

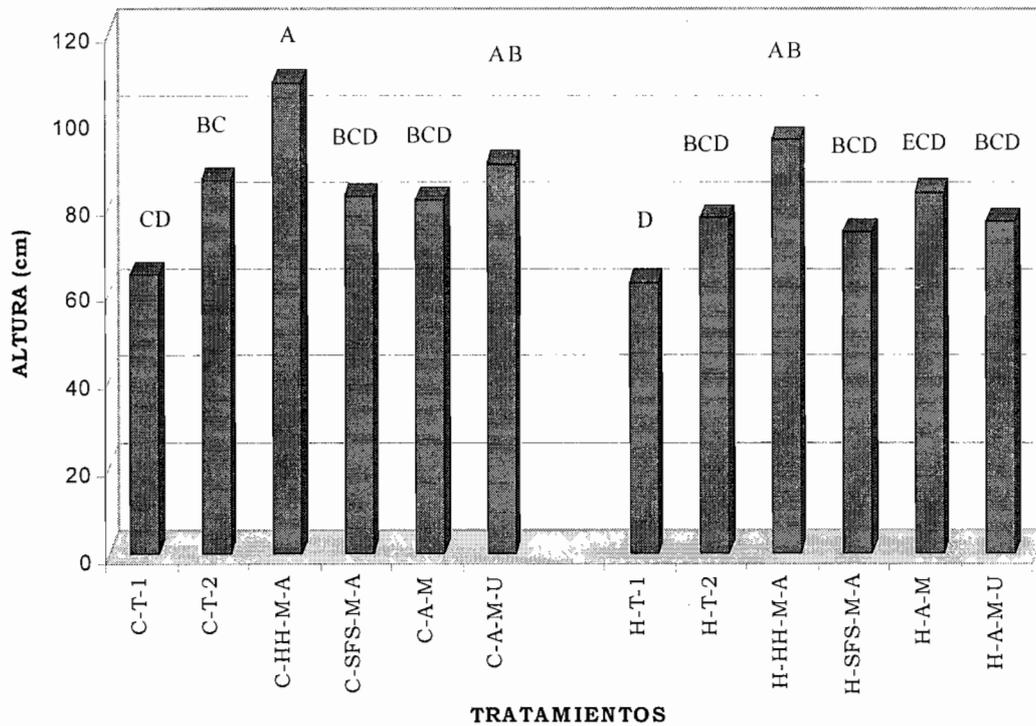


Figura 13. Altura (cm) de la parte aérea..(T1) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (T2) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (HH) Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, (SFS) 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes (P ≤ 0.05).

En general, las mayores alturas se observaron en los tratamientos con adición de harina de hueso, hongos micorrízicos y *Azospirillum*, ligeramente superiores a los de fertilizantes químicos (Apéndice C-3).

Los testigos (T-1) en maíz criollo e híbrido, fueron los que registraron las menores alturas; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los tipo de maíz cultivados con fertilizantes químicos y aquellas a las que no se les aplicó nada. Este comportamiento, tiene relación con los resultados obtenidos en la concentración de nitrógeno, en donde todos los tratamientos presentaron cantidades de nitrógeno suficientes, para que la planta pueda crecer.

La importancia del tratamiento C-HH-M-A, se debe a la presencia de *Azospirillum*, el cual promueve el crecimiento vegetal mediante: a) fijación de nitrógeno, que contribuye con nitrógeno a la planta, b) efectos hormonales, los cuales promueven el metabolismo y crecimiento vegetal, c) incremento en el crecimiento del sistema completo de raíces, que puede estar relacionado con cambios hormonales y origina una mayor capacidad de absorción de agua y minerales, d) alteración del funcionamiento de la membrana, por medio de moléculas de comunicación celular. (Bashan *et al.*, 2000). Además los hongos micorrízicos a través de sus hifas, toman el nitrógeno desde fuentes inorgánicas de amonio, incrementan la eficiencia de absorción de los mismos, desde la solución del suelo e incorporan metabolitos en los procesos de digestión y degeneración de las estructuras de los mismo hongos en las células de la raíz (Sieverding, 1991). Por otra parte, la mineralización de la harina de hueso favoreció el crecimiento de la planta y también pudo influir en las propiedades del suelo proporcionando una mejor estructura, aireación, retención de agua, y tal vez en la actividad de los microorganismos y disponibilidad de nutrimentos para la planta (Rodríguez, 1999).

5.4.4. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum* EN LA COLONIZACIÓN MA

La Figura 14, muestra la colonización micorrízica a lo largo de 80 días. En general, durante los primeros 40 días, el comportamiento de ambos tipos de maíz difiere únicamente entre los testigos y los demás tratamientos. Posteriormente, para los últimos 40 días, los tratamientos C-HH-M-A, H-HH-M-A presentan % de colonización altos (70.33 y 67.66% respectivamente), con diferencia estadística sobre el resto de los demás tratamientos. Esto podría indicar que la aplicación de fuentes orgánicas de fósforo, no afecta el desarrollo micorrízico; de hecho, mejora las condiciones del suelo favoreciendo el desarrollo de la raíz, la colonización micorrízica y la esporulación de los HMA (Ravnoskov *et al.*, 1999; Douds Jr. *et al.*, 1997). Por otro lado, los tratamientos C-A-M y H-A-M presentan % de colonización muy buenos, pero su diferencia puede deberse a la aplicación de harina de hueso.

En cambio, en los testigos de maíz criollo e híbrido, los % de colonización fueron bajos (6.33 y 7.66), con diferencia significativa en los demás tratamientos. Los porcentajes de colonización en los testigos se esperaban en cero, ya que son tratamientos con suelo estéril; sin embargo, debido a la cercanía de las macetas, pudo darse una propagación de esporas en el momento de riego o posiblemente la esterilización no fue 100% segura.

En este experimento, se observó que la aplicación de harina de hueso (HH) y la inoculación con *Azospirillum* favoreció el desarrollo micorrízico, como se aprecia claramente a los 20 y 40 dde (Figuras 14a y 14b).

Desde los 60 dde, se detectó que los tratamientos con harina de hueso, hongos micorrízicos y *Azospirillum* (Figura 14c), superaban a postratamientos con fertilizantes químicos. Veinte días después (Figura 14d), no se observó gran cambio en los testigos que alcanzaron 8.0 %; en cambio, los fertilizados con harina de hueso e inoculados con *Azospirillum* obtuvieron la mayor abundancia, 70.33 %. Tal y como lo reportan (Yoav Bashan y Luz E. de Bashan 2002), los hongos micorrízicos se ven favorecidos con la presencia de *Azospirillum* y la ausencia de fertilizantes químicos.

Lo anterior podría indicar que la falta de hongos y la excesiva cantidad de fertilizantes químicos en los tratamientos C-SFS-A, H-SFS-A, C-A-U y H-A-U, probablemente limitó el desarrollo de la colonización (Shatnawi y Makhadmeh, 2001) debido quizá, participo la producción de algunas auxinas que se sabe afectan directamente el desarrollo micorrízico (Kaldorf y Ludwing-Müller, 2000). Por otro lado, el tratamiento C-HH-M-A tuvo la mayor acumulación de P y N (Figuras 11 y 12), lo cual coincide con el desarrollo micorrízico. También debe tenerse en cuenta, que la respuesta de la raíz a los HMA y a los microorganismos del suelo, puede ser diferente a partir del suministro de fuentes orgánicas, por lo que la abundancia micorrízica podría no depender del nivel nutricional de la planta, sino de un factor ecológico como el clima (Shatnawi y Makhadmeh, 2001).

