

00387

19



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE LA ENDOMICORRIZA ARBUSCULAR
SOBRE EL DESARROLLO DE NEMÁTODOS
FITOPATÓGENOS EN PLÁNTULAS DE CAFÉ

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGIA

PRESENTA
DORA TREJO AGUILAR

DIRECTOR DE TESIS:
DR. RONALD FERRERACER

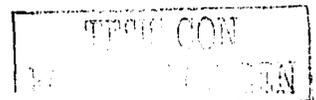


DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE 2003

A





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

A mis hijos

Isaac, mi mayor bendición

Jacob, mi apoyo, fortaleza y esperanza

*José Abraham, la luz y alegría de
mi vida*

Gracias queridos hijos por todo lo maravilloso que han hecho en mi vida, gracias por su comprensión y paciencia durante todo el tiempo que necesite para realizar este trabajo, gracias por ayudarme cuanto han podido. Su presencia es mi principal motivo de superación, los amo

A mi esposo

Gracias por todo el apoyo que te ha sido posible darme durante el tiempo invertido para la realización de este trabajo, gracias por tu comprensión y por compartir conmigo todos estos años y apoyarme para crecer profesionalmente



Agradecimientos

A Dr. Ronald Ferrera Cerrato, por permitirme una vez más trabajar bajo su dirección, por todas sus enseñanzas y apoyo en todo momento, por su gran calidad humana y por todos sus valiosos consejos que me han permitido crecer profesionalmente, gracias por animarme y apoyarme de la mejor manera para alcanzar esta meta, para usted mi más profundo respeto y admiración.

A Sistema de Investigación del Golfo de México (S. I. G. O. L. F. O.) por el apoyo económico para la realización de los experimentos presentados en este trabajo, a través del proyecto número 99-06-012, de manera especial quiero agradecer al Ing. José Luis Zúñiga González, al M.C. Roberto de la Garza Montalongo y a la Biol. María Luisa Hernández, gracia por todo su apoyo y amistad.

A la M. en C. Lilitana Lara Capistrán, Dr. Ramón Zúñeta y M.C. Gabriela Sánchez Núñez. Gracias Lilitana por tu ayuda incondicional en todo momento, por ser mi amiga, por compartir tu tiempo y juventud conmigo, de manera especial quiero agradecer toda tu ayuda en la realización de este trabajo de investigación.; Gracias Ramón por toda tu valiosa ayuda en la revisión del escrito; Gracias Gaby por estar siempre tan dispuesta a colaborar.

A los Drs. Roberto García Espinosa y Lucía Varela Fragoza, por todos estos años que han invertido en mi formación. Dr. García ha sido un privilegio que usted halla participado nuevamente en mi comité, el platicar con usted siempre me trae enseñanzas no sólo académicas si no de forma de vida, desde mi formación inicial ha sido usted un ejemplo ha seguir gracia por todo el apoyo, la paciencia y su tiempo invertido. Dra. Varela, muchas gracias por todo el tiempo invertido durante estos años y por su valiosa ayuda en la identificación taxonómica de las especies, gracias por todo el tiempo que compartió conmigo en el laboratorio es usted una mujer a la que siempre admiro, gracias por brindarme su amistad y apoyo en todo momento.

A los D^{os}. Tostilo Herrera Suárez, Evangelina Pérez Silva, Javier Álvarez Sánchez y Robert Lunderman por su participación en la revisión de la tesis, mil gracias por su buena disposición y todo el tiempo invertido en esta tarea.

G.R.M.C.I.M.S

A mis sobrinos Ricardo y Sandra Trejo Hernández, por su ayuda en los trabajos de diseño y computo

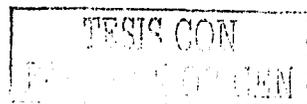
A mi amiga Lilitana Calatayud por su valioso apoyo en la revisión de la redacción de este escrito

A mi hermano Prof. Cuatláhuac Trejo Aguilar por apoyarme en la vida

A la M^{en} C. Ofisel Tablada, al M^{en} C. Juan Ruiz Ramírez y al Dr. Hector Lopez Moctezuma por su apoyo en la realización de los análisis estadísticos, gracias Dr. Moctezuma por sus enseñanzas en el manejo de los programas estadísticos y su disposición para aclarar mis dudas.

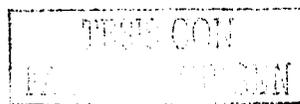
A M^{en} C. Alejandro Marcón, porque cada vez que surgieron dudas, tuve más que pronta respuesta, gracias por tus valiosos comentarios acerca de mi trabajo. Alex eres una persona muy especial, por favor nunca cambies.

A los D^{os}. Samuel Cruz Sánchez y Oscar García Barradas por sacarme de dudas en los momentos de conflicto con la computadora, gracias por su amistad sincera.

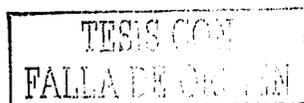


INDICE

INDICE DE CUADROS.....	III
INDICE DE FIGURAS.....	V
SUMMARY.....	VII
RESUMEN.....	IX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. HIPÓTESIS.....	2
3. OBJETIVOS.....	2
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
4.1 Eficiencia de los inoculantes micorrízicos.....	3
4.2 La endomicorriza arbuscular en el biocontrol.....	6
4.3 Mecanismos de protección.....	8
4.4 Efecto de la endomicorriza en enfermedades causadas por patógenos del suelo.....	13
4.5 Interacción entre nemátodos fitopatógenos y hongos micorrízicos.....	16
4.5.1 Interacciones entre nemátodos y micorrizas.....	17
4.5.2 Efecto protector de los hongos micorrízicos arbusculares.....	20
4.5.3 Efecto de los nemátodos sobre los hongos micorrízicos arbusculares.....	24
4.5.4 Importancia del fósforo en la interacción nemátodo-hongos micorrízicos arbusculares.....	25
4.5.5. Efectos en plantas perennes.....	26
4.5.6 Consideraciones finales.....	29
4.6 Factores de manejo de la endomicorriza-arbuscular que influyen sobre el efecto de control.....	31
4.7 Problemas del uso de hongos micorrízicos en el control biológico.....	32
5. MÉTODOS.....	33
5.1 Propagación de inoculantes.....	33
5.1.1. Sitios de recolecta.....	33
5.1.1.1 Colecta de suelo en cada una de las fincas seleccionadas.....	34
5.1.1.2 Análisis del suelo.....	34
5.1.1.3 Cuantificación de diferentes tipos de esporas en suelo de campo.....	34
5.1.2. Propagación de hongos micorrízicos arbusculares.....	35
5.1.3 Evaluación del inóculo en cultivos trampa.....	35
5.1.3.1 Evaluación del número de de esporas en invernadero.....	35
5.1.3.1.1 Porcentaje de colonización de los cultivos trampa.....	36
5.1.4 Técnica propuesta por Sieverding, (1991) modificada.....	36
5.1.5 Pruebas de eficiencia de los 7 consorcios micorrízicos.....	37
5.1.5.1 Pruebas de eficiencia en papaya.....	37
5.1.5.2 Pruebas de eficiencia en café durante la fase de invernadero.....	39
5.1.5.3 Evaluación de plantas de café inoculadas con 7 consorcios micorrízicos bajo condiciones de campo.....	40
5.1.5.3.1 Ubicación del experimento y descripción de la finca.....	41
5.1.5.3.1.1 Descripción del experimento.....	42
5.1.5.3.1.2 Diseño Experimental.....	42
5.1.5.3.1.3 Evaluación de variables.....	43
5.1.5.3.1.4 Determinación del Porcentaje de colonización micorrízica en plantas de café ya establecidas en las fincas infestadas y en fase reproductiva.....	44

