



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

FACULTAD DE CIENCIAS

*Abundancia y efectividad de los hongos
micorrizicos vesículo-arbusculares de suelos
bajo cultivos de maiz en el estado de Morelos*

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

B I O L O G O

presenta

MAYRA ELENA GAVITO PARDO



México, D. F.

1988



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.

INDICE

Resumen	2
Introducción	
1. Generalidades	3
2. Antecedentes	6
2.1. Abundancia de las poblaciones de MVA	6
2.2. Evaluación de la efectividad	9
3. Objetivos e hipótesis de trabajo	12
Materiales y métodos	
1. Localización del área de estudio	14
2. Desarrollo del trabajo de campo	16
3. Procesamiento de las muestras	18
3.1. Análisis de los suelos	18
3.2. Cuantificación de esporas	18
3.3. Cuantificación de los propágulos	19
3.4. Efectividad de la población nativa	20
4. Procesamiento de los resultados	22
Resultados	
1. Análisis de suelos y Abundancia.....	23
2. Efectividad en maíz	27
3. Efectividad en <i>L. leucocephala</i>	31
Discusión	35
Literatura citada	48
Apéndice 1	58

RESUMEN

Se presenta un estudio realizado en cinco cultivos de maíz del estado de Morelos para determinar la cantidad y la efectividad de las cepas nativas. Se muestreó suelo rizosférico de 50 plantas en cada sitio y en la muestra de cada uno se practicaron los análisis fisicoquímicos, se cuantificaron las esporas y los propágulos (NMP) y se realizó una prueba de efectividad de la población nativa, en combinación con el resto de los organismos del suelo, comparando el efecto en crecimiento de dos plantas de diferente dependencia micorrizica. Los resultados muestran que el factor que parece influir más en la abundancia de los hongos MVA es el manejo del suelo y que la efectividad de la población nativa es muy variable. No se encuentra una relación consistente de la efectividad con las características del suelo, ni con la abundancia de hongos, aunque la tendencia general es de una ligera mejoría en las plantas micorrizadas.

INTRODUCCIÓN

1. Generalidades.

Las micorrizas son asociaciones simbióticas de algunos hongos con las raíces de las plantas (Jackson y Mason, 1984), y la infección micorrizica es la condición normal; los hongos micorrizicos están presentes invariablemente en los suelos y las micorrizas se forman en abundancia (Rhodes, 1984).

La micorriza vesículo-arbuscular (VA), se presenta en Briofitas, casi todos los grupos de Pteridofitas, en Gimnospermas y la mayoría de Angiospermas, como plantas hospederas y la forman hongos de micelio no septado que pertenecen a la familia Endogonaceae de la clase Zygomycetes. En esta asociación, las hifas del hongo que se ramifican en el suelo, a partir del lugar donde germinó la espora, penetran las raíces en algunos puntos e invaden las células corticales formando una red que pasa entre las células y penetra en ellas. En el interior de las células se forman, típicamente, arbuscúlos de hifas ramificadas, que se piensa que son las estructuras de intercambio con la planta y también se forman vesículas, que son estructuras de almacenamiento. En el micelio externo, se forman esporas o esporocarpos, que son las estructuras de propagación en las

cuales se basa la identificación de cada especie. (Harley y Smith, 1983).

Actualmente se reconocen los géneros **Glomus**, **Sclerocystis**, **Acaulospora**, **Entrophospora**, **Gigaspora** y **Scutellospora** (Schenck y Pérez, 1987).

De los diferentes microorganismos que colonizan la rizosfera, los hongos micorrizicos ocupan una posición ecológica única al presentarse, parcialmente, dentro y fuera del hospedero. La fase interna de un hongo micorrizico no encuentra competencia ni antagonismo de otros microorganismos del suelo y tiene asegurada la fuente de nutrimentos del hospedero. Esta ventaja los capacita para conseguir una biomasa más grande y funcional en contacto más íntimo con la raíz aumentando, por lo tanto, sus oportunidades de ejercer más efecto sobre las plantas que otras especies microbianas restringidas a la rizosfera (Bagyaraj, 1984).

El aumento en la captación mineral, que resulta de las asociaciones micorrizicas, frecuentemente se refleja en el aumento de la sobrevivencia, el crecimiento y la producción de las plantas (Maronek et al , 1981).

Aunque es claro que los hongos micorrizicos VA mejoran el crecimiento de las plantas, principalmente a través de su efecto en la captación de nutrimentos, sobretodo fósforo y otros micronutrimentos menos estudiados (Lambert et al, 1979), estos organismos difieren en su habilidad para adaptarse a varias condiciones nutricionales, ambientales y edáficas, lo cual se refleja

en una eficiencia diferencial en su capacidad para infectar raíces, competencia con otros organismos o transferencia de nutrientes al hospedero (Cooper, 1984).

La efectividad de esta simbiosis puede ser evaluada en términos del mejoramiento en el crecimiento del hospedero (por materia seca, contenido de fósforo), o en términos de la calidad del hongo (sobrevivencia, competencia, colonización, propagación), siendo válido considerar ambos puntos de vista en un estudio (Smith, 1985).

Sin embargo, antes de que podamos utilizar efectivamente estos hongos en la agricultura comercial, tenemos que entender mejor su ecología. Necesitamos información de su tolerancia o sensibilidad a distintas variables del suelo : pH, niveles de fertilidad, tipos de suelo, efectos del hospedero y otras. Hasta ahora, se han realizado pocos estudios con agroecosistemas (Schenck y Siqueira, 1987).

2. Antecedentes

2.1. Abundancia de las poblaciones de hongos MVA.

Abbott y Robson (1982), en su revisión sobre el papel de los hongos micorrizicos VA en la agricultura y la selección de hongos para inoculación, mencionan que cualquier efecto benéfico de los hongos sobre las plantas agrícolas dependerá de la abundancia y el tipo de hongos presentes en el suelo. La abundancia se evalúa por cuantificación de esporas, por determinación del número más probable de propágulos viables, o por el grado de infección en las raíces. Para conocer la distribución se requiere de la identificación de los hongos, ya que varía con los factores climáticos, edáficos y el uso del suelo.

Smith y Skipper (1979), que han evaluado las técnicas de cuantificación de esporas, encuentran que el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), uno de los más utilizados, es un buen procedimiento de extracción porque permite recuperar una gran cantidad de esporas con pocos restos de materia orgánica. Recientemente, McKenney y Lindsey (1987), recomiendan la utilización de los tamizados con centrifugación en sacarosa y el uso de un agente dispersor para separar los agregados del suelo.

Hayman (1970) recomienda el método de tamizado húmedo y decantación, y reconoce la tendencia al aumento en el número de esporas en suelos cultivados, resaltando la importancia de las estaciones y del tratamiento del suelo.

Abbott y Robson (1977), estudiando la distribución y la abundancia de hongos MVA en suelos del oeste de Australia, encontraron una gran variabilidad en el número de esporas de suelos vírgenes, pastizales y cultivos, siendo estos últimos los más ricos, sin haber observado una relación con el fósforo disponible del suelo.

En otro estudio hecho en Australia, Hayman y Stovold (1979), encontraron poblaciones de esporas de 368 a 980 por 100 g de suelo seco en cultivos de maíz, observando que el número variaba considerablemente de un sitio a otro, y esto lo relacionaron con las diferencias en las prácticas de cultivo.

Sin embargo, Hetrick y Bloom (1983), han encontrado mayor cantidad de esporas en suelos no cultivados de los Estados Unidos.

Al respecto, Hayman (1982), discute la dificultad para encontrar interrelaciones consistentes entre las micorrizas VA y la fertilidad del suelo en diferentes sitios, al igual que entre el número de esporas y la infectividad del suelo, porque las dificultades para predecir los niveles de las poblaciones nativas surgen del gran número de factores que pueden afectar su distribución, actividad y sobrevivencia. Estos factores incluyen la fertilidad del suelo, humedad, pH, materia orgánica, susceptibilidad de la planta, intensidad de luz, altitud, perturbación, movimiento físico del agua, flora y fauna del suelo.

Además, las condiciones generales de los trópicos son diferentes y mucho menos estudiadas, lo cual hace mucho más difícil aplicar los resultados obtenidos en otros lugares diferentes a los de los sistemas tropicales. Janos (1985), en su estudio sobre la composición de las comunidades tropicales y su relación con los hongos MVA, enfatiza la importancia de relacionar varios factores ecológicos antes de hacer una interpretación.

Estudios realizados en suelos de diferente fertilidad (Hayman, et al 1976), muestran que la cantidad de P disponible no es un factor decisivo en la abundancia de las micorrizas. En los trópicos, esto ha sido corroborado por estudios como el de Toro (1985) en caña de azúcar, en Colombia.

Para cuantificar los tipos de propágulos en condiciones de infectar a un hospedero, Porter (1979) propuso un método de diluciones de suelo que calcula el número de propágulos por suelo infectivo. Powell (1980), hizo una adaptación de este método y cuantificó la infectividad micorrizica de algunos suelos de Nueva Zelanda, conjuntando la cuantificación de esporas hecha por separado, con la de todos los propágulos existentes en el suelo : esporas, micelio y raíces previamente infectadas.

Este método presenta algunas desventajas, porque se basa en la tinción de las raíces, que no en todos los casos se tifican adecuadamente, pero ha sido ampliamente usado por la necesidad de complementar los estudios de

abundancia de esporas, con los de propágulos (Morton, 1985).

Así, el método ha sido utilizado para estimar las poblaciones en condiciones naturales, o para evaluar el efecto de algún tratamiento en las poblaciones (Barkdoll y Schenck, 1987; Plenchette y Corpron, 1987).