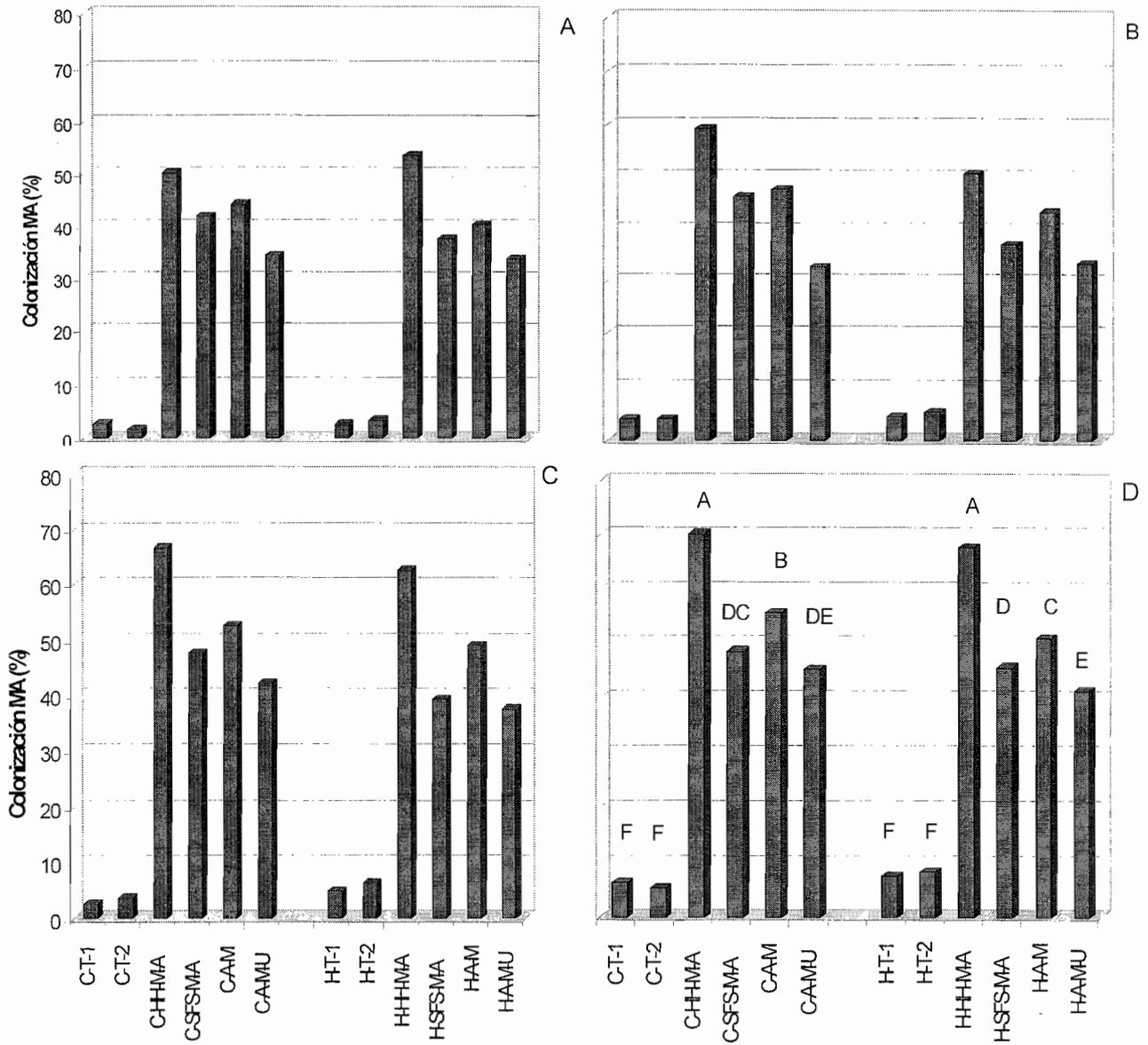


Figura 14. Colonización (%) en raíz a los 20 (A), 40 (B), 60 (C) y 80 (D) días. (T1) Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, (T2) Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, (HH) Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, (SFS) 80 y 120 kg ha⁻¹. Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Los mayores porcentajes de colonización MA al momento de la cosecha (Figura 14d), correspondieron a los tratamientos con fuentes orgánicas en ambas variedades, así como la inoculación con *Azospirillum* y desde luego la presencia de hongos micorrizicos nativos. Resultados similares obtuvieron Joner (2000) y Douds Jr. *et al.*, (1997), quienes mencionan que la proliferación y colonización de los HMA, se ven favorecidas con la aplicación de fuentes naturales como desperdicios de cosechas y compostas, cuya proporción C:N es pequeña (desde 8:1 hasta 29:1), por lo que este factor pudo propiciar la alta colonización. Al observar estos porcentajes de colonización, se demuestra que la presencia de *Azospirillum* favorece el aporte de nitrógeno asimilable, requerido por los hongos micorrizicos, o que *Azospirillum* estimuló la colonización micorrízica en las plantas de maíz (Barbara Eckert *et al.*, 2001), el cual pudo relacionarse con la producción de ácido abscísico, un factor benéfico en la colonización de hongos micorrizicos. Se ha demostrado que la actividad de los microorganismos en la rizósfera, afecta decisivamente el comportamiento de la simbiosis micorrízica. La inoculación mixta con *Azospirillum* y hongos micorrizicos origina una interacción sinergista, obteniéndose un incremento significativo en el crecimiento y acumulación de fósforo en las plantas. Esta doble inoculación, podría reemplazar la aplicación de fertilizantes de nitrógeno y fósforo (Al-Nahidh y Gomah, 1999) y promover la interacción de hongos micorrizicos en las plantas.

Los menores porcentajes de colonización MA, se obtuvieron con el suministro de la fuente inorgánica, lo que podría indicar que dicha fuente de P, inhibió la invasión del HMA a la raíz (Joner, 2000; Douds Jr. *et al.*, 1997). En segundo lugar, pudo deberse a la aplicación de la urea; la solubilización de ésta desprende amonio, uno de los compuestos nitrogenados que más impide la formación de la micorriza (Brinson *et al.*, 1994; Sieverding, 1991). Estos tratamientos recibieron toda la dosis de N en forma de urea .

5.4.5. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum* EN LA LONGITUD TOTAL DE RAÍZ.

La longitud radical total de las plantas a los 80 dde (Figura 15), igual que otras variables, dependió de la condición del suelo; la diferencia entre los promedios obtenidos en suelo con H-A-M y los testigos de ambas variedades fue muy amplia, 77.33 y 34.33 cm, respectivamente. Esto pudo ser afectado por la dosis y la fuente de P, ya que los tratamientos con fuentes naturales fueron estadísticamente mayores que los de fuentes químicas. Con respecto a la literatura, el comportamiento fue contrario, ya que algunos autores han encontrado que la carencia de P, induce el alargamiento de las raíces, probablemente para aumentar el área de absorción radical (Marschner, 1995); sin embargo este comportamiento, esta relacionado con una mayor longitud total de biomasa (Figuras 14 y 15) y puede con simplemente a la mejor nutrición de estas plantas, cuya disposición de nutrientes favoreció el desarrollo de la planta en general.

Las longitudes radicales obtenidas en los tratamientos donde estaban presentes los HH-M-A, fueron estadísticamente similares (Apéndice C-5); sin embargo numéricamente, el orden decreciente de éstos fue: H-A-M>C-HH-M-A>C-A-M-U>H-HH-M-A<H-A-M-U (77.33, 60.83, 60.33, 53.85. y 54.33 cm, respectivamente). En estos tratamientos se puede ver el efecto de *Azospirillum*, favoreciendo el desarrollo radical por su probable generación de hormonas estimulantes de crecimiento (Yoav Bashan y Luz E. de-Bashan 2002), así como por la actividad de los hongos micorrízicos, al inducir mayores ramificaciones (Sieverding, 1991).

Tampoco se observó diferencia significativa en los de menor longitud: CT1<CT2<HT1<HT2<H-SFS-M-A (34.33, 34.83, 37.66 y 44.83 cm.)

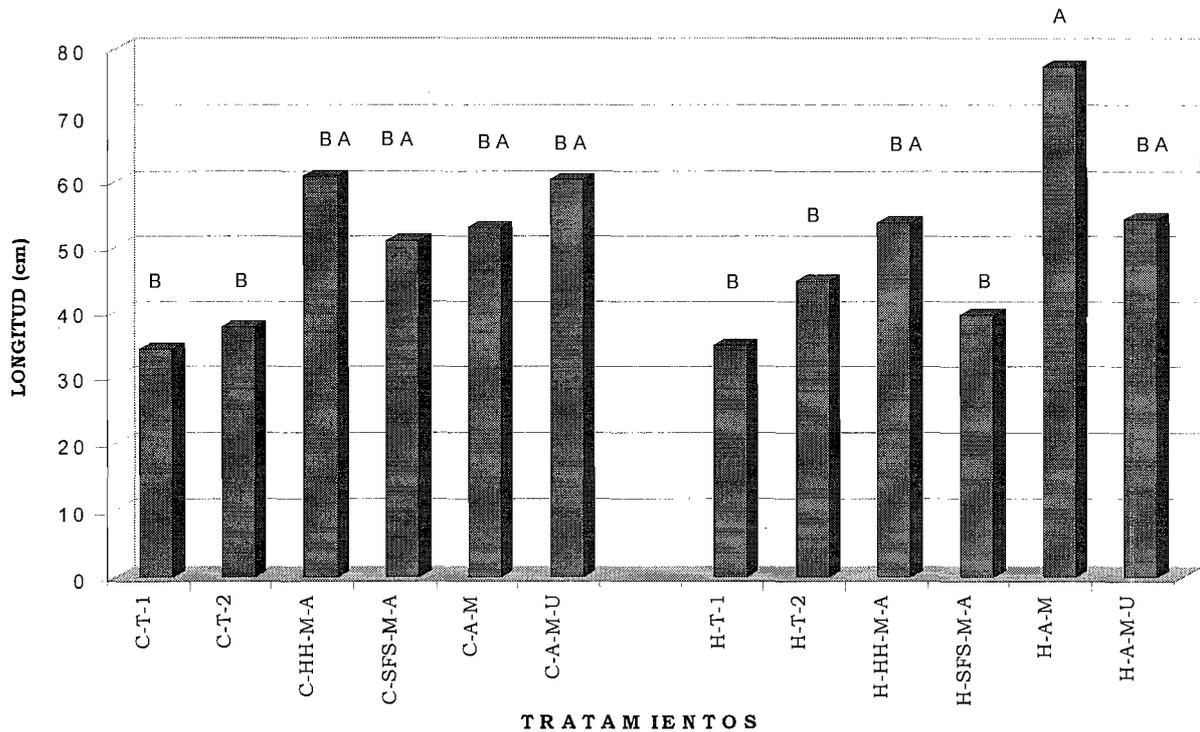
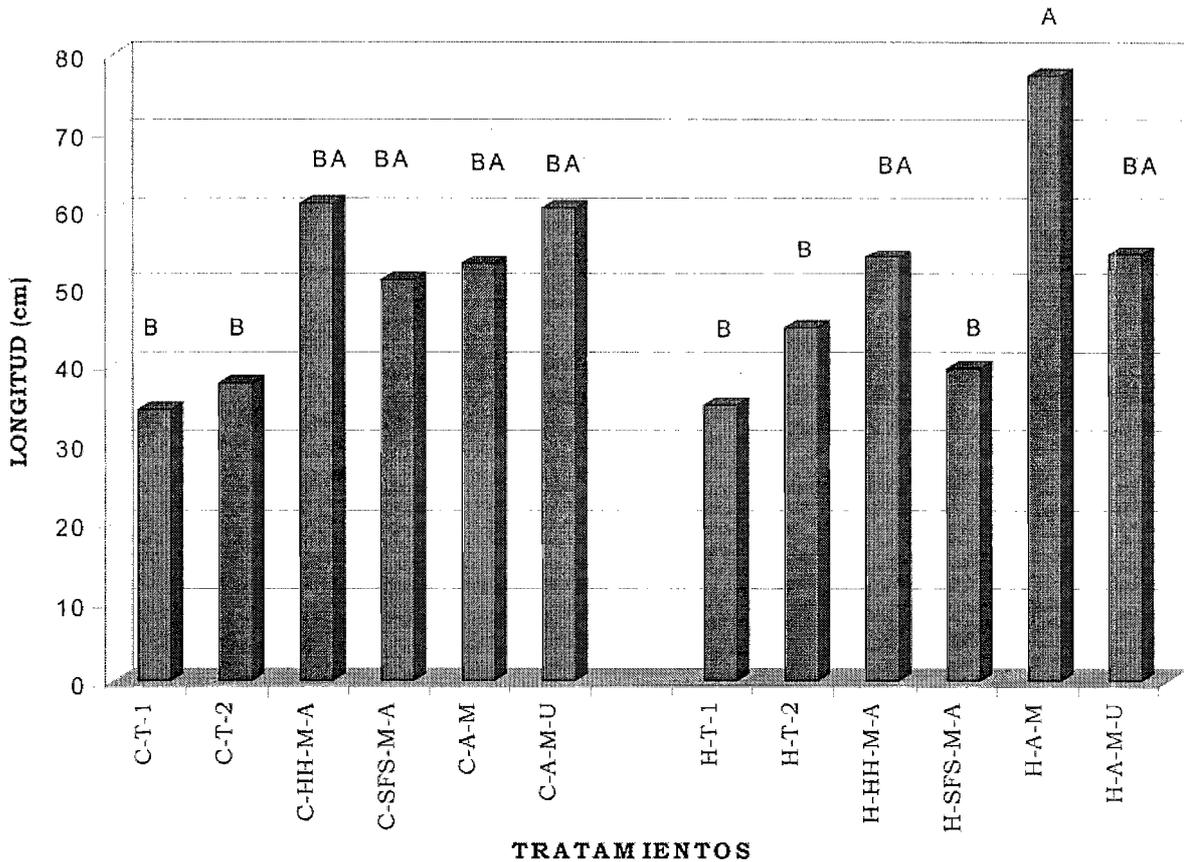