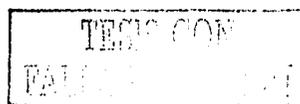


5.1.5.4 Efecto de la micorriza arbuscular en interacción con el nemátodo “agallador”	
<i>Meloidogyne incognita</i> en invernadero	44
5.1.5.4.1 Inoculación de los consorcios micorrízicos.....	44
5.1.5.4.2. Inoculación del nemátodo.....	45
5.1.5.4.3 Diseño Experimental.....	46
5.1.5.4.4 Evaluación de variables.....	47
5.1.6 Identificación taxonómica de las especies de HMA de los consorcios	47
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
6.1 Caracterización de los sitios de muestreo para la propagación de los consorcios de hongos micorrízicos nativos	48
6.1.1. Análisis del suelo	50
6.2 Evaluación de la población de esporas procedentes de campo	50
6.3 Evaluación del inóculo en cultivos trampa	52
6.3.1 Evaluación de la población de esporas en invernadero (cultivo trampa).....	52
6.3.2 Porcentaje de colonización.....	60
6.3.3 Colonización en cebolla utilizada para la propagación masiva.....	62
6.4 Evaluación de la eficiencia de 7 complejos nativos procedentes de café	62
6.4.1 Evaluación de la eficiencia de 7 complejos nativos procedentes de café en papaya....	62
6.4.1.1 Respuesta al crecimiento	64
6.4.2 Respuesta de café a siete consorcios de hongos micorrízicos bajo condiciones de invernadero y campo	70
6.4.2.1 Desarrollo en invernadero	70
6.4.2.2 Desarrollo en campo de plantas inoculadas con hongos micorrízicos.....	78
6.4.2.2.1 Supervivencia de las plantas al trasplante	85
6.4.2.2.2 Colonización micorrízica.....	88
6.4.2.2.3 Micorriza nativa.....	88
6.4.2.2.4 Pudrición de la raíz.....	95
6.4.3 Efecto de la micorriza arbuscular en plantas de café inoculadas con el nemátodo causante de la “corchosis” bajo condiciones de invernadero	98
6.4.3.1 Desarrollo vegetativo de las plantas de café inoculadas con los siete consorcios micorrízicos antes de la inoculación con nemátodos	98
6.4.3.2. Desarrollo vegetativo de las plantas de café inoculadas con los 7 consorcios micorrízicos después de la inoculación con nemátodos.....	101
6.4.3.2.1. Contenido de Clorofila	108
6.4.3.2.2. Colonización micorrízica.....	112
6.4.3.2.3. Población de esporas	115
6.4.3.2.4. Micelio extrarradical	116
6.4.3.2.5. Población de nemátodos.....	119
7. CONCLUSIONES.....	122
8. BIBLIOGRAFIA	124
APENDICE.....	142

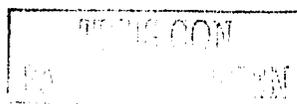


INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Posibles efectos de la interacción entre las plantas, el nemátodo y la endomicorriza arbuscular (Tomado parcialmente de Hussey y Roncadori, 1980).....	17
Cuadro 2.	Relación de trabajos realizados sobre el estudio de la interacción nemátodos-HMA	21
Cuadro 3.	Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de papaya	38
Cuadro 4.	Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los 7 consorcios en plantas de papaya.....	38
Cuadro 5.	Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de invernadero	40
Cuadro 6.	Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los 7 consorcios en plantas de café, bajo condiciones de invernadero.....	40
Cuadro 7.	Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de campo	42
Cuadro 8.	Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de campo	43
Cuadro 9.	Descripción de los tratamientos de un diseño factorial completamente al azar con dos factores.....	46
Cuadro 10.	Efecto de la micorriza arbuscular en interacción con el nemátodo "agallador" <i>Meloidogyne incognita</i> en invernadero.....	47
Cuadro 11.	Características de los sitios de colecta de suelos para la obtención del inóculo	48
Cuadro 12.	Características físicas y químicas de los suelos usados para la obtención del inóculo	50
Cuadro 13.	Densidad de esporas de procedencia directa de campo	50
Cuadro 14.	Número de géneros y especies detectados en las 7 localidades en observaciones a partir de cultivo trampa en maceta.....	57
Cuadro 15.	Géneros de HMA presentes en líneas cafetaleras muestreadas en este trabajo y en Brasil (Saggin-Junior y Siquiera, 1996)	58
Cuadro 16.	Colonización radical de HMA en siete consorcios en cultivos trampa La colonización total se expresa en el porcentaje de hifas.....	61
Cuadro 17.	Altura de plantas durante 4 semanas.....	64
Cuadro 18.	Número de hojas en plantas de papaya inoculadas con 7 consorcios micorrízicos durante 4 semanas.....	67
Cuadro 19.	Peso seco de plantas de papaya a los 42 DDI.....	67
Cuadro 20.	Respuesta de crecimiento en invernadero de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrízicos 90 DDI.....	70
Cuadro 21.	Respuesta de crecimiento en invernadero de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrízicos 130 DDI.....	74
Cuadro 22.	Respuesta de crecimiento de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos 30 DDT	80
Cuadro 23.	Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrízicos 60 DDT.....	80