McGraw y Hendrix (1986) estudiaron el efecto de la fumigación del suelo y del origen del hospedero en la densidad de población de esporas y de otrospropágulos infectivos comparando ambos resultados para demostrar el desarrollo de "agresividad" en las especies tolerantes, que implica la estimulación de su energía reproductiva.

2.2 Evaluación de la efectividad de los hongos MVA.

La justificación económica para la inoculación con hongos micorrizicos, requiere que estos produzcan una mejoría en el desarrollo de las plantas, que sea superior y más duradera que la obtenida por la fertilización química. La eficiencia micorrizica depende de un grupo particular de condiciones ambientales y edáficas, ya que las cepas nativas están adaptadas a ellas (Lambert et al, 1980).

En un ensayo para probar el efecto del fósforo en la formación de micorrizas VA, Jasper, et al(1979), encontraron que los endofitos de suelos vírgenes son más sensibles a la adición de P que los de suelos cultivados, lo que sugiere que ha habido una selección de cepas para suelos

fertilizados.

Se han hecho otros ensayos para evaluar el efecto del pH (Safir y Duniway, 1982) y la textura del suelo (Dakessian, et al 1986), pero, en general, son pocos los estudios relacionados con las características del suelo, que no sean del contenido de P disponible.

Hasta ahora, la mayoría de los estudios se han dedicado a obtener las mejores respuestas de crecimiento probando el efecto de varias especies de hongos en diferentes hospederos, pero se han conducido en invernadero o en campo, usando suelo esterilizado como testigo y suelo esterilizado más los hongos para comparar; sin embargo, Smith y Smith (1981a), han llamado la atención sobre la posible invalidez de usar suelo esterilizado como testigo, ya que pueden cambiar algunas de sus características. Del mismo modo, Manjunath y Bagyaraj (1981), mostraron que los componentes del inóculo son importantes en los efectos de crecimiento y que la ausencia del resto de la microflora puede repercutir en la respuesta.

Los parámetros más comunes de evaluación de la efectividad de la asociación micorrizica son : el peso seco, la concentración de P en la planta y el porcentaje de infección. Estos han sido usados en estudios para relacionar los efectos de algunos factores como P en el suelo, esterilización o fumigación en el crecimiento de las plantas micorrizadas (Stribley et al, 1980 ; Mosse,

1977).

Muy pocos trabajos, como el de Abbott y Robson (1978), han sido realizados con poblaciones nativas para evaluar los efectos que producen las condiciones naturales de los suelos y la microflora y fauna en el crecimiento de diversos hospederos.

En algunos casos, se han obtenido buenos resultados al introducir especies fúngicas en suelos no esterilizados, pero las especies nativas parecen ser más eficientes (Menge, 1982), aunque la colonización de raíces, esporulación y el tamaño de las esporas se pueden ver reducidos en suelos no esterilizados (Ross, 1980).

Por estas razones, Hetrick, Kitt y Wilson (1986), han planteado que el efecto de los hongos micorrizicos VA, evaluado en suelos esterilizados, ha sido sobreestimado.

De aquí parte la importancia de la evaluación del efecto producido por las especies nativas en las condiciones naturales de los suelos, donde estas cepas demuestran su capacidad competitiva y su efectividad, como reflejo de su adaptación al sistema en el que se encuentran.

En México, casi no existen trabajos realizados con cepas nativas que permitan comparar información, salvo el estudio de Cuenca Aguilar (1988), de endofitos asociados a *Leucaena esculenta* en suelos de Oaxaca.

Palacios *et al* (1986), hicieron un estudio del efecto de cepas introducidas de hongos MVA en el crecimiento y la

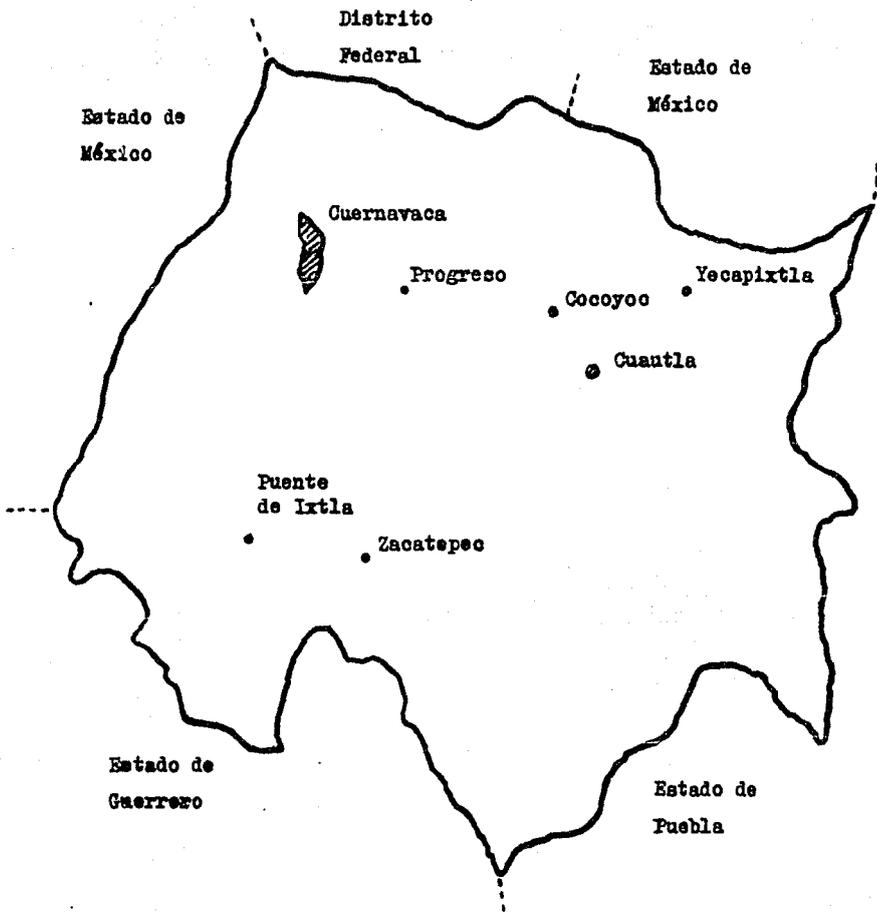
absorción de P en cebolla, en un suelo de origen volcánico, cuyas características físicas y químicas fueron analizadas a detalle.

Como ya ha sido mencionado, han sido pocos los estudios realizados para cuantificar abundancia en agroecosistemas y más pocos aún, los estudios que evalúan el efecto de poblaciones nativas.

3. Objetivos e hipótesis de trabajo.

El presente trabajo pretende hacer una evaluación de la abundancia (cantidad) y la efectividad de los hongos micorrizicos extraídos de los suelos de cinco cultivos de maíz localizados en el estado de Morelos.

Se considera que es importante la realización de estos estudios para empezar a conocer las condiciones de los sistemas mexicanos, que deberán incluir la identificación de las especies, su distribución, su abundancia y su efectividad. En este estudio, se pretende comparar la cantidad y la calidad de los hongos micorrizicos nativos de cinco sitios que han sostenido cultivos de maíz, pero que difieren en sus características, bajo la hipótesis de que el manejo que ha tenido cada uno, y sus propiedades, hacen que se diferencien, tanto en la abundancia como en la efectividad de sus hongos micorrizicos.



Mapa . Localización de los cinco sitios de muestreo en el estado de Morelos, México.

MATERIALES Y METODOS

1. Localización del área de estudio.

En el estado de Morelos se cultivan principalmente caña de azúcar, jitomate y maíz. Predominan el clima semicálido A (C) Wo (W) y el cálido A Wo (W), con porcentaje de lluvias invernales menor al 5% en los sitios de estudio. Las temperaturas medias anuales están entre los 20 y 26 centígrados y precipitación media anual es de 800 a 1000 mm, de 0 a 2 granizadas y 0 a 20 heladas por año. La zona de estudio comprende cinco puntos en el estado de Morelos, que se encuentra en el centro de México y tiene una superficie de 4 958 222 km² (CGSNEGI, 1981) en el cual se sembraron en 1987 125 000 hectáreas, y 44 000 de ellas fueron de maíz (SARH, 1980).

Los lugares de muestreo fueron escogidos procurando tener información de sitios pobremente manejados, de temporal, de riego y de lugares muy manejados con altos insumos. Así, se colectó suelo de los siguientes puntos (ver mapa y tabla 1).

1 = Yecapixtla

2 = Cocoyoc

3 = P. Ixtla

4 = Progreso

5 = Zacatepec

Tabla 1. Características de las prácticas agrícolas de las cinco zonas muestreadas en el estado de Morelos.

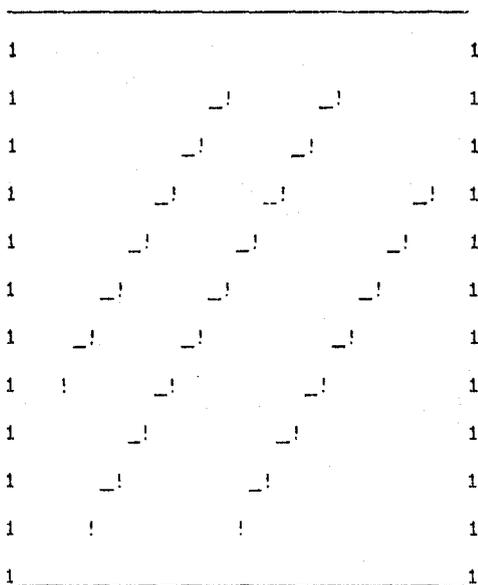
Localidad	Uso y manejo del suelo	Cultivos
Yecapixtla	Agricultura de tracción animal, de temporal.	Alternancia de maíz y jitomate.
Cocoyoc	Agricultura de tracción animal, de riego.	Maíz
Progreso	Agricultura de tracción animal, de temporal. **	Maíz y cebolla
P. Ixtla	Agricultura mecanizada, de temporal.	Maíz
Zacatepec	Campo experimental con agricultura mecanizada continua, de riego.	Alternancia de maíz, caña de azúcar y arroz.