Figura 15. . Longitud radical total (cm 1.5 kg⁻¹ suelo) en maíz. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

5.4.6. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-Azospirillum EN EL PESO DE RAÍZ.

La biomasa radical a los 80 dde (Figura 16), de plantas cultivadas en suelo esterilizado y sin ninguna fuente de fósforo y nitrógeno natural o química, fue significativamente menor a las del suelo con M-HH-A ó U (promedios de 2.46 y 2.96g 1.5 kg⁻¹ suelo, respectivamente). Sin embargo, esta variable no pareció ser afectada por la fuente o dosis de P, ya que fueron estadísticamente similares las biomásas radicales, entre tratamientos de doble simbiosis y con fuente orgánica (promedios de 6.46 y 6.45 g); tampoco

hubo diferencias respecto al testigo T-2 de ambos tipos de maíz, lo que podría indicar que la cantidad de P o la fuente asimilable en el suelo, no afectó la producción de biomasa seca.



estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

La longitud, presento orden decreciente en peso radical, en los tratamientos H-A-M>H-HH-M-A>C-HH-M-A (Apéndice C-6). Con ambas simbiosis y la harina de hueso la biomasa aumentó, esto podría deberse a una adecuada acumulación de N proveniente de la mineralización de la harina de hueso (Figura 3). De este modo se favoreció la utilización de hidratos de carbono y la síntesis de proteínas, mejorando la succulencia de las plantas (PPI, 1997); también pudo estar involucrada la formación de micorrizas, ya que estos tratamientos presentaron hongos micorrizicos y *Azospirillum* sin olvidar que

el tratamiento C-HH-M-A fue de los que registraron la mayor colonización micorrízica (Figura 14d). En cambio en el testigo "T-1" se obtuvo la menor biomasa radical y altura de la parte aérea de la planta, dichos resultados coinciden con los encontrados por Joner (2000).

De igual forma Villarreal *et al.*, 1990 encontró que la inoculación con *Azospirillum* sola o en conjunto puede incrementar la producción de biomasa de raíz.

5.4.7. EFECTO DE LA RELACIÓN HARINA DE HUESO-HONGOS MICORRIZICOS-*Azospirillum* EN LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA SECA.

La producción de biomasa seca en la parte aérea de las plantas con 80 días (Figura 17), fue estadísticamente superior en aquellas cultivadas en suelo con el tratamiento HH, M y A, tanto en el maíz criollo como en el híbrido 8 y 6.66 g 1.5 kg⁻¹ suelo, respectivamente (Apéndice C-7). También hubo diferencias significativas entre los testigos 1 de ambas variedades y C-A-M-U; en promedio, obtuvieron 1.25 y 1.30 g 1.5 kg⁻¹ suelo, respectivamente. Estos resultados podrían indicar, que los cultivos requieren del suministro de una fuente de P sin importar quien lo aporte; los hongos micorrízicos, la harina de hueso o *Azospirillum* debido a que: (1) el suelo retiene un gran porcentaje (67.3 %); (2) los microorganismos inmovilizan otra fracción y (3) la mineralización es lenta (Hernández *et al.*, 1996).

Los tratamientos con doble aplicación de las fuentes de P, registraron mayores biomásas que cuando se aplicó una fuente química, ya que se obtuvo una diferencia significativa de 1.25 g. Los resultados obtenidos muestran que de las plantas con doble aplicación, la mayor biomasa se obtuvo con la fuente orgánicas, superando a las químicas. Sin embargo, al comparar solamente los tratamientos con fuentes inorgánicas, el fertilizante

no resultó ser tan buena fuente de P. De igual manera Eghball y Power (1999), encontraron que con la aplicación de desperdicios naturales durante 4 años, se incrementó el rendimiento del maíz, en comparación con el testigo.

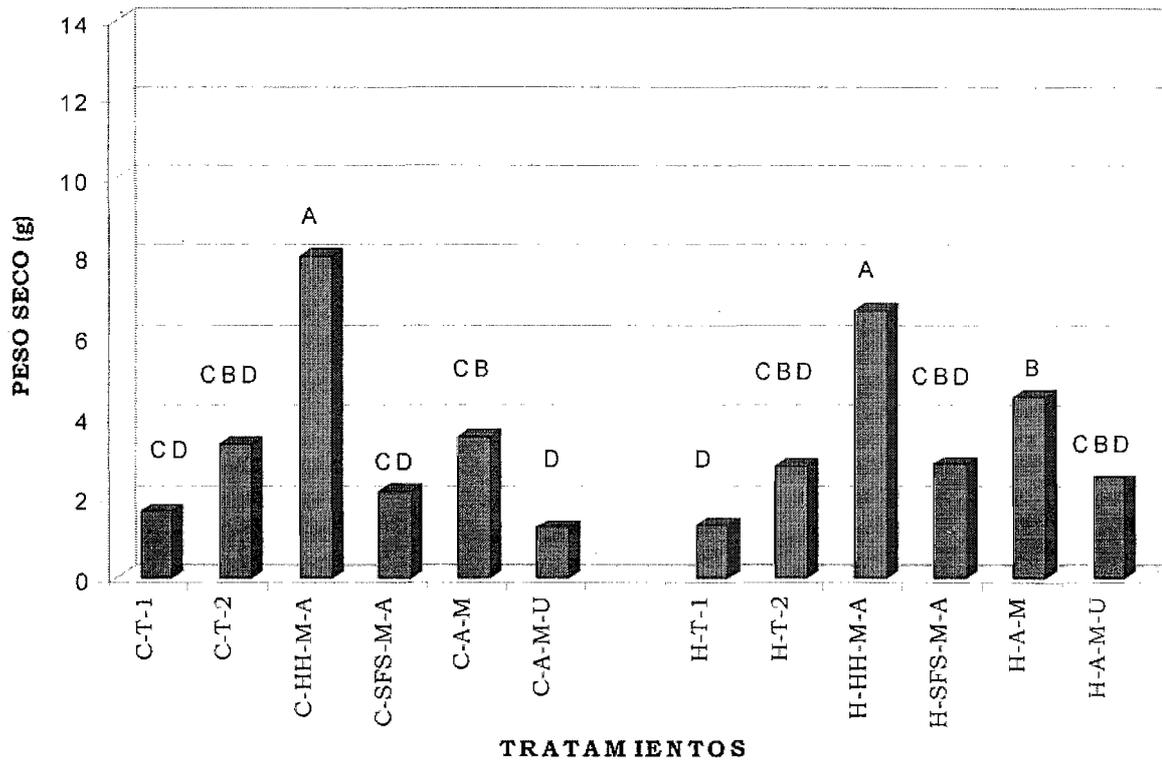


Figura 17. Biomasa seca de la parte aérea (g 1.5 kg⁻¹ suelo) en maíz. **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹ Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

La biomasa de las plantas del tratamiento T-1, fue considerablemente menor a la de aquellos con suministro de fuentes naturales (Figura 17). También Joner (2000) encontró bajas biomásas, en la parte aérea de tréboles cultivados en suelos esterilizados. Las características de este tratamiento (sin suministro de P, ni colonización MA), sugieren la importancia de aplicar una fuente orgánica de P y del establecimiento de la micorrización, que favorece la absorción de nutrientes y, por tanto, el desarrollo de las plantas.

