



*Universidad Nacional  
Autónoma de México*

---

*Facultad de Química*

*EFEECTO DE LA INOCULACION DE ENDOMICO-  
RRIZAS Y FOSFOBACTERIAS EN PLANTAS DE  
CEBOLLA*

*T E S I S*

*Que para obtener el Título de  
Químico Farmacéutico Biólogo  
p r e s e n t a*

*Gloria Leonor Gómez de la Serna*

*México, D. F.*

*1986*



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 está 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.



JURADO ASIGNADO

EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

PRESIDENTE	PROF. ALFREDO ECHEGARAY ALEMAN
VOCAL	PROF. ROSA MA. RAMIREZ GAMA
SECRETARIO	PROF. BISERKA SVESHTAROVA PEKARKOVA
1er. SUPLENTE	PROF. BEATRIZ LUNA MILLAN
2o. SUPLENTE	PROF. SERGIO PALACIOS MALLORGA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA EXPERIMENTAL. FACULTAD  
DE QUIMICA UNAM

ASESOR DE TEMA

  
M. EN C. ROSA MA. RAMIREZ GAMA

SUSTENTANTE

  
GLORIA LEONOR GOMEZ DE LA SERNA

**EFECTO DE LA INOCULACION DE ENDOMICORRIZAS  
Y FOSFOBACTERIAS EN PLANTAS DE CEBOLLA**

**INDICE**

<b>CAPITULO I: INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO II: REVISION DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
<b>2.1 ASPECTOS GENERALES</b>	<b>3</b>
<b>2.2 MICORRIZAS</b>	<b>8</b>
2.2.1 DEFINICION DE MICORRIZA	8
2.2.2 TIPOS DE MICORRIZA	9
2.2.3 CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS MVA	13
2.2.4 MORFOLOGIA DE LAS MVA	13
2.2.4.1 Esporas	14
2.2.4.2 Hifas	17
2.2.4.3 Arbúsculos	17
2.2.4.4 Vesículas	18
2.2.5 PROCESO DE INFECCION DE LAS MVA	18
2.2.6 FISIOLOGIA DE LAS MVA	20
2.2.6.1 Mecanismos de transporte de fósforo del suelo-simbiosis	20
2.2.6.2 Mecanismos de intercambio de carbo hidratos y fosfatos entre las MVA y el hospedero	24
2.2.6.3 Mecanismos de translocación de fos- fatos dentro del hongo	26
2.2.6.4 Función específica de las partes -- constitutivas de los hongos micorrízicos	26



2.2.6.4.1	Esporas	27
2.2.6.4.2	Hifas	27
2.2.6.4.3	Arbúsculos	27
2.2.6.4.4	Vesículas	28
2.2.7	FACTORES ECOLOGICOS QUE AFECTAN A LAS MVA	29
2.2.7.1	Intensidad de luz	29
2.2.7.2	Temperatura	31
2.2.7.3	Suelo	33
2.2.7.4	Fotoperíodo	34
2.2.7.5	Fósforo disponible	34
2.2.8	HORMONAS VEGETALES	35
2.2.9	ASPECTOS AGRONOMICOS	35
2.3	FOSFORO	37
2.3.1	EL FOSFORO EN EL SUELO Y SU EFECTO EN EL - CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS	37
2.3.1.1	Condición de los nutrimentos para ser absorbidos	37
2.3.1.2	Compuestos del fósforo en el suelo	38
2.3.1.3	Papel del fósforo en la nutrición vegetal	42
2.3.1.4	Efecto del fósforo en el crecimiento de - las plantas	43
2.3.1.5	Síntomas de deficiencia de fósforo	44
2.3.2	Ciclo del fósforo y el ecosistema	44
2.4	FOSFOBACTERIAS	46
2.4.1	DEFINICION DE FOSFOBACTERIAS	46
2.4.2	TIPOS DE FOSFOBACTERIAS	47
2.4.3	TAXONOMIA DE FOSFOBACTERIAS	47
2.4.4	FISIOLOGIA DE FOSFOBACTERIAS	50
2.4.4.1	Solubilización de fósforo inorgánico	50
2.4.4.2	Producción de fitohormonas	52
2.4.4.3	Mineralización de fósforo orgánico	53
2.4.4.4	Inmovilización	54
2.4.4.5	Reacciones de óxido-reducción	55

2.4.5 Factores ecológicos que afectan a las fosfobacterias.	55
2.4.6 Importancia de las fosfobacterias en la agronomía.	55
2.5 INTERACCION DE LAS MVA Y FOSFOBACTERIAS.	60
CAPITULO III: OBJETIVOS.	65
CAPITULO IV: MATERIALES Y METODOS.	66
4.1 SUELO.	66
4.1.1 Muestreo de suelo.	66
4.1.2 Determinaciones físicas y químicas del suelo.	67
4.2 PLANTAS DE ENSAYO.	67
4.3 INOCULANTES.	68
4.3.1 Fosfobacterias.	68
4.3.2 Micorrizas.	68
4.4 FERTILIZANTE.	68
4.5 MACETAS.	69
4.6 MONTAJE DEL EXPERIMENTO Y SIEMBRA.	69
4.7 DISEÑO DEL EXPERIMENTO Y PLANTEAMIENTO ESTADISTICO.	72
4.8 CONDICIONES DE CULTIVO.	76
4.9 FUNDAMENTO DE ALGUNAS DETERMINACIONES.	76
4.9.1 Determinación del fósforo disponible en el suelo.	76
4.9.2 Determinación del fósforo total en plantas y suelo.	77
4.9.3 Determinación del Porcentaje de infección micorrizica.	78
CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSION.	81
CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	128

CAPITULO VII: RESUMEN.	130
CAPITULO VIII: BIBLIOGRAFIA.	132
APENDICE I.	140

## CAPITULO PRIMERO

### INTRODUCCION

En la agricultura la deficiencia del fósforo se ha solucionado básicamente con la aplicación de fertilizantes fosforados, sin embargo gran parte del fósforo adicionado en suelos con ciertas características es fijado, lo que determina una demanda de fertilizante mayor para mantener su productividad.

Los suelos en los que se presentan problemas de fijación de fósforo corresponden a aquéllos clasificados como andosoles, planosoles, acrisoles, yernosoles, xerosoles, ferransoles y rendzinas; de ellos los andosoles ocupan una amplia superficie en nuestro país existiendo áreas menores pero importantes de los otros grandes grupos de suelos.

La disponibilidad de fósforo y de otros nutrimentos está condicionada en gran parte por la actividad de la microflora del suelo de tal manera que el empleo de microorganismos del suelo como fertilizantes de plantas cultivadas es una práctica muy extendida en diversos países, sobre todo del Este de Europa. Fundamentalmente destaca la inoculación de suelos ó semillas con microorganismos movilizadores del fósforo y fijadores de nitrógeno atmosférico.

En ensayos de invernadero se ha puesto de manifiesto la posibilidad de que las fosfobacterias solubilicen iones fosfato en la rizósfera e incluso, actualmente, se ha concedido mucha importancia a la síntesis de sustancias fitohormonales por bacterias de la rizósfera siendo ésta una forma de acción importante de las fosfobacterias. Por otro lado es sabido que las plantas micorrizadas asimilan mayor cantidad de fósforo que las no

micorrizadas en suelos donde este elemento no está disponible y a pesar de que existe una literatura muy extensa sobre micorrizas, no se ha prestado la suficiente atención a la inoculación conjunta de micorrizas vesículo-arbusculares y fosfobacterias.

En vista de estos hechos es de benéfica utilidad ensayar la actividad de la interacción entre las micorrizas vesículo-arbusculares y fosfobacterias sobre el crecimiento y nutrición de los vegetales. En la búsqueda de una aplicación de estos fertilizantes microbianos en México, se realizan en el Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química una serie de estudios en este campo de la investigación, entre los cuales se encuentra este trabajo que pretende, además de aplicar el uso del fertilizante doble, antes mencionado, y observar su efecto, la utilización de éste en un suelo natural (no estéril) para investigar la acción de los microorganismos inoculados en competencia con la flora nativa. Además teniendo en cuenta, no sólo el elevado costo de los fertilizantes fosforados, sino también el problema que plantea la rápida fijación del fósforo en suelos neutroalcalinos, se estudia el efecto combinado de la inoculación y la roca fosfórica en un suelo deficiente de fósforo disponible, los que se encuentran ampliamente distribuidos en nuestro país.

Este trabajo también intenta poner al alcance de la comunidad de la Facultad de Química, estudiosa en el campo de la Microbiología Agrícola, una breve síntesis de aspectos relacionados con las micorrizas y las fosfobacterias y sus interacciones con el medio ambiente, ya que en nuestra Facultad es escasa la información disponible sobre estos aspectos que son de gran importancia para el estudio de esta materia.

## CAPITULO SEGUNDO REVISION DE LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS GENERALES.

Hace unos 400 millones de años, las plantas comenzaron a colonizar la superficie terrestre, hecho importante en la evolución de los seres vivos. Mediante su capacidad fotosintética, los vegetales transforman la energía solar en energía química - utilizable por otros organismos. Para llevar a cabo tal actividad, aquellas primeras plantas requerían, como las actuales, -- una serie de nutrimentos que deberían captar de la atmósfera -- ( $CO_2$ ) y del suelo ( $CO_2$ , nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, -- manganeso, hierro, etc.).

En la actualidad se acepta que las algas verdes dieron origen a las plantas. Esto se debió a que cambiaron su habitat acuático a uno seco y de aquí fueron evolucionando hasta convertirse en los vegetales superiores actuales. Las primeras plantas terrestres pudieron sobrevivir gracias a la asociación de - las algas con microorganismos, permitiendo de esta forma poder captar los elementos minerales necesarios para su nutrición. - Un ejemplo de estas primeras asociaciones es la llamada micorri za.

La micorriza es una simbiosis mutualista entre las hifas de algunos hongos y las raíces de plantas superiores de - - aquí que su nombre se derive de las raíces griegas: Mikes-Hongo y Rhiza-Raíz.

La planta suministra al hongo fuentes de carbono procedentes de los productos de la fotosíntesis y un nicho ecológico que lo protege de los fenómenos de antagonismo microbiano en la

rizófera. Por su parte, el hongo ayuda a la planta a absorber los nutrimentos minerales necesarios para su desarrollo. Es sabido que las hifas del hongo desarrollado en la raíz de la planta, emergen y ejercen un papel muy importante en la translocación de iones fosfato hacia la planta, por lo que, en suelos con un contenido bajo de fósforo asimilable, las micorrizas representan una contribución fundamental para la economía nutritiva de la planta.

La vida en nuestro planeta no sería posible sin la existencia de bacterias cuya intervención es de capital importancia para la descomposición de la materia orgánica muerta, facilitando su incorporación al suelo, mar y atmósfera, además del primordial papel que desempeñan los microorganismos en la alimentación de las plantas.

Efectivamente la presencia de una población microbiana activa es suficiente para establecer la diferencia al menos en parte, entre un terreno fértil y una simple aglomeración de partículas rocosas. Gracias a la presencia de las bacterias, el hombre aprovecha sus capacidades para incrementar la fertilidad del suelo; por este motivo se han efectuado numerosos estudios acerca de las bacterias del fósforo o fosfobacterias ya que éste es uno de los elementos indispensables para el desarrollo vegetal y como se mencionó anteriormente es escaso en forma asimilable.

Las fosfobacterias son organismos cuya acción radica en la transformación de sustancias fosfatadas en compuestos asimilables para las plantas. Para que este proceso tenga lugar existen diferentes mecanismos como son la solubilización, mineralización y reacciones de óxido-reducción que serán estudiadas posteriormente.

Con respecto al vegetal en estudio, la cebolla (Allium cepa) es una planta bianual de la familia de las Liliáceas. Su tallo es subterráneo en forma de disco y las hojas que lo cubren forman un bulbo esférico algo oblongo. Las raíces son fasciculadas y nacen en la base del tallo. Las hojas que emergen del cuello son envainadoras, fistulosas en la base y acanaladas en la parte libre. En el segundo año aparece el escapo final hueco; en su extremo nacen pequeñas flores blancas dispuestas en forma de umbela. Las semillas son pequeñas, irregulares, angulares, rugosas y generalmente negras. En el siguiente cuadro se sintetiza el valor nutritivo de la cebolla:

Composición de la cebolla determinada en 100 g de peso seco (55):

carbohidratos	8.7 g
proteínas	1.5 g
grasa	0.1 g
fibra	0.6 g
ácido ascórbico	0.01 g
niacina	0.2 mg
riboflavina	40.0 mcg
tiamina	30.0 mcg
vitamina A	40.0 mcg

La cebolla es ampliamente consumida en su estado natural o deshidratada como saborizante y complemento esencial en cocina.

Para el desarrollo óptimo de un cultivo se requiere que los suelos sean fértiles y productivos. Por suelo fértil se entiende aquí que contiene cantidades suficientes y balanceadas de todos los nutrimentos que la planta obtiene de la fracción mineral y orgánica además debe estar razonablemente



libre de sustancias tóxicas que limitan el crecimiento y tener propiedades físicas satisfactorias. Un suelo productivo es - - aquel que siendo fértil se encuentra localizado en una zona climática que le proporciona suficiente humedad, luz y calor para el desarrollo normal de las plantas. En nuestro país existen - extensas zonas con problemas de disponibilidad de fósforo ya -- sea por su origen o por las características físicas y químicas que adquiere durante su formación como son pH, aireación del -- suelo, compactación del suelo, humedad, contenido de materia orgánica o porque entre más intensa y prolongadamente se cultive un suelo, mayor es la necesidad de aplicar abonos y fertilizantes.

La importancia de la disponibilidad de fósforo para la planta radica en que es un elemento esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas, ya que se asocia a funciones vitales. Dadas las enormes cantidades de fosfatos requeridas para la fertilización de cultivos, resulta de vital importancia poder obtenerlos a bajo costo y que una vez aplicados sean aprovechados por la planta ya que muchas veces debido a las condiciones del suelo son adsorbidos ó precipitados. Afortunadamente, - se han encontrado en diversos lugares yacimientos importantes - de un mineral rico en fosfato de calcio llamado roca fosfórica. Los principales yacimientos dentro de la República Mexicana son los que se localizan en Mazapil y Concepción del Oro en el Estado de Zacatecas; en el Topo cerca de la Ciudad de Monterrey. - Estado de Nuevo León; en la Sierra de Minas Viejas, Municipio - de Lampazos y en Rincón de Arizmendi, Municipio de Sabinas, Estado de Hidalgo. Fuera de la República Mexicana existen grandes yacimientos: en el Norte de Africa en Argelia, Tunes y Egipto, así como los de Estados Unidos en Florida, Tennessee, Utah, Wyoming, Idaho y Montana.

En los depósitos de roca fosfórica, ésta se encuentra en forma de grandes rocas por lo que debe ser molida para su --



B) Superfosfato triple.- El contenido de  $P_2O_5$  va del 44 al 52%. Su concentración más alta en fósforo le hace más atractivo por reducir costos de transporte, almacenamiento y manejo. Se usa en mezclas o aplicación directa al suelo. La reacción de obtención es:



C) Superfosfato enriquecido.- Contiene del 25 al 30% de  $P_2O_5$ . Se obtiene al tratar roca fosfórica con una mezcla de ácido sulfúrico y ácido fosfórico.

Como se observa, el proceso usual para la producción de fertilizantes fosforados es tratando la roca fosfórica con ácido sulfúrico o fosfórico con lo que se tiene un aumento en la solubilidad del fosfato, pero el costo del ácido causa un aumento en el costo por unidad de nutrimento por lo que sería ideal el uso de la roca fosfórica pulverizada sin tratamientos químicos subsecuentes para fertilización de suelos.

## 2.2 MICORRIZAS.

### 2.2.1 Definición de micorriza.

En estudios realizados por diversos microbiólogos se ha observado que los sistemas radiculares de las plantas de hábitats naturales se muestran, generalmente, asociados a cierta clase de micelios. Las hifas y el tejido celular en asociación forman estructuras llamadas micorrizas que varían en estructura y composición de acuerdo a la especie de hospedero, hongo y condiciones del hábitat. Las raíces proporcionan nichos ecológicos especializados en donde el hongo encuentra algunos o todos los requerimientos esenciales para su desarrollo. El movimiento continuo de sustancias dentro y fuera - - -

del tejido vivo, la pérdida de células envejecidas son resultado del crecimiento y metabolismo que se combinan para hacer a estos órganos subterráneos de plantas superiores, habitats con propiedades especiales. Estas superficies y tejidos de la planta se convierten en consecuencia en sitios de desarrollo activo de micelio y en poblaciones de hongos que tienen una constitución y actividad específica. La proximidad de estos organismos fúngicos a los órganos de absorción de sustancias nutritivas de la planta superior, permiten que haya una influencia más directa y eficaz en el crecimiento y actividad del hospedero que la proporcionada por otros organismos del suelo.

Por otra parte, el micelio externo de los endofitos actúa como una red de absorción que explora en el suelo alrededor de la raíz pudiendo llegar a regiones en donde la raíz no alcanzaría a llegar por sí sola para el consumo de nutrimentos de fósforo (principalmente) además de potasio, cinc, calcio, cobre, fierro, magnesio (57).

En conclusión podemos definir a la micorriza como la simbiosis mutualista entre las hifas de ciertos hongos y las raíces de plantas superiores.

### 2.2.2 Tipos de Micorrizas.

Las micorrizas se han clasificado en base a su estructura y morfología en 3 grandes grupos:

- A) Ectomicorrizas.
- B) Endomicorrizas.
- C) Ecto-endomicorrizas.

Las características que las diferencian son las si-

güentes:

A) Ectomicorrizas.- A este tipo de micorrizas también se les llama ectotróficas, ectocelulares, formadoras de manto ó red de Hartig.

Las ectomicorrizas forman un manto que cubren a la raíz. Las hifas del hongo formador, son intercelulares formando la llamada red de Hartig que sale al exterior para comunicarse con el suelo. Los hongos que las forman son de micelio-septado pertenecientes a la clase de los Basidiomycetes del orden de los Agaricales o de la clase de los Ascomycetes del género Tuber. Las plantas hospederas pertenecen a los géneros: - Abies, Alnus, Betula, Castanea, Cedrus, Corylus, Eucalyptus, - Fagus, Picea, Pinus, Populus, Quercus, etc., que son árboles de climas templados ó coníferas.

B) Endomicorrizas.- También se les denomina endotróficas.. Tomando en cuenta que los hongos que las forman están muy distanciados fisiológica y taxonómicamente se dividen a su vez en varios grupos:

- a) vesículo-arbusculares (VA)
- b) ericáceas
- c) orquídeas

a) Endomicorrizas vesículo-arbusculares (MVA).- Es sin lugar a dudas la más extendida, ya que se encuentra presente en todos los climas que permiten desarrollo vegetal (excepto en la Antártida) y forman todas las plantas de interés agrícola e industrial: algunas familias de plantas en donde no se ha encontrado desarrollo de micorriza vesículo-arbuscular son: Commelinaceae, Cruciferae, Cyperaceae, Fumariaceae, Polygonaceae, Urticaceae, Chemopodiaceae.

Las características diferenciales son las siguientes: existen hifas inter e intracelulares. Las hifas intracelulares son mayoritarias y forman vesículas y arbusculos característicos. Las hifas intercelulares no forman red de Hartig. - Los hongos que forman a las MVA son Basidiomycetes microscópicos de la familia Endogonaceae.

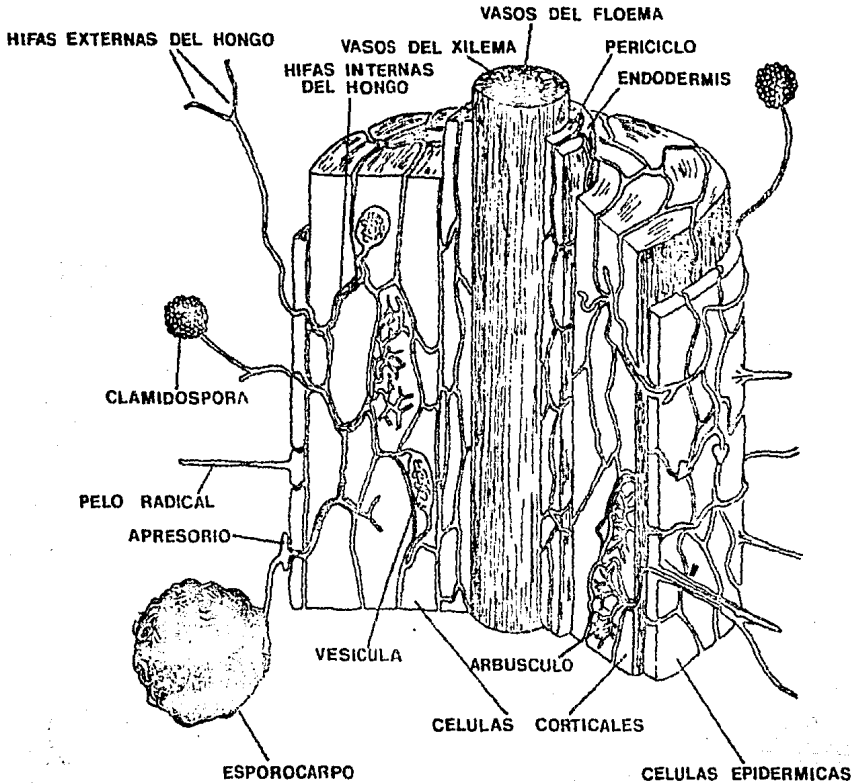
b) Endomicorrizas ericaceas.- Se dividen en:

i) Ericoides.- Presentan un manto rudimentario. Las hifas son inter o intracelulares: las intracelulares forman masas compactas que pueden ser lisadas o digeridas. No hay formación de vesículas o arbusculos. Las plantas hospederas pertenecen a la familia Empetraceae, Epacridaceae y Ericaceae. - Los hongos formadores pertenecen a los Ascomycetes.

ii) Arbutoides.- Forman manto. Las hifas pueden ser inter o intracelulares; las intercelulares no forman red de Hartig. Las plantas hospederas pertenecen a la familia Ericaceae, Monotropaceae y Pyrolaceae. Los hongos que la forman pertenecen al género Boletus.

c) Endomicorriza orquidácea.- La planta hospedera tiene un período dentro de su ciclo de vida que es heterótrofo por lo que para sobrevivir necesita ser infectada por un hongo micorrícico, ya que obtiene los carbohidratos necesarios para su desarrollo, de otras plantas vecinas por medio del hongo. - La infección del hospedero por el hongo puede evolucionar a micorriza o parásito. Las plantas hospederas pertenecen a la familia Orchidaceae. Los hongos formadores son septados de los Basidiomycetes y además de estimular la germinación y el crecimiento proporcionado factores de crecimiento proveen a la planta de fuente de carbono. Estos hongos pertenecen a especies capaces de digerir y utilizar sustancias orgánicas complejas -

como celulosa y lignina por lo que se diferencian de las otras micorrizas.