Cuadro 24. Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos micorrízicos 90 DDT	81
Cuadro 25. Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos micorrízicos 120 DDT	82
Cuadro 26. Área foliar de las plantas de café a los 330 DDI.	83
Cuadro 27. Especies de plantas de sombra y arvenses de la finca estudiada en relación a la presencia de estructuras de HMA.	94
Cuadro 28. Altura de plantas de café inoculadas con siete consorcios antes de la inoculación del nemátodo (DDI).	99
Cuadro 29. Efecto del consorcio sobre las variables evaluadas después de la inoculación del nemátodo (180 DDIN)	102
Cuadro 30. Efecto del nemátodo sobre el volumen, peso fresco y seco de raíz y peso fresco del follaje, después de la inoculación del nematodo.....	102
Cuadro 31. Efecto de la interacción nemátodo-consorcio de HMA sobre el, peso fresco de follaje, después de la inoculación del nemátodo.....	105
Cuadro 32. Clorofila A, B y total antes de la inoculación del nemátodo	108
Cuadro 33. Clorofila A, B y total después de la inoculación del nemátodo.....	109
Cuadro 34. Porcentaje de colonización micorrízica por efecto de los diferentes consorcios en plantas de café.....	113
Cuadro 35. Efecto de la interacción consorcio-nemátodo sobre la colonización micorrízica después de la inoculación del nemátodo	114
Cuadro 36. Cantidad de micelio extrarradical por efecto del consorcio	117
Cuadro 37. Cantidad de micelio extrarradical por efecto del nemátodo	117
Cuadro 38. Relación peso fresco de raíz-población de nemátodos.	120



INDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Determinantes de la eficiencia micorrízica (Basado en la propuesta de Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988).....	4
Figura 2. Factores del suelo que afectan la interacción micorriza-patógeno-hospedante (Tomado de Caron, 1989).....	7
Figura 3. Representación del efecto de las interacciones Tipo I y II entre nemátodos (N) endoparásitos y HMA (M) en el crecimiento de plantas. Testigo (T) a) Comportamiento de una interacción Tipo I. b) Comportamiento de una interacción Tipo II. (Según Ingham, 1988).....	19
Figura. 4. Localización del área de colecta	33
Figura. 5. Suelo de una finca de 10 años de edad con "corchosis", con una fuerte infestación de nemátodos que deforman el tejido radical.....	41
Figura 6. Plantas inoculadas con HMA trasplantadas a una finca con "corchosis", a 60 cm del tallo de una planta de café en edad productiva	42
Figura.7. Propagación de nemátodos de café en plantas de tomate y estropajo. a) Cultivo de plantas de tomate 30 días después inoculadas con nemátodos. b) extracción de las raíces agalladas. c) raíces preparadas para la extracción de nemátodos	45
Figura 8. Fincas con 3 niveles de tecnología en la producción del café, Fincas localizadas en: Paso Grande (SB); Miradores (SM) y La Concepción (EDSA).....	49
Figura.9. Cantidad de esporas procedentes de campo y en invernadero utilizando como hospedante maíz tres meses después de la siembra.....	53
Figura10 Morfotipos de esporas provenientes de campo , en donde se puede apreciar la diversidad de formas y colores de las esporas	54
Figura.11 Variación del color de las esporas de acuerdo a la edad. a) esporas jóvenes b) esporas maduras con peridio	55
Figura 12. Variación del tamaño de esporas.....	55
Figura. 13 Dinámica poblacional de esporas en cultivo trampa.....	56
Figura. 14. Desarrollo de la colonización micorrízica en maceta durante 15 meses.....	63
Figura 15 Respuesta de papaya con diferentes consorcios provenientes de café después de 15 días de inoculación.....	65
Figura 16. Plantas de papaya inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos de fincas cafetaleras	66
Figura 17 Comparación del desarrollo de plantas de papaya inoculadas con respecto a las testigo, observándose un buen desarrollo de la raíz y el follaje en las plantas inoculadas con los consorcios XI EDSA, JU SM y MI SM	68
Figura18. Plantas de café inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos, siete semanas después de la inoculación, se aprecia la variabilidad en la efectividad de los consorcios	71
Figura 19. Plantas de café inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos, en invernadero 90 días después del trasplante	72
Figura. 20 Tamaño de las plantas de café durante 130 DDI.....	73
Figura. 21. Número de hojas de las plantas de café durante 130 DDI	75

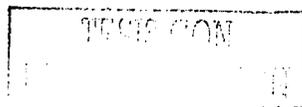
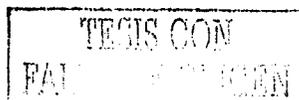
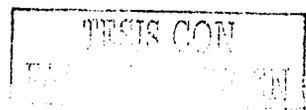


Figura. 22. Colonización micorrízica en plantas de café antes del trasplante a campo 130 días después de la inoculación.....	77
Figura 23 Desarrollo de las plantas inoculadas con hongos micorrízicos bajo condiciones de campo, se observan las diferencias entre consorcios y con el testigo.....	79
Figura. 24 Peso seco de la raíz y follaje en plantas de café bajo condiciones de campo, donde se observa que los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} promueven el mejor desarrollo.....	84
Figura 25 Plantas de café inoculadas con diferentes consorcios de HMA y transplantadas en una finca con "corchosis, donde los consorcios micorrízicos ES_{SM} y MI_{SM} presentaron los mejores efectos	86
Fig. 26. Supervivencia de las plantas de café después del trasplante a campo.	87
Figura. 27. Supervivencia de las plantas de café ocho meses días después del trasplante a campo.....	87
Figura. 28. Plantas de café en edad productiva en una finca infestada con "corchosis", en las cuales no se observó colonización micorrízica.....	88
Figura. 29. Finca de café con baja presencia de arvenses.	94
Figura. 30. Raíces de plantas de café inoculadas con los consorcios micorrízicos.....	95
Figura. 31. Número de agallas en las plantas de café inoculadas con los diferentes complejos.....	96
Figura. 32. Porcentaje de pudrición en las raíces de las plantas de café, bajo condiciones de campo.....	97
Figura 33 Comparación de plantas inoculadas con HMA con y sin nematodo, el efecto del nematodo es enmascarado por el efecto de la simbiosis micorrízica.....	100
Figura. 34. Altura de plantas de café inoculadas con y sin nemátodo 30 DDIN.....	103
Figura 35. Comparación de plantas micorrizadas con y sin nematodo, plantas inoculadas con PG_{SB} con el sistema radical dañado pero con una apariciencia sana del follaje. Lo que nos indica la capacidad compensatoria al sistema radical de parte de la simbiosis.....	104
Figura.36. Representación esquemática de la hipótesis de "by pass"	104
Figura 37. Cantidad de clorofila antes y después de la inoculación con los nematodos.....	111
Figura. 38. Porcentaje de vesículas en plantas de café inoculadas con HMA y nematodos.....	113
Figura 39. Cantidad de esporas en la rizósfera de las plantas inoculadas con siete consorcios micorrízicos.	115
Figura. 40. Cantidad de micelio extrarradical en suelo con y sin nemátodos, observando la mayor cantidad de micelio en suelo libre del patógeno	118
Figura. 41. Población de nemátodos/g de raíz después de siete meses de inoculadas	119