** Frontera con una zona no apta para cultivo.

2. Desarrollo del trabajo de campo.

Las recolecciones de suelo se realizaron durante el mes de junio de 1987, en los cultivos de maíz, que es un cultivo muy importante en la zona y que se encuentra en una gran variedad de suelos, con diferentes formas de manejo.

El muestreo se realizó colectando suelo y raíces de la rizosfera, aproximadamente a 15 cm alrededor de la planta y no más de 20 cm de profundidad, con una pala recta y bolsas de plástico. Se tomó un kilogramo de suelo y muestras de las raíces de la rizosfera de 50 plantas localizadas diagonalmente en el cultivo, como se muestra :



3. Procesamiento de las muestras.

Los 50 kg de suelo obtenidos de cada zona se mezclaron y se almacenaron en un lugar fresco.

3.1. Análisis de los suelos.

Un kilogramo de suelo separado del total del suelo de cada muestra fue secado y tamizado para hacer los análisis fisicoquímicos: textura, por el método de Bouyoucos; pH, con agua y KCl en suspensiones 1:2.5, 1:5 y 1:10; materia orgánica por el método de Walkey y Black; fósforo asimilable, por el método de Bray I para suelos ácidos y de Olsen para neutros y alcalinos.

Las raíces obtenidas del muestreo fueron lavadas y teñidas con la técnica de Phillips y Hayman (1970), para verificar si existía la asociación micorrizica en los sitios seleccionados (ver Apéndice 1).

3.2. Cuantificación de esporas.

La cuantificación de esporas se realizó pesando una muestra de 25 g del suelo fresco, al mismo tiempo que se puso a secar un peso equivalente para obtener el peso seco. Los 25 g de suelo fresco fueron tamizados para separar la materia orgánica y demás restos, por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson,

1963) (ver Apéndice 1), haciendo pasar una suspensión del suelo a través de tamices de abertura 0.177, 0.125 y 0.074 mm para separar las esporas en fracciones por tamaños.

Las esporas se colocaron en cajas de petri, sobre una cuadrícula de 1 cm de lado y se contaron bajo el microscopio estereoscópico. Para cada zona se revisaron tres muestras obtenidas de la misma manera y se sacó el promedio del número de esporas por peso seco del suelo.

3.3. Cuantificación de propágulos viables.

Para cuantificar el número de propágulos infectivos viables, se utilizó el método de Porter (1979), adaptado por Powell (1980), haciendo diluciones del suelo fresco para obtener en cada dilución, cuatro veces menos suelo con propágulos que la anterior, hasta la extinción. La serie incluyó siete niveles de las diluciones por cuadruplicado, con tres repeticiones de cada una. Las suspensiones se hicieron peso a peso, usando como diluyente el mismo suelo de cada zona esterilizado a vapor. Se pesaron 250 g de suelo fresco, de los cuales 200 fueron usados para las diluciones y 50 se pusieron a secar para conocer el peso seco de la muestra de suelo colocada (ver Apéndice 1)

El ensayo se montó en macetas de 10 cm de diámetro, en las que se sembraron tres plántulas de alfalfa (*Medicago sativa*) y se colocaron en el invernadero, donde

permanecieron seis semanas. Se cosecharon las plantas y se lavaron las raíces para tefirlas y determinar en el microscopio estereoscópico la presencia o ausencia de la infección micorrizica para cada planta y se calculó el número de propágulos, como menciona el método, referidos al peso seco del suelo.

3.4. Efectividad de la población nativa.

La efectividad de la población nativa de hongos micorrizicos, se determinó con ensayos cortos en el invernadero. Dada la dificultad para aislar, identificar y propagar cada especie y el largo tiempo que tomaria, se procedió a montar un experimento sencillo para demostrar el efecto de las micorrizas en las condiciones naturales de dichos suelos, comparando con el crecimiento de las plantas en suelo esterilizado. Se utilizaron como plantas hospederas al maíz (*Zea mays*L.) y al guaje (*Leucaena leucocephala*), para observar su respuesta, dada su diferente dependencia micorrizica. El maíz se considera una planta de baja dependencia micorrizica (Smith, 1985) y el guaje se considera altamente dependiente de la asociación (Howeler et al, 1987), además, es utilizado en la zona como especie forrajera.

Se prepararon 12 macetas de cada sitio de muestreo, con los siguientes tratamientos en bloques al azar

Cuadro 1. Diseño del experimento de efectividad de población nativa.

Especie	suelo estéril	suelo no estéril
Zea mays	3	3
L. leuco- cephala	3	3

Cada maceta de 15 cm de diámetro contenía 1 kg de suelo y una de las plantas hospederas que fue regada diariamente. Al concluir la octava semana, se cosecharon tanto las raíces como las partes aéreas; las partes aéreas se colocaron en bolsas de papel, se secaron y se pesaron en la balanza analítica.

Por otro lado, las raíces fueron lavadas y se tomó una muestra para teñir y cuantificar el porcentaje de infección de cada planta (Giovanetti y Mosse, 1980).

Se sacó un promedio de los resultados obtenidos al revisar 200 segmentos de, aproximadamente, 1 cm de raíz teñida, para determinar la presencia de infección en

los puntos de intersección de la cuadrícula (ver Apéndice 1).

4. Procesamiento de los resultados.

Con los resultados de los análisis de los suelos se elaboró la tabla 2, y con los resultados de número de esporas y de número de propágulos se elaboró la tabla 3.

Los resultados del ensayo de efectividad fueron procesados estadísticamente y arreglados en las tablas 4 y 5.

Al final, se compararon todos los resultados con la información de uso y manejo del suelo y factores ambientales, además de los resultados de otros trabajos, para hacer las interpretaciones de cada caso.

RESULTADOS

1. Análisis de suelos y abundancia.

Se observó que, en general, los suelos de las zonas muestreadas son fértiles y poseen una gran cantidad de fósforo disponible, los niveles van de medianamente ácidos a fuertemente alcalinos y las texturas van de migajón a migajón arcilloso. (ver tabla 2).

Tabla 2. Algunas características físicas y químicas de las cinco muestras de suelo.

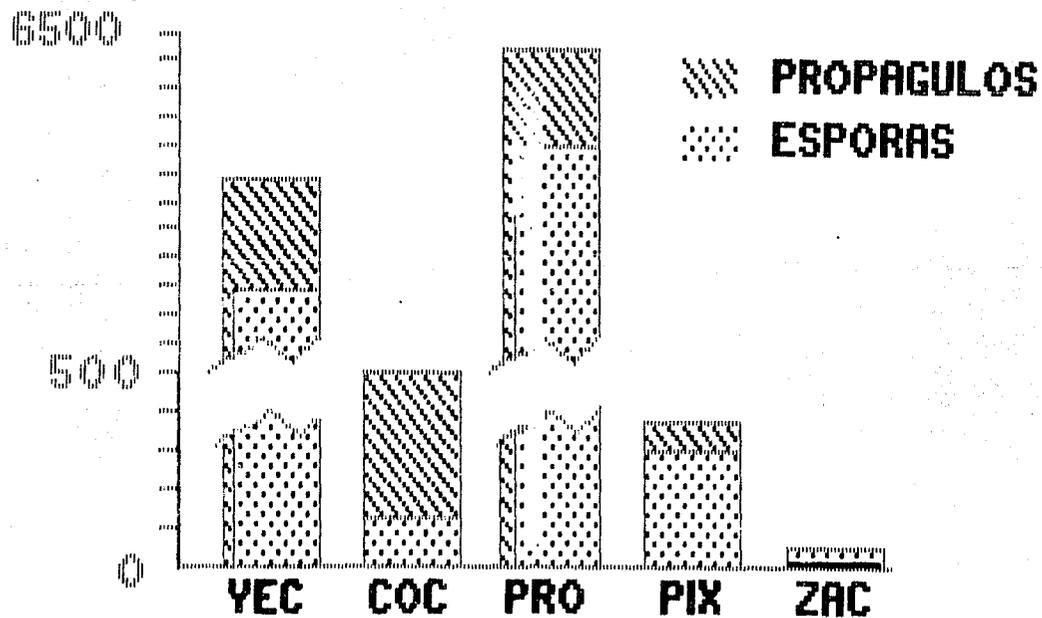
Localidad	pH	% Mat. Org.	Textura	ppm P disp.
Yecapixtla	5.7	1.05	Migajón	63 *
Cocoyoc	7.2	1.25	Migajón arcilloso.	310 **
Progreso	8.5	2.17	Migajón- migajón limoso.	360 **
P. Ixtla	8.1	2.56	Migajón arcilloso arenoso.	205 **
Zacatepec	8.4	2.47	Migajón arcilloso limoso.	234 **

* Bray I ** Olsen

Las raíces obtenidas de las plantas en el campo, en los cinco sitios, presentaron una abundante formación de micorrizas, lo que demuestra que la asociación se presenta en condiciones naturales.

La cuantificación de esporas y de propágulos viables mostró que hay una gran variabilidad en la cantidad de hongos micorrizicos de los suelos. Para el número de propágulos, se da la media y el intervalo que comprende el error considerado en cada cálculo (tabla 3). Para el número de esporas, se da la media del resultado de tres repeticiones.

Como se puede observar en la gráfica 1, la cantidad de hongos MVA que presentó el suelo más manejado es mucho menor que la de los suelos con pocos insumos.