VI. CONCLUSIONES

1. El superfosfato simple (SFS), liberó la mayor cantidad de P-asimilable a la solución del suelo. La cantidad liberada, fue 18.92 % mayor que la obtenida con la harina de hueso (HH). Al final del experimento, la concentración de P-asimilable continuó disminuyendo con el SFS, mientras que con la HH, aumentó hasta casi igualar al tratamiento SFS,
2. El testigo mostró una tendencia decreciente de P-asimilable en el SFS, la cual se atribuyó a la alta retención química del P que ocurre, de manera natural, en la mayoría de los suelos derivados de cenizas volcánicas. La harinas de hueso y pescado, aumentaron la concentración de fósforo a medida que pasaba el tiempo.
3. En la primera siembra, los porcentajes de colonización micorrízica entre los tipos de maíz fueron significativamente similares. El desarrollo de la simbiosis no dependió del tipo de maíz, sino de la dosis y fuente de fósforo. Las plantas fertilizadas químicamente, fueron poco micotróficas y menos dependientes que las fertilizadas orgánicamente.
4. La aplicación de harina de hueso (primer siembra) en dosis de 80 kg ha⁻¹, favoreció los porcentajes de colonización micorrízica en el maíz "Pico de gorrión" y "H-28" mientras que el SFS a dosis de 120 kg ha⁻¹, la inhibió.

5. La concentración P en tejido vegetal, fue de niveles “bajos” en todos los tratamientos durante la primera siembra en los dos tipo de maíz, reflejo de la alta retención química en el suelo. En el maíz criollo se obtuvo mayor respuesta con la harina de hueso. Por su parte la acumulación de P en los testigos 1, presentó niveles críticos de 2.50 mg kg^{-1} .
6. La acumulación de N fue más alta en las plantas con harina de hueso, que en las de SFS. El maíz híbrido, respondió mejor a la harina de hueso en la acumulación de N. El comportamiento es similar en fósforo; las dosis bajas de harina de hueso, acumulan mayor cantidad de nitrógeno y fósforo sin importar el tipo de maíz.
7. El suministro de harina de hueso favoreció la longitud y biomasa radical en la primera siembra. El maíz híbrido superó al criollo en el desarrollo radical aunque, no hubo diferencias significativas.
8. La aplicación de SFS en el testigo 2 y a dosis de 120 kg ha^{-1} , favoreció la biomasa de la parte aérea de las plantas y su altura, en ambas variedades. Sin embargo, los tratamientos con harina de hueso no tuvieron diferencia significativa.
9. En la segunda siembra la doble simbiosis HMA y *Azospirillum* junto con la harina de hueso, favorecieron la acumulación de P. La concentración detectada en los testigos, fue similar a la obtenida en la primera siembra. El fósforo en las plantas dependió sólo de la fuente orgánica y la actividad de los microorganismos.

10. La acumulación de N, en las plantas del segundo experimento, fue significativamente mayor en los tratamientos CT2 y C-HH-M-A, superando a los testigos 1.

11. La longitud, peso radical total y la biomasa de la parte aérea de las plantas (follaje) del experimento “triple simbiosis”, fueron favorecidas en ambas variedades con la aplicación de harina de hueso y la actividad de los HMA y *Azospirillum*, superando con diferencia significativa, a los testigos y tratamientos químicos.

12. Al igual que en la primera siembra, en este experimento (triple simbiosis 1), los porcentajes de colonización micorrízica se mostraron favorecidos con la aplicación de la harina de hueso, aunque no dependió de la variedad.

VII. ANEXOS

1. SOLUCIONES EMPLEADAS EN LA OBSERVACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA MICORRIZA

A. FAA

Formol	10 ml
Ácido acético glacial	5 ml
Alcohol etílico (95-96 %)	50 ml
Agua destilada	35 ml

B. Azul tripano (0.05%)

Azul tripano	500 mg
Lactoglicerol	1 000 ml

C. Lactoglicerol

Ácido láctico	500 ml
Glicerol	500 ml
Agua destilada	500 ml

2. SOLUCIONES EMPLEADAS EN LA OBSERVACIÓN DE *Azospirillum*

A. Cloramina T

Cloramina T	1 g
Agua destilada estéril y fría	100 ml

B. Cristal violeta

Cristal violeta	2 g
Etanol (95%)	20 ml
Agua destilada	30 ml
Oxalato de amonio	0.8 g
Agua destilada	50 ml

Se recomienda, en la solución A, disolver el cristal violeta en el etanol y después agregar el agua destilada. Posteriormente mezclar ambas soluciones y filtrar.

C. Medio malato rojo congo

Ácido málico	5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g
NaCl	0.1 g
Extracto de levadura	0.05 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.015 g
KOH	4.8 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

Ajustar a pH 7.0 con NaOH 0.01 N. Esterilizar en autoclave a 15 psi/15 min. añadir asepticamente 15 ml de solución acuosa de rojo congo (1:400), esterilizado por separado.

D. Medio Nfb semisólido

Ácido málico	5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g
NaCl	0.1 g
Na ₂ MoO ₄ H ₂ O	0.002 g
MnSO ₄ H ₂ O	0.01 g
Fe-EDTA (Sol. 1.64%)	4 ml
Azul de bromotimol en etanol (0.5%)	3 ml
KOH	4.5 g
Biotina (0.01%)	1 ml
Agua destilada	1000 ml

Ajustar a pH 6.8 con solución de KOH al 10%, agregar 1.8 g de agar previamente disuelto por separado y esterilizar en autoclave (15 psi/15 min.).

E. Peróxido de hidrógeno al 10%

Peróxido de hidrógeno	10 ml
Agua destilada	100 ml

F. Safranina

Safranina	2.5 g
Etanol (95%)	10 ml
Agua destilada	100 ml

Se recomienda disolver la safranina en el etanol y después agregar el agua

G. Ácido clorhídrico al 10%

HCl	10 ml
Agua destilada	100 ml

Después de disolver, aforar a 1000 ml.

H. Azul tripano en lactoglicerol (0.05%)

Azul tripano	500 mg
Lactoglicerol	1000 ml

I. Agar nutritivo

Extracto de carne	3 g
Peptona	5 g
Agar	15 g

OBSERVACIÓN DE *Azospirillum*

Aislamiento a partir de raíces. A partir de las raíces, se procede a seguir nueve pasos: 1) eliminar el suelo adherido a las raíces y lavar con agua de la llave, 2) cortar en pedazos de 5 a 8 mm de longitud, procurando que la región axilar quede intermedia, 3) desinfectar la superficie de los pedazos de raíz, con cloramina T durante 3 a 5 min., 4) lavar con agua destilada estéril, por lo menos 5 veces para eliminar todo el residuo de cloramina T, 5) utilizando las

pinzas, colocar los pedazos de raíz en los tubos con medio Nfb semisólido, en condiciones asépticas, procurando que queden dentro del medio, 6) incubar a 32 - 35 °C, durante 18 - 24 hrs; al cabo de este tiempo la presencia de *Azospirillum* será indicada por la formación de una película fina blanquecina, cercana a la superficie del medio por cambio del indicador de verde a azul por modificación del pH, 7) hacer una preparación húmeda y tinción de Gram, del crecimiento producido en los tubos y observar al microscopio, 8) usando el método de aislamiento por estría, sembrar en 3 placas de agar nutritivo o malato-rojo congo e incubar durante 24 - 48 hrs. a 32 - 35 °C y 9) seleccionar las colonias típicas de *Azospirillum* y observar mediante preparación húmeda y tinción de Gram.

Tinción de Gram. Tomar por los bordes un portaobjetos perfectamente limpio, flamearlo ligeramente en la llama de un mechero y dejar que se enfríe. Con el asa de siembra, esterilizada y fría, tomar una gota pequeña del medio de cultivo homogeneizado, colocarla sobre el portaobjetos limpio y extenderla hasta formar una capa fina. Dejar secar el frotis al aire. Cuando el frotis esté seco, fijarlo. Para esto, pasar el portaobjetos rápidamente por la flama del mechero unas tres veces, procurando que la superficie donde está el frotis quede hacia arriba. Cubrir el frotis ya fijado con solución de cristal violeta durante 1 minuto. Escurrir el colorante. Lavar, cubrir el frotis con Lugol durante 1 minuto. Escurrir y lavar con agua de la llave. Inclinar el portaobjeto y decolorar con alcohol-acetona gota a gota, hasta que aparezca la primera gota incolora (10 - 15 seg.). Lavar con agua de la llave. Cubrir con solución de safranina durante 1 min. Lavar con agua, escurrir y dejar secar al aire. Observar al microscopio.