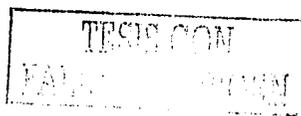


SUMMARY

Between the benefits of the micorriza arbuscular fungus (MA fungus) is to consider the roll in the reduction of symptoms caused by pathogens. The coffee is a crop that displays a high degree of micotrophy and has been shown that the presence of the MAfungus promotes a better growth and development of the plant. In Mexico the coffee crops are grown with different production technology system and edaphclimatic conditions, reason why we considered important to count on isolates from diverse conditions. The present research was developed to know the populations and native fungi diversity of coffee agroecosystem growing with different production system; to know the development of inoculated plants with mycorrhizal fungi and their interaction with phytopathogenous nematodes in nursery and field; to obtain one suitable inoculum for use as and biocontrol agent of diseases in greenhouse. We isolated 7 inoculum mixtures of native MAfungus of agroecosytems from coffee crops; the efficiency of the inoculum mixtures was tested in greenhouse conditions; it was compared the interaction of the different inoculum mixtures with nematode from the "corchosis" in field and greenhouse. The inoculum was reproduced through the Sieverding (1991),technic. After the initial spore population was quantified, types of species, chemical and physical soil analysis and a data card was made in order to kown the managment and general situation of each coffe plantation. The taxonomic identification was done for each one of the seven soil samples collected. The efficiency of the inoculum mixtures in plants of papaya was tested, because these plants show quick effect; simultaneously coffee plants of the variety Garnica were inoculated. The response in papaya was seen 15 days after the inoculation (DAI). The best inoculum mixtures was that wich came from high level technology coffee plantation. The response in coffee plant under greenhouse was shown in 90 DAI . Increases of 91% in height, 63% in diameter, 95% in the number of leaves and 1900% in area to foliar were found in relation to the control, but in this case the best treatments were those inoculated with the MAfungus inoculum mixtures from low level technology coffee plantation. 130 DAI, these plants were taken to a coffe plantation hightly infested by "corchosis" and they were planted around coffee plant in productive age. . The plants taken to field showed an increase in height up to 100%



for the best inoculante (ES_{SM}), at 210 days after the transplant (DAT). On the other hand most of the inoculated plants displayed a 100% survival at transplant, 160 DAT , after a strong period of drought, it was observed that the plants inoculated with ES_{SM} and MI_{SM} showed 60% of survival at 330 DAT Although the behavior of the plants in response to the inoculum followed the same tendency as in the greenhouse in field the increases with respect to control were much greater than in greenhouse. Even though high stress condition were present ,the natural conditions favored the plant development as a result of the presence of other native organisms which contributed and improved the condition of the plants. The best inoculum were those coming from agroecosystems with average technology level. Nevertheless the inoculum from coffee plantation where the edafoclimatic conditions were stable but exists a great disturbance due to agricultural practices did not showed a considerable efficiency. In a second stage another plot of inoculated coffee plants with MA fungus inoculum mixture were planted and after 7 months they inoculated with 1500 J2 and nematode eggs were cultivated in "estropajo" and "tomatoe" plants. The plants were removed after 9 months and dry weight, radical volume, area to foliar and extradradical number of leaves, micelio, amount of chlorophyll, percentage of colonization, number of esporas and the population of nematodes were measured. Significant statistical differences were observed. The best treatment was the inoculum ES_{SM}. The plants inoculated with the pathogen mostly were apparently healthy, but when extracting the plant the root had diminished radical volume up to 60%. Nevertheless plants grew vigorous, making us suppose that although nematode penetrated in the root and damaged them, MA fungus, hyphae allowed the passage of nutrients. These results suggest how important is the selection of inoculum to use as a biotechnological tool in the diseases control. the anticipated colonization allows to a better development of the MA fungus and as result an effect of tolerance to the pathogens develops, This being the reason why inoculation with mycorrhizal fungus is important for the establishment of new coffee crops in zones with nematode pest.



RESUMEN

Entre los beneficios de la micorriza arbuscular (HMA) es de considerarse el papel que tiene en la reducción de síntomas causados por patógenos. El café es un cultivo que presenta un alto grado de micotrofia y ha sido comprobado que la presencia de los HMA promueve un mejor crecimiento y desarrollo de la planta. En México el café se cultiva bajo diferentes niveles de tecnología y condiciones edafoclimáticas, por lo que consideramos importante contar con aislamientos procedentes de diversas condiciones.

El presente trabajo tuvo como propósito; conocer las poblaciones y diversidad de hongos nativos de agroecosistemas cafetaleros con diferente sistema de producción, así como el desarrollo de las plantas inoculadas con consorcios de hongos micorrízicos y su interacción con nemátodos fitopatógenos en campo e invernadero; proponer un inóculo nativo para ser utilizado como agente de biocontrol de enfermedades de café en vivero. Se aislaron siete consorcios (conjunto de diversas especies) de HMA nativos de agroecosistemas cafetaleros; se probó la eficiencia de los consorcios en invernadero; se comparó la interacción de los diferentes consorcios con el nemátodo causante de la "corchosis" en campo e invernadero; se obtuvo un inóculo que podría ser utilizado como agente biocontrol de enfermedades de café en vivero. Para lo cual se colectó suelo de siete fincas cafetaleras y se procedió a la reproducción de HMA mediante la técnica de Sieverding (1991).

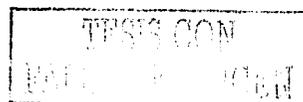
Se determinó la población inicial de esporas, tipos de especies, análisis físico químico de suelo y se realizó una ficha de registro donde se reportaron los datos del manejo y situación general de la finca. Se realizó la identificación taxonómica de algunas especies de HMA presentes en los siete suelos colectados. Se probó la eficiencia de los complejos en plantas de papaya, ya que es una planta que responde rápidamente a la inoculación y de manera simultánea se inocularon plantas de café de la variedad Garnica.