GRAFICA 1. CUANTIFICACION DE ESPORAS Y PROPAGULOS PARA LAS CINCO LOCALIDADES

Tabla 3. Resultados de la cuantificación de propágulos y de esporas para los cinco sitios.

Localidad	Núm. de propágulos en 100 g suelo seco.	Núm. de esporas en 100 g suelo seco.
Yecapixtla	3899 (732-5196)	1910
Cocoyoc	574 (108-765)	120
Progreso	6228 (1160-8236)	4526
P. Ixtla	365 (68-484)	288
Zacatepec	36 (7-48)	45

Los resultados del ensayo de efectividad de la población nativa mostraron también una gran variabilidad de un sitio a otro. En tres de las zonas se observó que crecieron mejor las plantas en suelo esterilizado, y en las otras dos, la diferencia que hacía ver mejores a las plantas de suelo no esterilizado, fue muy pequeña en peso seco.

2. Efectividad en maíz.

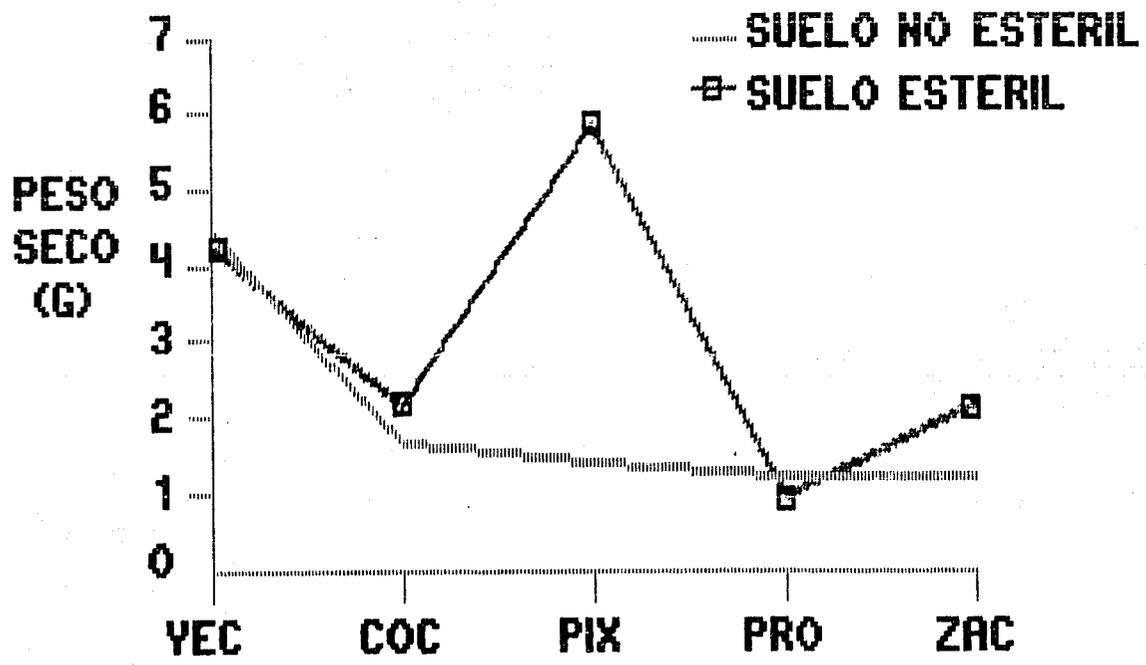
Tabla 4. Resultados de peso seco y porcentaje de infección micorrizica del ensayo de población nativa de hongos micorrizicos de los cinco sitios, usando al maíz como planta hospedera.

Localidad	Peso seco(g)		% inf. mic.	
	Est.	No Est.	Est.	No Est.
Yecapixtla	4.21b	4.43b	0a	61*bc
Cocoyoc	2.16a	1.64a	0a	69*c
Progreso	0.90a	1.17a	0a	47*b
P. Ixtla	5.85*b	1.37a	0a	5a
Zacatepec	2.15*a	1.15a	0a	53*bc

* diferencia significativa entre tratamientos.

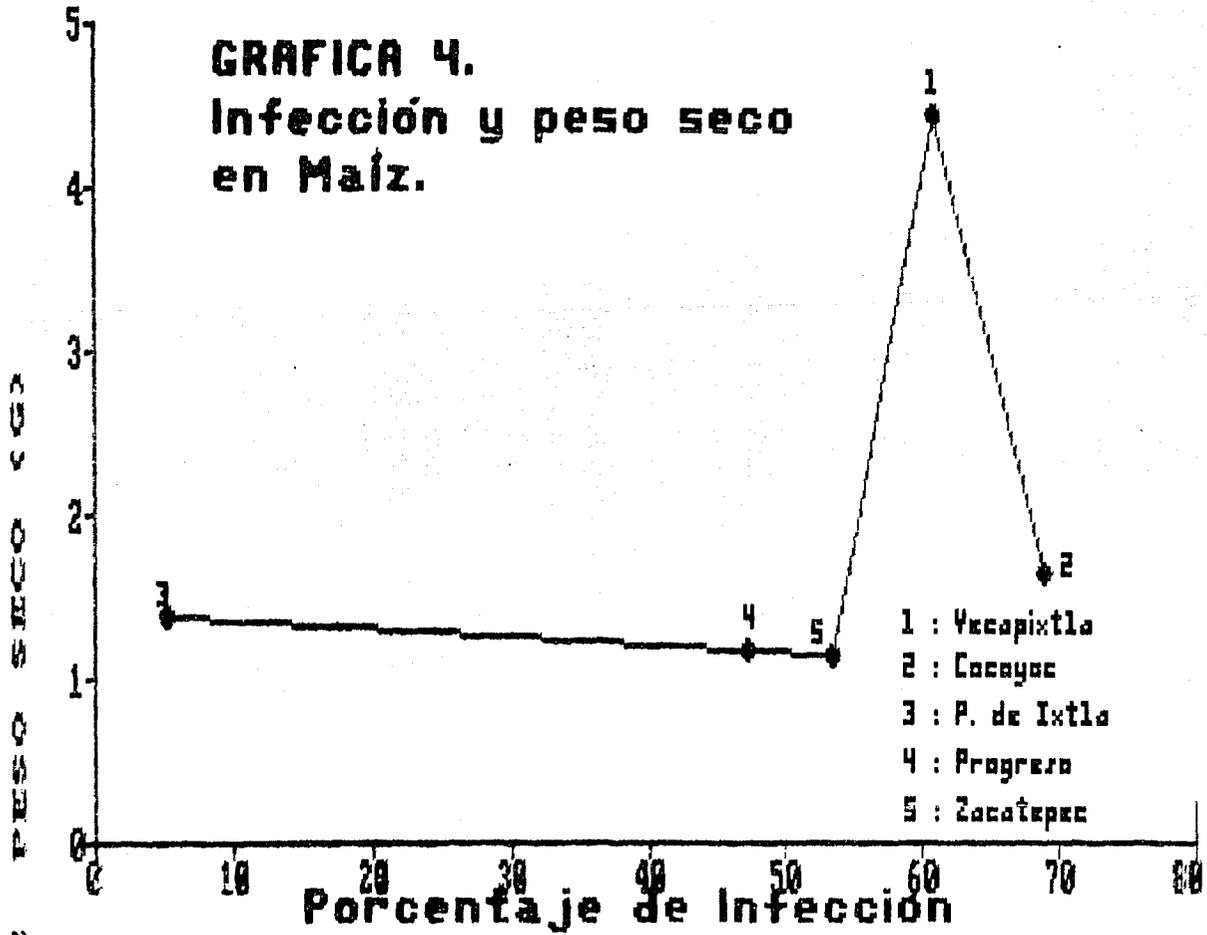
a,b,c medias con la misma letra no difieren P(0.05)

significativamente entre localidades.



GRAFICA 2. RESULTADOS DE PESO SECO CON LOS DOS TRATAMIENTOS PARA LAS 5 LOCALIDADES EN PLANTAS DE MAIZ.

GRAFICA 4.
Infección y peso seco
en Maíz.



El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas entre localidades, entre los tratamientos y entre las especies hospederas. Para detallar las diferencias se usaron pruebas de comparaciones múltiples por el método T.

Por esta prueba se observó que en peso seco, el maíz fue significativamente mayor en suelo estéril de Puente de Ixtla y Zacatepec (Gráfica 2). En las otras tres localidades no hubo diferencia significativa (aunque en dos de ellas el maíz de suelo no esterilizado creció ligeramente mejor). Comparando entre localidades, el crecimiento del maíz fue significativamente mayor en Yecapixtla con los dos tratamientos y en Fuente de Ixtla en el suelo esterilizado. De esto, se puede decir que, en general, la esterilización parece favorecer el aumento en peso seco del maíz, y que Yecapixtla es una localidad con buenas condiciones para el desarrollo de las plantas.

En lo que se refiere al porcentaje de infección micorrizica, se puede ver que el único sitio donde se presentó una infección significativamente menor fue en Puente de Ixtla, en la cual el porcentaje obtenido no se considera significativamente diferente del suelo esterilizado, es decir, que se puede considerar casi nula la infección (Tabla 4) . En las otras cuatro localidades, las diferencias son significativas, con respecto a las plantas de suelo esterilizado y a las plantas de suelo no esterilizado de Puente de Ixtla.

3. Efectividad en *Leucaena leucocephala*.

Tabla 5. Resultados de peso seco, cantidad de F en parte aérea y porcentaje de infección micorrizica, del ensayo de población nativa, usando *L. leucocephala* como planta hospedera.