Esquema de una MVA

C) Ecto-endomicorrizas.- Este tipo de micorriza es generalmente terso, sin manto visible. Forman una especie de red de Hartig pero muy rudimentaria. Se encuentran localizadas en la raíz principal ya que entre más se aleje de ésta, se observa que la ectoendomicorriza desaparece hasta no encontrarlas en las partes terminales de la raíz. Las hifas de los hongos formadores, son septadas. La hifa, en forma de espiral, penetra a la pared celular a través de pequeños orificios para formar estructuras en forma de apresorio. Ya dentro de la cé-

lula, la hifa puede continuar creciendo en forma de espiral hasta formar una especie de cama con gran cantidad de ramas articuladas. La presencia de una hifa creciendo dentro de otra es un rasgo característico que se cree es debido a la autólisis. Los hongos formadores de la ecto-endomicorrizas se piensa que corresponden a una sola especie.

### 2.2.3 Clasificación taxonómica de las MVA.

Se han llevado a cabo una serie de investigaciones que han permitido encuadrar actualmente a los hongos que forman a las MVA en (2,31,46):

Superreino:	Eucaryonta
Reino:	Mycetae (Fungi)
División:	Mycota
Subdivisión:	Eumycotina
Clase:	Basidiomycetes
Orden:	Endogonales
Familia:	Endogonaceae
Género:	<u>Acaulospora</u>
	<u>Complexipes</u>
	<u>Endogone</u>
	<u>Entrophospora</u>
	<u>Cigaspora</u>
	<u>Glasiella</u>
	<u>Glomus</u>
	<u>Modicella</u>
	<u>Sclerocystis</u>

### 2.2.4 Morfología de las MVA.

Aunque la ausencia de manto micelial externo dificult-



ta el reconocimiento de las MVA y nunca se han aislado en cultivo puro, utilizando ciertas técnicas de tamizado o clarificación y tinción, se puede adentrar en su morfología a través del examen microscópico correspondiente pudiéndose observar - esporas, hifas, arbusculos y vesículas.

#### 2.2.4.1 Esporas.

La clase de esporas que presentan las MVA son clamidosporas. Estas son un tipo muy común de esporulación en hongos. Son el resultado de la transformación del micelio sin el concurso de fenómenos de sexualidad. Resisten condiciones adversas en el suelo, tales como calor o sequía. Son un tipo de talosporas ya que son parte de la hifa y se forman a expensas de ella. Las clamidosporas se forman por engrosamiento y condensación de la hifa en situación terminal o en el trayecto de la hifa. Pueden ser únicas, formar cadenas continuas o interrumpidas por fragmentos de hifas.

Pueden ser lisas u ornamentadas. Las clamidosporas permanecen como parte del micelio, sobreviviendo después de que el resto de éste ha muerto o se ha desintegrado. Son esporas asexuales en número indefinido; son inmóviles.

#### Características de diagnóstico:

A) Recolección de esporas.- Se logra mediante un tamizado (32) o por flotación (53).

B) Unión de la espora.- Son esporas cerradas que -- aún después del tamizado permanecen unidas aparte de la hifa madre, siendo ésta una característica específica. Se distinguen de otras esporas de ficomicetos por el grosor y color café amarillento de sus paredes. La unión entre la espora y la

hifa madre puede ser:

- a) simple
- b) turgente
- c) bulbosa

C) Contenido de la espora.- Este contenido varía -- con la edad de la espora aunque existen dos características - distintivas:

a) El citoplasma de la espora puede ser reticulado - con pequeñas hebras arregladas en forma perigonal.

b) El citoplasma de la espora puede ser vacuolado o sea un sistema continuo y homogéneo con pequeñas gotas lipídicas de diferentes tamaños.

Algunas esporas presentan esporas dentro de ellas y pueden ser de dos tipos:

a) Esporas internas con una hifa pequeña propia. Generalmente presentan más de 20 esporas internas que llenan el lumen de la espora madre que presenta paredes muy delgadas.

b) Esporas internas sin hifa. La espora contiene un máximo de 10 esporas internas. La espora madre presenta paredes gruesas.

D) Pared de la Espora.- Esta es una característica fundamental ya que es una pared muy resistente que presenta - dos o más capas separadas con diferentes propiedades tintoriales. Cuando las esporas son trituradas, la pared gruesa, que generalmente es de color, se fractura como un pedazo de loza. La segunda pared es generalmente más delgada, flexible y mem-

branosa. Se colorea fácilmente con azul de algodón.

E) Color de la espora.- Las esporas son incoloras, negras, blancas, miel, rojizas, grisáceas, anaranjadas con -- una sombra amarillenta ó café. El color negro de algunas esporas se debe a que el contenido de la espora está degenerando. Como es de esperarse, el color depende de la edad de la espora aunque el tipo de ésta se reconoce por el color característico que presenta.

F) Tamaño de la espora.- Son de tamaño considerablemente mayor a las esporas vegetativas de la mayoría de los -- hongos. En una muestra dada de suelo, el diámetro de las esporas maduras del mismo tipo varía en un 15% del valor medio, pero el mismo tipo de espora de una localidad diferente puede tener un valor medio de diámetro distinto. Por lo que el tamaño absoluto no es un buen parámetro para su reconocimiento. El tamaño oscila entre 75 y 812 micrómetros de diámetro.

G) Forma de la espora.- Existen 3 formas principales:

a) Esporas con forma de esfera casi perfecta que se relaciona con una unión simple hacia la hifa.

b) Esporas piriformes algo irregulares y con una -- unión turgente con la hifa.

c) Esporas en forma ovoide que se asocian a una unión bulbosa a la hifa.

Existen hifas amorfas debido a las condiciones físicas del suelo en que se localizan.

#### 2.2.4.2 Hifas.

Los hongos formadores de MVA igual que todos los hongos, están constituidos por hifas cuyo agrupamiento constituye el micelio, el cual está caracterizado por presentar crecimiento terminal exclusivamente y por ramificaciones verdaderas.

La hifa se desarrolla a partir de una espora, en un principio en forma de tubo germinativo. Algunas esporas emiten varios tubos germinativos formando varias hifas. Cuando el filamento tiene cierta longitud da origen a ramas laterales.

Los hongos que forman las MVA presentan micelio tabicado que es macrosifonado (2-30 micrómetros) y tiene una doble pared que encierra un citoplasma nucleado y con vacuolas. La pared celular contiene quitina.

Las hifas se observan mediante la técnica de clarificación de Phillips y Hayman (56).

#### 2.2.4.3 Arbúsculos.

Estructuras absolutamente características de las MVA. Son ramificaciones dicotómicas sucesivas, regulares y frecuentes de las hifas en forma intracelular hasta formar estructuras coraloides o arborescentes de menos de 0.2 micrómetros de diámetro. Pueden ser simples o complejas. Los arbúsculos simples son siempre terminales. Los arbúsculos complejos se forman de una hifa que se ha doblado varias veces dentro de una célula. Los contornos son indefinidos y cortos. Se observan mediante la tinción de Phillips y Hayman (56).

#### 2.2.4.4 Vesículas.

Estas estructuras aparecen siempre en este tipo de micorrizas. Se forman por el hinchamiento de las hifas dentro o fuera de la célula hospedera. Generalmente son estructuras terminales. Están formadas por paredes gruesas que encierran gran cantidad de glóbulos lipídicos por lo que se les considera órganos de reserva. La forma puede ser cilíndrica o esférica con un diámetro de 100 - 800 micrómetros. Su membrana es gruesa. El color que presenta va del amarillo al negro. Se observan fácilmente mediante la tinción de Phillips y Hayman (56). Y son característica diferencial de las MVA.

#### 2.2.5 Proceso de Infección de las MVA.

La infección se desarrolla a partir de las clamidosporas o bien a partir del micelio originado en una raíz previamente infectada. Las clamidosporas germinan cuando las circunstancias son favorables, pero los tubos de germinación producidos mueren a no ser que encuentren una raíz hospedera y penetren con éxito en ella. En este caso, el tubo de germinación, o la hifa infectiva, forma un apresorio sobre la superficie de la raíz, produciéndose así la penetración del hongo, que ocurre normalmente entre dos células epidérmicas (apresorio es la protuberancia formada por una hifa o el tubo germinal de una espora fúngica, destinada a adherirse al hospedero durante la primera fase de la infección). A continuación la hifa invasora se ramifica intercelularmente, de forma rápida, en la corteza de la raíz, sin invadir la endodermis, tejidos vasculares ni meristemas.

Una vez iniciada la infección se desarrollan los ar-

arbúsculos mediante la ramificación dicotómica repetida de hifas intracelulares. Cuando se forma un arbúsculo, el almidón de la célula invadida desaparece, al tiempo que el núcleo se alarga y divide. Los arbúsculos son digeridos rápidamente y su contenido, absorbido por el hospedero. Después de que los arbúsculos son digeridos, los núcleos vuelven a su tamaño normal y el almidón suele reaparecer.

Posteriormente a la formación de arbúsculos se forman las vesículas, inter o intracelularmente tanto fuera como dentro de la raíz. El desarrollo de la infección en el interior de la corteza está acompañado por un crecimiento exterior de las hifas, estableciéndose posteriores puntos de entrada. Las hifas que emergen de la raíz se extienden por el suelo varios centímetros, dando lugar al micelio externo que constituye el sistema de absorción de nutrimentos. Este consta de una red tridimensional de hifas que presentan diferentes diámetros: de 8-30 micrómetros que son considerados la base permanente del micelio y otras de 2-7 micrómetros de posible función rizoidal, más efímeras que las primeras. Sobre el micelio externo, se forman grandes esporas vegetativas que van madurando hasta convertirse en clamidosporas.

La dinámica del desarrollo de la infección de las MVA en una planta hospedera adecuada, depende de la especie del hongo y de los factores ecológicos que la circunden. Se caracteriza por seguir un modelo en donde se obtiene una curva sigmoidea de 3 fases:

A) Fase lag o de retraso.- Ocorre la germinación de las esporas y comienza la colonización de las raíces por las hifas.

B) Fase log o exponencial.- Hay un desarrollo inten-

## 2.2.6 Fisiología de las MVA.

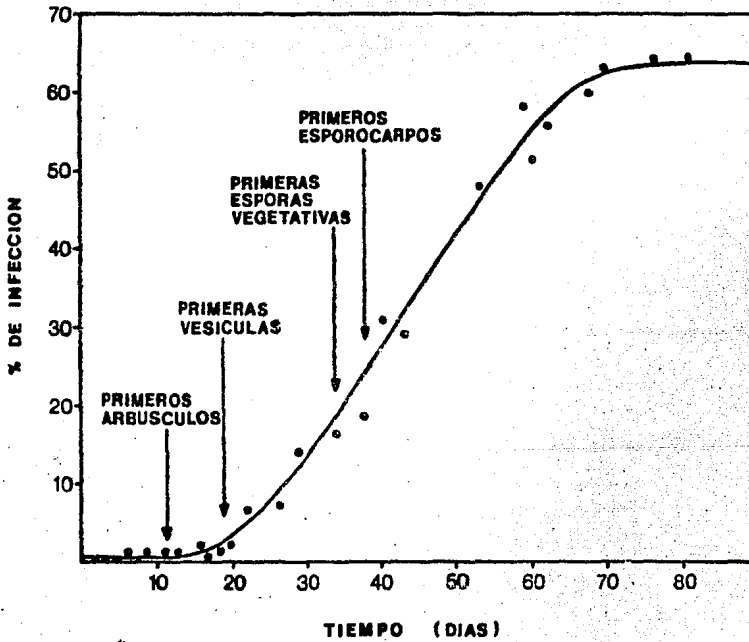
### 2.2.6.1 Mecanismos de transporte de fósforo del suelo-simbiosis.

Actualmente, se acepta que las MVA estimulan el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente en suelos de baja y moderada fertilidad. Los estudios llevados a cabo, han puesto de manifiesto que dichos efectos se deben a que la micorriza mejora sustancialmente la absorción de nutrimentos y agua por la planta y que el principal nutrimento implicado es el fósforo.

Se sabe que la mayor parte de los suelos naturales tienen un bajo contenido en fosfato asimilable, e incluso la mayoría de los suelos arables productivos necesitan un aporte considerable de fertilizante fosforado para mantener su fertilidad. En efecto, del 95-99% del fósforo de un suelo está integrado a compuestos orgánicos e inorgánicos insolubles. Por otra parte, se conoce que el ritmo de absorción de los iones fosfato por la planta, es superior al de desplazamiento de dichos iones desde el suelo no rizosférico hacia la raíz. Ello condiciona que se forme una zona de agotamiento del elemento en la rizósfera. Esta zona de agotamiento, que ha podido ser puesta de manifiesto por autorradiografía, es la base que justifica que el fosfato sea factor limitante del crecimiento de las plantas en gran número de suelos. Efectivamente, el desplazamiento del ión fosfato hacia la raíz tiene lugar por difusión; en su camino hacia la planta se fija fácilmente a arcillas y coloides del suelo por medio de combinaciones inso-

so de la infección.

C) Fase estacionaria.- En ella no varía la proporción entre raíces micorrizadas y no micorrizadas.



Dinámica del proceso de infección en raíces Allium  
cepa por el hongo de la endomicorriza.



lubles con calcio, fierro y aluminio en suelos básicos y ácidos, respectivamente.

Los mecanismos propuestos para explicar la mayor capacidad de absorción de fósforo por plantas micorrizadas están basados en las siguientes hipótesis:

A) Las hifas o las raíces micorrizadas tienen una capacidad para solubilizar fuentes de fósforo no disponibles para raíces no infectadas.

B) La micorrización induce cambios morfológicos en la planta.

C) La raíz micorrizada tiene más longevidad que la que no lo está.

D) La micorrización proporciona una superficie de absorción adicional (hifas del hongo) más eficaz.

E) La micorrización induce cambios fisiológicos, - lo que produce un incremento de la capacidad de la superficie de la raíz de la planta para absorber fósforo.

La primera hipótesis ha sido objeto de especial investigación y controversia debido a que muchos experimentos indican que las plantas micorrizadas crecen mejor que las no micorrizadas en suelos enriquecidos con formas difícilmente solubles de fósforo tales como apatita, fitato y fosfatos de calcio, aluminio o fierro. Por otra parte, se ha descrito -

que las ectomicorrizas presentan fosfatasa en su superficie-- por lo que se creyó que las MVA podrían solubilizar los com-- puestos antes mencionados por medio de sus hifas. Esto se ha desmentido con ensayos de fósforo radioactivo que muestran -- que tanto plantas micorrizadas como no micorrizadas, toman el fósforo del depósito lábil de fosfato soluble. La absorción más eficiente por las raíces micorrizadas, causa que se estí-- mule la disociación química del fosfato insoluble para repo-- ner el soluble que captan las hifas y así mantener el equili-- brio fosfato insoluble-fosfato soluble. Esto puede justifi-- car la respuesta de las plantas micorrizadas a la adición de roca fosfórica.

La eficacia de las raíces en la absorción de fosfato se ha valorado mediante la medida de la cantidad de fósforo - radioactivo captado por unidad de longitud de raíz. Se ha es timado que este parámetro es 4 veces mayor para las raíces mi corrizadas que para las no micorrizadas, por lo que se demues tra que las raíces micorrizadas absorben fosfatos en forma -- más eficiente (5, 35).

La proposición del inciso B no justifica el conside-- rable aumento de eficacia desde el momento que se ha observa do que las MVA no originan ningún cambio significativo en la morfología de la raíz.

La razón que se apoya en aumentar la longevidad de - las raíces micorrizadas no es aceptable, ya que se sabe que - las raíces no micorrizadas son capaces de absorber fósforo du rante largos períodos.

La posibilidad basada en que la micorrización aumen ta el área de absorción es la más extendida, ya que los dife-- rentes investigadores han aceptado que el papel de las hifas-

externas del hongo, aumentan el campo de absorción de la planta de tal forma que la red de hifas externas permite a la -- raíz incrementar su superficie de absorción y explorar un volumen de suelo superior al que pueden utilizar las plantas -- no micorrizadas. Esto se ha comprobado con fósforo radiactivo, cuando se colocó el isótopo a una distancia no accesible a raíces no micorrizadas (18). Se debe tener en cuenta que -- un centímetro de raíz micorrizada puede tener hasta 80 centímetros de hifas externas.

Usando fósforo radioactivo se ha puesto de manifiesto que el incremento en la captación de fosfato por las hifas depende más de su posición, longitud y número, que de alguna propiedad especial en su superficie que agilice la captación.

Con estos motivos se descarta la posibilidad E ya -- que las micorrizas no inducen cambios fisiológicos que aumenten la captación de fósforo.

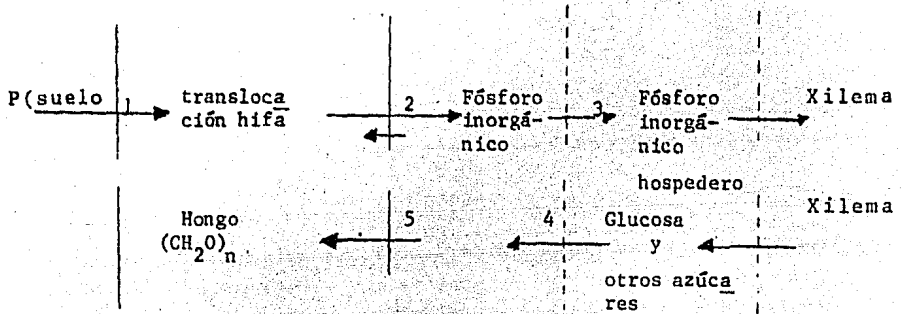
#### 2.2.6.2 Mecanismo de intercambio de carbohidratos y fosfatos entre la MVA y el hospedero.

Mediante trabajos muy especializados (45), se ha trtado de dilucidar el mecanismo por medio del cual se lleva a cabo el intercambio de nutrimentos entre el hospedero y el -- hongo, sin llegar a una conclusión satisfactoria para todos -- los investigadores de la materia. Sin embargo, se ha propuesto (68) una hipótesis que parece ser la más aceptada. Esta -- indica que el movimiento de materiales se lleva a cabo en cinco fases en donde intervienen dos pasos con transporte pasivo y tres con transporte activo. Esto se ilustra en el siguiente diagrama:

PLASMALEMA DE  
HIFA EXTERNA

PLASMALEMA DE  
ARBÚSCULO

PLASMALEMA DEL  
HOSPEDERO



Los números del 1 al 5 indican:

1.- Sistema de transporte de fosfato en el plasmalema de la hifa externa.

2.- Sistema de transporte pasivo de fosfato en el plasmalema del arbusculo.

3.- Sistema de transporte activo de fosfato en el plasmalema del hospedero.

4.- Sistema de transporte pasivo de azúcares en el plasmalema del hospedero.

5.- Sistema de transporte activo de azúcares en el plasmalema del arbusculo.

Como se observa, esta hipótesis está acorde con el modelo actual de comportamiento de la membrana de una bicapa. (64).

### 2.2.6.3. Mecanismo de translocación de fosfatos dentro del hongo.

Diversos investigadores han calculado que el flujo de fosfato en el interior de las hifas es del orden de  $10^{-8}$  -  $10^{-9}$  mol cm<sup>-2</sup> seg.<sup>-1</sup> (54), habiéndose propuesto varios mecanismos para tratar de explicarlo. Diferentes observaciones indican la existencia de corrientes protoplásmicas bidireccionales en el interior de la hifa, aceptándose que éstas desempeñan un papel muy importante en la translocación del fosfato.