La respuesta en papaya se observó 15 días después de la inoculación (DDI) siendo los mejores consorcios aquellos provenientes de fincas con un nivel alto de tecnología. En café, la respuesta en invernadero se observó a los 90 DDI, se presentaron incrementos con respecto al testigo del 91% en altura, 63% en diámetro, 95% en el número de hojas y

1900% en área foliar, pero en este caso los mejores tratamientos fueron aquellos inoculados con los HMA provenientes de fincas de nivel de tecnología medio, estas plantas fueron llevadas a un finca fuertemente infestada por "corchosis" y se sembraron alrededor de plantas de café en edad productiva. Las plantas llevadas a campo presentaron un aumento en altura hasta de 100% para el mejor inoculante (ES_{SM}). Por otra parte la mayoría de las plantas inoculadas presentaron un 100% de supervivencia al trasplante. Después de un periodo fuerte de sequía, se observó que las plantas inoculadas con ES_{SM} y MI_{SM} presentaron 60% de supervivencia.

Aunque el comportamiento de las plantas en respuesta a los inoculantes siguió la misma tendencia que en invernadero, en campo los incrementos con respecto al testigo fueron mucho mayores que en invernadero. Las condiciones naturales favorecieron el desarrollo de las plantas aun bajo alta presión de estrés, pero es de notarse que la presencia de otros organismos nativos contribuyó y mejoraron la condición de las plantas. Los mejores inoculantes fueron aquellos provenientes de agroecosistemas de nivel de tecnología media, sin embargo los inoculantes provenientes de fincas donde las condiciones edafoclimáticas son mas estables y existe un gran disturbio por parte de las practicas de producción no presentaron una eficiencia considerable.

En una segunda etapa se sembró otro lote de plantas de café inoculadas con los siete consorcios de HMA y después de siete meses se inocularon con 1500 juveniles y huevecillos cultivados en plantas de estropajo y jitomate; después de nueve meses se extrajeron las plantas y se determinó el peso seco, volumen radical, área foliar y número de hojas, micelio extraradical, cantidad de clorofila, porcentaje de colonización, número de esporas y la población de nemátodos. Se observaron diferencias estadísticas significativas siendo el mejor tratamiento aquel inoculados con el consorcio ES_{SM}, de manera general las plantas inoculadas con el patógeno se observaban aparentemente sanas, pero al extraer la planta la raíz había disminuido su volumen radical hasta en un 70.93%, sin embargo se mantenían creciendo vigorosas lo que nos hace suponer que aunque el nemátodo penetra en la raíz y la daña, las hifas del HMA permiten el paso de nutrimentos.



Estos resultados sugieren que es importante la selección de inoculantes para ser utilizados como una herramienta biotecnológica en el control de enfermedades, ya que la colonización anticipada permite un mejor desarrollo de los HMA y como consecuencia un efecto de tolerancia a los patógenos, por lo que la practica de la inoculación con HMA es importante para el establecimiento de nuevas fincas cafetaleras en zonas con antecedentes de problemas de nemátodos.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las prácticas agrícolas han involucrado una alta tecnificación y sofisticación de los sistemas de producción, en donde el manejo de la enfermedad ha requerido la creación de plantas resistentes y la aplicación, en ocasiones indiscriminada, de plaguicidas.

Por otra parte, existen propuestas globales para la reducción del uso de insumos químicos que frecuentemente dañan la salud humana y el ambiente, con medidas para un manejo adecuado de la naturaleza y una disminución en la incorporación de plaguicidas a los sistemas de producción. En este contexto, se ha intentado reemplazar a los plaguicidas por el uso de microorganismos que protegen las plantas de los patógenos y que son considerados "componentes claves" en el desarrollo de la agricultura sostenible (Barea y Jeffries, 1995).

El manejo apropiado de la relación suelo-planta-microorganismo - es un enfoque promisorio para el aprovechamiento biotecnológico, a fin de lograr agroecosistemas estables a largo plazo y productivos; es decir, sistemas sustentables (Barea *et al.*, 1996).

Dentro de la multitud de microorganismos que conforman un agroecosistema, los hongos endomicorrízicos arbusculares destacan de otros componentes de la microbiota del suelo debido a su habilidad para formar un enlace entre las plantas y el suelo.

Entre los beneficios de la micorriza destaca el papel que tiene en la reducción de daños causados por patógenos, aunque los mecanismos a través de los cuales se da este efecto, no han sido aún bien esclarecidos; sin embargo, se piensa que la contribución de estos hongos en la disminución de las enfermedades está, en gran parte, determinada por la buena nutrición de las plantas inoculadas, ya que al ser más vigorosas, son capaces de presentar mayor tolerancia a las enfermedades, a reserva de otras hipótesis al respecto (Linderman, 1992).



PAGINACIÓN DISCONTINUA

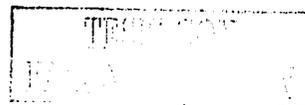
Este hecho ha enfocado el estudio de la micorriza arbuscular para ser incorporado como un elemento importante dentro de los sistemas de producción sostenibles y, específicamente, considerarla en el control biológico de las enfermedades de las plantas como una actividad sobresaliente desarrollada por un grupo de trabajo en Europa a partir de 1994, dentro del programa de cooperación científica y técnica Acción 8.21 (Gianinazzi y Schüepp, 1996).

2. HIPÓTESIS

- 1) La procedencia y diversidad de las especies de hongos micorrízicos nativos presentes en un consorcio son determinantes en la eficiencia de un inoculante.
- 2) El número de individuos y la diversidad de hongos micorrízicos se ven influenciadas por el tipo de manejo del sistema agrícola
- 3) Cambios ambientales provocan cambios en su capacidad de infección y esporulación de los hongos micorrízicos arbusculares
- 4) La procedencia de los hongos micorrízicos causa diferente respuesta en las plantas inoculadas
- 5) Las plantas inoculadas con HMA pueden tener buen desarrollo aun en presencia de nemátodos patógenos

3. OBJETIVOS

- 1) Propagar hongos endomicorrízicos arbusculares nativos provenientes de agroecosistemas cafetaleros con diferentes sistemas de manejo para seleccionar al más eficiente en la promoción y desarrollo de las plantas de café.
- 2) Conocer las poblaciones y la diversidad de los hongos nativos de agroecosistemas cafetaleros con diferente sistema de producción, así como su dinámica en cultivo trampa
- 3) Conocer la dinámica de los hongos micorrízicos arbusculares en cultivo trampa



4) Conocer la eficiencia de consorcios de hongos micorrízicos arbusculares de diferente procedencia, sobre el desarrollo de una planta altamente micotrófica de rápido crecimiento (papaya) y en una planta perenne (café)