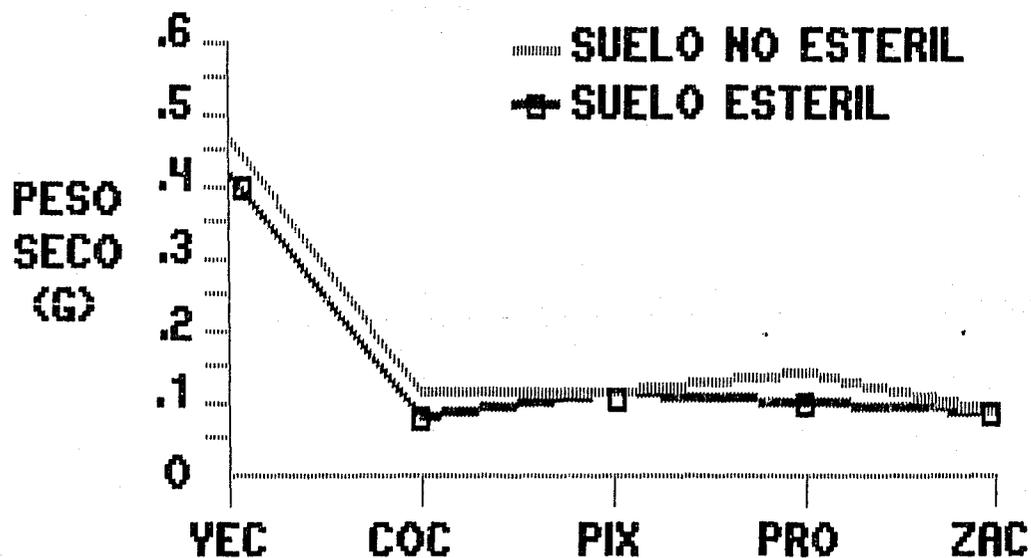
Localidad	Peso seco (g)		% inf. mic.	
	Est.	No Est.	Est.	No Est.
Yecapixtla	0.42a	0.46a	0a	47a*
Cocoyoc	0.08a	0.11a	0a	1.7b
Progreso	0.09a	0.14a	0a	7.8b
P. Ixtla	0.11a	0.11a	0a	0.3b
Zacatepec	0.08a	0.08a	0a	3b

* diferencia significativa entre tratamientos.

a,b medias con la misma letra no difieren

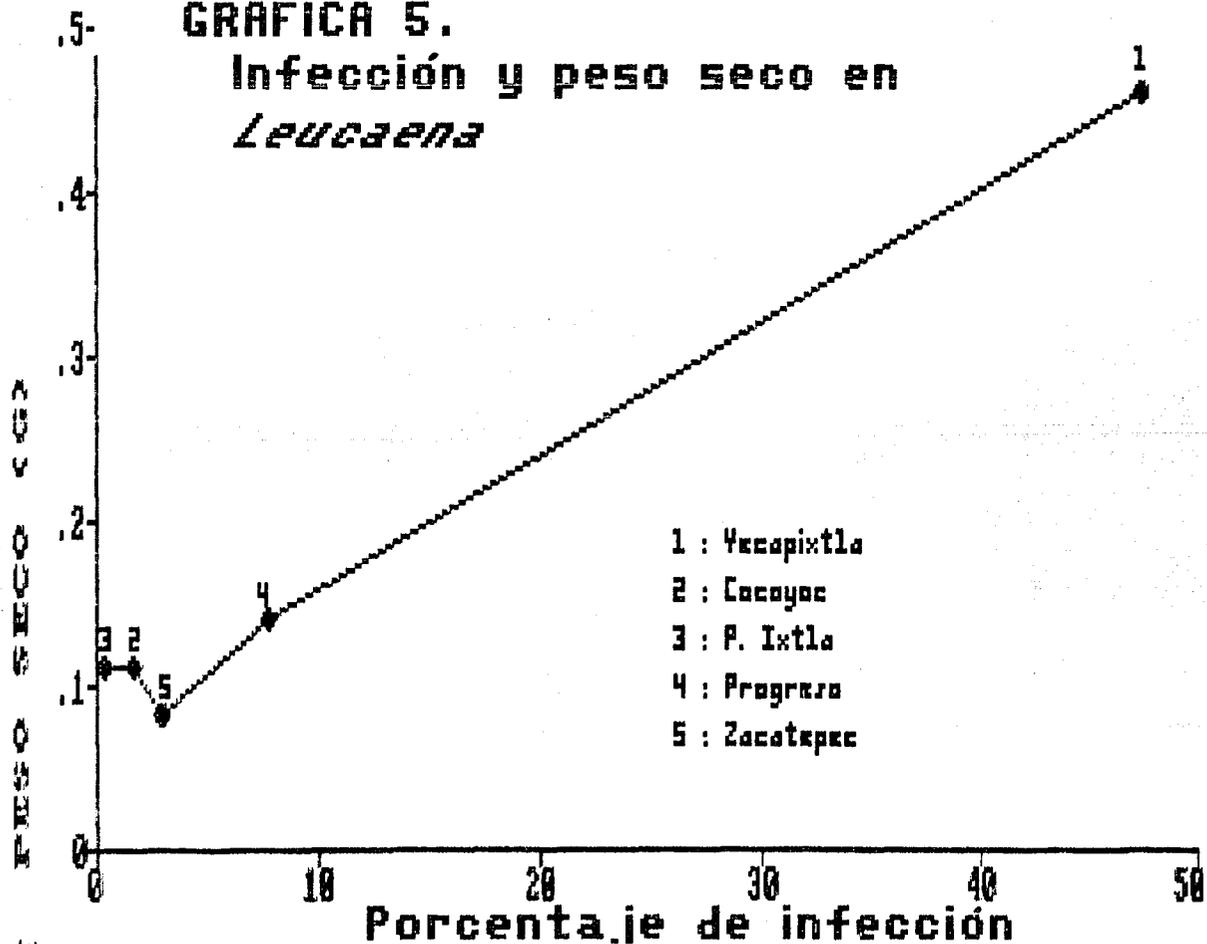
F(0.05)

significativamente entre localidades.



GRAFICA 3. RESULTADOS DE PESO SECO CON LOS DOS TRATAMIENTOS PARA LAS 5 LOCALIDADES EN PLANTAS DE Leucaena

GRAFICA 5.
Infección y peso seco en
Leucaena



Para el caso de *Leucaena leucocephala*, no se observaron diferencias significativas en peso seco entre las plantas de suelo esterilizado y no esterilizado, aunque la tendencia general es de que las de suelo no esterilizado crecen ligeramente mejor. En porcentaje de infección, tampoco se observaron diferencias significativas, salvo en el caso de Yecapixtla, que es la única localidad con diferencia significativatanto entre tratamientos como entre localidades (Tabla 5).

El crecimiento de las dos especies utilizadas no es comparable y, por esto, no se hace ninguna mención a las diferencias entre especies. El rápido crecimiento del maíz permitió observar buenas diferencias, pero en *L. leucocephala* resultaron poco apreciables en peso seco y en porcentaje de infección.

DISCUSION

Los resultados de los análisis de los suelos (Tabla 1), muestran que estas son zonas fertilizadas con frecuencia o, al menos, en grandes cantidades. Aunque es muy difícil conocer con precisión la historia de cada terreno en estudio, no lo es tanto deducir el manejo que tienen los suelos a partir de los informes de los agricultores. Salvo el caso del campo experimental agrícola, los cultivos se encuentran descuidados, con patógenos, abundantes malezas y un suministro muy irregular de fertilizantes y pesticidas. El maíz parece crecer bien en todos los sitios muestreados, aunque el hecho de que el de Progreso se encuentre en frontera con una zona no apta para cultivo, hace pensar que las plantas pueden tener problemas para crecer allí.

Aunque muchos autores han encontrado alguna relación, sobretodo con la cantidad de P disponible, no se ha encontrado una buena relación del pH y la textura, por ejemplo, con el número de esporas.

Las grandes cantidades de P disponible de todos los suelos y el largo tiempo que llevan siendo cultivados, sugieren que las cepas nativas están adaptadas a ambientes fértiles y a sostener las prácticas de cultivo. De hecho, Hayman (1982), menciona la existencia de abundante infección micorrizica en cultivos de maíz del oeste medio

de los Estados Unidos en suelos muy fértiles y muy intensamente cultivados, lo cual concuerda con las observaciones sobre la micorriza en estado natural de los cinco sitios muestreados y comprendidos en el presente estudio.

Trouvelot et al (1987), han sugerido una selección natural de hongos en suelos altamente fertilizados, ya que aun en ellos se observaron respuestas favorables en crecimiento con la asociación micorrizica.

Con respecto al pH, ni aun el más alcalino (Progreso) parece limitar el desarrollo de los hongos; la localidad con pH medianamente ácido tiene una buena población, aunque menor a la de Progreso, y al parecer, en estos sitios no existe relación del pH con la abundancia de hongos MVA. Se considera que, en general, e la acidez del suelo favorece el desarrollo de los hongos (Alexander, 1990), pero en estos casos se observó un buen desarrollo de los hongos aun en condiciones de alta alcalinidad.

Tampoco se observó correlación con los valores obtenidos de materia orgánica, que difieren un poco entre sí, , aunque se sabe que tiene un papel importante en la remineralización de nutrimentos, como explica Janos (1987).

La textura del suelo ha sido muy poco estudiada en relación al contenido de esporas. Generalmente, se le ha relacionado con la capacidad de retención de agua y con la resistencia que opone a la penetración de las raíces, según los estudios sobre la efectividad de los hongos. Los resultados del presente trabajo muestran que los

hongos se desarrollan abundantemente tanto en suelos de textura de migajón, como en un migajón arcilloso y un migajón limoso. No obstante, resulta interesante que los suelos más arcillosos son los que presentan las menores cantidades de esporas.