Este modelo de translocación ha podido ser complementado gracias a trabajos histológicos en los cuales se ha puesto de manifiesto la existencia de gránulos de polifosfato en las vacuolas de hifas y arbusculo, particularmente cuando la infección está en sus estados jóvenes y vigorosos. Basándose en estas observaciones, se ha propuesto que el ión fosfato se transloca como gránulos de polifosfato, que se van depositando en las vacuolas, incrementando su tamaño o disminuyéndolo a medida que se van utilizando. La operatividad de este mecanismo está asegurado con la existencia de polifosfatasas ácidas y alcalinas, localizadas en las vacuolas de arbusculos maduros e hifas intercelulares.

### 2.2.6.4. Función específica de las partes constitutivas de los hongos micorrícicos.

Debido a la imposibilidad del cultivo de hongos micorrícicos en medios sintéticos, sólo se han estudiado sus partes estructurales mediante técnicas indirectas como son estudios radioisotópicos, observaciones microscópicas de fragmento de raíz, análisis histoquímicos y uso de diversos hospederos.

#### 2.2.6.4.1. Esporas,

Las esporas como clásico elemento de un hongo son organelos que se utilizan para la infección, reproducción y reserva de sustancias nutritivas debido a su alto contenido de carbohidratos y lípidos para permanecer en estado de latencia hasta encontrar las condiciones propicias para su desarrollo.

#### 2.2.6.4.2. Hifas.

Debido a que el fósforo disponible está presente en bajas concentraciones en la mayoría de los suelos, con respecto a los demás nutrimentos y difunde a muy baja velocidad, -- los hongos micorrícicos compensan esta deficiencia explorando un mayor volumen de suelo que las raíces por sí solas, utilizando las hifas externas para aumentar el área de obtención de fosfato (15, 31, 39, 63).

#### 2.2.6.4.3. Arbúsculos.

Se ha encontrado que estas estructuras tienen dos -- funciones fundamentales:

A) Transferencia de fosfato del hongo al hospedero, -- ya que éstos degeneran y son digeridos liberándose el fósforo que contienen. Observaciones a nivel estructural confirman -- que este hecho tiene una vida media de 7 a 11 días. Se sabe que el arbúsculo es el sitio fundamental de esta transferen-- cia aunque no es exclusivo. Existe una hipótesis para expli-- car la formación de los arbúsculos y sus funciones:

a) El hospedero envía una señal que indica que hay -- deficiencia de fosfato para su nutrición.

b) El hongo recibe la señal y en consecuencia se desarrolla dentro de la célula hospedera formando el arbusculo.

c) El hospedero modifica la estructura del hongo de tal manera que el flujo de fosfato sólo puede ser del hongo hacia el hospedero.

La explicación a esta hipótesis es la siguiente: En suelos deficientes de fósforo disponible se incrementa la síntesis de fosfatasas ácidas e isoenzimas en la superficie celular. Estas enzimas juegan un papel muy importante en la movilización de fosfatos insolubles, al mismo tiempo que regulan el desarrollo del micelio interno y la formación de arbusculos. En la superficie de las raíces de las plantas existen lectinas que son glucoproteínas ricas en hidroxiprolina; estas lectinas se unen a las moléculas de N-acetil glucosamina que es un componente de la pared celular. Se sugiere que estas lectinas tienen por función, en condiciones de nutrición normal proteger a los vegetales de ser invadidos por bacterias y hongos. Cuando hay deficiencia de fosfato, aumenta la cantidad de fosfatasas modificando la estructura química de lectinas, facilitando de esta forma que las hifas del hongo penetren a la célula y se establezca el desarrollo micorrízico.

B) La otra función es como órgano de reserva.

#### 2.2.6.4.4. Vesículas.

Según estudios realizados (16), el almacenaje de carbohidratos es pequeño en comparación al de los lípidos. También se sugiere (21) que los lípidos sirven como una fuente importante de reserva en las MVA y éstas se encuentran dentro de las vesículas por lo que se puede concluir que estos orga-

nelos son de reserva, aunque no está perfectamente bien aclarado.

#### 2.2.7. Factores ecológicos que afectan a las MVA.

Aunque la mayoría de las plantas presentan infección micorrícica en su habitat natural, existen algunas variaciones en la intensidad, desarrollo y actividad de las MVA. Algunos de los parámetros que afectan la variación son:

Intensidad de luz (17, 28, 38).

Temperatura (29, 38).

Suelo (40,49).

Fotoperíodo (17).

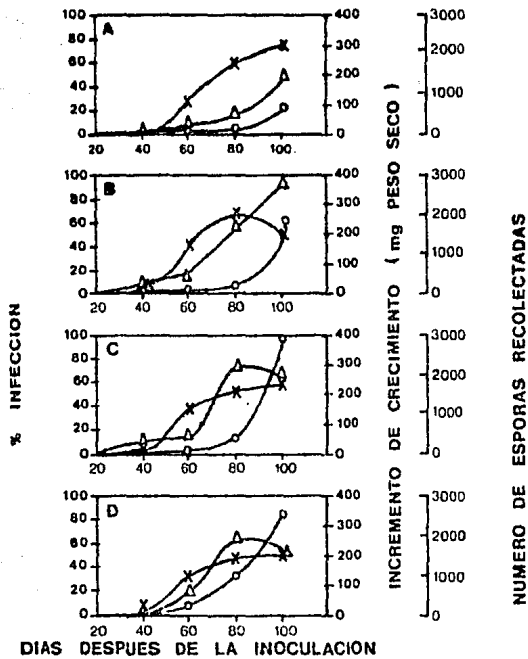
Fósforo disponible (40).

##### 2.2.7.1. Intensidad de luz.

Estudios realizados (38) demostraron que con un tratamiento de 5 Klux de intensidad lumínica, el porcentaje de infección de MVA aumentaba rápidamente en un período de 40 a 80 días, llegando al máximo en el día 100. Si el tratamiento era de 10 Klux se observaba el mismo incremento, excepto que la máxima infección era en el día 80. Esto contrastaba con los resultados obtenidos con tratamiento de 15 y 20 Klux ya que con éstos, el porcentaje de infección era menor e iban en contra de lo esperado.

En cuanto a la producción de esporas y beneficio a la planta bajo los mismos tratamientos, se observaron resultados semejantes que se ilustran en las siguientes gráficas:





Desarrollo de endomicorrizas e incremento de desarrollo de plantas de cebolla inoculadas con Gigaspora calospora cultivadas bajo 4 regímenes lumínicos:

- A) 5 Klux
- B) 10 Klux
- C) 15 Klux
- D) 20 Klux

X = % infección

O = número de esporas recolectadas

Δ = Incremento de crecimiento.

Con los resultados obtenidos pudieron concluir que el progreso de la infección micorrícica es proporcional al crecimiento vegetativo de la planta, demostrando que conforme el hospedero llega a su madurez, la infección de la raíz

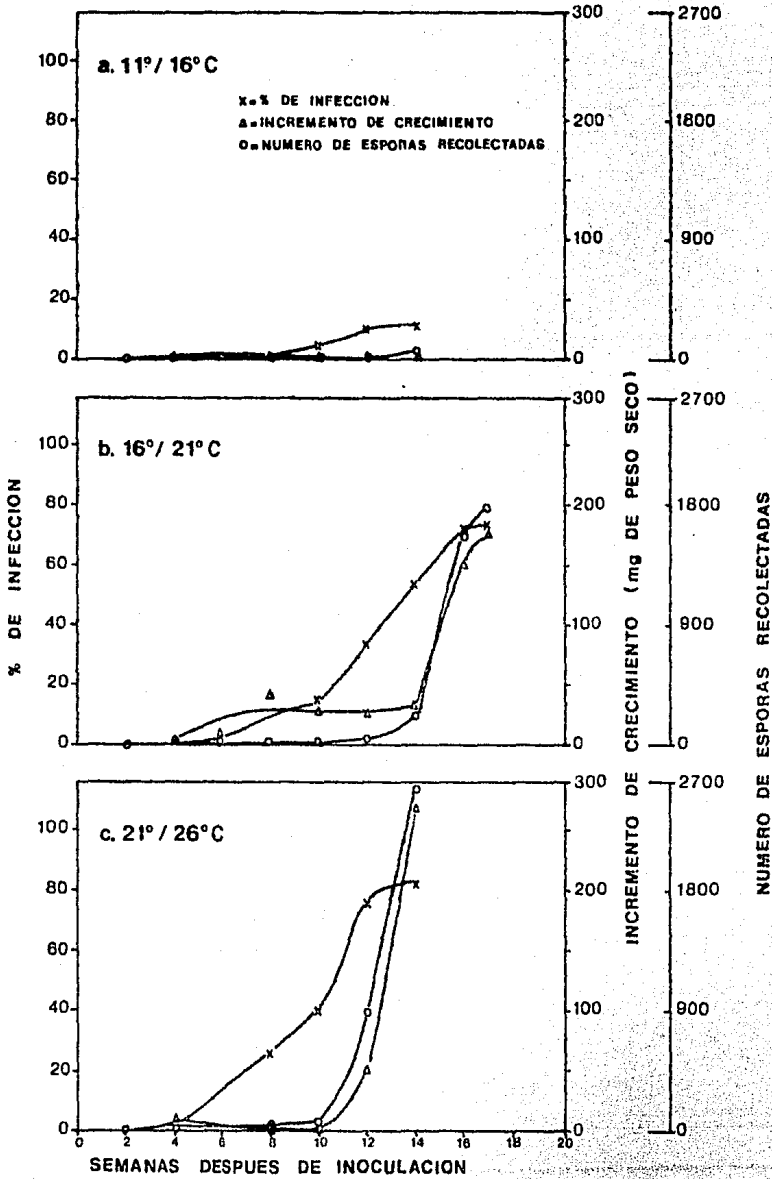
decrece y se incrementa la producción de esporas.

Comparando los resultados (38) se puede concluir que dependiendo de la especie de hospedero y hongo formador de -- MVA, existe una diferente intensidad lumínica que permite un aumento en el porcentaje de infección micorrícica. En todos los estudio se comprobó que la producción de esporas y beneficio a la planta siguen la misma tendencia.

#### 2.2.7.2. Temperatura.

En estudios realizados con plantas de cebolla (28) -- bajo tres diferentes regimenes de temperatura e inoculada con esporas de Endogone calospora observaron que el proceso de infección seguía una curva sigmoidea con diferente duración en cada una de sus fases dependiendo del régimen de temperatura. La fase lag más corta, fué a la temperatura 21/26°C (noche/día), y la mayor fué a la temperatura 11/16 °C. El porcentaje de infección indicado por la inclinación de la curva, presentaba la misma tendencia: más rápida a 21/26°C que a 16/21°C y que a 11/16°C. Bajo esta última condición, el porcentaje de infección permaneció muy bajo durante todo el experimento. El nivel final de la infección, indicado por la meseta de la curva, era mayor a 21/26°C (82%), menor a 16/21°C (73%) y mínimo a 11/16°C (11%).

También se observó que el crecimiento de las plantas fué fuertemente estimulado después de que la infección se realizó a 21/26°C y 16/21°C contrastando con un decremento en el crecimiento de la planta a la 8a. semana a una temperatura de 11/16°C debido posiblemente a un efecto parasítico.



Desarrollo de endomicorrizas en plantas de cebolla - inoculadas con *Endogone calospora* y cultivadas bajo tres regímenes de temperatura.

Con los estudios realizados, no se ha podido dilucidar si la temperatura actúa directamente sobre las esporas o indirectamente a través de sus efectos en el crecimiento de la planta; lo que si es obvio es que para obtener el máximo porcentaje de infección, el mayor número de esporas así como beneficio a la planta, se necesita un régimen de temperatura de 21/26°C para este tipo de planta con esta especie de micorrizas.

#### 2.2.7.3. Suelo.

Los diversos factores que afectan la naturaleza del suelo, son determinantes en el desarrollo de la infección micorrícica y la eficacia del simbionte fúngico frente al hospedero.

A) Humedad.- Se ha observado en diversos estudios -- (33, 46, 60) que las plantas higrófilas sólo micorrizan si se les reduce la cantidad de agua transplantándolas a lugares secos. En cuanto a las plantas xerófilas, no se ha reportado la presencia o ausencia micorrizas.

B) pH.- El rango de tolerancia de la simbiosis micorrícica es muy estrecho en algunos casos, ya que va de 5.0 a 5.5 y en otros casos es amplio pues va de 5-8 por lo que se deben efectuar estudios específicos para cada especie formadora de MVA y así poder clasificarla y obtener resultados satisfactorios al inocularla.

C) Textura.- La textura es de gran importancia para el desarrollo de hifas externas ya que va a facilitar ó impedir la penetración de éstas y las raíces para explorar mayor territorio y así poder obtener los nutrimentos necesarios. La textura también interviene en la aereación y humedad presen

te en la rizósfera que circunda a la simbiosis.

#### 2.2.7.4. Fotoperíodo.

El fotoperíodo recibido por el hospedero se encuentra entre los factores ambientales más importantes que afectan la formación, desarrollo y actividad de las MVA. Recientemente se ha establecido que la infección micorrícica y el crecimiento vegetativo de las plantas de cebolla están severamente marcadas por el fotoperíodo en suelos deficientes de fósforo. La reducción del fotoperíodo de 18 a 6 horas disminuye el crecimiento de la raíz. Esto fué determinado mediante el peso húmedo de plantas micorrizadas como no micorrizadas. Este decremento fue mayor en plantas micorrizadas que en aquellas no micorrizadas. Plantas desarrolladas en fotoperíodos largos fueron infectadas más fácilmente que aquellas desarrolladas en fotoperíodos cortos.

#### 2.2.7.5. Fósforo disponible.

Se ha observado que el porcentaje de infección y el número de esporas se reducen, por lo general, cuando en los suelos no hay deficiencia de fósforo disponible. Se puede afirmar que las MVA son más persistentes en suelos de baja y moderada fertilidad, aunque existan excepciones a tal generalización.

El efecto del  $PO_4^{3-}$  al adicionarlo en forma creciente, reduce la infección así como la formación de esporocarpes. Se ha demostrado, mediante diversos ensayos en los que se aplica, foliarmente el fosfato soluble, que la concentración del ión dentro de la planta tiene más influencia en la reducción de la infección que la existente en el suelo (62).

### 2.2.8. Hormonas vegetales.

Ciertas observaciones han sugerido que las diferencias en el grado de infección asociadas con la fertilidad del suelo, están relacionadas con el ritmo de crecimiento de la raíz. Algunos autores opinan que las raíces vigorosas en crecimiento activo, son difícilmente infectadas y concluyen que cualquier factor que cause un crecimiento lento de la raíz, o que reduzca la proporción de tejido radical en crecimiento activo, tiende a incrementar la infección. Puesto que se sabe que las auxinas y el etileno fundamentalmente, y la acción combinada de éstas con citoquininas y giberelinas, controlan la formación y desarrollo de las raíces; es lógico pensar que estas sustancias hormonales intervienen de una manera destacada en el establecimiento de MVA.

En las MVA se ha demostrado que los hongos que las originan producen auxinas y que éstas son rápidamente absorbidas por las raíces de las plantas hospederas, originándose cambios morfológicos que facilitan el establecimiento de la simbiosis. También se ha manifestado que los hongos de este tipo producen citoquininas y giberelinas, sin que se sepa exactamente su función dentro del proceso de infección.

### 2.2.9. Aspectos agronómicos.

Microorganismos capaces de formar asociaciones simbióticas con plantas, han sido utilizados recientemente para aumentar el crecimiento de las plantas y su nutrición en forma más eficiente que los microorganismos de vida libre.

En experimentos realizados por Frontera y Delorenzini (27) en Raphanus sativa (rábano) inoculado con MVA, se observa un aumento estadísticamente significativo en cuanto al-

contenido de nitrógeno y fósforo en los tratamientos inoculados con micorrizas.

Contenido de nitrógeno y fósforo total en raíces de

Raphanus sativa:

Tratamiento testigo		Tratamiento inoculado	
% N	% P	% N	% P
1.790	0.56	2.226	0.63
1.946	0.61	2.450	0.63
1.850	0.64	2.128	0.69

Estos resultados muestran que la mayor absorción de N y P posibilita un mayor crecimiento vegetal que se traduce en un incremento en la producción de semilla y materia seca.

Otros estudios (24) llevados a cabo, muestran que la inoculación con micorrizas en plantas que crecen en suelos -- con muy bajo contenido de fósforo, presentan efectos mayores que aquéllas inoculadas en suelos con mayor cantidad de fósforo disponible. Esto confirma estudios anteriores en los cuales se observó que la actividad de las endomicorrizas es más pronunciada en suelos deficientes de fósforo disponible. El siguiente cuadro muestra los efectos de los diferentes trata-

mientos sobre plantas de Medicago sativa (alfalfa):

	suelo (5 mg de P)		suelo (30mg de P)	
	Testigo	Muestra	Testigo	Muestra
Peso seco parte aérea (mg/planta)	67.8	152.60	191.8	276.0
Cantidad total de P en parte aérea (mg/planta)	0.11	0.22	0.31	0.38
% infección	0	75.0	0	54.0

Estos dos ejemplos muestran el efecto de las micorri-  
zas en general.

### 2.3. FOSFORO.

#### 2.3.1. El fósforo en el suelo y su efecto en el crecimiento - de las plantas.

La deficiencia de uno o más de los elementos esencia-  
les imposibilita y dificulta completar el ciclo vegetativo de  
la planta. Los síntomas de deficiencia son específicos de -  
cada elemento y se previenen o corrigen solamente al suminis-  
trar el ó los elementos deficientes. Cada elemento tiene fun-  
ciones específicas en la planta ya que además de nutrir a las  
plantas, pueden tener efectos en la corrección biológica y --  
química del suelo o medio de cultivo.

##### 2.3.1.1. Condición de los nutrientes para ser absorbidos por las raíces.

A) Los nutrientes de las plantas para poder ser ab-



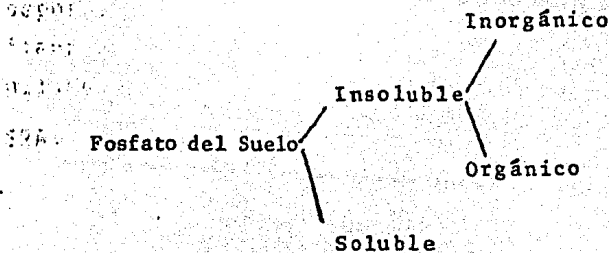
sorbidos deben estar en formas iónicas. El fósforo debe estar en forma de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ó  $\text{HPO}_4^{2-}$ .

B) Los nutrimentos deben estar en cantidad óptima para el desarrollo de las plantas.

C) Los nutrimentos deben estar en forma balanceada - es decir, debe haber una proporción adecuada en las concentraciones de los diferentes nutrimentos en el suelo.

### 2.3.1.2. Compuestos de fósforo en el suelo.

Los fosfatos del suelo son generalmente divididos en las siguientes categorías:



#### A) Fosfato insoluble del suelo.

El fosfato insoluble no es disponible para plantas o microorganismos. Generalmente forma del 90 al 95% del fosfato total del suelo.

a) Fosfato insoluble inorgánico.- Existen un gran número de compuestos inorgánicos del fósforo. La cantidad de cada uno de ellos depende en grado considerable de la acidez o alcalinidad del suelo. Si el suelo es ácido, se une generalmente a aluminio o fierro; si es ligeramente ácido o alcal-

lino, se une a calcio; por otra parte puede encontrarse adsorbido físicoquímicamente con los coloides arcillosos.

La mayor parte del fosfato inorgánico en la corteza terrestre se encuentra en forma de apatita (roca fosfórica), principalmente como fluorapatita  $\text{CaF}_2 \cdot 3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  que forma minerales secundarios como hidroxapatita  $\text{Ca}(\text{OH})_2 \cdot 3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . La mayor cantidad de compuestos insolubles de hierro y aluminio incluyen a la strengita  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y la variscita  $\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Este tipo de minerales se encuentra en suelos ácidos que provocan que los fosfatos precipiten sobre los óxidos de aluminio y hierro, o los adhieran a los silicatos como la caolinita y la montmorilonita provocando que no pueda ser aprovechado el fosfato. A estos procesos se les llama fijación de fosfatos.

El encalado de los suelos hasta pH 6-7 produce un intercambio de iones formando el fosfato monocálcico  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y el fosfato dicálcico  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  estimulando de esta forma la actividad microbiana que libera al fósforo inorgánico.

En suelos muy alcalinos (pH 7.5-8.5) mucho del fósforo inorgánico se encuentra como fosfato octacálcico.  $\text{Ca}_4(\text{HPO}_4)_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  que puede formar nuevamente apatita que no es aprovechable para la planta.

La reacción del suelo más favorable para la asimilación del fósforo es a pH 6-7.5.

b) Fosfato insoluble orgánico.- Del 15 al 85% del fósforo total del suelo es orgánico. La cantidad absoluta de fósforo orgánico generalmente desciende cuando aumenta la profundidad. Al mismo tiempo, la proporción total de fósforo or

gánico es mayor en la superficie que en los horizontes inferiores. El fósforo orgánico generalmente es alto en suelos ácidos. Los suelos ricos en materia orgánica contienen abundante fósforo orgánico. Mas aún, existe una buena correlación entre la concentración de fósforo orgánico, carbono orgánico y nitrógeno total, siendo este último casi todo orgánico. El nivel de fósforo orgánico está relacionado directamente con la concentración de otros constituyentes del humus, siendo el contenido de fósforo de 0.3 a 1.0 y de 5.0 a 20% de la concentración de carbono y nitrógeno respectivamente.