VIII. APÉNDICES

A. MINERALIZACIÓN DE COMPOSTAS

Cuadro A-1. Análisis de correlación entre las cuatro fuentes y P asimilable liberado en el suelo.

Tiempo	HP	HP	SFS	T
	0.92737	-0.7562	-0.5555	0.57735
2° semana	0.0726	0.2126	0.4445	0.4226
	4	4	4	4
	-0.5000	0.37127	-0.16371	-0.7011
4° semana	0.6667	0.6287	0.8363	0.2929
	4	4	4	4
	0.05477	0.00632	-1.0000	0.2355
6° semana	0.9452	0.9937	0.0001	0.7645
	4	4	4	4
	1.0000	-0.00075	-0.49922	-0.90453
8° semana	0.0001	0.9993	0.50025	0.0955
	4	4	4	4

Coefficientes de correlación de Pearson/Prob > |R| bajo Ho: Rho=0/Número de observaciones.

Cuadro A-2. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de mineralización de P asimilable en las harinas.

	Trat.	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
P asimilable 2° semana	T	A	1.40	4
	HP	A	2.56	4
	HH	A	2.84	4
	SFS	B	7.57	4
P asimilable 4° semana	T	A	1.30	4
	HP	A	2.59	4
	HH	A	3.73	4
	SFS	B	7.06	4
P asimilable 6° semana	T	A	1.4	4
	HP	A	4.00	4
	HH	A	4.27	4
	SFS	A	5.20	4
P asimilable 8° semana	T	A	1.40	4
	HP	A	3.70	4
	HH	A...B	4.80	4
	SFS	A	4.92	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **HP**, harina de pescado; **HH**, harina de hueso; **SFS**, superfosfato simple de calcio; **T**, testigo sin fuente de fósforo.

B. PRIMERA SIEMBRA**Cuadro B-1.** Prueba de Tukey aplicada a los resultados de COLONIZACIÓN MA TOTAL.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm.	Obs.
Criollo-T-1	B..C	29.66	4	
Criollo-T-2	C	10.66	4	
Criollo-HH-80	A	79.00	4	
Criollo-HH-120	A	61.66	4	
Criollo-SFS-80	B..A	60.00	4	
Criollo-SFS-120	B..A	47.66	4	
Híbrido-T-1	C	5.00	4	
Híbrido-T-2	C	6.00	4	
Híbrido-HH-80	A	65.33	4	
Híbrido-HH-120	B..A	49.00	4	
Híbrido-SFS-80	A	73.00	4	
Híbrido-SFS-120	B..A	49.00	4	

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹de, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹

Cuadro B-2. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de LONGITUD TOTAL RADICAL.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm.	Obs.
Criollo-T-1	C	34.16	4	
Criollo-T-2	B..C	47.00	4	
Criollo-HH-80	B..A	63.50	4	
Criollo-HH-120	B..A	63.33	4	
Criollo-SFS-80	B	55.16	4	
Criollo-SFS-120	B..C	53.16	4	
Híbrido-T-1	B..C	53.33	4	
Híbrido-T-2	B..A	60.16	4	
Híbrido-HH-80	A	79.33	4	
Híbrido-HH-120	B..A	65.50	4	
Híbrido-SFS-80	B..A	64.66	4	
Híbrido-SFS-120	B..A	62.16	4	

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Cuadro B-3. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de BIOMASA RADICAL.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	C	3.14	4
Criollo-T-2	C	3.96	4
Criollo-HH-80	A	11.60	4
Criollo-HH-120	A	11.46	4
Criollo-SFS-80	B	6.28	4
Criollo-SFS-120	A	10.76	4
Híbrido-T-1	C	3.58	4
Híbrido-T-2	B	8.18	4
Híbrido-HH-80	A	11.80	4
Híbrido-HH-120	B	7.25	4
Híbrido-SFS-80	B	6.55	4
Híbrido-SFS-120	C	3.90	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹de, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹

Cuadro B-4. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ACUMULACIÓN DE FOSFATOS en parte aérea de maíz.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	G	3.30	4
Criollo-T-2	F	4.10	4
Criollo-HH-80	A	9.70	4
Criollo-HH-120	B	7.40	4
Criollo-SFS-80	E	5.00	4
Criollo-SFS-120	C	6.40	4
Híbrido-T-1	H	2.50	4
Híbrido-T-2	E	5.00	4
Híbrido-HH-80	C	6.30	4
Híbrido-HH-120	C	6.53	4
Híbrido-SFS-80	D	5.80	4
Híbrido-SFS-120	D	5.80	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Cuadro B-5. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ACUMULACIÓN DE N en parte aérea de maíces.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm.	Obs.
Criollo-T-1	E..D..F	156.66	4	
Criollo-T-2	E..D	160.00	4	
Criollo-HH-80	E..D..C	168.33	4	
Criollo-HH-120	B..A..C	183.33	4	
Criollo-SFS-80	B..C	180.00	4	
Criollo-SFS-120	F	140.00	4	
Híbrido-T-1	D..C	173.33	4	
Híbrido-T-2	D..C	170.00	4	
Híbrido-HH-80	A	200.00	4	
Híbrido-HH-120	B..A	193.33	4	
Híbrido-SFS-80	E..F	150.00	4	
Híbrido-SFS-120	F	140.00	4	

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** Harina de Hueso 80 y 120 kg ha⁻¹de, **(SFS)** 80 y 120 kg ha⁻¹

Cuadro B-6. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de BIOMASA SECA en parte aérea de maíces.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm.	Obs.
Criollo-T-1	C	6.83	4	
Criollo-T-2	B...A	11.40	4	
Criollo-HH-80	B..A..C	8.83	4	
Criollo-HH-120	B..C	7.83	4	
Criollo-SFS-80	B..A..C	8.66	4	
Criollo-SFS-120	B...A..C	8.16	4	
Híbrido-T-1	B..A...C	9.16	4	
Híbrido-T-2	A	12.50	4	
Híbrido-HH-80	B...C	7.66	4	
Híbrido-HH-120	C	6.83	4	
Híbrido-SFS-80	B..A..C	8.16	4	
Híbrido-SFS-120	C	5.00	4	

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Cuadro B-7. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ALTURA DE LA PLANTA.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	D	72.16	4
Criollo-T-2	A	116.83	4
Criollo-HH-80	B..A	107.83	4
Criollo-HH-120	A	117.83	4
Criollo-SFS-80	B..A..C	101.00	4
Criollo-SFS-120	A	116.83	4
Híbrido-T-1	D..C	86.16	4
Híbrido-T-2	A	118.16	4
Híbrido-HH-80	B..D..C	92.00	4
Híbrido-HH-120	B..C	95.16	4
Híbrido-SFS-80	A	116.33	4
Híbrido-SFS-120	A	118.66	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

C. SEGUNDA SIEMBRA

Cuadro C-1. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ACUMULACIÓN DE FOSFATOS en parte aérea de maíz.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	F	2.50	4
Criollo-T-2	G	1.60	4
Criollo-HH-M-A	A	7.36	4
Criollo-SFS-M-A	D	4.10	4
Criollo-A-M	E	3.40	4
Criollo-A-M-U	D	4.10	4
Híbrido-T-1	G	1.50	4
Híbrido-T-2	E	3.20	4
Híbrido-HH-M-A	B	5.83	4
Híbrido-SFS-M-A	C	4.96	4
Híbrido-A-M	C	5.03	4
Híbrido-A-M-U	D	4.13	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(C)** Variedad criolla, pico de gorrión e **(H)** Híbrido de alto rendimiento, **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** 80 kg ha⁻¹ de harina de hueso, **(SFS)** 80 kg ha⁻¹ de superfosfato simple **(A)** Inoculación con *Azospirillum*, **(U)** Urea y **(M)** Suelo micorrizado.

Cuadro C-2. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ACUMULACIÓN DE N en parte aérea de maíz.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	F	140.00	4
Criollo-T-2	A	283.33	4
Criollo-HH-M-A	A	280.00	4
Criollo-SFS-M-A	F	153.33	4
Criollo-A-M	C..D	190.00	4
Criollo-A-M-U	B	216.33	4
Híbrido-T-1	E..F	160.00	4
Híbrido-T-2	B	216.66	4
Híbrido-HH-M-A	E..D	183.33	4
Híbrido-SFS-M-A	F	153.33	4
Híbrido-A-M	E..F	163.33	4
Híbrido-A-M-U	C..B	210.00	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Cuadro C-3. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de ALTURA DE LA PLANTA.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	C..D	64.00	4
Criollo-T-2	B..C	85.66	4
Criollo-HH-M-A	A	108.50	4
Criollo-SFS-M-A	B..C..D	82.00	4
Criollo-A-M	B..C..D	81.16	4
Criollo-A-M-U	B..A	89.66	4
Híbrido-T-1	D	62.00	4
Híbrido-T-2	B..C..D	77.00	4
Híbrido-HH-M-A	B..A	95.16	4
Híbrido-SFS-M-A	B..C..D	73.83	4
Híbrido-A-M	B..C..D	83.00	4
Híbrido-A-M-U	B..C..D	76.16	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(C)** Variedad criolla, pico de gorrión e **(H)** Híbrido de alto rendimiento, **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** 80 kg ha⁻¹ de harina de hueso, **(SFS)** 80 kg ha⁻¹ de superfosfato simple **(A)** Inoculación con *Azospirillum*, **(U)** Urea y **(M)** Suelo micorrizado.