Ya que no se observó una gran relación entre los valores de pH, de materia orgánica, de textura y de P disponible con la cantidad de esporas y de propágulos obtenidos en los cinco lugares, podemos pensar, aunque no asegurar, que no son las características físicas y químicas del suelo las que determinan la abundancia de los hongos micorrizicos en los suelos muestreados.

Sin embargo, la variación observada puede deberse al método de extracción empleado, en relación con la textura del suelo, ya que se ha visto que los resultados varían con el tamaño de las partículas. Por lo consiguiente, se aconseja probar cuál es el método de extracción más adecuado para cada tipo de suelo, como mencionan Ianson y Allen (1986). El contenido de arcilla de algunos de los suelos muestreados, puede haber dificultado la cuantificación de esporas y, posiblemente, sería adecuado el uso de un agente dispersor y un gradiente de sacarosa para la extracción en estos suelos.

Por otra parte, la abundancia de las poblaciones puede variar con los periodos de crecimiento, como mostraron en un experimento en invernadero Ross y Ruttencutter (1977); lo cual fue corroborado en un muestreo en campo

por Sutton y Barron (1972), que además lo relacionaron con el tipo de suelo y el tipo de hospedero. La realización de este mismo estudio en la época de sequía y utilizando otros procedimientos de extracción, podría completar la información respecto a la dinámica de las poblaciones de hongos MVA en estos suelos.

Aunque Ocampo y Hayman (1981) encontraron que la presencia de hospederos no micorrizicos no disminuyó la capacidad de infección de algunos hongos, también constataron que un suelo previamente cultivado con maíz era más infectivo cuando se volvía a sembrar la misma especie. Asimismo, Hetrick y Bloom (1986), observaron que los hongos MVA difieren en su respuesta hacia las plantas hospederas y que algunos hospederos favorecen más que otros la producción de esporas.

De aquí que los resultados de este trabajo parecen mostrar que, además de las características y el manejo del suelo, pudieron haber influido las especies hospederas en la cantidad de hongos presentes. De hecho, el sitio con el menor número de propágulos y de esporas (Zacatepec), ha tenido como cultivos hospederos a la caña de azúcar y al arroz que, normalmente, sostienen poblaciones bajas de hongos, lo que pudo ser una de las causas del escaso número de hongos micorrizicos. En Progreso, donde se cultiva cebolla al mismo tiempo que el maíz, es donde se encontró la mayor cantidad de hongos MVA; la cebolla es conocida como un cultivo muy dependiente de la micorriza, (Howeler et al, 1987), y esta puede ser una de

las razones de la abundancia de hongos en este sitio.

Los otros dos sitios con bajas poblaciones (Cocoyoc y Puente de Ixtla), permanecen sin cubierta vegetal más de la mitad del año (por el sistema de cultivo) y en ellos se encontró una gran cantidad de esporas muertas, que no se incluyeron en la cuantificación.

A diferencia del estudio de Cuenca Aguilar (1988) en Oaxaca, los resultados de la cuantificación de esporas y de propágulos infectivos coinciden, ya que el número de esporas es menor que el de propágulos totales o, por lo menos, cae dentro de los límites de confianza calculados. Es probable que la estimación del NMP no haya sido muy exacta, ya que como mencionan Adelman y Morton (1985), la adición de suelo esterilizado para diluir puede cambiar los resultados. Sería conveniente probar usando otros niveles de dilución y un mayor número de repeticiones, como sugieren Wilson y Trinick (1982), para optimizar el uso de este método.

De cualquier manera, la estimación del NMP parece ser un método útil, en combinación con la cuantificación de esporas, para evaluar el potencial infectivo de los suelos.

Como se puede observar por todos estos datos, es el manejo del suelo el que, principalmente, determina la abundancia en los suelos muestreados. La utilización de maquinaria, de formas de riego, de pesticidas, y el tiempo de explotación intensiva, parecen ser más importantes que las características del suelo. La gran influencia que puede tener el manejo del suelo en la abundancia de los hongos

micorrizicos, ya ha sido observada y resaltada por Kruckelmann (1975) y Abbott y Robson (1982).

En cuanto a la efectividad de la población microbiana, la cantidad de hongos micorrizicos parece tener relación con el incremento en peso seco de las dos plantas comparadas, ya que se observó un aumento, aunque este fue ligero (no significativo), en peso seco en las dos localidades que tienen el número más alto de hongos MVA (Yecapixtla y Progreso), probablemente porque la gran cantidad de hongos presentes aumenta las posibilidades de infección en las plantas hospederas (Hayman, 1975).

Otra observación que surge de esos resultados, es que, al parecer, existen sitios que presentan más problemas para el crecimiento de los hospederos que otros. Yecapixtla parece ser un sitio favorable, tanto para el desarrollo de los hongos como para el de las plantas, mientras que Progreso, que es el suelo más rico en hongos, es la localidad donde se encontró el peso seco más bajo en maíz y uno de los más bajos en *L. leucocephala* comparando con los pesos obtenidos en las otras cuatro localidades. El peso de las plantas de Yecapixtla es tres veces mayor que el de las de Progreso en las dos plantas comparadas. Esto puede atribuirse a algún factor del suelo, que podría ser una deficiencia o toxicidad por exceso de algún elemento, aunque son suelos fertilizados y, al parecer, sin carencias de macronutrientes.

Por otra parte, el pH ácido de Yecapixtla puede favorecer la acción de los hongos MVA en estas plantas, ya

que, como menciona Graw (1979), el pH puede favorecer la captación de fósforo y el crecimiento de ciertas plantas. En este sitio, que es el único con pH ácido, parece que existe una buena combinación entre el desarrollo de los hongos y el de las plantas.

En el caso de las otras tres localidades (Cocoyoc, Fuente de Ixtla y Zacatepec), se observó que la acción de la población microbiana tuvo un efecto negativo en el crecimiento del maíz y una ligera respuesta positiva en *L. leucocephala*, lo cual, posiblemente, se puede asociar a la gran cantidad de nemátodos y hongos fitopatógenos que se encontraron en estos suelos, unidos a una baja población de hongos micorrízicos.

El suelo de Puente de Ixtla presentó la mayor cantidad de nemátodos y hongos fitopatógenos. La diferencia entre las plantas de suelo esterilizado y no esterilizado fue muy grande, ya que al esterilizar el suelo y eliminar los patógenos, el maíz (que no es muy dependiente de la micorriza), pudo crecer saludablemente; las plantas de *L. leucocephala* de la misma localidad tuvieron un crecimiento similar, ya que la infección fue casi nula en las de suelo no esterilizado.

Janos (1984), ha mencionado que la esterilización por calor puede liberar ciertos nutrientes del suelo y esto podría ser otra explicación del mayor crecimiento de las plantas en el suelo esterilizado. Además, Anderson, Liberta y Scott (1987), observaron que una alta concentración de nutrientes tenía un efecto negativo en el

crecimiento de una planta que no es muy dependiente de la micorriza.

Pero las condiciones de cada sistema son diferentes, y la explicación que resulta válida para unos, es inoperante para otros. Tal es el caso de la localidad de Progreso, en la cual existe una gran cantidad de hongos, pero esta población no parece ser tan efectiva como la de Yecapixtla.

Contradictoriamente, en Zacatepec se encontró una baja cantidad de hongos, un alto porcentaje de infección micorrizica y un efecto negativo en el crecimiento del maíz, aunque cabe mencionar la existencia de patógenos.

Para el caso de *L. leucocephala*, la respuesta fue un poco diferente, ya que aunque los sitios con mayor cantidad de hongos MVA tuvieron mayor infección, la diferencia en peso seco de las plantas de suelo no esterilizado y esterilizado fue muy pequeña. Esto se debe, muy probablemente, a que el crecimiento de estas plantas es lento y sería conveniente dejar crecer un poco más de tiempo las plantas para observar las diferencias. Aún cuando las plantas de las localidades con menor número de hongos MVA tuvieron porcentajes de infección muy bajos, el peso seco de las plantas micorrizadas fue igual o mayor que el de las no micorrizadas.

Otro factor importante a considerar en la evaluación de efectividad, es la influencia de la planta hospedera, porque el maíz parece ser susceptible a una rápida colonización, a diferencia de las bajas infecciones registradas en *L. leucocephala*. Esto ya ha

sido considerado por Hetrick y Bloom (1986) en otros hospederos.

Ruiz (1987), usando también maíz, comparó el efecto producido en infección micorrizica, peso seco y cantidad de P en parte aérea de las poblaciones nativas de suelos bajo diferentes prácticas de cultivo en zonas tropicales y encontró, al igual que en el presente trabajo, que los suelos trabajados continuamente con altos insumos, presentaron menor infección micorrizica, si bien no hubo disminución en peso seco o en P en parte aérea.

Asimismo, la rotación de cultivos puede tener un efecto en la efectividad, como demostró Sieverding (1987) en la yuca *Manihot esculenta* Crantz. La presencia anterior de caña de azúcar y arroz en el suelo con menor cantidad de hongos (Zacatepec), y que tuvo un efecto negativo en el crecimiento del maíz, puede ser una de las causas de la baja capacidad infectiva de este suelo.

Estas variaciones provienen, también, de que la abundancia de hongos MVA puede variar de sitio a sitio, o aún en el mismo sitio, y de que la dependencia micorrizica de una planta puede variar con el contenido de P en el suelo y con la efectividad de la cepa que la está infectando (Howeler et al, 1987).

Todo esto se puede resumir en las siguientes conclusiones:

- La abundancia de los hongos MVA en estos suelos parece no

estar relacionada con la fertilidad, la textura, la materia orgánica o el pH, sino más bien con el manejo del suelo.