Los compuestos orgánicos que forman parte de la fracción del humus, se derivan de la vegetación superficial, protoplasma microbiano o productos metabólicos de la microflora. De esta forma, los componentes del humus están directamente relacionados con los constituyentes que forman los tejidos vegetales y células microbianas o sus derivados. De estas sustancias los fosfatos de inositol, ácidos nucleicos, fosfolípidos y moléculas que los contienen, son componentes importantes de la fracción orgánica del suelo.

Los fosfatos de inositol frecuentemente se clasifican como fitina y sustancias relacionadas. Tales componentes son los principales constituyentes de la fracción de fósforo orgánico, alcanzando frecuentemente del 10 al 80% de todo el fósforo orgánico. La fitina se acumula principalmente como fitatos insolubles de aluminio y fierro en suelos ácidos y como fitato de calcio en suelos alcalinos.

En la mayoría de los suelos, los compuestos del tipo de ácidos nucleicos contribuyen probablemente con menos del 1.0 hasta un máximo del 10.0% del total del fósforo orgánico.

La mayor parte del fósforo en la célula bacteriana-

está en el RNA; este ácido nucleico contiene generalmente un tercio a un poco más de la mitad del fósforo.

El contenido de fosfolípidos del humus es invariablemente pequeño; frecuentemente tan pequeño como del 0.1% algunas veces más del 5.0% y en algunas otras ocasiones un poco más del fósforo orgánico está vinculado en tales compuestos. Una parte importante de esta fracción puede ser fosfatidicolina, que se encuentra en plantas y animales.

Existen también trazas de azúcares fosfatados y fosfatos de inositol bajos.

Los fosfatos insolubles del suelo alcanzan un equilibrio con la parte soluble en forma muy lenta. No existe una barrera entre ambas fracciones, debido a que la mayoría de los iones fosfato solubles están adsorbidos por la fase sólida del suelo. Estos iones adsorbidos son rápidamente intercambiados con los iones fosfato que se encuentran en solución. La cantidad de iones fosfato en relación con los iones en solución se reportan como fosfato intercambiable ó fosfato disponible para plantas. Se puede detectar por medio de radioactividad.

La relación entre ambas cantidades expresa la capacidad del suelo para abastecer a la planta de fosfato soluble. Un suelo con una capacidad de adsorción baja, provocará que la concentración que se encuentra en el suelo crezca rápidamente.

#### B) Fosfato soluble del suelo.

En general, se estima que la mayor parte del fósforo del suelo es tomado por las plantas en forma de ión ortofosfa

to:  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ .

Las plantas utilizan preferentemente iones  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  que-  
 iones  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Su concentración promedio en el suelo es de  $10^{-6}$  M que está muy cerca del límite del cual las plantas --  
 pueden absorber este ión, aunque esta concentración varía de  
 acuerdo al tipo de planta.

Se requiere gran cantidad de energía para absorber-  
 los fosfatos, debido a que las concentraciones internas de -  
 la raíz de la planta generalmente son 1000 veces mayores que  
 las presentes en el suelo en cuestión ( $10^{-2}$  M). El factor -  
 vital que afecta la absorción de fosfatos por parte de la --  
 planta, radica en que se mantenga un promedio de concentra-  
 ciones de fosfatos en solución en la superficie de la raíz.-  
 Los fosfatos en el suelo no son muy móviles. Preferentemen-  
 te migran por difusión a través de la solución del suelo. -  
 La difusión de los iones fosfato es retardada por las finas-  
 partículas del suelo que hacen que su camino sea tortuoso y-  
 se unan reversiblemente a sus superficies, ocasionando una -  
 zona de agotamiento alrededor de la raíz. Esta zona coinci-  
 de con la rizósfera, la región alrededor de la raíz en donde  
 los microorganismos son activos e influyen las interaccio-  
 nes raíz-suelo.

La adición de fertilizantes fosforados al suelo, --  
 provoca un desequilibrio que ocasiona que cerca de la raíz -  
 haya altas concentraciones de fosfato soluble por períodos -  
 largos pero sólo el 25% del fertilizante agregado es incorpo-  
 rado a la planta.

### 2.3.1.3. Papel del fósforo en la nutrición vegetal.

La importancia del fósforo en la nutrición vegetal-

y animal es posiblemente bien conocida por todos. Esta presente en las semillas en cantidades mayores que en cualquier otra parte de la planta; también se encuentra en gran proporción en las partes jóvenes en crecimiento. Como el nitrógeno, es un constituyente de todas las células vivas. Forma parte de los fosfolípidos, ácidos nucleicos, azúcares fosforilados, coenzimas, nucleoproteínas y de la fitina, esta última es una forma de reserva de fósforo en las semillas.

Este elemento representa un papel muy importante en la transformación de la energía en las células, tanto de las plantas como de los animales; por lo tanto, es necesario para las transformaciones normales de los carbohidratos en las plantas; por ejemplo, el cambio de almidones en azúcares. El fósforo es también necesario para la asimilación de las grasas y aparentemente incrementa la eficiencia de los mecanismos cloroplásticos.

#### 2.3.1.4. Efecto del fósforo en el crecimiento de las plantas.

Los efectos que una cantidad pequeña o grande de fósforo tienen sobre el crecimiento de las plantas, son menos notables que los causados por nitrógeno o potasio. La acción que presenta este elemento sobre los vegetales se asocia a funciones vitales tales como la utilización de azúcares y almidones, fotosíntesis, formación de núcleo y división celular, transmisión de la herencia, acelera la maduración de la planta, el follaje es más resistente y menor el peligro de acame, mejora la calidad de los frutos, legumbres y forrajes, además las plantas tienen mayor resistencia a enfermedades.

### 2.3.1.5. Síntomas de deficiencia de fósforo en vegetales.

Las plantas utilizan una gran cantidad de fósforo - en comparación con la cantidad total presente en el suelo. - La translocación de los nutrimentos dentro de la planta es - un proceso continuo. En este aspecto hay una diferencia con siderable en la movilidad de los diversos nutrimentos. Cuando se presenta escasez de un nutrimento móvil, como el fósforo, éste se toma de los tejidos más viejos formados con anticipación y se transloca a los puntos de crecimiento. Esto ocasiona que los síntomas aparezcan en las hojas de la parte baja de la planta.

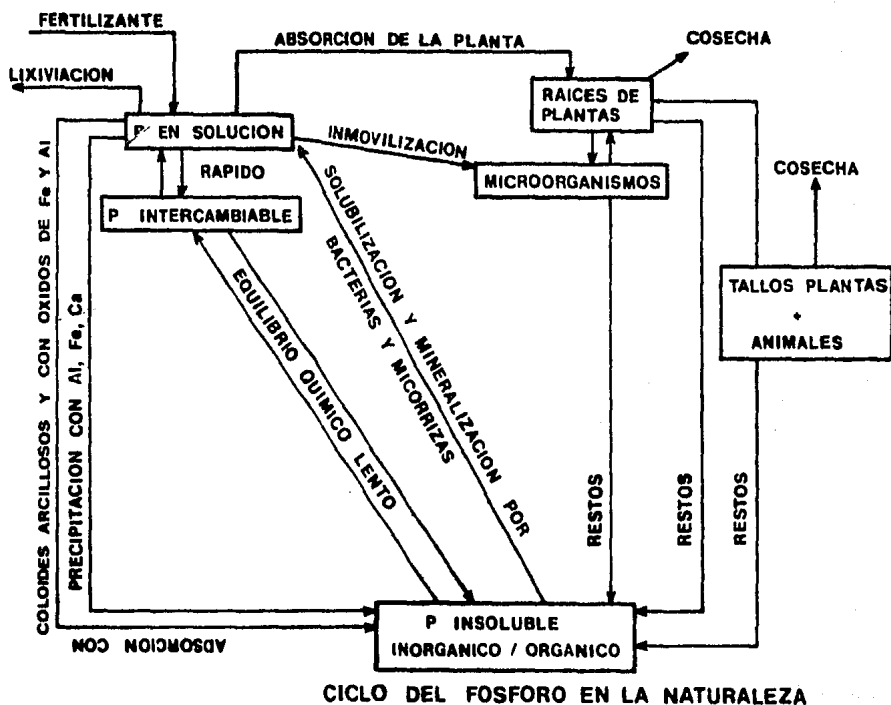
La deficiencia de fósforo se caracteriza por - - plantas mal desarrolladas que están afectadas tanto en el crecimiento de las raíces como en la parte aérea; esto se observa ya que los tallos son delgados, hojas pequeñas, madurez tardía, caída prematura de hojas, la formación de semillas - se retrasa, semillas vanas y desarrollo pobre de la raíz.

Se pueden desarrollar diversas coloraciones a causa de esta deficiencia: una coloración verde oscuro asociada - con un color púrpura en el primer período de crecimiento; -- después las plantas tornan a amarillo. Este amarillamiento se asocia con una madurez temprana. En algunas ocasiones se desarrolla una coloración verde pálido o amarillenta cuando la falta de fósforo inhibe la utilización de nitrógeno por - la planta. En algunos vegetales, los brotes nuevos, se observan de color púrpura a bronceado. El síntoma más característico de deficiencia de fósforo, entre las plantas, en general, es la detención del crecimiento.

### 2.3.2. Ciclo del fósforo y el ecosistema.

La renovación del fósforo del suelo es representada

como un ciclo. Este ciclo del fósforo con cultivos agrícolas es abierto ya que la adición de fertilizantes fosforados reemplaza el fósforo cedido a la cosecha. Con vegetación natural, el ciclo está virtualmente cerrado, excepto por pequeñas cantidades de fósforo que son adicionadas con las lluvias y por el fósforo proveniente de suelos más profundos. Durante la lixiviación también se pierde fósforo. En este tipo de plantas el fósforo es reciclado por la acción microbiana sobre restos orgánicos. El siguiente esquema representa el ciclo del fósforo en la naturaleza:



El fósforo se encuentra en el suelo, plantas y microorganismos en cierto número de compuestos orgánicos e inorgánicos.



cos e inorgánicos. Después del nitrógeno, es el segundo de los nutrimentos orgánicos requeridos tanto por las plantas como por los microorganismos. Este elemento puede agregarse al suelo en forma de fertilizantes químicos o puede ser incorporado como hojarasca, residuos vegetales ó restos animales. De esta forma, el fósforo ocupa una posición crítica tanto en el crecimiento vegetal como en la Biología del suelo.

#### 2.4. FOSFOBACTERIAS.

##### 2.4.1. Definición de fosfobacterias,

Los microorganismos que llevan a cabo cierto número de transformaciones de este elemento, se les ha denominado fosfobacterias, fosfobacterinas o bacterias del fósforo y son objeto de gran cantidad de estudios para conocer los mecanismos mediante los cuales son capaces de transformar al fósforo para ser aprovechado posteriormente por los vegetales (19,58,59). Las transformaciones que estos microorganismos realizan incluye:

- A) Solubilización de compuestos inorgánicos de fósforo.
- B) Mineralización de compuestos orgánicos con la liberación de fósforo inorgánico.
- C) Inmovilización de fósforo inorgánico aprovechable en componentes celulares.
- D) Oxidación o reducción de compuestos inorgánicos de fósforo.

### 2.4.2. Tipos de Fosfobacterias.

Las fosfobacterias son de diversos tipos, dependiendo de la clase de transformación microbiana que realicen. -- Así hay: fosfobacterias solubilizadoras, fosfobacterias mineralizadoras, fosfobacterias inmovilizadoras y fosfobacterias que intervienen en procesos redox.

### 2.4.3. Taxonomía de las fosfobacterias.

Algunos de los géneros de microorganismos con capacidad transformadora de compuestos de fósforo que han sido reportados en diversas fuentes bibliográficas son:

#### A) Bacterias

- a) Acinetobacter sp
- b) Achromobacter sp
- c) Aerobacter sp
- d) Aeromonas sp
- e) Agrobacterium sp
- f) Alcaligenes sp
- g) Arthrobacter sp
- h) Bacillus sp
- i) Brevibacterium sp
- j) Cellulomonas sp
- k) Corynebacterium sp
- l) Erwinia sp
- m) Escherichia sp
- n) Flavobacterium sp
- ñ) Micrococcus sp
- o) Mycobacterium sp
- p) Nitrosomonas sp
- q) Pseudomonas sp

#### B) Hongos

- a) Alternaria sp
- b) Acrothecium sp
- c) Aspergillus sp
- d) Candida sp
- e) Cladosporium sp
- f) Cunninghamella sp
- g) Curvularia sp
- h) Fusarium sp
- i) Humicola sp
- j) Mortierella sp
- k) Oideodendron sp
- l) Paecilomyces sp
- m) Penicillium sp
- n) Phoma sp
- ñ) Pseudogymnoascus sp
- o) Pythium sp
- p) Rhizotocnia sp
- q) Rhizopus sp

## A) Bacterias.

- r) Serratia sp.
- s) Thiobacillus sp.
- t) Xantomonas sp.

## C) Actinomycetes.

- a) Streptomyces sp.

## B) Hongos.

- r) Rhodotorula sp.
- s) Schwanniomyces sp.
- t) Sclerotium sp.
- u) Trichoderma sp.

Dentro de las especies más conocidas se encuentran:

## Bacterias:

- |                        |   |
|------------------------|---|
| 1. <u>Bacillus</u>     | <u>circulans</u><br><u>fluorescense</u><br><u>megatherium</u><br><u>mesentericus</u><br><u>mycoides</u><br><u>subtilis</u><br><u>pulvifaciens</u> |
| 2. <u>Enterobacter</u> | <u>aerogenes</u>  |
| 3. <u>Escherichia</u>  | <u>freundii</u><br><u>intermedia</u>  |
| 4. <u>Pseudomonas</u>  | <u>calcis</u><br><u>liquifasciens</u><br><u>putida</u><br><u>rathonia</u>   |
| 5. <u>Thiobacillus</u> | <u>thiooxydans</u>  |

## Hongos:

- |                       |  |
|-----------------------|--|
| 1. <u>Alternaria</u>  | <u>tenuis</u>  |
| 2. <u>Aspergillus</u> | <u>avamori</u><br><u>flavus</u><br><u>fumigatus</u><br><u>niger</u><br><u>nidulans</u><br><u>terreus</u> |
| 3. <u>Curvalaria</u>  | <u>lunata</u>  |
| 4. <u>Fusarium</u>    | <u>oxysporum</u>   |
| 5. <u>Penicillium</u> | <u>digitatum</u><br><u>lilacinum</u>   |
| 6. <u>Sclerotium</u>  | <u>rolfsii</u>   |

Algunas de las fuentes usadas por estos microorganismos son:

## Minerales:

Fosfato tricálcico  
fosfato monocálcico  
fosfato de hierro  
hidroxiapatita  
fluorapatita  
roca fosfórica

## Orgánicos:

glicerofosfato cálcico  
fitina  
lecitina  
fenil fosfato  
otros compuestos orgánicos  
fosfatados

Los criterios que han sido utilizados por los diversos investigadores para la selección de fosfobacterias son -- (59):

A) Fácil manejo del microorganismo.

B) Acción de transformación sobre fosfatos orgánicos e inorgánicos "in vitro".

C) Beneficio inmediato para el vegetal.

Es recomendable que los microorganismos sean aislados de suelos en los que posteriormente se piense realizar su inoculación para evitar problemas de adaptación por parte del microorganismo.

En la literatura se han reportado diversos medios de cultivo específicos para cada tipo de transformación que se utilizan tanto para el aislamiento, prueba bioquímicas, selección y propagación de cepas.

#### 2.4.4. Fisiología de fosfobacterias.

##### 2.4.4.1. Solubilización de fósforo inorgánico.

Algunos compuestos inorgánicos de fósforo no se encuentran disponibles para los vegetales por lo que los microorganismos solubilizan el fosfato para beneficiarlo.

Los microorganismos activos en este tipo de conversión crecen "in vitro" en medios con  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , apatita o materiales insolubles semejantes como única fuente de fósforo. -

Los microorganismos asimilan y hacen soluble a una gran porción de este elemento, liberándolo en cantidades superiores a sus demandas nutritivas. Si el fosfato insoluble se suspende en un medio de agar, las cepas responsables de la solubilización, se detectan fácilmente por una zona clara alrededor de la colonia. La solubilización se ha determinado para sales de calcio, fierro, aluminio, magnesio, manganeso, entre otros.

El mecanismo microbiológico por el cual los compuestos insolubles de fósforo son movilizadas, es la producción de diversos ácidos. Algunos de ellos son:

A) Ácidos orgánicos como el láctico, ácido hidroxia-cético, oxálico, fórmico, succínico, acético, propiónico, fórmico, cítrico. Los hidroxiaácidos solubilizan más fácilmente minerales como la apatita debido a que existe la formación de un quelato además de la baja de pH.

B) En el caso especial de los quimioautótrofos oxidantes de amonio y azufre, los responsables son los ácidos nítrico y sulfúrico, obteniéndose iones ortofosfato de roca fórica.

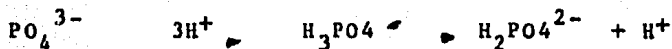
C) Dióxido de carbono.- Los microorganismos disminuyen el pH a su alrededor por medio del  $\text{CO}_2$  liberado durante la respiración provocando se solubilice más fosfato.

D) Sulfuro de hidrógeno.- Algunas bacterias producen  $\text{H}_2\text{S}$  que reacciona con el fosfato férrico produciendo sulfuro ferroso y iones ortofosfato solubles.

E) Sustancias húmicas.- Los ácidos húmicos y fúlvicos provenientes de la degradación de restos vegetales pueden - -

unirse con el calcio, fierro o aluminio formando fosfatos complejos solubles y estables con fierro o aluminio que son asimilables a las raíces de las plantas.

La reacción general de la solubilización de fosfatos es:



Algunos géneros de microorganismos que realizan la solubilización de fosfatos son: Aspergillus, Bacillus, Flavobacterium, Fusarium, Micrococcus, Mycobacterium, Penicillium, Pseudomonas, Sclerotium.

#### 2.4.4.2. Producción de Fitohormonas.

Actualmente según diversos estudios (1, 3, 6, 13, -- 19) se sugiere que la estimulación en el crecimiento de las plantas inoculadas con fosfobacterias es debido a fitohormonas producidas por las fosfobacterias. El mecanismo propuesto para esta acción es el siguiente:

Las fitohormonas producidas por las bacterias capacitan a la planta a un desarrollo que posiblemente afecta a su sistema radicular de tal forma, que la planta explora un volumen mayor de suelo y obtiene más fósforo del soluble que existe en el suelo en cuestión lo cual explica que el total de fósforo absorbido por las plantas inoculadas sea mayor. Las fitohormonas producidas por estas bacterias son auxinas, citoquininas y giberelinas.

De acuerdo a los resultados obtenidos por diferentes investigadores se puede afirmar que en la rizósfera de las plantas ocurren la producción de fitohormonas o la solubiliza-

ción de fosfatos o bien ambos procesos y quizá algún otro tipo de mecanismo condicionado por uno de los antes mencionados, dependiendo de las condiciones del ensayo, y hasta no hacer estudios con fósforo radiactivo se podrá decidir en forma definitiva cuál de estos mecanismos es el más importante.

#### 2.4.4.3. Mineralización de fósforo orgánico.

La presencia en el suelo de un gran depósito de fósforo orgánico que no puede ser utilizado por las plantas enfatiza el papel de los microorganismos que convierten el fósforo orgánico a formas inorgánicas asimilables (14).

La mineralización es generalmente más rápida en suelos vírgenes que en suelos cultivados. La mineralización se ve favorecida por temperaturas elevadas, pH neutro y cantidad de sustrato (suelos ricos en fósforo orgánico serán los más activos). La degradación no se inhibe por la adición de fósforo inorgánico.

La mineralización se realiza por medio de enzimas de nominadas fosfatasa que son alcalinas o ácidas dependiendo del pH, bajo el cual actúan. Algunas de ellas son:

A) **Fitasas.**- Hidrolizan la unión ester fosfato del ácido fítico produciendo inositol y ortofosfato.

B) **Nucleasas.**- Estas enzimas actúan sobre los ácidos nucleicos desfosforilándolos. Esta acción es afectada por el pH y la velocidad disminuye conforme la acidez se eleva.

C) **Fosfolipasas.**- La lecitina (fosfatidilcolina) y la fosfatidiletanolamina son los fosfolípidos más comunes -



en el suelo por lo que son usados por estas enzimas para liberar iones ortofosfato por medio de hidrólisis.

Algunos géneros que realizan esta transformación microbiana son: Arthrobacter, Aspergillus, Bacillus, Cunninghamella, Penicillium, Pseudomonas, Rhizopus, Streptomyces, etc.

#### 2.4.4.4. Inmovilización.

La incorporación de fosfato soluble a las células bacterianas en desarrollo se denomina inmovilización.

Los microorganismos del suelo compiten con las raíces por el fósforo presente en la rizósfera. El fosfato inmovilizado dentro de las células bacterianas es liberado cuando éstas mueren y es entonces nuevamente disponible para las plantas. Durante la descomposición de la materia orgánica, el incremento de la población microbiana establece una gran demanda en el suministro de fosfato. Consecuentemente, si los residuos carbonados son deficientes de fósforo, la asimilación microbiana del fosfato disponible, disminuye los rendimientos del cultivo.