5) Conocer el desarrollo de plantas inoculadas con hongos micorrízicos y su interacción con nemátodos fitopatógenos en campo e invernadero

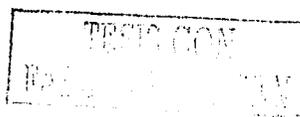
4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Eficiencia de los inoculantes micorrízicos

La actividad simbiótica de los hongos micorrízicos arbusculares pueden ser considerados como la resultante de dos factores principales: la infectividad y la efectividad, ambos dependen del hongo y de la planta. La **infectividad** puede ser definida como la habilidad de la cepa del hongo para colonizar las raíces de las plantas hospederas en términos de rapidez y extensión (tasa de infección) (Gianinazzi y Gianinazzi-Pearson, 1986; Sieverding, 1991). Uno de los factores que influye en la tasa de infección es la germinación de las esporas; la latencia de las esporas puede influir negativamente en la infección, retrasando la formación de apresorios en el tejido del hospedante (Tommerup, 1983; Giovannetti y Citeresi, 1993).

Por otra parte se ha visto que otras especies son lentas para infectar, como es el caso de algunas especies de *Gigaspora*. La velocidad de formación y el alto número de apresorios puede ser también una variable que debería ser considerada cuando se seleccionan cepas de interés en la agricultura, ya que es importante que además de la sobrevivencia de las esporas, después de la inoculación en el suelo, haya una ocupación eficiente de los sitios de infección para competir con los endógenos altamente eficientes (Giovannetti y Gianinazzi-Pearson, 1994).

La **efectividad** es el resultado de la interacción fisiológica entre los simbioses (planta-hongo-micorrízico), el hospedante y el endófito, bajo condiciones ambientales dadas (Sieverding, 1991). De acuerdo con Smith y Gianinazzi-Pearson (1988) los posibles determinantes de la eficiencia simbiótica relacionados con 1) el hongo son tasa de crecimiento, entrada de nutrientes, traslocación y metabolismo del fósforo del micelio



externo, tasa de infección, tasa de crecimiento y producción de arbuscúlos de micelio interno. En el caso;2) de la **planta** la morfología de la raíz y su tasa de crecimiento, los requerimientos nutrimentales del vegetal, la tasa de fotosíntesis y su tolerancia al estrés y 3) en la **interfase simbiótica** el área de contacto entre los simbioses, la tasa de entrada de nutrientes y el flujo de carbohidratos (Fig. 1).

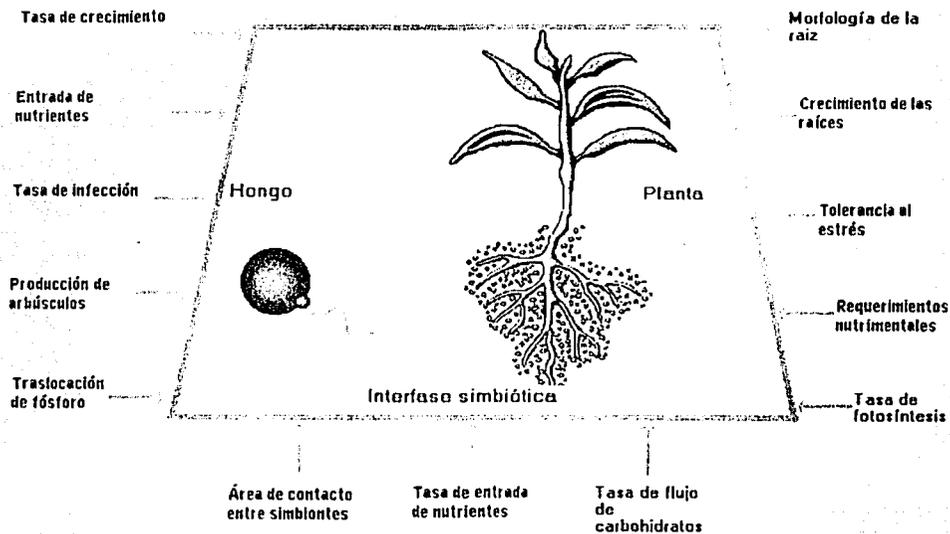


Figura. 1. Determinantes de la eficiencia micorrízica (Basado en la propuesta de Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988).

La efectividad puede ser el rendimiento de la producción de los cultivos, o el número de progenies de la planta en un ecosistema natural, o la transferencia de nutrientes por unidad de carbohidratos utilizados por los HMA en una comparación fisiológica.

La evaluación de las variables para determinar la eficiencia depende del interés de la investigación. Una forma simple de evaluar el efecto del hongo en la planta huésped consiste en monitorear su crecimiento en altura, así como la producción de biomasa seca (Sieverding, 1991).

TRABAJO CON
EVALUACIÓN DE
MATERIA

Ha sido ampliamente demostrado que la eficacia de los inoculantes micorrízicos se ve incrementada cuando se utiliza una mezcla de especies y no una sola. Así Koomen *et al.*, (1987) sugirieron el uso de múltiples especies mas que de una sola especie de inóculo , una apropiada combinación de éstas , por lo que la selección de especies efectivas de poblaciones nativas para sitios particulares , es uno de los primeros pasos en la evaluación de la simbiosis en el crecimiento de las plantas.

Schreiner y Bethlenfalvay (1997) compararon tres HMA y una mezcla de los tres encontrando que la mezcla fue mejor que cuando utilizaron cada especie sola en el mejoramiento del crecimiento de plantas de frijol; por otra parte, observaron que la cantidad de agregados fue incrementada por dos de tres HMA como inóculo individual; sin embargo, el incremento fue mayor en el tratamiento inoculado con una mezcla. La aplicación de fungicidas inhibió la formación de micorrizas, no obstante, se observó que los tres hongos juntos fueron más tolerantes a los fungicidas que cada hongo solo; en conclusión, los hongos modificaron y mejoraron el estrés provocado por los fungicidas, resultando en altos niveles de rendimiento y agregación del suelo.

Gavito y Varela (1995) probaron el efecto de dos especies solas y de una mezcla de inóculo de hongos nativos en maíz "criollo" y encontraron que *Glomus mosseae* produjo las más altas tasas de crecimiento a bajos niveles de fertilización con fósforo. La inoculación con *Acaulospora bireticulata* y la población nativa resultó con una tasa baja de crecimiento de brotes; aunque el crecimiento en plantas inoculadas fue mayor que en las testigo, se sugiere que el inóculo nativo puede tener especies no eficientes y que el inoculante nativo está constituido por 14 especies que son la suma de todas las posibles interacciones en una mezcla de diferentes habilidades de infectivas, fisiológica y competitivas.