- El uso de maquinaria, pesticidas para control de malezas, falta de control de patógenos y rotación con cultivos que sostienen bajas poblaciones de hongos MVA, parecen ser los factores que más influyen en la cantidad de hongos en los suelos estudiados.

- La presencia de hongos MVA aún en suelos muy trabajados, con gran cantidad de insumos, indica que pudo haber una selección de cepas en estos ambientes fértiles de mucho manejo.

- La efectividad de la población nativa de hongos MVA en condiciones seminaturales, es decir, actuando con el resto de la población microbiana de la rizosfera, es variable. Parece estar relacionada con la presencia de una gran cantidad de hongos MVA, que confieren una gran capacidad infectiva a estos suelos y que, en tres de los suelos estudiados, probablemente se vio disminuida por la acción de patógenos.

- La variabilidad en la efectividad puede asociarse, también, al tipo de hospedero, a las características y el manejo del suelo y a las diferencias en la calidad de los hongos MVA nativos, ya que algunas especies son más efectivas que otras para mejorar el crecimiento de

ciertos hospederos.

Todas las observaciones anteriores, son buenas razones para justificar un trabajo como este, porque se hace evidente que son las condiciones particulares de cada sistema las que determinarán la abundancia y la efectividad de las cepas nativas.

Por ello, se percibe la necesidad de completar este estudio con la identificación y el ensayo, por separado, de las cepas nativas para la selección de las cepas efectivas. Esto no invalida la realización de la prueba de la efectividad de la población nativa, ya que el conocimiento de la cantidad de hongos MVA con su efectividad en conjunción con el resto de la población microbiana, es un enfoque bastante aproximado de lo que puede estar sucediendo en el campo. Además, si bien no sustituyen las observaciones de campo, los experimentos en maceta se dan en condiciones más controladas y permiten interpretaciones más claras de los datos (Hayman, 1975).

Aunque otros autores han hecho sus evaluaciones en invernadero con suelo esterilizado, añadiendo extractos y restableciendo algo de la actividad microbiana, para aproximarse a las condiciones de campo, han eliminado la fauna del suelo, que algunas veces se ha demostrado que disminuye la población de hongos MVA o en otros casos, como el de patógenos, la asociación micorrizica ha aumentado la cantidad de estos últimos (Dehne, 1982). En algunos casos, el efecto de

la alimentación de los animales del suelo con hifas externas puede ser tan severo, que la asociación micorrizica se puede convertir en parasitica, porque no hay aporte de P para la planta (Fitter, 1985).

Entonces, las principales limitantes del estudio de población nativa serian el volumen reducido de suelo que tienen las macetas y la simulación de las condiciones ambientales naturales.

Por todo esto, y basándose en los resultados, se puede pensar, aunque no afirmar, que las cinco localidades muestreadas son sitios fértiles donde no hay gran necesidad de inocular con hongos micorrizicos.

En algunos de los sitios, es urgente el control de patógenos. Sin embargo, la introducción de cepas más efectivas requeriria de muchos otros estudios, porque la competencia que se da con las cepas nativas puede disminuir el efecto de las introducidas (Abbott et al, 1983); no obstante, se ha demostrado la respuesta de cepas introducidas frente a las nativas (Palacios et al, 1987).

Se propone la realización de estudios complementarios, que comprendan otras localidades de muestreo, la identificación de cepas nativas para formar una colección de cultivos puros y la determinación de la efectividad de las cepas nativas por separado, para evaluar su posible introducción en las prácticas agrícolas.

La investigación de micorrizas en suelos tropicales

puede combinar los avances que se logren en ciencia básica con ciencia aplicada, dada la necesidad de mejorar la producción, utilizando un buen plan de trabajo (Janos, 1988).

LITERATURA CITADA

- Abbott, L. K. y A. D. Robson. 1977. The distribution and abundance of vesicular arbuscular endophytes in some western Australian soils. **Aust. J. Bot.** 25 : 515-522.
- Abbott, L. K. y A. D. Robson. 1978. Growth of subterranean clover in relation to the formation of endomycorrhizas by introduced and indigenous fungi in a field soil. **New Phytol.** 81 : 575-585.
- Abbott, L. K. y A. D. Robson. 1982. The role of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. **Aust. J. Agric. Res.** 33 : 389-408.
- Abbott, L. K., A. D. Robson y I. R. Hall. 1983. Introduction of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi into agricultural soils. **Aust. J. Agric. Res.** 34 : 741-749.
- Adelman, M. y J. Morton. 1985. Variation in MFN's with interactions between native VAM fungi, hosts and soils. En : **Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae**. Ed. por R. Molina. Forest Research Institute, Corvallis. 471 .
- Alexander, M. 1980. **Microbiología del suelo**. AGT Editor, México. 491 .
- Anderson, R. , A. Liberta y W. Scott. 1987. Growth of mycorrhizal and non mycorrhizal little bluestem (

- Schizachirium scoparium* under various inorganic nutrient conditions. En : **Mycorrhiza in the Next Decade : Practical Applications and Research Priorities.** D. M. Sylvia, L. L. Hung y J. H. Graham, eds. IFAS, Gainesville. 364.
- Bagyaraj. D. J. 1984. Biological interactions with VA mycorrhizal fungi. En : **VA mycorrhiza.** Ed. por C. L. Powell y D. J. Bagyaraj. CRC Press, Boca Raton, 234.
 - Barkdoll, A. W. y N. C. Schenck. 1987. Effect of VA mycorrhizal fungi selected for aluminum tolerance on bean yield. En : **Mycorrhizae in the Next Decade : Practical Applications and Research Priorities.** Ed. por Sylvia, D. M., L. L. Hung y J. H. Graham. IFAS. Gainesville. 364 .
 - (CBSNEGI) Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática. 1981. **Síntesis geográfica de Morelos.** Secretaría de Programación y Presupuesto, México.
 - Cooper, K. M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations. En : **VA mycorrhiza.** Ed. por : C. L. Powell y G. J. Bagyaraj. CRC Press, Boca Raton. 234.
 - Cuenca Aguilar, B. 1988. Estudio del potencial de micorrización por endofitos VA y nodulación por **Rhizobium** que se asocian al huaje rojo (**Leucaena esculenta**) en suelos del estado de Oaxaca. Tesis Biólogo. ENEP Iztacala, UNAM. 63.
 - Dakessian, S., M. S. Brown y G. J. Bethlenfalvay. 1986. Relationship of mycorrhizal growth enhancement and

plant growth with soil water and texture. **Plant and Soil** 94 : 439-443.

- Dehne, H. W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. **Phytopathology** 72 : 1115-1119.

- Fitter, A. H. 1985. Functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas under field conditions. **New Phytol.** 99 : 257-265.

- Gerdemann, J. H. y T. H. Nicolson. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* extracted from soil by wet sieving and decanting. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 46 : 235-244.

- Giovanetti, M. y B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular micorrhizal infection in roots. **New Phytol.** 84 : 489-500.

- Graw, D. 1979. The influence of soil pH on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhiza. **New Phytol.** 82 : 687-695.

- Harley, J. L. y S. E. Smith. 1983. **Mycorrhizal Symbiosis.** Academic Press, Londres. 483.

- Hayman, D. S. 1970. *Endogone* spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. **Trans. of the Brit. Mycol. Soc.** 54 : 53-63.

- Hayman, D. S. 1975. The occurrence of mycorrhiza in crops as affected by soil fertility. **En : Endomycorrhizas.** F.E. Sanders, B. Mosse y P. B. Tinker, eds. Academic Press, Londres, Inglaterra. 495-509.

- Hayman, D. S. 1982. Influence of soils and

- fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72 : 1119-1125.
- Hayman, D. S., J. M. Barea y R. Azcón. 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in southern Spain. Its distribution in crops growing in soils of different fertility. *Phytopathol. Mediterr.* 15 : 1-6.
- Hayman, D. S. y G. E. Stovold. 1979. Spore populations and infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales. *Aust. J. Bot.* 27 : 227-233.
- Hetrick, B. A. D. y J. Bloom. 1983. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with native tall grass prairie and cultivated winter wheat. *Can. J. Bot.* 61 : 2140-2146.
- Hetrick B. A. D. y J. Bloom 1986. The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia* 78 : 32-36.
- Hetrick, B. A. D., D. G. Kitt y G. T. Wilson. 1986. The influence of phosphorus fertilization, drought, fungal species, and non sterile soil on mycorrhizal growth response in tall grass prairie plants. *Can. J. Bot.* 64 : 1199-1203.
- Howeler, R. H., E. Sieverding y S. Saif. 1987. Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant and Soil.* 100 : 249-283.
- Ianson, D. C. y M. F. Allen. 1986. The effects of soil

- texture on extraction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores from arid sites. *Mycologia* 78 : 164-168.
- Jackson, R. M. y F. A. Mason. 1984. *Mycorrhiza. Studies in Biology* 159. Edward Arnold Press, G. B. 60.
 - Janos, D. P. 1984. Methods for vesicular-arbuscular mycorrhiza research in the lowland wet tropics. En : *Physiological Ecology of Plants of the Wet Tropics.* (Tasks for Vegetation Science 12). Ed. por E. Medina, H. A. Mooney y C. Vazquez-Yanes. Junk. La Haya . 254 .
 - Janos, D. 1985. Mycorrhizal fungi : agents or symptoms of tropical community composition?. En : *Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae.* Ed. por R. Molina. Forest Research Laboratory. Corvallis. 471 .
 - Janos, D. 1987. Roles of mycorrhizae in nutrient cycling and retention in tropical soils and organic matter. *INTECOL Bulletin* 14 : 41-44.
 - Janos, D. P. 1988. Mycorrhiza applications in tropical forestry are temperate-zone approaches appropriate? En : *Trees and Mycorrhiza.* Ed. por F. S. P. Ng. Forest Research Institute, Kuala Lumpur. 305 .
 - Jasper, D. A., A. D. Robson y L. K. Abbott. 1979. Phosphorus and the formation of vesicular- arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.* 11 : 501-505.
 - Kruckelman, H. W. 1975. Effects of fertilizers, soils, soil tillage and plant species on the frequency of *Endogone* chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soils. Pp. 510-525. En : *Endomycorrhizas.* F. E.