El fósforo es tanto mineralizado como inmovilizado. El proceso predominante está determinado por el porcentaje de fósforo en los residuos vegetales en descomposición y los requerimientos nutricionales de las poblaciones responsables. Si la concentración excede a la requerida para la nutrición microbiana, el exceso aparece como fosfato inorgánico, si es inadecuado para la microflora, el efecto neto es la inmovilización.

#### 2.4.4.5. Reacciones de óxido-reducción.

El fósforo existe en varios estados de oxidación que varían del 3 - de la fosfina ( $\text{PH}_3$ ) al estado de oxidación de 5+ del ortofosfato ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). La oxidación biológica de compuestos de fósforo reducidos es evidente cuando se agrega fosfito al suelo ya que éste último desaparece y hay un incremento de la concentración de fosfato.

Esta conversión es realizada microbiológicamente ya que si se añade un inhibidor biológico como el tolueno, la reacción no se efectúa. Las bacterias utilizan preferentemente fosfato en lugar de fosfito por lo que en medios que contienen ambos aniones el fosfato desaparece primero.

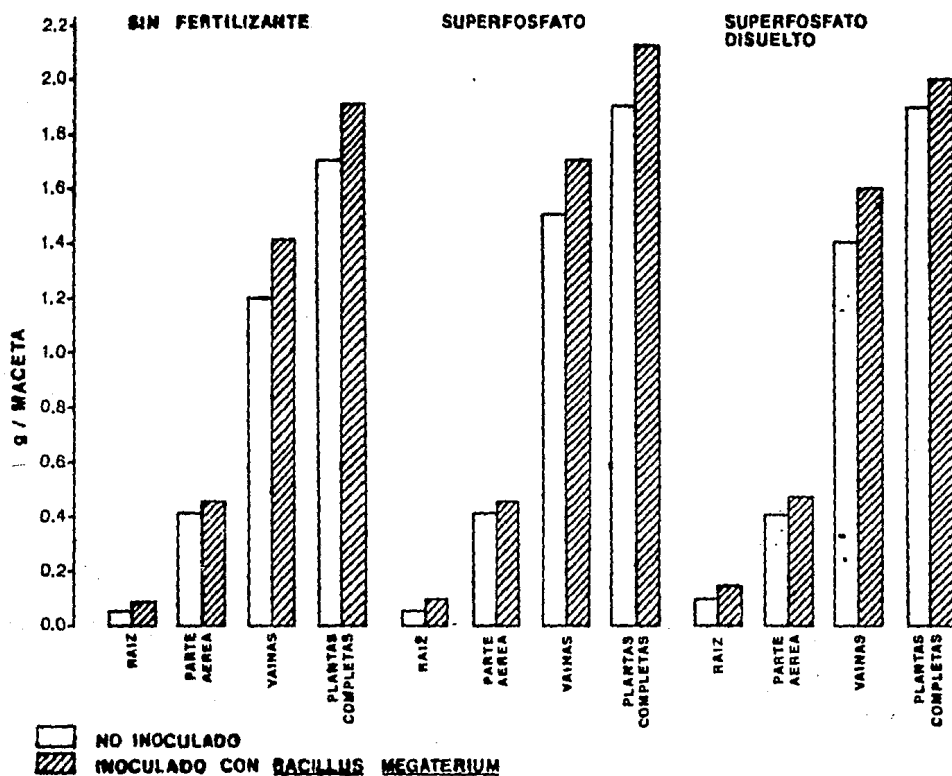
#### 2.4.5. Factores ecológicos que afectan a las fosfobacterias.

Los factores ecológicos que presentan una relación estrecha con el desarrollo de las fosfobacterias son los que generalmente interaccionan con cualquier tipo de bacteria. Algunos de estos factores son: intensidad de luz, temperatura, pH del suelo, composición del suelo, humedad, presencia de otros microorganismos. Como las fosfobacterias en estudio son de muy diversos géneros, estos factores ecológicos interaccionan en diversas formas, por lo que a menos que se estudie un tipo taxonómico específico, se podrá conocer con exactitud las variaciones que ejerzan los factores ecológicos sobre el tipo de bacteria.

#### 2.4.6. Importancia de las fosfobacterias en la agronomía.

No hay duda que el suelo y los microorganismos que habitan en él, afectan el suministro y la incorporación de nutrientes por la planta. En el caso de suelos calizos, la

deficiencia en fósforo en las plantas superiores se debe a la baja disponibilidad, así como a la escasez de este nutrimento, en cuyo caso la inoculación artificial del suelo y/o semillas con bacterias solubilizadoras de fosfato puede ser un método para incrementar el fósforo disponible existiendo la posibilidad de un efecto positivo sobre la cosecha. En un experimento realizado (66), se incrementó en un 13.2% la cantidad de fósforo después de la inoculación de fosfobacterias.



Gráfica del efecto de la inoculación con fosfo bacterias y fertilización con fosfato sobre la materia seca de plantas de chícharo (66).

La fertilización del suelo con superfosfato estimula el desarrollo de las fosfobacterias. En los tratamientos inoculados, este efecto resulta en una producción adicional de microorganismos; esto lleva a la conclusión de que aún cuando muchas fosfobacterias estén presentes en la rizósfera de las plantas, la inoculación de las semillas y/o el suelo tiene un efecto positivo sobre ellas. Esto concuerda con lo dicho por algunos otros autores de que la inoculación de bacterias solubilizadoras, tiene efecto sobre la microflora nativa. Las interpretaciones se complican pues algunos investigadores sugieren que la actividad fosfatásica radica principalmente en la raíz y sólo una pequeña parte de ella es atribuible a los microorganismos. Sin embargo, en este trabajo se muestra una relación definitiva entre las fosfobacterias y el fósforo incorporado por las plantas.

Actualmente existen diversos estudios en los cuales se indica que la acción de las fosfobacterias radica en la producción de fitohormonas: un estudio referente a esto (36) revela que en 4 suelos con bajo contenido de fosfato asimilable, la inoculación de fosfobacterias productoras de fitohormonas dió lugar a una estimulación del crecimiento de las plantas.

Según se observó, la inoculación de fosfobacterias sin adición de fosfato soluble, no eleva el % de fósforo en la planta, ello indica ausencia de solubilización de fósforo disponible del suelo, mientras que el crecimiento de las plantas aparece notablemente estimulado. De estos hechos podría deducirse que las bacterias habían actuado por un mecanismo hormonal y la planta con una base nutritiva muy baja en fósforo sería incapaz de sintetizar sus propias hormonas compensando las bacterias tal actividad bioquímica. Este mecanismo hormonal capacitaría a la planta a un desarrollo que posi-

SUELO	TRATAMIENTO BACTERIANO	LONGITUD TALLO (mm)	PESO SECO PARTE AEREA (g) MEDIA
A	Control	21	1.26
	Inoculado	59	5.00
B	Control	20	1.23
	Inoculado	29	2.03
C	Control	36	3.84
	Inoculado	37	4.11
D	Control	19	1.77
	Inoculado	28	3.18

blemente afectaría a su sistema radicular de tal forma que la planta exploraría un volumen mayor de suelo y obtendría más fósforo del soluble que exista en el suelo en cuestión de lo cual explicaría que el total de fósforo absorbido por las plantas inoculadas sea mayor (no así el % de fósforo). Sin embargo, la posibilidad de que hubiese ocurrido solubilización de fosfato por las bacterias no puede ser excluida ya que dicho efecto podría haber permanecido solapado dentro del efecto hormonal antes descrito.

Para intentar aclarar la situación expuesta, se supuso como hipótesis de partida, que al añadir cantidades crecientes de fósforo soluble como fertilizante quedaría deprimida la posible actividad bacteriana de solubilización de fosfa

tos y se exaltaría el posible mecanismo hormonal.

Al realizar el experimento no se obtuvieron resultados convincentes, por lo que se concluyó que ambos mecanismos o bien otro condicionado por uno de los anteriores puede ocurrir en la rizósfera.

Las fosfobacterias también han sido estudiados interaccionando con Azotobacter (52) observándose claramente que este último estimula la población natural de bacterias solubilizadoras de fósforo y a su vez éstas estimulan la proliferación de Azotobacter.

El uso de ambos fertilizantes microbianos provoca un incremento en el peso seco de la planta.

Efecto del fertilizante bacteriano en el peso seco de Lavandula spica (lavanda):

C: Control

A: Azotobacter

F: Fosfobacterias.

Algunos autores sugieren que el efecto positivo de Azotobacter sobre el crecimiento de la planta no debe atribuirse a un enriquecimiento del medio mediante la fijación de nitrógeno, o bien a un incremento de la cantidad de fósforo soluble por las fosfobacterias. Probablemente, en el microhabitat la solubilización de fósforo pueda influir mejorando el crecimiento de Azotobacter y de la planta y que al mismo tiempo la cantidad de nitrógeno fijada por Azotobacter promueva el desarrollo, tanto de la planta como de las bacterias solubilizadoras.

SUELO	INOCULANTE	PESO SECO PLANTA (mg)	
		Tallo	Raíces
(30 mg P; 132 mg N)	C	220	85
	A	269	174
	F	211	126
	A+F	242	153
B (5 mg P; 74 mg N)	C	137	89
	A	196	187
	F	127	223
	A + F	199	173

## 2.5. Interacción entre hongos formadores de micorrizas y fobacterias.

Varios trabajos experimentales (7, 8, 9, 10, 11, 12, 19) indican la existencia de interacciones entre hongos micorrícicos y otros microorganismos de la rizósfera. Hay que tener en cuenta que los exudados radicales de las plantas micorrizadas difieren de las no micorrizadas, no sólo porque cambia el estado nutricional de la planta huésped, sino también debido a la gran cantidad de tejido del hongo presente en la raíz micorrizada que afecta más directamente a los exudados. En el caso de las micorrizas formadoras de manto, se sabe que éstas inducen cambios cualitativos y cuantitativos en la microflora del suelo; a su vez se ha descrito que Azotobacter y otros microorganismos afectan de una manera positiva la formación de esta simbiosis. Tal efecto se debe probablemente a las sustancias extracelulares que los microorganismos liberan, entre las cuales desempeñan un papel importante las fitohormonas, cuya producción es un fenómeno común de los microorganismos de la rizósfera. Igualmente, se ha señalado un efecto be

néfico de Pseudomonas sp, en el establecimiento de las MVA, -- así como la cooperación de las MVA y bacterias solubilizadoras de fosfato en cuanto a sus efectos sobre el crecimiento y nutrición de las plantas y también en el establecimiento de la simbiosis. De igual forma se han sugerido interacciones entre Azotobacter y MVA, Rhizobium y MVA.

En estudios realizados previamente (12) se encontró -- que existe una interacción entre hongos micorrícicos (Endogone sp) y fosfobacterias solubilizadoras inoculadas en plantas. La acción en la cual estos microorganismos influyen es -- sobre la asimilación de fósforo por la planta y su desarrollo en suelos con deficiencia de este elemento en forma disponible. Estos estudios han mostrado que la población bacteriana permanece con niveles mayores de microorganismos en los suelos en -- donde hay presencia de micorrizas que en aquéllos en donde la micorrización no se encontraba presente por lo que se sugiere -- que la actividad metabólica de las bacterias perdura por un mayor lapso. Durante este estudio también se observó que las -- plantas inoculadas con fosfobacterias y micorrizas en forma conjunta asimilan mayor cantidad de fósforo que aquellas otras plantas inoculadas con alguno de los dos tipos de microorganismos en forma aislada.

Según investigaciones realizadas (31, 63) se sabe que las plantas micorrizadas toman fósforo de la misma fuente de -- fácil disponibilidad que las plantas no micorrizadas. Las MVA no incrementan el consumo de fosfato por medio de la disolución de complejos de fósforo del suelo (40). Aunque (23, 43, -- 51) se ha mostrado que las MVA parecían hidrolizar la roca -- fosfórica estos resultados pudieron deberse a una asimilación más eficiente de iones fosfato disociados químicamente por las hifas del hongo. Otros investigadores (61) mostraron que las plantas adicionadas de roca fosfórica crecían mejor que aque--



llas plantas no micorrizadas aunque ambos grupos de plantas exhibieron síntomas de deficiencia de fósforo; las plantas -- micorrizadas no dieron más semillas que las no micorrizadas.

Algunas bacterias pueden hidrolizar fósforo insoluble "in vitro" (12, 32, 66) incluyendo a la roca fosfórica. Sin embargo es incierto que las bacterias con esta capacidad lo realicen cuando son introducidas a la rizósfera y benefician a la planta.

Otros estudios (34) revelan que aquellas plantas inoculadas con fosfobacterias solubilizadoras puestas en arena y adicionadas de roca fosfórica deben su desarrollo más bien a un efecto hormonal que a la acción provocada por el incremento de fosfatos. También se muestra (66) que existen diferentes suelos en donde la solubilización microbiana de fósforo es más probable que ocurra.

En estudios llevados a cabo por Azcón y Barea (9) se observó que existían interacciones positivas entre cultivos bacterianos (fosfobacterias) y Rhizobium y las micorrizas en la formación de simbiosis. Los sobrenadantes libres de células jugaron un papel importante, ya que su actividad pudo ser tomada en cuenta gracias a una influencia directa en el desarrollo de la raíz.

La siguiente gráfica muestra los resultados obtenidos en plantas de Medicago sativa (alfalfa) con los diferentes tratamientos: efectuados sobre la intensidad de micorrización agregando un inóculo estándar de MVA.

R: Cultivo total de Rhizobium

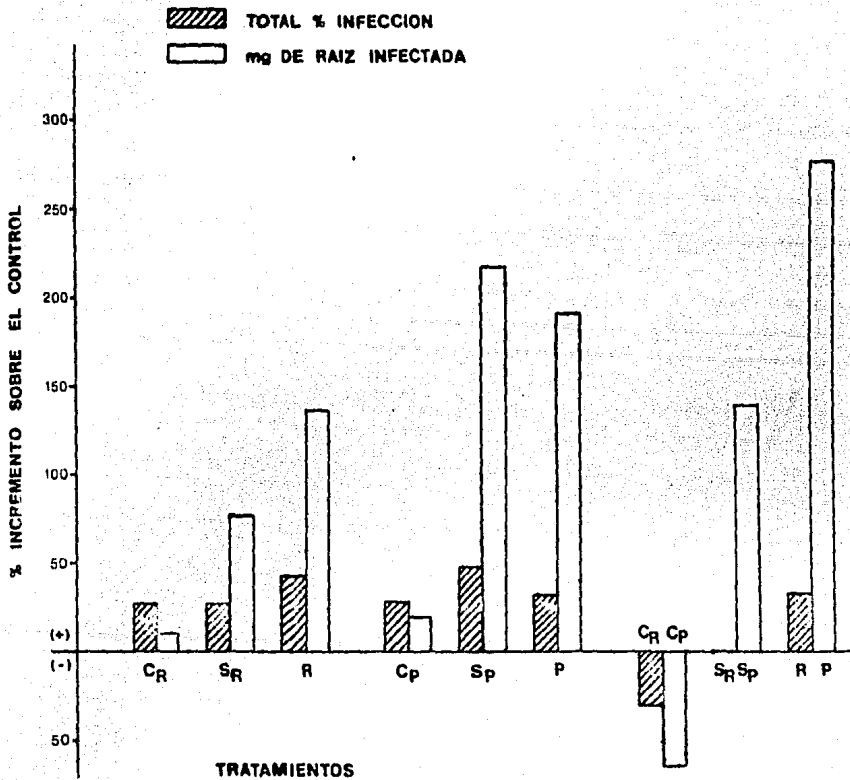
C<sub>R</sub>: Células de Rhizobium

S<sub>R</sub>: Sobrenadantes de Rhizobium

P: Cultivo total de fosfobacterias

C<sub>p</sub> : Células de fosfobacterias.

S<sub>p</sub> : Sobrenadante de fosfobacterias.



Hayman, Azcón y Barea en trabajos efectuados con La-  
vandula spica (lavanda), demostraron que la interacción entre MVA y  
fosfobacterias en un suelo alcalino deficiente de fósforo disponi-  
ble y adicionado de cantidades crecientes de roca fosfórica, to-  
maban mayor cantidad de fósforo total que aquellas plantas --  
inoculadas separadamente con uno de los dos tipos de microorganismos.

Se concluyó en este experimento que el efecto no se atribuía directamente a la solubilización de fosfato ya que el porcentaje de fósforo en las plantas no se incrementaba con el aumento en concentración de roca fosfórica sino a la producción de hormonas vegetales que producen mayor desarrollo de raíz y con esto exploran la rizósfera ampliamente.

Es interesante también observar la interacción entre micorrizas, fosfobacterias y Rhizobium (25). Este experimento muestra que el triple inóculo M+F+R se muestra efectivo en el sentido de que las plantas obtengan un contenido en nitrógeno y fósforo (elemento total absorbido) que supera estadísticamente los demás tratamientos. La demostración de tal circunstancia y el hecho de que ello ocurra en suelo no estéril es la conclusión práctica de este experimento.

Efecto de los fertilizantes microbianos sobre Trifolium pratense (trébol) en presencia y ausencia de roca fosfórica:

S: suelo

RF: roca fosfórica

Tratamiento:	Peso Seco: (g/planta)		Densidad: (nódulos/planta)		Micorrizas (% de infección)		N y P total en parte aérea (g/planta)			
	Suelo + RF:	Suelo:	S + RF:	S:	S + RF:	S:	S + RF:		S:	
							N	P	N	P
<u>Rhizobium</u> (R)	327	319	16	14	24	40	5.60	0.22	4.74	0.17
Fosfobacterias (F)	274	255	17	14	34	41	4.47	0.24	3.60	0.13
Micorriza (M)	252	249	16	15	47	56	4.04	0.21	3.40	0.20
R + F	338	325	22	19	39	37	5.31	0.26	4.91	0.20
R + M	297	297	19	17	49	53	4.94	0.28	4.20	0.20
F + M	362	288	16	15	49	61	5.29	0.28	4.34	0.23
R + F + M	385	325	24	16	61	69	6.19	0.2	5.07	0.31
Control	200	201	12	9	10	25	3.54	0.18	2.54	0.13

## CAPITULO TERCERO

### OBJETIVOS

Considerando que en nuestro país existen una gran cantidad de suelos que presentan problemas de fijación de fósforo, que existen microorganismos del suelo que aumentan la disponibilidad de éste y otros nutrimentos beneficiando el desarrollo de los vegetales y la productividad agrícola y de la carencia de este tipo de inoculantes en el mercado nacional, se plantean -- los siguientes objetivos:

1.- Comprobar la eficiencia de una fosfobacteria (aislada en un trabajo previo) en el aumento de la disponibilidad del fósforo presente en el suelo y en el adicionado de roca fosfórica.

2.- Estudiar el efecto de MVA sobre la absorción del fósforo y desarrollo de la cebolla en el suelo sin adición y en el adicionado de roca fosfórica.

3.- Estudiar la potencialización de los fertilizantes biológicos mediante inoculación doble en el suelo sin tratar y en el adicionado de roca fosfórica.

4.- Comparar el efecto de un fertilizante inorgánico (roca fosfórica) y dos fertilizantes biológicos (fosfobacteria y MVA).

CAPITULO CUARTO  
MATERIALES Y METODOS

4.1. SUELO.

4.1.1. Muestreo de Suelo.

El experimento se llevó a cabo con un suelo que presenta deficiencia de fósforo disponible. El suelo proviene de una parcela que se encuentra localizada en el km 185 de la carretera México - Queretaro. Las dimensiones de la parcela son de 150 x 80 m. Las muestras de suelo se tomaron dividiendo a la parcela en 4 regiones. De cada región se tomaron 40 kg de suelo aproximadamente. Estos 40 Kg de suelo se colectaron tomando pequeñas muestras de terreno con una profundidad de 0-25 cm según lo indica el esquema:

1	2
3	4

El suelo se transportó en costales de plástico sin cerrar para evitar se modificara la flora autóctona.

Posteriormente las muestras de suelo se tamizaron con una malla de 2 mm para evitar la presencia de piedras. En estas condiciones se procedió a las siguientes determinaciones:

## 4.1.2. Determinaciones Físicas y Químicas del Suelo.

- A) Color, valor y croma (50) en húmedo y seco.
- B) pH (potenciómetro Digi-Sense modelo 5985-40 Cole - Farmer, Instrument Co., Illinois, E.U.A.).
- C) Porcentaje de Humedad (26).
- D) Textura (método del hidrómetro de Bouyocus (26).
- E) Materia orgánica (método de Walkley y Black modificado (26).
- F) Fósforo disponible (método del bicarbonato de sodio) (22).
- G) Fósforo total (método de amarillo de vanadato molibdato) (22).

## 4.2. PLANTAS DE ENSAYO.

Se utilizaron semillas certificadas de Allium cepa (cebolla) variedad Santa Cruz con un porcentaje de germinación en medio PDA mayor al 90%. Este valor se obtuvo de la forma siguiente:

$$\% \text{ de germinación} = \frac{\text{Número de Semillas Geminadas}}{\text{Número Total de Semillas}} \times 100$$

Las semillas se lavaron previamente con suficiente agua estéril para eliminar pesticidas. Posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% durante 10 minutos, eliminando el exceso con lavados de agua estéril.

#### 4.3. INOCULANTES.

##### 4.3.1. Fosfobacterias.

La cepa empleada de fosfobacterias presenta acción solubilizadora de fósforo "in vitro". Esta cepa se propagó en -- matraces conteniendo el medio de Ramos-Callao (58) en condiciones óptimas de temperatura, pH y agitación hasta alcanzar la fase logarítmica de su crecimiento. A cada maceta se le adicionaron 5 ml de suspensión bacteriana que se homogenizó con el -- suelo.