Aunque el papel de los HMA en la estructura de las comunidades de las plantas es aun poco conocido, Stampe y Decheler (2003) señalan que la composición de las comunidades de HMA pueden influir la estructura de las comunidades de las plantas y podrían jugar un papel importante en la determinación de la invasión de las plantas



Es aún desconocida la función que a nivel de especies presenta cada hongo, así que algunos pueden presentar mejor efecto en el crecimiento y producción, en la absorción de nutrientes, metales pesados, etc. (Aguilera-Gómez, 1999; Dodd *et al.*, 2000; Hodge *et al.*, 2000; Ortega-Larrocca *et al.*, 2001) por lo que la utilización de más de una especie como componente de inóculo ha probado ser más benéfico (Gavito y Varela, 1995).

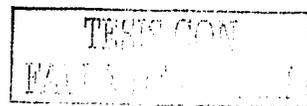
La mayoría de los estudios para probar la eficiencia de los inoculantes se han realizado en invernadero (Abdel-Fattah, 1997; Beyeler y Heysler, 1997; Fracchia *et al.*, 2000; Matthews y Clay, 2001; Munro *et al.*, 1999; Olsen *et al.*, 1999; Solaiman e Hirata, 1998, en donde los componentes del sitio en estudio son el suelo inerte, planta y HMA, generalmente bajo condiciones controladas.

Estos estudios son importantes para comprender las interacciones que ocurren entre ellos. Mas cuando estos pasan a campo donde el suelo posee una gran diversidad y riqueza de especies de microorganismos que a su vez interactúan de diversas formas con los HMA (van der Putten y Peters, 1997; Vázquez *et al.*, 2000) y por ello la eficiencia puede variar. Así en los últimos años se han realizado varios estudios de campo que generan información para maximizar su efectividad y adaptabilidad en diversos ecosistemas (Jakobsen, 1994; Olsson *et al.*, 1999; Thingstrup *et al.*, 2000; Jakobsen *et al.*, 2001).

4.2 La endomicorriza arbuscular en el biocontrol

El control biológico de patógenos de plantas es definido como el uso de uno o más procesos biológicos que disminuyen la densidad del patógeno o reduce la actividad para producir la enfermedad (Linderman y Marlow, 1994).

El crecimiento y sanidad de los ecosistemas depende del mantenimiento del balance óptimo de la estructura física, química y biológica del suelo, ya que los sistemas edáficos pueden ser alterados drásticamente por el cultivo; la compactación, la remoción del cultivo, la fertilización y la aplicación de plaguicidas, el riego y los cambios ambientales (Linderman, 1994).



El soporte de la sanidad y desarrollo de las plantas está dado en muchas formas por los microorganismos de la rizósfera y la clave entre esos microorganismos son los hongos micorrízicos. Los microorganismos de la rizósfera influyen en muchas reacciones químicas por la ruta de sus metabolitos y la micorriza juegan un papel crítico en las funciones de los microorganismos y de las plantas por el incremento en la nutrición y la modificación en las funciones metabólicas de las plantas, reduciendo la respuesta al estrés ambiental y variando la biología y la química de la rizósfera en formas que alteran el ciclo de nutrientes y suprimen la actividad de los patógenos; si algún tipo de microorganismos puede influir en las interacciones del suelo en relación al crecimiento y sanidad de las plantas, éstos son los hongos micorrízicos (Linderman, 1994).

Para utilizar este tipo de microorganismos como agentes de biocontrol, es importante conocer el funcionamiento del sistema y realizar experimentos que permitan analizar las ventajas de un organismo que ya está presente en el suelo y reconocerlo como simbiote útil para el control biológico, es decir, es menester saber cómo influyen diversos factores sobre las interacciones del sistema ya que el nivel nutricional del suelo, el pH, temperatura, el contenido de agua, el tipo de suelo y la microflora, tienen un impacto en el suelo que actuará de diferentes formas en el patógeno, en el hospedante y en la micorriza (Fig. 2).

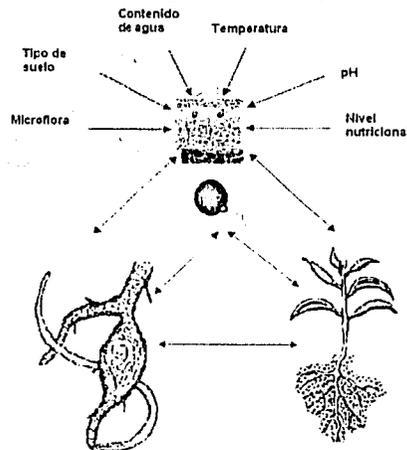


Figura 2. Factores del suelo que afectan la interacción micorriza-patógeno-hospedante (Tomado de Caron, 1989)

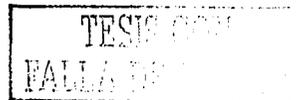
4.3 Mecanismos de protección

La investigación en el control biológico de patógenos vegetales ha recibido mucha atención en años recientes como un medio para incrementar la producción y evitar un gran número de problemas relacionados con el control químico. Por ejemplo para minimizar la contaminación ambiental, incrementar la resistencia al ataque de patógenos y en general para desarrollar prácticas compatibles con una agricultura sostenible.

El efecto positivo de la endomicorriza en el biocontrol ha sido detectado en numerosos trabajos. Sin embargo los mecanismos mediante los cuales la micorriza confiere protección a la planta no han sido totalmente comprendidos y todavía son controversiales y polémicos (Perrin y Salerno, 1994). Autores como Cervinkova (1989), Fernando y Linderman (1994), Trota *et al.*, (1996) y Norman *et al.*, (1996) consignan que de manera general la contribución de los hongos micorrizógenos en la protección de las enfermedades puede explicarse por:

- * Los cambios morfológicos de la planta y formación de barreras a nivel radical.
- * Los cambios en los componentes bioquímicos relacionados con la respuesta de resistencia de la planta.
- * Una mejor nutrición de la planta.
- * Los cambios y/o el deterioro de las poblaciones antagónicas de la micorrizósfera.
- * Una competencia con el patógeno por recursos y espacio.