Sanders, B. Mosse y P. B. Tinker, eds. Academic Press, Londres.

- Lambert, D. H., D. E. Baker y H. Cole. 1979. The role of mycorrhizae in the interactions of Phosphorus with Zinc, Copper and other elements. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43: 976-980.

- Lambert, D. H., H. Cole y D. E. Baker. 1980. Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factors. *New Phytol.* 85 : 513- 520.

- Manjunath, A. y D. J. Bagyaraj. 1981. Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. *New Phytol.* 87 : 355-361.

- Maronek, D. M., J. W. Hendrix y J. Kiernan. 1981. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. *Hortic. Reviews* 3 : 172-213.

- McGraw, A. C. y J. Hendrix. 1986. Influence of soil fumigation and source of strawberry plants on population densities of spores and infective propagules of endogonaceous mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 94 : 425-434.

- McKenney, M. C. y D. L. Lindsey. 1987. Improved method for quantifying endomycorrhizal fungi spores from soil. *Mycologia* 79 : 779-782.

- Menge, J. A. 1982. Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. *Phytopathology* 72 : 1125-1131.

- Morton, J. B. 1985. Underestimation of most probable

numbers of vesicular-arbuscular endophytes because of non staining micorrhizae. *Soil Biol. Biochem.* 17 : 383-384.

- Mosse, B. 1977. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X. Responses of *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. *New Phytol.* 78 : 277-288.

- Ocampo, J. A. y D. S. Hayman. 1981. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects of non host plants. *New Phytol.* 87 : 333-343.

- Palacios, S., C. Salinas y K. Shimada. 1986. Incremento en el crecimiento y en la absorción de fósforo en cebolla (*Allium cepa* L.), como respuesta a la micorriza vesículoarbuscular, en un suelo de origen volcánico. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 28 : 303-311.

- Palacios, S., K. Shimada y C. Salinas. 1987. Efecto de la inoculación de dos variedades de cebolla (*Allium cepa* L.) con cuatro hongos endomicorrizicos, en un suelo muy deficiente en fósforo. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 29 : 329-336.

- Phillips, J. M. y D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. of the Brit. Mycol. Soc.* 55 : 158-160.

- Plenchette, C. e I. Corpron. 1987. Influence of P K fertilization on VA mycorrhizal (VAM) fungi population. En : *Mycorrhizae in the Next Decade. Practical*

Applications and Research Priorities. Ed. por Sylvia, D. M., L. L. Hung y J. H. Graham. IFAS. Gainesville. 364 .

- Porter, W. M. 1979. The " most probable number " method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. **Aust. J. Soil Res.** 17 : 515-519.

- Powell, C. Ll. 1980. Mycorrhizal infectivity of eroded soils. **Soil Biol. Biochem.** 12 : 247-250.

- Rhodes, L. H. 1984. Applications of VA mycorrhizal fungi in crop production. En : **Applications of mycorrhizal fungi in crop production.** Ed. por J. J. Ferguson. University of Florida, Gainesville. 1-7.

- Ross, J. P. y R. Ruttencutter. 1977. Population dynamics of two vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi and the role of hyperparasitic fungi. **Phytopathology** 67 : 490-496.

- Ross, J. P. 1980. Effect of non treated field soil on sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with soybean. **Phytopathology** 70 : 1200-1205.

- Ruiz, P. O. 1987. Ocurrence of VAM in tropical soils under different management practices. En : **Mycorrhizae in the Next Decade. Practical Applications and Research Priorities.** Ed. por Sylvia, D. M., L. L. Hung y J. H. Graham. IFAS, Gainesville. 364 .

- Safir, G. R. y J. M. Duniway. 1982. Evaluation of plant response to colonization by vesicular-arbuscular

- mycorrhizal fungi. B. Environmental variables. En : **Methods and principles of mycorrhizal research**. Ed. N. Schenck. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul .
- (SAGRH) Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1988. **Avances en la producción agropecuaria y forestal**. D.F.
- Schenck, N. C. e Y. Perez. 1987. **Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi**. INVAM, Gainesville, 244.
- Schenck, N. C. y J. O. Siqueira. 1987. Ecology of VA mycorrhizal fungi in temperate agroecosystems. En : **Mycorrhizae in the Next Decade. Practical Applications and Research Priorities**. Ed. por Sylvia, D. M, L. L. Hung y J. H. Graham. IFAS, Gainesville .364 .
- Sieverding, E. 1987. VA mycorrhizae in soils under cultivation in tropical America. **Transaction of the XII Congress of International Society of Soil Science VI**: 840-852.
- Smith, S. E. 1985. The concept of effectiveness in symbiotic relationships. En : **Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae**. Ed. por R. Molina. Forest Research Laboratory. Corvallis. 146-149.
- Smith, G. W. y H. D. Skipper. 1979. Comparison of methods to extract spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Sci. Soc. Am. J.** 43 : 722-725.
- Smith, F. A. y S. E. Smith. 1981. Mycorrhizal infection and growth of *Trifolium subterraneum* : use of sterilized soil as a control treatment. **New Phytol.** 88 :

299-309.

- Stribley, D. P., P. B. Tinker y J. H. Rayner. 1980. Relation of internal phosphorus concentration and plant weight in plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol* 86 : 261-266.

- Sutton, J. C. y G. L. Barron. 1972. Population dynamics of *Endogone* spores in soil. *Can. J. Bot.* 50 : 1909-1914.

- Toro, S. 1985. Estudio sobre la presencia de micorriza VA en la caña de azúcar (*Saccharum* sp) en el valle del Cauca, Colombia. Ciclo lectivo sobre el tema "Técnicas de investigación en micorriza". Fundación Internacional para la Ciencia. Informe provisional 18 : 93-105.

- Trouvelot, A. S., S. Gianinazzi y V. Gianinazzi-Pearson. 1987. Screening of VAM fungi for phosphate tolerance under simulated field conditions. En : *Mycorrhizae in the Next Decade : Practical Applications and Research Priorities*. D. M. Sylvia, L. L. Hung y J. H. Graham, eds. IFAS, Gainesville. 364.

- Wilson, J. M. y M. J. Trinick. 1982. Factors affecting the estimation of numbers of infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method. *Aust. J. Soil Res.* 21 : 73-81.

Apéndice 1.

Técnica para aclarar y teñir las raíces (Phillips y Hayman, 1980)

- Lavar las raíces y colocarlas en un recipiente con KOH al 10%.
- Calentar en baño María, autoclave o dejar reposar hasta que el KOH se ponga café y las raíces estén suaves (el tiempo varía con diferentes tipos de raíces).
- Lavar por lo menos tres veces con agua para eliminar el KOH.
- Si las raíces están oscuras, agregar agua oxigenada alcalinizada y dejar reposar hasta que se aclaren.
- Lavar con agua.
- Agregar HCl al 1% y esperar 5 minutos.
- Eliminar el HCl y no lavar.
- Colocar las raíces en azul de tripano y calentar en baño María o autoclave durante 15 min, o bien dejar reposar durante una noche.
- Eliminar el colorante y guardar las raíces con agua en refrigeración.

Técnica de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963).

- Pesar 50 g de suelo fresco.
- Agregar 200 ml de agua.
- Agitar vigorosamente durante un minuto.
- Dejar reposar 30 segundos
- Decantar la suspensión en tamices de número de malla diferente.
- Repetir desde el segundo paso otras dos veces.
- Pasar las fracciones obtenidas de cada tamiz a cajas de petri para observación en el microscopio.

Método del número más probable de propágulos viables (Porter, 1979).

- Pesar 200 g de suelo fresco tamizado.

- Colocar 50 g de suelo fresco en un vaso que contenga 150 g del mismo suelo, pero esterilizado a vapor, y cubrir con otros 50 g de suelo esterilizado.

- Preparar tres vasos de la misma manera (suelo sin diluir).

- Colocar los 50 g restantes en una bolsa de plástico, agregar otros 150 g de suelo esterilizado y agitar vigorosamente.

- Tomar 50 g de la bolsa, colocarlos en un vaso que contenga 150 g de suelo esterilizado y cubrir con otros 50 g de suelo esterilizado.

- Preparar otros dos vasos de la misma manera (primera dilución).

- Colocar los 50 g restantes de la primera dilución en otra bolsa, agregar otros 150 g de suelo esterilizado y agitar.

- Preparar tres vasos del mismo modo que los anteriores (segunda dilución) y separar los 50 g restantes para la siguiente dilución.

- Continuar de la misma manera hasta calcular que no haya nada del suelo fresco inicial.

Técnica de cuantificación del porcentaje de infección en las raíces (Giovanetti y Mosse, 1980) por el método de intersección de la cuadrícula.

- En un papel, dibujar una cuadrícula de 1 cm de lado y cortar un círculo del diámetro del fondo de una caja de petri.

- Pegar la cuadrícula a la caja y esparcir al azar 200 segmentos de aproximadamente 1 cm de raíces teñidas.

- Contar el número de puntos en que las raíces cruzan las líneas de la cuadrícula y el número de estos puntos en los que se encontró infección micorrizica.

- Calcular el porcentaje de puntos infectados del total observado.

- Rearreglar las raíces de la muestra en la caja y repetir la cuantificación por dos veces más.

- Sacar un promedio de las tres repeticiones.