##### 4.3.2. Micorrizas.

Para seleccionar las raíces infectadas por hongos formadores de endomicorrizas se hizo un muestreo de una parcela -- cultivada con maíz, localizada en el Estado de México, escogiendo aquellas plantas que estuviesen más altas y frondosas.

Se separó la raíz del tallo, almacenándose la raíz en -- bolsas de plástico dentro del refrigerador para su conservación. Para seleccionar las raíces se hizo un examen microscópico mediante la técnica de tinción de Phillips y Hayman (56) escogiendo aquellas raíces con un porcentaje de infección mayor al -- 80%. Previa homogenización de las raíces, se aplicaron 50 g -- de éstas a cada maceta seleccionada.

#### 4.4. FERTILIZANTE

Se empleó roca fosfórica como fertilizante. La cantidad agregada fue de 200 Kg/Ha, la que se homogenizó con el -- suelo.

#### 4.5. MACETAS.

Se utilizaron macetas de plástico de 2.5 kg de capacidad.

#### 4.6. MONTAJE DEL EXPERIMENTO Y SIEMBRA.

El trabajo relativo al montaje del experimento se efectuó de la siguiente manera:

Para el cultivo definitivo se emplearon macetas de material plástico con 2.5 kg de suelo deficiente en fósforo disponible. En las unidades correspondientes se incluyó una capa intermedia de sustrato formada por las raíces infectadas y/o la suspensión bacteriana.

El inóculo de las raíces micorrizadas y/o las fosfobacterias fue colocado 5 días antes de la siembra con fines de estabilización.

En cada maceta se sembraron 5 semillas previendo posibles pérdidas. Las determinaciones se efectuaron sólo en las dos plantas mejor desarrolladas en cada unidad.

La cosecha del cultivo se efectuó en todos los casos a los 150 días después de la siembra.

Con el material cosechado (las dos plantas de mejor desarrollo aparente) en cada unidad experimental se procedió a registrar el valor promedio (considerando las dos plantas) de las siguientes variables:

- Diámetro del bulbo (cm)
- Peso húmedo del bulbo (g)



- Longitud de las raíces (cm)
- Longitud de la parte aérea (cm)
- Peso húmedo de la parte aérea (g)
- Peso seco de la parte aérea (g)
- Humedad de la parte aérea (%)
- Fósforo en la parte aérea ppm
- Infección de micorrizas (%) (sólo en las unidades - que recibieron el inóculo de micorrizas).

En estas condiciones, se definieron en forma preliminar los siguientes factores bajo estudio:

- |                                    |   |
|------------------------------------|---|
| A (micorrizas) con dos niveles     | <p>A<sub>1</sub> (con micorrizas)</p> <p>A<sub>2</sub> (sin micorrizas)</p>         |
| B (fertilizante) con dos niveles   | <p>B<sub>1</sub> (con fertilizantes)</p> <p>B<sub>2</sub> (sin fertilizantes)</p>   |
| C (fosfobacterias) con dos niveles | <p>C<sub>1</sub> (con fosfobacterias)</p> <p>C<sub>2</sub> (sin fosfobacterias)</p> |

Posteriormente y considerando que el particular medio de cultivo con que se produjo la suspensión de fosfobacterias puede tener por sí solo un efecto en el desarrollo de las plantas que podría, equívocamente ser atribuido a las fosfobacterias, el factor C se redefinió como sigue:

C (fosfobacterias) con tres niveles.

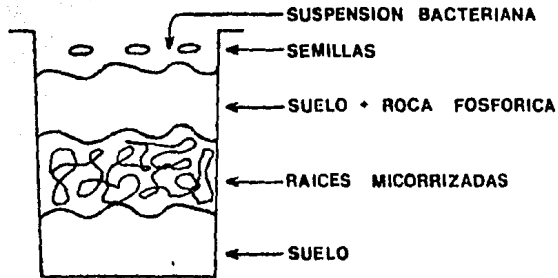
$C_1$  (con fosfobacterias)  
 $C_2$  (sin fosfobacterias)  
 $C_3$  (medio de cultivo solo)

Dada esta estructura y como el propósito era estudiar el efecto simultáneo de los tres factores se decidió incluir en el experimento los siguientes 12 (2 x 2 x 3) tratamientos:

Tratamiento:	Combinación de Factores:
I	$A_1 B_1 C_1$
II	$A_1 B_1 C_2$
III	$A_1 B_1 C_3$
IV	$A_1 B_2 C_1$
V	$A_1 B_2 C_2$
VI	$A_1 B_2 C_3$
VII	$A_2 B_1 C_1$
VIII	$A_2 B_1 C_2$
IX	$A_2 B_1 C_3$
X	$A_2 B_2 C_1$
XI	$A_2 B_2 C_2$
XII	$A_2 B_2 C_3$

Estos tratamientos fueron asignados de manera aleatoria a las unidades experimentales que se incluyeron en el experimento y que permanecieron en un invernadero a lo largo de todo el estudio.

El esquema siguiente representa un ejemplo de los tratamientos con MVA empleados en el experimento:



#### 4.7. DISEÑO DEL EXPERIMENTO Y PLANTEAMIENTO ESTADISTICO

Para simplificar la lista de tratamientos se puede observar el siguiente cuadro:

- F Fosfobacterias.
- SF Sin fosfocaterias.
- M Con medio de cultivo.

Micorriza A <sub>1</sub>						Sin Micorriza A <sub>2</sub>					
B <sub>1</sub>			B <sub>2</sub>			R <sub>1</sub>			B <sub>2</sub>		
Fertilizante			Sin Fertilizante			Fertilizante			Sin Fertilizante		
C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
F	SF	M	F	SF	M	F	SF	M	F	SF	M

La colocación de cada maceta se efectuó al azar sobre mesas de invernadero. El siguiente esquema muestra la disposición de las macetas:

30	19	4	50	28	13	40	22	20	48	46	39
34	57	32	21	37	3	60	11	51	9	54	47
7	35	42	59	36	12	6	31	29	33	15	45
55	5	27	41	56	1	24	26	23	49	16	58
14	43	52	44	17	10	38	2	8	18	25	53

#### PLANTEAMIENTO ESTADISTICO (48)

En virtud de que en este estudio se decidió estudiar el efecto simultáneo de los tres factores considerados (A, B y C) en cada una de las variables empleadas para describir el desarrollo de las plantas de cebolla, se propuso el empleo, para cada variable, del modelo usual conocido como modelo de análisis de varianza con 3 criterios de clasificación que se describe como sigue:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \delta_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\tau\beta\delta)_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

En Donde:

$Y_{ijkl}$  Representa el valor registrado de la variable bajo estudio, en la  $l$ ésima unidad experimental sometida al tratamiento  $A_i B_j C_k$ .

$\mu$  Representa la media general de las observaciones.

$\alpha_i$  Representa el efecto marginal de  $A_i$ .

$\beta_j$  Representa el efecto marginal de  $B_j$ .

$\mu_k$  Representa el efecto marginal de  $C_k$ .

$\gamma(\tau\beta)_{ij}, (\tau\mu)_{ik}, (\beta\mu)_{jk}, (\tau\beta\mu)_{ijk}$  Representan los posibles -- efectos conjuntos (de interacción), por parejas o de la terna, de  $A_i, B_j$  y  $C_k$ .

$\epsilon_{ijkl}$  A su vez representa un término de error (variación) aleatoria no explicada por el modelo y que se considera aleatoria.

Atendiendo a las ventajas que se obtienen de analizar experimentos donde se registren el mismo número de observaciones independientes para cada tratamiento y considerando la disponibilidad de recursos, se decidió en este caso utilizar un diseño balanceado con 5 observaciones (repeticiones) para cada tratamiento.

Una discusión detallada de la concepción y análisis de este tipo de modelos estadísticos puede encontrarse en Hicks -- (1973), Kempthorne (1952) y Snedecor y Cochran (1967).

De cualquier forma bajo los supuestos de que los efectos de los tratamientos son fijos, las observaciones se realizan de manera independiente y de que los errores  $\epsilon_{ijkl}$  tienen una distribución Normal de media cero y varianza común  $\sigma^2$ , el análisis del modelo se efectúa a partir de la tabla de análisis de varianzas correspondiente cuya forma general se presenta en el cuadro 1.

En el proceso de análisis se desarrolla como sigue:

Primero se establece la significancia de los términos de interacción. En el caso de que ninguno sea significativo, se puede establecer, en la misma tabla, la significancia de los efectos marginales de los tres factores bajo estudio. Si algunos de los términos de interacción resultan estadísticamente -- significativos, es necesario dividir el conjunto de observaciones para proseguir el análisis. La división se lleva a cabo de acuerdo a los niveles del factor que causa la interacción en su defecto es el menos importante ya que sus efectos marginales no podrán ser comparados estadísticamente en el análisis subsecuente. Así, si por ejemplo se determina que en este estudio el -- factor C causa la interacción o es el menos importante el conjunto de datos original se divide en tres subconjuntos. Uno, -- con todas las observaciones que recibieron un tratamiento que -- incluye a  $C_1$ ; otro con las que recibieron un tratamiento que in-- cluye a  $C_2$  y finalmente uno más con las restantes observaciones que recibieron un tratamiento que incluye a  $C_3$ . Las diferen-- cias entre  $C_1$ ,  $C_2$  y  $C_3$  no pueden ser evaluadas estadísticamente pero cada subconjunto se puede analizar con un modo similar al propuesto pero con solo dos criterios de clasificación (A y B).

Al análisis se prosigue en forma similar a la anterior de acuerdo a las nuevas tablas de análisis de varianza (cuadro-2) y en caso de detectar nuevamente interacción se vuelve a dividir para obtener varios modelos con un criterio de clasificac-- ción cuya tabla de análisis de varianza se presenta en el cua-- dro 3.

Cuando se detectan efectos marginales significativos -- de un factor y el número de niveles es mayor que dos, adicional-- mente se suelen efectuar pruebas conocidas como de comparacio-- nes múltiples con la finalidad de establecer cuales son los ni--

veles involucrados en la significancia de los efectos. En este estudio se empleó la prueba de contrastes de Scheffé. Una discusión de las características de esta prueba puede encontrarse en la literatura citada en este reporte.

#### 4.8. CONDICIONES DE CULTIVO.

A) Temperatura	22 - 27°C
B) Riego	200 ml de agua cada 5 días/maceta.
C) Tiempo	150 días.

#### 4.9. FUNDAMENTO DE ALGUNAS DETERMINACIONES

##### 4.9.1. Determinación de Fósforo Disponible en Suelo. Método - del Bicarbonato de Sodio de Olsen (22).

Principio.- En este método se extrae parte del fósforo intercambiable absorbido en las superficies de los suelos, partes de los fosfatos de calcio y otros y se ha obtenido una buena correlación con las respuestas sobre el terreno. El suelo se extrae con bicarbonato de sodio 0.5 M y los fosfatos extraídos se determinan colorimétricamente.

Procedimiento.- Póngase 5 g. de material de suelo seco y una cucharada de carbón activado con 100 ml de bicarbonato de sodio 0.5 M, en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y agítese durante 30 minutos. Filtrese por un papel filtro Whatman número 40- y agréguese más carbón activado hasta obtener un filtrado claro.

Pongáse una alícuota del filtrado, correspondiente a una fracción definida del suelo original en un matraz volumétrico de 25 ml. Añádanse 5 ml. de la solución de molibdato de amonio a cada matraz y mézclense. Lávese el cuello del matraz para evitar el contacto directo de la solución de molibdato con--

centrado con el cloruro de estaño. Dilúyase aproximadamente a 22 ml, agréguese 1.0 ml de la solución diluida de cloruro de estaño y mézclase inmediatamente, complétese al volumen y agítese bien; léase la intensidad del color desarrollado 10 minutos después de la adición de la solución de cloruro de estaño en el --fotocolorímetro empleando una longitud de onda de 600 nm.

Prepárese una curva estándar con 5 ml de la solución de bicarbonato de sodio incluida con la solución estándar de --fosfato.

#### 4.9.2. Determinación de Fósforo Total en Plantas y Suelo Método de Amarillo de Vanadato Molibdato (22).

Principio.- El material de plantas se aceniza en seco con un exceso de nitrato de magnesio, para impedir las pérdidas de fósforo por volatilización. Las cenizas se toman en ácido y se determinan los fosfatos por el método de amarillo de vanadato molibdato. Para efectuar la determinación de fósforo total en suelo, solo se efectúa el procedimiento correspondiente al método de amarillo de vanadato molibdato.

Los vanadatos, los molibdatos y los ortofosfatos reaccionan para dar un complejo de color amarillo en soluciones ácidas.

Procedimiento.- Acenización seca de nitrato de magnesio. Póngase 1.0 g de material seco y molido de plantas en una cápsula de porcelana. Añádanse 3 ml de solución de nitrato de magnesio al 50% y mézclense íntimamente. Evapórese hasta tan cerca de la sequedad en un baño de vapor y transfírase a una mufla a baja temperatura; increméntese gradualmente el calor -- hasta 500°C durante una hora o por debajo del color rojo bruto y acenícese hasta obtener cenizas blancas. Enfríese, cúbrase -



con un vidrio de reloj y añádanse 1 ml de agua y 2 ml de ácido nítrico concentrado. Digiérase en un baño de vapor o a temperatura ambiente. Transfiérase a un matraz volumétrico de 100 ml, agítese, déjese que se asienten los residuos, tómese una alícuota de la solución sobrenadante y determínese la cantidad de solución de carbonato de sodio 1 N que se necesita para la neutralización, usando rojo de metilo. Tómese una alícuota similar, añádase la cantidad necesaria de carbonato de sodio para neutralizar sin la adición del indicador y determínese colorimétricamente el fosfato de esa alícuota mediante el método de amarillo de vanadato molibdato.

Transfiérase una alícuota que contenga de 0.1 a 1.0 mg de fósforo en un matraz volumétrico de 50 ml. Añádanse 10 ml. del reactivo de molibdato de amonio vanadato de amonio. Mézclase y diluyase al volumen. Al cabo de 30 minutos leer con un espectro-fotómetro a 470 nm.

Determínese el fósforo con una curva preparada a partir de estándares. Estándares recomendados: tómese alícuotas de 0, 5, 10, 15 y 20 ml de la solución estándar de fósforo de 50 ppm.

#### 4.9.3. Determinación del Porcentaje de Infección Micorrícica. - (56).

##### A) TINCION DE RAICES PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE MVA MODIFICADA POR PHILLIPS Y HAYMAN.

Procedimiento para raíces no pigmentadas (cebolla, tomate, tabaco, caña de azúcar, frijol).

1.- Las raíces frescas se lavan cuidadosamente con agua para eliminar las partículas de suelo adheridas.

2.- Se calientan las raíces en una solución de KOH al 10% (P/v) a 90°C por una hora en autoclave.

3.- Eliminar exceso de KOH y enjuagar con agua.

4.- Colocar las raíces en una solución de HCl al 1% durante 3 minutos.

5.- Eliminar exceso de HCl y enjuagar con agua.

6.- Teñir con fucsina ácida al 0.01%. Poner en el autoclave por 3 minutos a 15 lb de presión.

7.- Se escurre el exceso de colorante y se colocan las raíces en una solución que contenga ácido láctico al 85% (875 ml), glicerina (63 ml) y agua (62 ml) durante 20 minutos.

#### B) DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE INFECCION MICORRIZICA.

1.- Se cortan segmentos de raíz de 1 cm de longitud y se colocan 10 fragmentos en forma paralela sobre un portaobjetos; se pone un cubreobjetos, presionando en forma uniforme y gradual.

2.- La observación al microscopio se hace a 10x

3.- De cada segmento se observan 10 campos. El porcentaje de infección se obtiene contando el número de campos que presentan alguna estructura característica de la simbiosis.

Ejemplo:

Segmentos de raíz

Cubreobjetos

Portaobjetos

Número de segmentos de 1 cm de longitud	10.
Número de campos microscópicos por segmento	10.
Número total de campos microscópicos observados	100.
Número de campos con infección	75.

Cálculo:

100 campos	100% infección
75 campos	X

X = 75% de infección micorrízica.

**CAPITULO QUINTO**  
**RESULTADOS Y DISCUSION**

Los resultados de las propiedades físicas y químicas - del suelo en estudio se muestran en la siguiente tabla:

Profundidad:	0.25 m
Color, valor y croma:	
- En seco:	10 YR 3/1 gris muy oscuro
- En húmedo:	10 YR 2/1 negro
pH:	7.63
Porcentaje de humedad:	7.99
Textura:	
- % arcilla:	24.68
- % arena:	69.32
- % limo:	6.0
Tipo de textura:	Franco arcilloso arenoso
% de materia orgánica:	1.9
Fósforo disponible:	12 ppm

Los resultados obtenidos de los 12 diferentes trata- - mientos se expresan en las tablas 1 a 9 en donde se reportan -- los valores por unidad experimental y en la tabla 10 el prome-- dio de las cinco repeticiones.

En los cuadros 1 a 12 se exponen las tablas de análi-- sis de varianza.

Diámetro y peso húmedo del bulbo. Los valores prome-- dio indican que la inoculación con micorrizas las cebollas mayo-- res se obtuvieron en presencia de fertilizante fosfatado inde--

pendientemente de la presencia ó ausencia de fosfobacterias, en tanto que en las plantas no micorrizadas como era de esperarse, el valor más alto se obtuvo al adicionar el fertilizante químico que fue seguido por el tratamiento con fosfobacterias y sin fertilizante inorgánico (tabla 1, 2, 10); sin embargo, en el análisis estadístico efectuado, se encontró que ningún efecto puede considerarse significativo ya que en todos los casos el nivel de significancia descriptivo ( $p$ ) es mayor que 0.05 para el diámetro y mayor que 0.1 para el peso húmedo. Así, se puede concluir que ni conjuntamente, ni en forma marginal, los factores A, B y C producen un efecto en el diámetro y peso húmedo del bulbo (cuadro 4 y 5).

Longitud de las raíces.- Para esta variable, la tabla de análisis de varianza que se presenta en el cuadro 6 reporta que sí existe un efecto significativo de las interacciones entre el factor A y el C y entre el factor B y el C (en ambos casos el nsd es menor que 0.0005), por lo que se hace necesario partir el diseño en modelos con 2 criterios de clasificación fijando los niveles del factor C. Como el factor C tiene 3 niveles, se obtienen 3 modelos con 2 criterios de clasificación con interacción, uno para cada nivel de C.

En cada uno de los 3 modelos, se probará el efecto de los factores A y B, manteniéndose fijo el nivel correspondiente del factor C. Como resultado del cuadro 6.1, donde se fija  $C = C_1$  se probó el efecto de los factores A y B teniéndose que la interacción entre éstos resulta no significativa ( $p > 0.25$ ) y por tanto se puede hablar de los efectos marginales de cada factor. Entonces, dado que las raíces tienen fosfobacterias, el efecto del factor B no es significativo ( $p > 0.05$ ) es decir, estadísticamente no hay diferencia entre aplicar fertilizante al suelo y no aplicarlo. Con respecto al factor A se tiene que sí existe diferencia entre los distintos niveles de A ( $p < 0.005$ )

teniéndose evidencia para pensar que la longitud de las raíces con micorrizas es mayor a la longitud de raíces sin micorrizas.

Para el siguiente nivel de C ( $C_2$ ) se observó que al probar el efecto de interacción entre los factores A y B éste resulta significativo, como puede verse en el cuadro 6.2 ( $p < 0.005$ ) lo cual no permite concluir marginalmente sobre el efecto de los factores A y B en la variable respuesta. Como consecuencia de la interacción se hace necesario partir una vez más el experimento mediante los niveles del factor B. Ya que el factor B tiene 2 niveles se tendrán dos modelos con 1 criterio de clasificación uno para cada nivel de B.

Analizando el cuadro 6.2.1 se tiene que, dado que las raíces no tienen fosfobacterias y el suelo contiene fertilizante, los 2 niveles del factor A se declaran estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) teniéndose evidencia para apoyar el hecho de que la longitud de las raíces con micorrizas es mayor a la de raíces sin micorrizas.

Ahora bien, analizando el cuadro 6.2.2 se tiene que cuando las raíces no tienen fosfobacterias y no se aplica fertilizante los niveles del factor A se declaran estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) contándose con la evidencia de que la longitud de las raíces sin micorrizas es mayor que la longitud de las raíces con micorrizas.

Para el último nivel de C ( $C_3$ ), se probó el efecto de los factores A y B teniéndose que el efecto de interacción es no significativo ( $p > 0.05$ ), por lo que se puede hablar de los efectos marginales de cada factor. Dado que se tiene el medio de cultivo solo, se observa que los niveles del factor A son diferentes entre sí ( $p < 0.0005$ ) y los niveles del factor B tam--

bién son diferentes entre sí ( $p \approx 0.0175$ ). Los datos dan evidencia para pensar que la longitud de las raíces sin micorrizas es mayor que la longitud de las raíces con micorrizas, y para el factor B se tiene que la longitud de las raíces al aplicar el fertilizante es menor que la longitud de las raíces al no aplicarlo (cuadro 6.3).