Cuadro C-4. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de COLONIZACIÓN MA TOTAL en maíz de 80 dde.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	F	6.33	4
Criollo-T-2	F	5.33	4
Criollo-HH-M-A	A	70.33	4
Criollo-SFS-M-A	D..C	48.66	4
Criollo-A-M	B	55.66	4
Criollo-A-M-U	D..E	45.33	4
Híbrido-T-1	F	7.66	4
Híbrido-T-2	F	8.33	4
Híbrido-HH-M-A	A	67.66	4
Híbrido-SFS-M-A	D	45.66	4
Híbrido-A-M	C	51.00	4
Híbrido-A-M-U	E	41.33	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Cuadro C-5. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de LONGITUD TOTAL RADICAL.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	B	34.33	4
Criollo-T-2	B	37.66	4
Criollo-HH-M-A	B..A	60.83	4
Criollo-SFS-M-A	B..A	51.00	4
Criollo-A-M	B..A	53.00	4
Criollo-A-M-U	B..A	60.33	4
Híbrido-T-1	B	34.83	4
Híbrido-T-2	B	44.83	4
Híbrido-HH-M-A	B..A	53.83	4
Híbrido-SFS-M-A	B	39.50	4
Híbrido-A-M	A	77.33	4
Híbrido-A-M-U	B..A	54.33	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(C)** Variedad criolla, pico de gorrión e **(H)** Híbrido de alto rendimiento, **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** 80 kg ha⁻¹ de harina de hueso, **(SFS)** 80 kg ha⁻¹ de superfosfato simple **(A)** Inoculación con *Azospirillum*, **(U)** Urea y **(M)** Suelo micorrizado.

Cuadro C-6. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de BIOMASA SECA RADICAL.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	E	2.46	4
Criollo-T-2	D..C	3.61	4
Criollo-HH-M-A	B..A	6.45	4
Criollo-SFS-M-A	C	4.21	4
Criollo-A-M	B	5.91	4
Criollo-A-M-U	C	4.16	4
Híbrido-T-1	D..E	2.96	4
Híbrido-T-2	C	3.96	4
Híbrido-HH-M-A	B..A	6.46	4
Híbrido-SFS-M-A	C	4.18	4
Híbrido-A-M	A	7.15	4
Híbrido-A-M-U	D..C	3.83	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

Abreviaturas: **(C)** Variedad criolla, pico de gorrión e **(H)** Híbrido de alto rendimiento, **(T1)** Testigo negativo, sin hongos y sin fertilizante químico, **(T2)** Testigo positivo suelo estéril con 240 kg ha⁻¹ de superfosfato simple y 80 kg ha⁻¹ de urea, **(HH)** 80 kg ha⁻¹ de harina de hueso, **(SFS)** 80 kg ha⁻¹ de superfosfato simple **(A)** Inoculación con *Azospirillum*, **(U)** Urea y **(M)** Suelo micorrizado.

Cuadro C-7. Prueba de Tukey aplicada a los resultados de BIOMASA SECA en parte aérea de maíces.

Tratamiento	Agrupación Tukey	Promedios	Núm. Obs.
Criollo-T-1	C..D	1.66	4
Criollo-T-2	C..B..D	3.33	4
Criollo-HH-M-A	A	8.00	4
Criollo-SFS-M-A	C..D	2.16	4
Criollo-A-M	C..B	3.50	4
Criollo-A-M-U	D	1.25	4
Híbrido-T-1	D	1.30	4
Híbrido-T-2	C..B..D	2.78	4
Híbrido-HH-M-A	A	6.66	4
Híbrido-SFS-M-A	C..B..D	2.83	4
Híbrido-A-M	B	4.50	4
Híbrido-A-M-U	C..B..D	2.50	4

Promedios con la misma letra no son significativamente diferentes.

IX. LITERATURA CITADA

- Agro-Red. 2002.** Boletín Informativo Año III, No. 24. D.F., México, 9-19.
- Akanbi WB, Togun AO. 2002.** The influence of maize-stover compost and nitrogen fertilizer on growth, yield and nutrient uptake of amaranth. *Scientia Horticulturae* **93**: 1-8.
- Alexander, M. 1990.** Introducción a la microbiología del suelo. Edit. AGT Editor. D.F., México.
- Al-Nahidh, S y A.H.M. Gomah. 1999.** Response of wheat to dual inoculation with V-A mycorrhiza and *Azospirillum*, fertilized with NPK and irrigated with sewage effluent. *Arid Soil Res. Rehabil.* **5**:83-96.
- Alvarez-Solís JD, Pérez-Luna YC, Vera-Urbina JC, Ferrera-Cerrato R. 2000.** Respuesta de maíz, botil, ibes y chilacayote a la inoculación con hongos micorrízicos arbusculares bajo condiciones de invernadero. En: Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, eds. *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. D.F., México: Mundi-Prensa y Colegio de Postgraduados, 228-238.
- Anderson JPE, Domsch KH. 1978.** A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* **10**: 215-221.
- Andraski T.W. Bundy G.L. 2003.** Relationships between Phosphorus Levels in Soil and in Runoff from Corn Production Systems. *Journal of Environmental Quality* . **32**:310-316.
- Arroyo AV, Martínez GM. 1997.** Efecto de la doble inoculación, endomicorriza V-A y *Azospirillum* en cultivos de maíz (*Zea mays*) de dos sitios del Estado de México. D.F., México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Arroyo AV, Martínez GM. 1998.** Efecto de las micorrizas vesículo-arbusculares (VA) en cultivos de maíz en dos sitios del Estado de México. En: Zuleta RR, Escaloma AMA, Trejo AD, eds. *Avances de la Investigación micorrízica en México*. Veracruz, México: Universidad Veracruzana, 201-215.
- Atlas RM, Bartha R.1998.** *Microbial Ecology, fundamentals and applications, 4ta ed.* USA: Addison Wesley Longman.
- Azaizeh HA, Marschner H, Römheld V, Wittenmayer L. 1995.** Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and other soil microorganisms on growth, mineral nutrient acquisition and root exudation of soil-grown maize plants. *Mycorrhiza* **5**: 321-327.
- Azcón R. 2000.** Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. En: Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, eds. *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular*. D.F., México: Mundi-Prensa y Colegio de Postgraduados, 1-15.
- Azcón-Aguilar C, Barea JM. 1996.** Interacciones de las micorrizas arbusculares con microorganismos de la rizosfera. En: Guerrero FE, ed. *Micorrizas, Recurso Biológico del Suelo*. Bogotá, Colombia: Fondo FEN Colombia, 47-68.

- Bago B, Azcón-Aguilar C, Sachar-Hill Y, Pfeffer PE. 2000.** El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. *En: Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, eds. Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular.* D.F., México: Mundi-Prensa y Colegio de Postgraduados, 78-92.
- Bago B, Pfeffer P, Shachar-Hill Y. 2001.** Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis?. *New Phytologist* **149**: 4-8.
- Bashan Y, E de Bashan L. 2002.** Protection of Tomato Seedlings against Infection by *Pseudomonas syringae* pv. Tomato by Using the plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum brasilense* *Applied and Environmental Microbiology* **68**: 2637-2643.
- Bashan, Y, y H. Levanony. 1989.** Factors affecting adsorption of *Azospirillum brasilense* Cd to roots hairs as compared with root surface of wheat. *Can. J. Microbiol.* **35**: 936-944.
- Bashan, Y. y H. Levanony. 1990.** Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* **36**: 591-608.
- Bashan, Y., G. Holguin y R. Ferrera-Cerrato. 1996.** Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. *Terra* **14**(2):159-194
- Bécard G, Doner LW, Rolin DB, Douds DD, Pfeffer PE. 1991.** Identification and quantification of trehalose in vesicular-arbuscular fungi by *in vivo* ¹³C NMR and HPLC analyses. *New Phytologist* **118**: 547-552.
- Benton JJ, Wolf B. 1984.** *Manual soil testing procedure using modified (Wolf) Morgan Extracting Reagent.* Georgia, USA: Benton Laboratories, Inc.
- Benton JJ, Wolf B, Mills HA. 1991.** *Plant analysis handbook: A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide.* Georgia, USA: Micro macro Publishing, Inc.
- Bernal MP, Sánchez-Monedero MA, Paredes C, Roig A. 1998.** Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during incubation with soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **69**: 175-189
- Black CA. 1975.** *Relaciones suelo-planta.* Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur.
- Boddington CL, Dodd JC. 2000a.** The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil* **218**: 137-144.
- Boddington CL, Dodd JC. 2000b.** The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. II. Studies in experimental microcosms. *Plant and Soil* **218**: 145-157.
- Bray RH, Kurtz LT. 1945.** Determination of total, organic and available phosphorus in soil. *Soil Science* **59**: 39-45.
- Brinson SE, Cabrera ML, Tyson SC. 1994.** Ammonia volatilization from surface-applied, fresh and composted poultry litter. *Plant and Soil* **167**: 213-218.
- Burleigh S. H, Cavagnaro T, Jakobsen I. 2002** Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1593-1601.
- Cajuste LJ. 1977.** *Química de suelos con un enfoque agrícola.* Estado de México, México: Colegio de Postgraduados y Universidad Autónoma Chapingo.