La inoculación de micorrizas ( $A_1$ ) estimuló el desarrollo de las raíces tanto en ausencia como en presencia de fósforobacterias y este efecto fue mayor en presencia de fertilizante fosforado excepto en los tratamientos IX y XII en los que las raíces más largas se obtuvieron en el tratamiento sin micorrizas con o sin fertilizante inorgánico y sin fosfobacterias, lo que se debe probablemente a la microflora nativa mejor adaptada que fue estimulada por el medio de cultivo adicionado compitiendo con los hongos micorrícicos introducidos y bloqueando su efecto que en ausencia de fertilizante inorgánico la raíz se ha desarrollado más en busca de los nutrimentos necesarios o bien haya sido estimulada por sustancias producidas por la flora natural. El análisis estadístico indica que sí existe un efecto significativo.

Longitud de la parte aérea. Con respecto a esta variable, se tiene que salvo en el caso del factor  $A_1$ , los demás factores no tienen efecto en la longitud de la parte aérea ni conjunta ni marginalmente (en todos los casos  $p > 0.05$ ). Con respecto al factor A, se observa que si existen diferencias significativas en sus niveles ( $p < 0.0005$ ) teniéndose que la longitud de la parte aérea es mayor en presencia de micorrizas que en su ausencia (tabla 4, 10 y cuadro 7).

Peso húmedo parte aérea. (Tabla 5, 10 y cuadro 8). Para esta variable se tiene que conjuntamente, los tres factores de interés no tienen efecto sobre ella. Sin embargo, margi

nalmente cada factor sí la afecta. Con respecto al factor, se observó que existen diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) entre sus dos niveles, encontrándose que el peso húmedo de la parte aérea es mayor en presencia de micorrizas que cuando no están presentes. En el caso del factor B, se encontró que el peso húmedo de la parte aérea, es mayor en presencia de fertilizante que cuando no se aplica. Por último, con respecto al factor C, se encontró que estadísticamente los efectos  $C_1$  y  $C_3$  sobre la variable son iguales entre sí e inferiores a  $C_2$ .

Peso seco de la parte aérea. Para esta variable (tabla 6, 10 y cuadro 9) se tiene que conjuntamente los factores A, B y C no tienen ningún efecto sobre el peso seco ( $p > 0.25$  en todos los casos). Sin embargo, marginalmente sí. Analizando la tabla correspondiente, se observa que el peso seco es mayor en presencia de micorrizas que en su ausencia con un nivel  $p < 0.005$ . También se detecta que el peso seco es mayor cuando se aplica fertilizante que al no aplicarlo ( $p < 0.05$ ). Por último, se encontró que el peso seco de la parte aérea al inocular fosfobacterias es mayor que cuando no se inocularon y menor que cuando sólo hay medio de cultivo y al aplicar las constantes de Scheffé se tiene que  $C_1$  y  $C_3$  son estadísticamente iguales e inferiores que  $C_2$  ( $p \approx 0.0001$ ).

Es de hacer notar que el tratamiento V que corresponde a la presencia de micorrizas y ausencia de fertilizante da un valor menor que el tratamiento IV en el que se emplearon los dos fertilizantes biológicos lo que indica que si bien parece ser más efectiva la asociación con micorrizas, las fosfobacterias también desempeñan un papel importante al establecer una acción sinérgica con los hongos. Por otra parte, el efecto de los fertilizantes biológicos se tradujo en valores más altos a los que se obtuvieron cuando se adicionó el fertilizante mineral solo.



Porcentaje de humedad en la parte aérea (Tabla 7, 10 y cuadro 10). En este caso se encontró que los tres factores de interés tienen un efecto conjunto sobre esta variable y por tanto se fija el nivel C obteniéndose los siguientes resultados.

Teniendo fosfobacterias inoculadas, el porcentaje de humedad de la parte aérea es mayor en presencia de micorrizas que en su ausencia ( $p \approx 0.0375$ ) igualmente este porcentaje es mayor al aplicar fertilizante que cuando no se aplica ( $p < 0.0005$ ) en presencia de fosfobacterias.

Ahora bien, cuando no se inoculan fosfobacterias los factores A, B tienen un efecto conjunto sobre la variable ( $p < 0.001$ ) por lo que se fija el factor B. Teniendo entonces ausencia de fosfobacterias y aplicando fertilizante, el porcentaje de humedad es mayor en presencia de micorrizas que en su ausencia. Si tenemos  $C_2B_2$  la presencia o ausencia de micorrizas no modifica el porcentaje de humedad.

Fijando  $C_3B_1$ , se tiene que el porcentaje de humedad es mayor en ausencia de micorrizas que en su presencia. Teniendo  $C_3B_2$  los niveles del factor A resultan ser estadísticamente iguales.

Contenido de fósforo en parte aérea (Tabla 8, 10 y cuadro 11). De la tabla presentada en el cuadro 11 se observa que los factores A, B y C tienen un efecto conjunto en la variable respuesta ( $p < 0.05$  en todos los casos) y por tanto es necesario partir el experimento fijando una vez más los niveles del factor C.

Una vez fijo el nivel  $C_1$  (cuadro 11.1) se analizan los efectos de los factores A y B y se encuentra que sí hay un efec

to de interacción entre los factores A y B ( $p \simeq 0.03775$ ) haciéndose necesario partir nuevamente el experimento fijando los niveles del factor B.

En el cuadro 11.1.1 se presentan los resultados del análisis una vez que se fijó  $C_1$  y  $B_1$  teniéndose que los niveles del factor A resultan ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) y con la evidencia de que hay mayor cantidad de fósforo en presencia de micorrizas que en su ausencia.

Ahora bien, dado que se fijó  $C_1$  y  $B_2$  (cuadro 11.1.2) - se tiene que los niveles del factor A son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) contando con mayor cantidad de fósforo en presencia de micorrizas que cuando no las hay.

Fijando el nivel  $C_2$ , se analizaron los efectos de los factores A y B (cuadro 11.2) y al igual que al fijar  $C_1$ , se encontró que si existe interacción entre los factores A y B - - ( $p \simeq 0.0375$ ) y por tanto debe de ser partido el experimento fijando los niveles del factor B.

En el cuadro 11.2.1 se presenta la tabla resultante al fijar  $C_2$  y  $B_1$  y se observó que los niveles del factor A resultaron ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.01$ ). Además, la cantidad de fósforo es mayor en presencia de micorrizas que cuando no las hay.

En el cuadro 11.2.2 se tiene la tabla resultante al fijar  $C_2$  y  $B_2$  observándose que los niveles del factor A resultaron ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) y teniéndose que la cantidad de fósforo es mayor cuando se cuenta con micorrizas que sin ellas.

Finalmente, al fijar el nivel  $C_3$  se tiene que el anali

zar la tabla presentada en el cuadro 11.3, los efectos conjuntos de los factores A y B no son estadísticamente significativos ( $p > 0.75$ ) lo cual permite estudiar los efectos marginales de A y B. Con respecto al factor A se tiene que, en presencia del medio de cultivo solo, los niveles resultan ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.005$ ) contándose con que hay mayor cantidad de fósforo en presencia de micorrizas que en su ausencia.

Con respecto al factor  $B_1$  en presencia de  $C_3$ , se tiene que los niveles de B resultaron ser estadísticamente iguales ( $p > 0.05$ ).

Porcentaje de infección micorrícica. (Tabla 9, 10 y cuadro 12). Dado que para el estudio de esta variable sólo interesan las unidades experimentales que recibieron inóculo fúngico, sólo se consideran los factores B y C.

En este caso se obtuvo que el porcentaje de infección de micorrizas resulta ligeramente mayor cuando se aplica fertilizante que cuando no se aplica. Por otro lado, el porcentaje de infección de micorrizas es también mayor cuando se inoculan fosfobacterias que cuando no se inoculan y es menor el porcentaje de infección que se obtiene en el medio de cultivo solo y el análisis estadístico indica que los efectos conjuntos de los factores B y C sobre la variable no son significativos ( $p > 0.5$ ). El efecto del factor B se tiene que los 2 niveles resultan estadísticamente iguales ( $p > 0.10$ ).

En el caso de las fosfobacterias se tiene que los niveles C son estadísticamente diferentes. Mediante constantes de Scheffé se tiene que  $C_1$  y  $C_2$  son estadísticamente iguales ( $p \approx 0.258$ ) e inferiores a  $C_3$  lo que indica nuevamente estimulación de la flora nativa que compitió con las micorrizas introducidas.

**TABLAS.**

TABLA 1

## DIAMETRO DEL BULBO (CM)

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
1.2	1.05	1.2	1.15	1.0	2.0	1.2	1.3	1.15	2.25	1.4	2.05
2.25	2.25	1.6	0.85	1.55	0.8	1.8	1.8	1.4	1.6	1.25	1.65
1.9	1.7	3.0	2.75	1.45	0.85	2.05	2.1	1.3	1.65	2.0	1.75
1.2	0.95	1.9	1.55	1.4	1.0	2.8	1.9	1.55	1.2	2.55	1.2
1.1	1.1	1.25	1.05	1.1	1.05	1.9	1.05	2.65	0.65	2.05	1.8

## PESO HUMEDO DEL BULBO (GR)

TABLA 2

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
5.42	4.5	4.375	4.99	4.695	7.08	6.16	5.19	3.935	11.87	6.295	3.815
11.13	9.065	5.37	3.45	6.13	2.53	6.56	6.36	5.4	5.085	3.135	7.49
9.405	6.775	13.23	11.815	6.805	3.24	8.08	7.86	4.07	4.705	8.965	6.66
5.665	3.92	8.485	7.12	5.28	3.1	13.87	8.345	7.025	6.36	11.125	5.32
5.190	4.435	4.52	3.835	3.76	3.335	6.465	2.945	13.24	1.84	6.74	8.56

LONGITUD DE LAS RAICES (cm)

TABLA 3

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
24.5	6.75	5.25	6	10.5	6.75	22	5.5	9.25	10.5	5.25	12
24.5	17.5	4	4	13	5	13	6.65	10	9.5	4.5	23.5
10.25	20.5	6	3.5	15.5	8.5	9.75	6	6.75	9.5	4.5	24
24.5	20	4	5.75	5	7.25	6.25	5.5	10.25	4.25	5.05	24.5
24	8	5.5	5	3.75	6.75	9	8	24	12.5	4.25	24.5

LONGITUD DE LA PARTE AEREA (cm)

TABLA 4

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
37.5	47	33	31.5	47	35.5	38	41	35.5	31.5	37	31
37.5	42.5	39	43.5	43.75	45	27.5	36.25	29.5	26	44	40
38	42.5	28	26	49	32	26.5	30.5	32	21.5	33	30.5
51	44.5	34.5	37	34	37	24.5	24.5	37.5	37	35.5	35
45.5	44.5	32.5	34	38.5	33	24.5	35.5	36	27	18.5	45

PESO HUMEDO DE LA PARTE AEREA (GR)

TABLA 5

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
6.315	10.295	6.715	5.375	8.745	7.55	8.10	7.59	5.145	6.735	7.88	4.415
6.635	6.42	9.95	6.115	9.26	6.55	4.495	6.345	5.38	4.565	4.925	4.705
5.42	9.63	6.83	2.905	8.61	5.485	4.68	5.745	4.13	4.05	6.525	5.28
9.25	8.15	6.545	7.89	5.8	4.745	5.14	6.75	6.8	7.15	5.735	6.28
7.69	10.045	6.48	6.085	6.365	5.705	5.395	5.675	8.095	3.44	4.88	7.5

PESO SECO DE LA PARTE AEREA (GR)

TABLA 6

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
10.005	8.885	6.155	4.89	8.01	6.75	7.32	6.99	4.575	5.94	7.365	3.96
5.34	5.785	5.9	5.485	8.575	5.82	4.025	5.685	4.745	3.975	4.615	4.1
4.28	8.67	6.25	2.615	8.03	5.03	4.23	5.135	3.39	3.645	5.97	4.81
7.36	7.235	5.98	7.13	5.38	4.29	4.7	6.015	5.795	6.515	5.36	5.79
6.815	8.62	5.895	5.61	5.85	5.075	4.83	5.095	7.105	3.175	4.565	6.855

## HUMEDAD DE LA PARTE AEREA (%)

TABLA 7

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
13.66	24.2	8.3	1.0	8.4	10.6	9.6	7.9	11.0	13.3	6.5	10.3
9.9	19.5	9.7	10.3	7.4	11.2	10.7	10.4	11.8	13.0	6.3	12.8
10.0	21.0	8.5	10.0	6.7	8.3	9.7	10.6	17.9	10.1	8.5	8.9
11.2	20.4	8.6	9.6	7.2	9.5	8.5	10.8	14.8	8.9	6.5	7.6
14.2	11.4	9.0	7.7	8.1	11.0	10.5	10.2	12.2	7.7	6.4	8.6

## FOSFORO EN LA PARTE AEREA (PARTES P M)

TABLA 8

CON MICORRIZAS						SIN MICORRIZAS					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE			CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
0.477	1.340	0.391	0.316	0.0212	0.3515	0.26	0.508	0.2485	0.2595	0.305	0.156
0.450	0.717	0.330	0.355	0.558	0.316	0.2125	0.3905	0.268	0.2215	0.258	0.162
0.357	1.189	0.373	0.285	0.512	0.317	0.2125	0.4525	0.2185	0.197	0.3095	0.256
0.785	0.989	0.345	0.4115	0.419	0.289	0.218	0.4605	0.3405	0.236	0.3125	0.2475
0.471	1.287	0.358	0.3695	0.4545	0.3015	0.232	0.3925	0.302	0.1775	0.2695	0.3675



TABLA 9

INFECCION DE MICORRIZAS (%) SOLO EN LAS UNIDADES  
QUE RECIBIERON EL INOCULO DE MICORRIZAS.

CON. MICORRIZAS.					
CON FERTILIZANTE			SIN FERTILIZANTE		
Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo	Sin Fosf.	Con Fosf.	Medio Cultivo
66.5	79	79.5	75	88	66.5
62	76	51	62	76.5	60
78	83	73	76	55.5	66
83	74.5	64.5	75	81	57.5
71.5	79.5	68	68	72.5	40.5

Tabla 10.

## VALORES MEDIOS DE LOS PARAMETROS EVALUADOS.

Parámetros evaluados	Con micorrizas						Sin micorrizas					
	Con fertilizante			Sin fertilizante			Con fertilizante			Sin fertilizante		
	Con fosfo bacterias	Sin fosfo bacterias	Medio cul tivo	Con fosfo bacterias	Sin fosfo bacterias	Medio cul tivo	Con fosfo bacterias	Sin fosfo bacterias	Medio cul tivo	Con fosfo bacterias	Sin fosfo bacterias	Medio cul tivo
Diámetro del bulbo (cm)	1.41	1.53	1.79	1.30	1.47	1.14	1.63	1.95	1.61	1.85	1.47	1.69
Peso húmedo del bulbo (g)	5.73	7.36	7.19	5.33	6.24	3.85	6.10	8.22	6.61	7.25	5.97	6.37
Longitud de raíces (cm)	14.55	21.55	4.95	11.47	4.85	6.85	6.33	12.0	12.05	4.51	9.19	21.7
Longitud de parte aérea (cm)	44.20	41.90	34.40	42.45	34.40	36.50	35.55	28.2	34.1	33.6	28.6	36.3
Peso húmedo parte aérea (g)	8.90	7.25	7.30	7.75	5.67	5.80	6.42	5.56	5.91	5.98	5.18	5.63
Peso seco parte aérea (g)	7.83	6.75	8.03	7.16	5.14	5.39	5.79	5.02	5.12	5.57	4.65	5.10
% humedad parte aérea	19.30	11.70	8.82	7.56	9.32	10.01	9.98	10.0	13.54	6.84	10.6	9.68
Fósforo parte aérea (ppm)	1.103	0.445	0.353	0.592	0.347	0.315	0.441	0.227	0.279	0.29	0.218	0.238
% infección micorrizica	78.40	72.20	67.20	74.50	71.20	58.10						
<i>Tratamiento</i>	<u>I</u>	<u>II</u>	<u>III</u>	<u>IV</u>	<u>V</u>	<u>VI</u>	<u>VII</u>	<u>VIII</u>	<u>IX</u>	<u>X</u>	<u>XI</u>	<u>XII</u>

**CUADRO**

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 1.

MODELO CON TRES CRITERIOS DE CLASIFICACION CON INTERACCION

FUENTE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD
$r$	$\sum_{i=1}^a \frac{y_{i...}^2}{bcr} - \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$a - 1$
$\beta$	$\sum_{j=1}^b \frac{y^2_{.j..}}{acr} - \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$b - 1$
$\gamma$	$\sum_{k=1}^c \frac{y^2_{.k.}}{abr} - \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$c - 1$
$(r \beta)_{ij}$	$\sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{ij..}}{cr} - \sum_{i=1}^a \frac{y^2_{i...}}{bcr} - \sum_{j=1}^b \frac{y^2_{.j..}}{acr} + \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$(a-1)(c-1)$
$(r \gamma)_{ik}$	$\sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^c \frac{y_{i.k.}}{br} - \sum_{i=1}^a \frac{y^2_{i...}}{bcr} - \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{.k.}}{abr} + \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$(a-1)(b-1)$
$(\beta \gamma)_{jk}$	$\sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \frac{y_{.jk.}}{ar} - \sum_{j=1}^b \frac{y^2_{.j..}}{acr} - \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{.k.}}{abr} + \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$(b-1)(c-1)$
$(r \beta \gamma)_{ijk}$	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{ijk.}}{r} - \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{y^2_{ij..}}{br} - \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{.jk.}}{ar} - \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{y^2_{ij..}}{cr} +$ $+ \sum_{i=1}^a \frac{y^2_{i...}}{bcr} + \sum_{j=1}^b \frac{y^2_{.j..}}{acr} + \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{.k.}}{abr} - \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$(a-1)(b-1)(c-1)$
$\epsilon_i(ijk)$	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^r y^2_{ijkl} - \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \frac{y^2_{ijk.}}{r}$	$(r-1)abc$
TOTAL	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^r y^2_{ijkl} - \frac{y^2_{...}}{abcr}$	$abcr - 1$





CUADRO 4.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

TITULO: DIAMETRO DEL BULBO

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	1.01405	1.01405	1	3.38795	> 0.05
B	0.416672	0.416672	1	1.3921	> 0.10
AB	0.170639	0.170639	1	0.570105	> 0.25
C	0.0377197	0.0188599	2	0.0630108	> 0.90
AC	0.118713	0.0593567	2	0.198311	> 0.75
BC	0.36908	0.18454	2	0.616547	> 0.50
ABC	0.852173	0.426086	2	1.423555	> 0.25
ERROR	14.367	0.299312	48		
TOTAL	17.346		50		

CUADRO 5.

TABLA DE ANÁLISIS DE VARIANZA

TÍTULO: PESO HUMEDO DEL BULBO.

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	9.96875	9.96875	1	1.20718	> 0.25
B	17.3	17.3	1	2.09498	> 0.10
AB	4.89893	4.898903	1	0.593245	> 0.25
C	9.98926	4.99463	2	0.604834	> 0.50
AC	2.08667	1.04333	2	0.126345	> 0.75
BC	15.3855	7.69275	2	0.931568	> 0.25
ABC	11.1873	5.59363	2	0.677371	> 0.50
ERROR	396.377	8.25785	48		
TOTAL	467.191		59		



CUADRO 6.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA  
 TITULO: LONGITUD DE LAS RAICES

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	5.82812	5.82812	1	0.294734	> 0.50
B	87.8477	87.8477	1	4.44255	< 0.05
AB	262.086	262.086	1	13.254	< 0.001
C	112.199	56.0996	2	2.83701	≈ 0.06
AC	842.785	421.393	2	21.3103	< 0.0005
BC	606.566	303.283	2	15.3373	< 0.0005
ABC	70.5234	35.2617	2	1.78322	> 0.10
ERROR	949.16	19.7742	48		
TOTAL	2937		59		

TABLA ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 6.1

LONGITUD DE RAICES (CON FOSFOBACTERIAS)

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	213.205	213.205	1	11.9616	< 0.005
B	54.7808	54.7808	1	3.07342	> 0.05
AB	14.28	14.28	1	0.801166	> 0.25
ERROR	285.185	17.8241	16		
TOTAL	567.45		19		

TABLA ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 6.2

LONGITUD DE RAICES (SIN FOSFOBACTERIAS)

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	33.1531	33.1531	1	1.51611	>0.10
B	472.878	472.878	1	21.625	<0.0005
AB	243.253	243.253	1	11.1241	<0.005
ERROR	349.875	21.8672	16		
TOTAL	1099.16		19		

TABLA ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 6.2.1

LONGITUD DE RAICES (SIN FOSFOBACTERIAS Y CON FERTILIZANTE)

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MENOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	1	228.006	228.006	5.92368	<0.05
ERROR	8	307.925	38.4906		
TOTAL	9	535.931			

TABLA ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 6.2.2

LONGITUD DE RAICES (SIN FOSFOBACTERIAS Y SIN FERTILIZANTE)

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	48.4001	48.4001	1	9.23007	<0.05
ERROR	41.95	5.24374	8		
TOTAL	90.3501		9		

TABLA ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 6.3

LONGITUD DE RAICES (MEDIO DE CULTIVO SOLO)

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	602.253	602.253	1	30.6783	<0.0005
B	166.753	166.753	1	8.49427	= 0.0175
AB	75.0779	75.0779	1	3.82441	>0.05
TOTAL	314.1	19.6313	16		
ERROR	1158.18		19		

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 7.