- Cepeda-Dovala JM. 1991.** *Química de suelos, 2da ed.* D.F., México: Trillas.
- Chapman HD, Pratt PF. 1979.** *Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas.* D.F., México: Trillas.
- Cliquet JB, Murray PJ, Boucaud J. 1997.** Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* on the uptake of amino nitrogen by *Lolium perenne*. *New Phytologist* **137**: 345-349.
- Cliquet JB, Stewart GR. 1993.** Ammonia assimilation in maize infected with the VAM fungus *Glomus fasciculatum*. *Plant Physiology* **101**: 65-71.
- Cooper KM, Tinker PB. 1981.** Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. IV. Effect of environmental variables on movement of phosphorus. *New Phytologist* **88**: 327-339.
- Corlay-Chee L, García CR, Ferrera-Cerrato R. 2000.** Aplicación de composta y micorriza arbuscular en cebolla establecida en tepetate. En: Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, eds. *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular.* D.F., México: Mundi-Prensa y Colegio de Postgraduados, 179-183.
- Cottenie A. 1980.** *Los análisis de suelos y plantas como base para formular recomendaciones sobre fertilizantes.* Roma, Italia: Boletín de Suelos de la FAO.
- Cruz FG, Hernández CG. 1996.** Necesidades de cal en suelos de la Subprovincia Fisiográfica "Mil Cumbres" correspondiente al Estado de México. En: Chaparro OVM, Alcántar GG, Barrales CC, eds. *La Investigación Edafológica en México 1995-1996. Memorias del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo.* Sonora, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, 228.
- Cruz-Flores G, Avilés MS, Cortés CJC. 1998.** Estudio de adaptabilidad del triticale a diferentes dosis de calcio y fósforo en Andisoles. *Terra* **16**: 63-69
- CSTPA (Council on Soil Testing and Plant Analysis) 1980.** *Handbook reference methods for soil testing.* Georgia, USA: CSTPA.
- Dalzell HW, Biddlestone AJ, Gray KR, Thurairajan K. 1991.** *Manejo del suelo: producción y uso del composte en ambientes tropicales y subtropicales.* Boletín de Suelos de la FAO No. 56. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Dimas López J, Díaz EA, Martínez RE, Valdez CRD. 2001** *Abonos Orgánicos y su Efecto en Propiedades Físicas y Químicas del suelo y rendimiento en Maíz.* *Terra* **194**:293-299.
- Douds Jr. DD, Galvez L, Franke-Snyder M, Reider C, Drinkwater LE. 1997.** Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **65**: 257-266.
- Egawa T. 1980.** Propiedades de los suelos derivados de cenizas volcánicas. En: *Suelos derivados de cenizas volcánicas en Japón.* Estado de México, México: CIMMYT.
- Eghball B. 2000.** Nitrogen mineralization from field-applied beef cattle feedlot manure or compost. *Soil Science Society American Journal* **64**: 2024-2030.
- Eghball B, Power JF. 1999.** Phosphorus -and nitrogen- based manure and compost applications. *Soil Science Society American Journal* **63**: 895-901.
- Eriksen GN, Coale FJ, Bollero GA. 1999.** Soil nitrogen dynamics and maize production in municipal solid waste amended soil. *Agronomy Journal* **91**: 1009-1016.

- Espinosa-Victoria D. 2000.** Diálogo molecular: hongo micorrízico arbuscular-raíz. *En: Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, eds. Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular.* D.F., México: Mundi-Prensa y Colegio de Postgraduados, 93-116.
- Etchevers BJD, Espinoza GW, Riquelme E. 1995.** *Manual de Fertilidad y Fertilizantes, 2da ed.* Chillán, Chile: Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía.
- FAO. 1994.** *World reference base for soil resources.* Roma, Italia: International Society of Soil Science, International Soil Reference and Information Centre, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fassbender HW, Bornemisza E. 1987.** *Química de Suelos, con énfasis en suelos de América Latina.* San José, Costa Rica: Servicio Editorial IICA.
- Foth HD. 1992.** *Fundamentos de la ciencia del suelo, 3ra ed.* D.F., México: Compañía Editorial Continental S.A.
- Frey B, Shüepf H. 1993.** Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist* **124**: 221-230.
- Gandoy BW. 1991.** *Manual de laboratorio para el manejo físico de suelos.* Estado de México, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Gaucher G. 1971.** *El suelo y sus características agronómicas.* Barcelona, España: Omega.
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S. 1983.** The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots. *Plant and Soil* **71**: 197-209.
- Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S. 1989.** Cellular and genetical aspects of interactions between host and fungal symbionts in mycorrhizae. *Genome* **31**: 336-341.
- Giovanetti M, Mosse B. 1980.** An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* **84**: 489-500.
- Golden B, Penninckx M, Piérard A, Lannoye R. 1983.** Evolution of cattle manure. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* **17**: 306-310.
- González CHC, Ferrera-Cerrato R. 1989.** Estudio comparativo de la endomicorriza V-A en el cultivo de maíz en la zona centro y sur de la República Mexicana. *En: Vergara SMA, Alcantar GG, Aguilar SA, eds. La Investigación Edafológica en México 1988-1989. Memorias del XXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo.* México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, 156.
- Guerrero FE. 1996.** Micorriza. Fundamentos biológicos y estado del arte. *En: Guerrero FE, ed. Micorrizas, Recurso Biológico del Suelo.* Bogotá, Colombia: Fondo FEN Colombia, 3-46.
- Guzmán RAP, Ferrera-Cerrato R. 1990.** *La endomicorriza vesículo-arbuscular en las leguminosas.* Estado de México, México: Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados.
- Harrison MJ, van Buuren ML. 1995.** A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature* **378**: 626-629.
- Harrison MJ. 1997.** The arbuscular mycorrhizal symbiosis: an underground association. *Trends in Plant Science* **2**: 54-60.
- Hawkins HJ, Johansen A, George E. 2000.** Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* **226**: 275-285.
- Hayman DS. 1983.** The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany* **61**: 944-963.

- Hepper CM, Warner A. 1983.** Role of organic matter in growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil. *Transactions of the British Mycological Society* **81**: 155-156.
- Hernández CG, Cruz FG, Flores RD, Valera PMA, Molina GE. 1996.** Estado de fertilidad del suelo de la subprovincia de Mil Cumbres correspondientes al Estado de México. En: Chaparro OVM, Alcántar GG, Barrales CC, eds. *La Investigación Edafológica en México 1995-1996. Memorias del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Sonora, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, 191.
- Herrera RA, Rodríguez A, Furrázola E. 1986.** Método para determinar la biomasa de micelio extramatricial vesículo-arbuscular. En: Informe Provisional No. 18. Ciclo Lectivo sobre el Tema Técnicas de Investigación en Micorrizas. Estocolmo, Suecia: International Foundation of Science, 197-207.
- Hodge A. 2000.** Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. *FEMS Microbiology Ecology* **32**: 91-96.
- Hodge A. 2001.** Arbuscular mycorrhizal fungi influence decomposition of, but not plant nutrient capture from, glycine patches in soil. *New Phytologist* **151**: 725-734.
- Hodge A, Robinson D, Fitter AH. 2000.** An arbuscular mycorrhizal inoculum enhances root proliferation in, but not nitrogen capture from, nutrient-rich patches in soil. *New Phytologist* **145**: 575-584.
- INEGI. 1990.** Carta Topográfica Villa de Allende E14A36. Escala 1:50 000. México.
- INEGI. 2002.** <http://www.inegi.gob.mx/difusion/espanol/figconsint.html>
- Ishii K, Fukui M, Takii S. 2000.** Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology* **89**: 768-777.
- Ivanoff DB, Reddy KR, Robinson S. 1998.** Chemical fractionation of organic phosphorus in selected Histosols. *Soil Science* **163**: 3645-3654.
- Jackson ML. 1982.** *Análisis químico de suelos, 4ta ed.* Barcelona, España: Omega.
- Jakobsen I, Gazey C, Abbott LK. 2001.** Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. *New Phytologist* **149**: 95-103.
- Jayachandran K, Schwab AP, Hetrick BAD. 1992.** Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* **24**: 897-903.
- Jeavons J. 1991.** Composta. En: Derrick T, ed. *Biointensivo de Alimentos*. D.F., México: 38-52.
- Jolicoeur M, Germette S, Gaudette M, Perrier M, Bécard G. 1998.** Intracellular pH in arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Plant Physiology* **116**: 1279-1288.
- Joner E, Jakobsen I. 1995.** Uptake of ³²P from labelled organic matter by mycorrhizal and non-mycorrhizal subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Plant and Soil* **172**: 221-227.
- Joner EJ. 2000.** The effect of long-term fertilization with organic or inorganic fertilizers on mycorrhiza-mediated phosphorus uptake in subterranean clover. *Biology and Fertility of Soils* **32**: 435-440.
- Kabir Z, O'Halloran IP, Fyles JW, Hamel C. 1997.** Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. *Plant and Soil* **192**: 285-293.

- Kaldorf M, Ludwing-Müller J. 2000.** AM fungi might affect the root morphology of maize by increasing indole-3-butyric acid biosynthesis. *Physiologia Plantarum* **109**: 58-67.
- Liu A, Hamel C, Hamilton RI, Ma BL. 2000.** Acquisition of Cu, Zn, Mn, and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* **9**: 331-336.
- López-Mtz. J, Estrada A, Martínez RE, Valdes CRD. 2001.** Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en maíz. *Terra* **19**: 293-299.
- de Magalhaes JV, Alves VM, de Novais RD, Mosquim PR, Magalhaes JR, Filho AF, Huber DM. 2000.** Influence of phosphorus stress on ammonium uptake by maize. *Journal of Plant Nutrition* **23**: 263-273.
- Marschner H. 1995.** *Mineral nutrition of higher plants*. London, UK: Academic Press.
- Martínez GM, Arroyo AV, Sánchez-Colín MJ. 1996.** Doble inoculación: endomicorriza V-A y *Azospirillum* en maíz de dos sitios del Estado de México. *En: Chaparro OVM, Alcántar GG, Barrales CC, eds. La Investigación Edafológica en México 1995-1996. Memorias del XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo.* Sonora, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, 113.
- Moreno DR. 1978.** *Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrimentos asimilables*. D.F., México: INIA-SARH.
- Morton JB, Bentivenga SP. 1994.** Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic group. *Plant and Soil* **159**: 47-60.
- Mosse B, Hepper CM. 1975.** Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ cultures. *Physiology Plant and Pathology* **5**: 215-223.
- Mullen MD. 1999.** Transformations of other elements. *En: Sylvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer DA, eds. Principles and Applications of Soil Microbiology.* New Jersey, USA: Prentice Hall, 369-377.
- Murphy JG, Rafferty SM, Cassells AC. 2000.** Stimulation of wild strawberry (*Fragaria vesca*) arbuscular mycorrhizas by addition of shellfish waste to the growth substrate: interaction between mycorrhization, substrate amendment and susceptibility to red core (*Phytophthora fragariae*). *Applied Soil Ecology* **15**: 153-158.
- Noyd RK, Plegler FL, Norland MR. 1996.** Field responses to added organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi, and fertilizer in reclamation to taconite iron ore tailing. *Plant and Soil* **179**: 89-97.
- Oehl F, Oberson A, Sinaj S, Frossard E. 2001.** Organic Phosphorus Mineralization Studies using Isotopic Dilution Techniques. *Soil Science Society of America Journal* **65**: 780-787.
- Ortega, R.S.E. 1989.** Aspectos fisiológicos y bioquímicos de *Azospirillum* sp. y su importancia en la agricultura. *Tesis de Licenciatura Facultad de Química, UNAM.* D.F., México.
- Ortiz SCA, Pájaro HD, Gutiérrez CMC. 1990.** *Introducción a la Leyenda del Mapa Mundial de Suelos: FAO - UNESCO versión 1988.* Estado de México, México: Colegio de Postgraduados.

- Palacios MS, González QE. 1998.** The impact of agricultural management on indigenous arbuscular mycorrhizal fungus population in three agroecosystems in a calcaric Phaeozem from the State of Morelos, México. Second International Conference on Mycorrhiza, Uppsala, Sweden.
- Peng S, Eissenstat DM, Graham JH, Williams K, Hodge NC. 1993.** Growth depression in mycorrhizal citrus at high phosphorus supply – Analysis of carbon costs. *Plant Physiology* **101**: 1063-1071.
- Pfeffer PE, Douds Jr. DD, Bécard G, Shachar-Hill Y. 1999.** Carbon Uptake and the metabolism and transport of lipids in an Arbuscular Mycorrhiza. *Plant Physiology* **120**: 587-598.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970.** Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* **55**: 158-161.
- PPI (Potash & Phosphate Institute). 1997.** *Manual Internacional de Fertilidad de Suelos*. Querétaro, México: Potash & Phosphate Institute.
- Porta CJ, López-Acevedo RM, Roquero LC. 1994.** *Edafología*. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Portilla CI, Molina GE, Cruz-Flores G, Ortiz MI, Manske GGB. 1998.** Colonización micorrízica arbuscular, actividad fosfatásica y longitud radical como respuesta a estrés de fósforo en trigo y triticale cultivados en un Andisol. *Terra* **16**: 55-61.
- Quintero-Ramos M, Espinoza-Victoria D, Ferrera-Cerrato R, Bethlenfalvay GJ. 1993.** Fitting plants to soil through mycorrhizal fungi: Mycorrhiza effects on plant growth and soil organic matter. *Biology and Fertility of Soils* **15**: 103-106.
- Ravnskov S, Larsen J, Olsson PA, Jakobsen I. 1999.** Effects of various organic compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* **141**: 517-524.
- Reyes CP. 1992.** *Diseño de experimentos aplicados, 3ra ed.* México: Trillas.
- Richards BN. 1987.** *The microbiology of terrestrial ecosystems*. New York, USA: Longman Scientific and Technical.
- Rodríguez, S.F. 1999.** Fertilizantes y Nutrición Vegetal. Edit. AGT Editor. México.
- Ruiz BA, Ortega TE. 1979.** *Química de suelos: Prácticas de Laboratorio*. Estado de México, México: Patronato de la Universidad Autónoma Chapingo.
- Saggar S, Yeates GW, Shepherd TG. 2001.** Cultivation effects on soil biological properties, microfauna and organic matter dynamics in Eutric Gleysol and Gleyic Luvisol soils in New Zealand. *Soil Tillage Research* **58**: 55-68.
- Sáinz MJ, Taboada-Castro MT, Vilarino A. 1998.** Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant and Soil* **205**: 85-92.
- Sánchez-Colín MJ. 2001.** Memorias del curso teórico-práctico: *Las Micorrizas, simbiosis importante en la sostenibilidad de los ecosistemas terrestres*. D.F., México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza –Campus II–. Impartido del 9 al 12 de octubre.
- SAS. 1987.** Statistical Analysis System Setup. SAS Institute Cray, NC. USA.
- Schnürer J, Clarholm M, Rosswall T. 1985.** Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biology and Biochemistry* **17**: 611-618.

- Schweiger PF, Thingstrup I, Jakobsen I. 1999.** Comparison of two test systems for measuring plant phosphorus uptake via arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* **8**: 207-213.
- el-Shatnawi MKJ, Makhadmeh IM. 2001.** Ecophysiology of the Plant-Rhizosphere System. *Journal of Agronomy and Crop Science* **187**: 1-9.
- Sieverding E. 1991.** *Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Germany: Deutsche Gesellschaft.
- Sikora LJ, Enkiri NK. 2000.** Efficiency of compost-fertilizer blends compared with fertilizer alone. *Soil Science* **165**: 444-451.
- Sikora LJ, Enkiri NK. 2001.** Uptake of ¹⁵N fertilizer in compost-amended soils. *Plant and Soil* **235**: 65-73.
- Soedarjo M, Habte M. 1993.** Vesicular-arbuscular mycorrhizal effectiveness in an acid soil amended with organic matter. *Plant and Soil* **149**: 197-203.
- Solaiman MZ, Saito M. 2001.** Phosphate efflux from intraradical hyphae of *Gigaspora margarita* in vitro and its implication for phosphorus translocation. *New Phytologist* **151**: 525-533.
- St. John TV, Coleman DC, Reid CPP. 1983.** Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic matter. *Ecology* **64**: 957-959.
- Subramanian KS, Charest C. 1999.** Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. *Mycorrhiza* **9**: 69-75.
- Tanaka A. 1980.** Problemas nutricionales y el uso de fertilizantes. En: *Suelos derivados de cenizas volcánicas en Japón*. Estado de México, México: CIMMYT, 305-332.
- Tarrand, J.J., N.R. Krieg y J. Döbereiner. 1978.** A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. Nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. Nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. *Can. J. Microbiol.* **24**:967-980.
- Thompson, L.M. y F.R. Troeh. 1982.** Los suelos y su fertilidad. 4ta. Ed. *Reverté*. Barcelona, España.
- Tien, T.M., M.H. Gaskins y D.H. Hubbell. 1979.** Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* **37**(5):1016-1024.
- Tinker PB, Durrall DM, Jones MD. 1994.** Carbon use efficiency in mycorrhizas: theory and sample calculations. *New Phytologist* **128**: 115-122.
- Tisdale SL, Nelson WL. 1987.** *Fertilidad de los suelos y fertilizantes*. D.F., México: Hispanoamericana.
- UNESCO, 1990.** Key to soil Taxonomy by Soil Survey Staff. SMSS technical monograph No. 19. Fourth Edition. Virginia Polytechnic Institute and State University, U.S.A.
- Vergara SMA. 1992.** *Problemas nutrimentales y el uso de fertilizantes en Andosoles*. Estado de México, México: Universidad Autónoma Chapingo.
- Villarreal, R.M., R. Ferrera-Cerrato., V.H. Volke y A. Hernández. 1990.** Doble inoculación de *Azospirillum* sp. y Endomicorriza (V-A) en trigo (*Triticum aestivum* L.). In: *La Investigación Edafológica en México 1989-1990. Memorias del XXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*. A. Aguilar S., G. Alcántar G. y J. Etchevers B. (Eds). Comarca Lagunera, México. p 154.

- Willson TC, Paul EA, Harwood RR. 2001.** Biologically active soil organic matter fractions in sustainable cropping systems. *Applied Soil Ecology* **16**: 63-76.
- Weier, K.L. 1980** Nitrogen Fixation associated with grasses. *Tropicals Grasslands*. 14(3):194-201.
- White J.R, Reddy K.R. 2000.** Influence of Phosphorus loading on Organic Nitrogen Mineralization of Everglades Soils. *Soil Science Society of America Journal* **64**:1525-1534.