TITULO: LONGITUD DE LA PARTE AEREA.

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	650.125	650.125	1	19.0317	< 0.0005
B	8.4375	8.4375	1	0.246998	> 0.50
AB	40.0625	40.0625	1	1.17278	> 0.25
C	271.687	135.844	2	3.97667	> 0.05
AC	300.812	150.406	2	4.40297	= 0.0375
BC	81.3125	40.6562	2	1.19017	> 0.25
ABC	42	21	2	0.614751	> 0.25
ERROR	1639.69	34.1602	48		
TOTAL	3034.12		59		

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 8.

TITULO: PESO HUMEDO DE LA PARTE AEREA

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	26.7053	26.7053	1	12.8642	< 0.001
B	10.0781	10.0781	1	4.85472	= 0.0375
AB	3.16162	3.16162	1	1.52298	> 0.10
C	21.208	10.604	2	5.10804	= 0.01
AC	4.73926	2.36963	2	1.14147	> 0.25
BC	0.0239258	0.019629	2	0.00576268	> 0.90
ABC	0.0783691	0.0391846	2	0.0188756	> 0.75
ERROR	99.6453	2.07594	48		
TOTAL	165.642		59		

CONTRASTES DE SCHEFFE

C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	P
1	0	-1	0.331
0	-1	1	0.0001



TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

TITULO: PESO SECO DE LA PARTE AEREA

CUADRO 9.

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	20.9331	20.9331	1	11.6738	< 0.005
B	5.17969	5.17969	1	2.88857	< 0.05
AB	2.2583	2.2583	1	1.25939	> 0.25
C	18.8174	9.40869	2	5.24607	< 0.25
AC	3.76709	1.88354	2	1.0504	> 0.50
BC	1.25903	0.629517	2	0.351064	> 0.75
ABC	0.424316	0.212158	48	0.118315	
ERROR	86.072	1.79317	59		
TOTAL	138.711				

CONTRASTES DE SCHEFFE

C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	P
1	0	-1	0.331
0	1	-1	0.001

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 10.

TÍTULO: HUMEDAD DE LA PARTE AEREA

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	17.4531	17.4531	1	4.10206	≈0.0375
B	152.203	152.203	1	35.7728	<0.0005
AB	18.7695	18.7695	1	4.41146	≈0.0375
C	103.332	51.666	2	12.1432	<0.0005
AC	97.918	48.959	2	11.507	<0.0005
BC	29.2617	14.6309	2	3.43874	≈0.0375
ABC	161.266	80.6328	2	18.9514	<0.0005
ERROR	204.227	4.254572	48		
TOTAL	784.43		59		

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

CUADRO 10.1

TITULO: HUMEDAD DE LA PARTE AEREA (CON FOSFOBACTERIAS)

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	8.01367	8.01367	1	4.6792	$\leq 0.0375$
B	67.9329	67.9329	1	39.6661	$< 0.0005$
AB	1.49097	1.49097	1	0.870579	$> 0.25$
ERROR	27.4019	1.71262	16		
TOTAL	104.839		19		















TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

TITULO: FOSFORO EN LA PARTE AEREA

CUADRO 11.

FUENTE VARIACIÓN	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
A	0.903011	0.903011	1	74.0287	<0.0005
B	0.299683	0.299683	1	24.5679	<0.0005
AB	0.0864191	0.0864191	1	7.08462	=0.0175
C	1.23226	0.61613	2	50.5102	<0.0005
AC	0.44226	0.22113	2	18.1282	<0.0005
BC	0.26738	0.13369	2	10.9599	<0.0005
ABC	0.0857229	0.0428615	2	3.51377	=0.0375
ERROR	0.58551	0.0121981	48		
TOTAL	3.90224		59		

















CUADRO 12.

TABLA DE ANALISIS DE VARIANZA

TITULO: INFECCION DE MICORRIZAS

FUENTE VARIACION	SUMA CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	GRADOS LIBERTAD	F	P
B	158.687	158.687	1	1.93019	0.10
C	995.437	497.719	2	6.05398	0.01
BC	85.0625	42.5312	2	0.517327	0.50
ERROR	1973.12	82.2135	24		
TOTAL	3212.31		29		

CONTRASTES DE SCHEFFE

C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	P
1	-1	0	0.258
-1	0	1	0.0153

## CAPITULO SEXTO

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.- La interacción del doble inóculo provocó un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta y aprovechamiento de fósforo.

2.- De los fertilizantes biológicos empleados resultó mejor la inoculación con micorrizas.

3.- El efecto de los fertilizantes biológicos es optimizado por la presencia de fertilizante fosfatado.

4.- Comparando el efecto de los fertilizantes biológicos y el fertilizante inorgánico, se tiene que resultaron mejores los primeros ya sea aplicados en forma simultánea o separada.

5.- La ventaja de utilizar roca fosfórica como fertilizante, además de ser una fuente de fósforo barata, es que en base a su menor velocidad de disolución y solubilidad, se tiene una liberación continua y persistente, obteniéndose así un efecto residual más prolongado que si se usa superfosfato; además la roca fosfórica no se encuentra adsorbida a coloides y arcillas por lo que la planta la puede utilizar fácilmente después de su transformación.

Como se observó, las endomicorrizas y las fosfobacterias mejoraron la captación de la roca fosfórica por la planta, esto nos indica que los fertilizantes biológicos, deben emplearse no como sustitutos de los fertilizantes químicos, sino en forma conjunta, de manera que la adición de fósforo en cantida-

des no masivas asegure el mantenimiento del nivel de dicho elemento en el suelo y no inhiba el proceso de fertilización biológica sino que por el contrario, exista una cooperación mayor para conseguir una producción vegetal óptima. Esto puede lograrse aplicando fuentes de fósforo baratas como la roca fosfórica, en dosis mínimas necesarias para únicamente activar a los microorganismos y así evitar gastos innecesarios ya que como se observó en los tratamientos con fertilizante y sin fertilizante, los mejores resultados se obtuvieron cuando ambos tipos de microorganismos se encontraron juntos.

6. La presencia solo de micorrizas y fertilizante inorgánico estimuló el desarrollo de las raíces. Un efecto similar se observó al adicionar el medio de cultivo al suelo sin ningún, otro tratamiento lo que indica se favoreció a la floración que compitió por nutrimentos y probablemente ocasionó el estímulo en el desarrollo de la raíz en busca de nutrimentos y esto se confirma con el desarrollo general de la planta y absorción del fósforo cuyos resultados son de los más bajos.

7. En general podemos concluir que la presencia de los microorganismos empleados aumentaron la disponibilidad del fósforo existente en el suelo así como la del adicionado pero que esta mayor absorción de fósforo no se tradujo en un mayor rendimiento de la cebolla, que es el aspecto de interés práctico, y que en este caso deben buscarse otros factores que permitan establecer un equilibrio fisiológico de la planta a fin de obtener los beneficios esperados.

## CAPITULO SEPTIMO

## RESUMEN

Los microorganismos y las plantas superiores coexisten en la naturaleza en una constante interacción. Algunas interacciones específicas que involucran la asociación de ciertas clases de microorganismos con plantas superiores son actualmente campo de diversos estudios. Un tipo de microorganismos que benefician al vegetal son las llamadas fosfobacterias y la asociación denominada micorrizas.

Las fosfobacterias son microorganismos cuya acción es la solubilización de fosfatos no asimilables por los vegetales y actualmente se plantea la hipótesis de que el beneficio a los vegetales puede deberse a la producción de fitohormonas por este tipo de microorganismos.

La micorriza es una asociación simbiótica mutualista formada por las raíces de algunos vegetales superiores y las hifas de ciertos hongos. Existen diversos tipos de micorrizas; en el presente trabajo nos ocupamos de las llamadas MVA. La función que esta asociación desarrolla en la ecología y nutrición vegetal es aumentar la superficie de absorción de la raíz infectada y por consiguiente, incrementar la obtención de sustancias nutritivas, específicamente fósforo en suelos en donde este elemento se encuentra en su forma disponible en forma limitada, ya que concentraciones elevadas del elemento en forma soluble inhiben la micorrización.

En este trabajo se estudia la cooperación entre fosfobacterias y MVA sobre plantas de cebolla en un suelo no estéril neutro alcalino, así como la capacidad que estos microorganismos

mos confieren a los vegetales para utilizar roca fosfórica. El ensayo se llevó a cabo a nivel invernadero en un suelo con problemas de disponibilidad de fósforo. Los efectos observados indican que el mayor beneficio a la planta se obtuvo cuando se -- inocularon juntas fosfobacterias y micorrizas en presencia de -- la roca fosfórica que cuando se inocularon aisladas o sin la -- adición del mineral.

## CAPITULO OCTAVO

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Adams, M. Effect of gibberellic acid on plasticity of avena stem segment. *Plant physiol.* 56: 757-760 (1975).
- 2.- Alexopoulos, C. J. *Introductory Micology*. 3rd. edition. -- John Wiley. New York. (1979).
- 3.- Adams R. A. Role of auxin and gibberellin in differentiation of primary phloem fibers. *Plant physiol.* 63:609-614- (1979).
- 4.- Aloni, M. Effect of gibberellic acid on plasticity of avena stem segment. *Plant physiol.* 56: 757-760 (1975).
- 5.- Ahreno J. R., Reid, C. P. Distribution of C<sup>14</sup> labeled metabolites in mycorrhizal and non mycorrhizal lodgepole pine seedlings. *Can. J. Bot.* 51: 1029-1035 (1973)
- 6.- Azcón, R., Barea, J. M. Synthesis of auxin, gibberellins and cytokinins by Azotobacter vinelandii and Azotobacter beijerinckii related to effects produced on tomato plants. *Plant and Soil.* 43: 609-619 (1975).
- 7.- Azcón, R. Barea, J. M., Callao, V. Inoculación conjunta de microorganismos movilizadores de fósforo y Rhizobium en cultivos enarenados de judía. *Microbiol. Esp.* 26:31-39 - (1973).

- 8.- Azcón, R., Barea, J. M., Callao, V. Selección de microorganismos movilizadores de fósforo y fijadores de nitrógeno - para utilizarlos como fertilizantes biológicos en cultivos enarenados. Cuad. C. Biol. 21: 23 - 30 (1973).
- 9.- Azcón, R., Barea, J. M. Callao, V. Effects of interactions between different culture infections, growth and nodulation of Medicago sativa. Can. J. Microbiol. 24: 520-524 -- (1978).
- 10.- Azcón, R., Barea, J. M., Hayman, D. S. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria. Soil.- Biol. Biochem. 8: 135 - 138 (1976).
- 11.- Azcón, R., Gómez, M. Barea, J. M. Efectos de la aplicación conjunta de fertilizantes químicos y microbianos en cultivos enarenados de tomate. Ana. Edafol. Agrobiol. 2:873---878 (1973).
- 12.- Barea, J. M., Azcón, R., Hayman, D. S. Possible synergistic interaction between Endogone and phosphate dissolving-bacteria in low phosphate soil in Endomycorrhiza. Proc. - Symp. Univ. Moose, B., Sanders, Y., Tinker, P. Ed. Academic Press. New York, (1974).
- 13.- Barea, M. M., Navarro, E., Montoya, E. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate solubilizing -- bacteria. J. Appl. Bact. 40: 129-134 (1976).
- 14.- Barea, J. M., Ramos, A., Callao, V. Contribución al estudio "in vitro" de la mineralización bacteriana de fosfatos. Rev. Microbiol. Esp. 23: 257 - 270 (1970).



- 15.- Baylis, G. T.. Minimum leaves of available phosphorus for non mycorrhizal plants. *Pl. Soil.* 36: 233 - 234 (1972).
- 16.- Bevege, D. I. Bowen, G. D. Endogone strain and host, - - plant, differences in development of VAM. In *Endomycorrhiza. Proc. Symp. Univ. Moose, B., Sanders, &, Finker, P. - Ed. Academic Press. New York. (1974).*
- 17.- Boullard, B. Premières observations concernant l'influence du photoperiodisme sur la formation des mycorrhizes. *Bull. Soc. Sc. Nat. Math. Cherbourg.* 48:1 (1957 - 1958).
- 18.- Bowen, G. D., Bevege, D. I., Moose, B. Phosphate physiology of VAM. *Endomycorrhizas. Academic Press. England (1975).*
- 19.- Brown, W. E., Seed and rood bacterization. *Ann. Rev. Phyto pathol.* 12: 181 - 198 (1974).
- 20.- Burnett, J. H. *Fundamentals of Mycology.* Edward Arnold -- Ed. England. (1976).
- 21.- Cox, G., Sanders, F. E., Tinker, P. B. Ultrastructural evidence relating to host endophyte transfer in VAM. *Endomycorrhizas. Academic. Press. England. (1975).*
- 22.- Chapman, H. D., Pratt, P. F., *Métodos de Análisis para suelos, plantas y agua.* Ed. Trillas. México. (1973).
- 23.- Daft, M. J., Nicolson, T. J. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. *New. Phytol.* 65: 343 - 350 (1966).
- 24.- Delorenzini, C. Efectos de la inoculación con MVA en suelos con diferente contenido de fósforo. *Rev. Lat. Amer. - Microbiol.* 24: 89 - 92 (1982).

- 25.- Delorenzini, C., Barea, J. M., Olivares, J. Fertilización-biológica (M + R + F) de *Trifolium pratense* en diferentes- condiciones de cultivo. Rev. Lat-Amer. Microbiol. 21:129--134 (1979).
- 26.- Echegaray, A., Ramírez, R. Prácticas de Microbiología Agrícola., Facultad de Química. UNAM. (1981).
- 27.- Frontera, G. M., Delorenzini, C. Micorrizas en crucíferas- de importancia agrícola y su influencia sobre la absorción de N y P. Rev. Lat-Amer. Microbiol. 23: 157 - 160 (1981).
- 28.- Furlan, V., Fortín, J. A. Effects of light intensity on -- the formation of VAM on Allium cepa by Gigaspora calospora New Phytol. 79: 335 - 340 (1977).
- 29.- Furlan, V., Fortin, J. A. Formation of Endomycorrhiza by - Endogone calospora on Allium cepa under 3 temperature regi mes. Naturaliste. Canadien. 100: 467 - 477 (1973).
- 30.- Galeana, A. P. Aislamiento y Selección de microorganismos -- movilizadores de Fósforo en el Suelo. Tesis Licenciatura.- Facultad de Química, UNAM. México. (1982)
- 31.- Gerdeman, J. W. Fungi that form VAM type of Endomycorrhiza. Mycorrhizas. E. HacsKaylo. Ed. USA. (1971).
- 32.- Gerdeman, J. W., Nicolson, T. H. Spores of micorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and de-- canting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46: 235 - 244. (1963).
- 33.- Gerdeman, J. W., Trappe, J. W. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Memories. No. 5. Published by - the New York Botanical Garden. Bronx. N. Y. (1974).

- 34.- Gerretsen, F. C. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. *Pl. Soil.* 1:51-81 (1948).
- 35.- Gray, L. E., Gerdeman, J. W. Uptake of phosphorus 32 by VAM. *Pl. Soil.* 30: 415 - 422 (1969).
- 36.- González Eguiarte, D., Barea, J. M. Fertilización biológica con fosfobacterias productoras de fitohormonas en suelos deficientes en fósforo. *Re. Lat-Amer. Microbiol.* 17: 227 - 232. (1975).
- 37.- Gutiérrez, N.V.M. Importancia de las fosfobacterias en la agricultura tesis Licenciatura. Facultad de Química, UNAM (1980).
- 38.- Hayman, D. S. Plant growth responses to VAM. VI Effect of light and temperature. *New Phytol.* 73: 71 - 76 (1974).
- 39.- Hayman, D. S., Moose, B. Plant growth responses to VAM. I Growth of Endogone inoculated plants in phosphate deficient soils. *New Phytol.* 70: 19 - 27 (1971).
- 40.- Hayman, D. S., Moose, B. The role of VAM in the removal of phosphorus from soil by plant roots. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 9: 463 (1972).
- 41.- Hicks, C. R. Fundamental concepts in design of experiments. 2nd. ed. Holt, Rinehart and Winston, New York, (1973).
- 42.- Informe Anual Fertilizantes Fosfatados de México. Ferti-mex. (1968).

- 43.- Jackson, N. W., Franklin, R. E., Miller, R. H. Effects of VAM on growth and phosphorus content of 3 agronomic crop.- Soil. Sc. Am. Proc. 36: 64 - 67 (1972).
- 44.- Kempthorne, O. Design and analysis of experiments. John - - Wiley. New York. (1952).
- 45.- Lewis, D. H., Harley, J. L. Carbohidrates physiology of my corrhizal roots of beech. III Movement of sugars between - host and fungus. New Phytol. 64: 256 - 269. (1965).
- 46.- Maeda, M. The meaning of mycorrhizas in the regard to sis- tematic Botany. Kumamoto. J. Sci. B. 3: 57 - 84 (1974).
- 47.- Mejía, Ch. A. Interacción de 2 leguminosas y hongos micorri- cicos vesículo arbusculares aislados de suelos mexicanos.- Tesis Licenciatura. Fac. Química. UNAM. (1981).
- 48.- Mendoza, M. Análisis estadístico del efecto de la inocula- ción de endomicorrizas y fosfobacterias en plantas de cebo- lla. Facultad de Ciencias. UNAM. México, (1983).
- 49.- Moose, B. Effects of different Endogone strains on the - - growth of Paspalum notatum. Nature. 239: 221. (1972).
- 50.- Munsell soil color charts. Ed. Munsell color. Maryland. -- (1975).
- 51.- Murdoch, C. L., Jackobs, J. A., Gerdeman, J. W. Utiliza- - tion of phosphorus sources of different availability by my corrhizal and non-mycorrhizal maize. Pl. Soil. 27:329-334 (1967).

- 52.- Ocampo, J. A., Barea, J. M., Montoya, E. Interactions between Azotobacter and phosphobacteria and their establishment in the rhizosphere as affected by soil fertility. *Can. J. Microbiol.* 21: 1160 - 1165 (1975).
- 53.- Ohms, R. E., A flotation method for collection spores of a phycomycetous mycorrhizal parasite from soil. *Phytopath.* 47: 751 - 752 (1957).
- 54.- Pearson, V., Tinker, P. B. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of Endomycorrhizas. *Endomycorrhizas*. Academic Press. England. (1975).
- 55.- Peterson, J. *Encyclopedia of Food Technology*. The AVI Publishing Co. Inc. Westport Connecticut. Vol. 2 (1974).
- 56.- Phillips, J. M., Hayman, D. S., Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and VAM fungi - rapid assesment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158 - 161 (1970).
- 57.- Powell, C. L. Potassium uptake by endotrophic mycorrhizas. In Sanders, Moose, Tinker *Endomycorrhizas*. Acad. Press. - London. (1975).
- 58.- Ramos, A., Callao, V. El empleo de la solubilización de fosfatos en placa como técnica diferencial bacteriana. *Rev. Microbiol. Esp.* 20: 1-12 (1967).
- 59.- Ramos-Cormezana, R. Criterios de Selección de fosfobacterias. *Ars. Pharm.* 11: 449 - 454 (1970).
- 60.- Ricky, M., Mukerji, K. G. Studies on Indian Endogonaceae. - I Four new records. *Trans. Mycol. Soc.* 15: 47-50 (1974).

61. - Ross, J. P., Gilliam, J. W. Effects of Endogone mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. Soil Sc. Soc. Am. Proc. 37: 237 - 239. (1973).
62. - Sanders, F. E. The effect of foliar applied phosphate on -- the mycorrhizal infections of onion roots. Endomycorrhizas Academic press. England. (1975).
63. - Sanders, F. E., Tinker, P. B. Mechanism of absorption of -- phosphate from soil by Endogone mycorrhizas. Nature. 233: 278 - 279 (1971).
64. - Singer, S. J., Nicolson, G. L. The fluid mosaic model of - the structure of cell membranes. Science. 175: 720 - 731 - (1972).
65. - Snedecor, G. W., Cochran, W. G. Statistical Methods. 6th. - ed. Iowa State University Press. Ames Iowa. (1962).
66. - Swaby, R. J., Sperber, J. Phosphate dissolving microorga-- nisms in the rhizosphere of legumes. In Nutrition of legu mes. E. D. Hallsworth. Ed. Butterworths. London (1959).
67. - Tardieux-Roche, A., Tardieux, P. La biologinèse des phos-- phates condensés par la microflore du sol et son rôle - - dans la nutrition des végétaux. Annes. Agron. 21: 305-314. (1970).
68. - Woolhouse, H. W. Membrane structure and transport problems considered in relation to phosphorus and carbohydrate move ments and the regulation of endotrophic mycorrhizal asso-- ciations. Endomycorrhizas. Academic Press. England - - (1975).

## APENDICE I

## A) Medio Ramos - Callao para Propagación de Fosfobacterias.

Agar . . . . .	22.0 g
Extracto de Levadura . . . . .	2.0 g
Glucosa . . . . .	20.0 g
Agua . . . . .	1000.0 ml
pH final . . . . .	7

B) Medio PDA para Determinar el Porcentaje de Germinación de --  
Semillas de Cebolla.

Infusión de papa . . . . .	200.0 g
Dextrosa . . . . .	20.0 g
Agar . . . . .	15.0 g
pH Final . . . . .	4.5