Linderman y Marlow (1994) indican que cuando se forma la micorriza, la fisiología del hospedante cambia significativamente en respuesta a la presencia del simbiote en la raíz. Los hongos endomicorrizicos pueden inducir en la planta huésped la producción, o alterar los niveles de sus constituyentes químicos, incluyendo fitohormonas, isoflavonoides, etcétera, que influyen en el crecimiento y función de la planta. Un cambio significativo en plantas micorrizadas es la alteración en los exudados de las raíces hacia la rizósfera del suelo que provoca la selección de un nuevo equilibrio microbiano en la micorrizósfera. Algunos de estos materiales pueden, directa o indirectamente, inhibir los patógenos de las raíces; por ejemplo, la producción de ácido oxálico que directamente inhibe a *Fusarium*.



Diversos cambios observados en las raíces micorrizadas tales como un incremento en la lignificación de las células de la endodermis y la presencia de una barrera envolvente que impide el paso de los patógenos pueden estar asociados con la protección de las enfermedades causadas por patógenos del suelo (Dehne y Schönbeck, 1979; Wick y Moore, 1984).

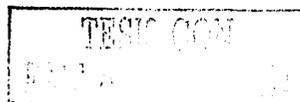
Aunque los fenoles han sido vinculados con la influencia química de las plantas contra los microbios, su papel en la interacción entre plantas micorrizadas y patógenos se ha relacionado recientemente en dos formas distintas (Sylvia y Sinclair, 1983; Perrin y Salerno, 1994):

Los efectos tóxicos de materiales depositados en la pared celular y las enzimas involucradas en la biosíntesis del compuesto fenólico fenil alanina amonio liasa y peroxidasa.

La inducción de compuestos antimicrobianos de defensa llamados fitoalexinas, incluyen fenoles; se ha visto que *Laccaria bicolor* induce a la acumulación de fenoles en las raíces por parte de la planta y éstos se incorporan a la pared celular en un proceso análogo a la lignificación.

Benhamou *et al.*, (1994) realizaron observaciones citológicas de raíces de zanahoria micorrizadas y encontraron depósitos de materiales posiblemente de origen fenólico, los cuales interactúan físicamente con la pared invadida por las hifas micorrízicas, presentando cambios morfológicos y citológicos y sugieren que estos materiales actúan como una barrera que impide la diseminación del patógeno.

Otros cambios ocurren en los tejidos de las raíces que involucran la producción de compuestos fenólicos que inhiben al patógeno. Con hongos endomicorrízicos, los cambios en los constituyentes del huésped se reflejan con un incremento en los niveles de las sustancias isoflavonoides como las fitoalexinas, aminoácidos específicos como la arginina, o fenoles; también se pueden inducir cambios a nivel morfológico en los tejidos



de la raíz que bloquean el ingreso del patógeno o modifican su desarrollo en los tejidos del huésped (Morandi, 1996).

Se ha visto que el metabolismo fenólico en plantas micorrizadas es inconsistente y que puede variar de acuerdo a las interacciones parasíticas. Se sugiere la ocurrencia de dos formas: el metabolismo fenólico es bajo al principio durante el establecimiento de la micorriza y más tarde hay un incremento fuerte y de este modo se previene la infección patogénica (Perrin, 1991).

Morandi (1996) señala que una de las mejores formas para conocer si los compuestos fenólicos son los responsables de mejorar la resistencia o tolerancia de las plantas a los patógenos, es comparar la acumulación de compuestos fenólicos en plantas con y sin micorrizas, aunque indica que desafortunadamente son pocos los trabajos al respecto. Cita a Dehne y Schönbeck quienes en 1979 estudiaron la influencia de *Glomus mosseae* a la resistencia hacia *Fusarium oxysporum*, fortalecida por la acumulación de fenoles, encontrando que la infección simultánea con la endomicorriza y el patógeno, incrementó los niveles de fenoles y la actividad de B-glucosidasa, disminuyendo la severidad de la enfermedad. También observaron un incremento en la lignificación de la endodermis y del estele en las plantas micorrizadas, demostrando que estos resultados son un buen argumento que apoya la hipótesis de que la resistencia a *F. oxysporum* es debida a las endomicorrizas, ya que ellas favorecen la acumulación de compuestos fenólicos en las raíces.

Grandmaison *et al.*, (1993), realizaron la caracterización fitoquímica de compuestos fenólicos y su localización en la ultraestructura de raíces de cebolla inoculadas con dos hongos endomicorrízicos (*Glomus intraradices* y *G. versiforme*), siendo los ácidos ferúlico y p-cumárico, así como la N-feruloyltiramina los principales compuestos que se encuentran en la pared celular de las raíces de plantas inoculadas, sugiriendo que existe un mecanismo para la condensación oxidativa de los fenoles. Algunos bioensayos realizados por los autores exponen que la N-ferulo tiramina induce la ramificación de las hifas y reduce el desarrollo total del hongo, insinuando que la progresiva formación de compuestos fenólicos

en raíces micorrizadas está directamente involucrada en el control del establecimiento y desarrollo del endófito, así como de la gradual reducción de plasticidad y elasticidad de la matriz simbiótica. Lo anterior indica que también dichos compuestos pueden ser responsables indirectamente de la resistencia de la endomicorriza a hongos patógenos, ya que incrementan la resistencia de la pared celular a la acción de enzimas digestivas.

La evidencia del papel de las quitinasas en los mecanismos de defensa en contra de los patógenos, está basada en el reforzamiento de las reacciones hipersensitivas, pues se ha considerado que estas enzimas influyen directamente en contra de la pared del hongo, ya que esta compuesta de quitina (Perrin y Salerno, 1994; Broglie y Broglie, 1993), y algunos trabajos han mostrado la actividad antifúngica de la quitinasas (Boller, 1993).

En la revisión realizada por Dumas-Gaudot *et al.*, (1996) aparece que la actividad antifúngica de las quitinasas fue mostrada primeramente al realizar bioensayos utilizando enzimas en donde se confirmó el efecto inhibitorio de las quitinasas sobre los hongos saprofitos del suelo; sin embargo, cuando las enzimas puras fueron probadas con hongos patógenos, los resultados fueron desalentadores; en el momento en que estas enzimas fueron combinadas mostraron un efecto inhibitorio en el crecimiento.

En relación al biocontrol de patógenos de la raíz en plantas micorrizadas con la contribución potencial de las enzimas hidrolíticas, aún se requiere de más estudios; sin embargo, se ha mostrado que las isoformas de las quitinasas inducidas por los hongos micorrízicos difieren en aquéllas inducidas por patógenos, así que éstas pueden ser consideradas para las paredes de las células y entonces estimular los mecanismos de defensa de las plantas (Dumas-Gaudot *et al.*, 1996).

Dumas-Gaudot *et al.*, (1996) subrayan que dichas enzimas pueden ser quitinasas y B-1,3-gluconasa, afirmando que dentro de las quitinasas se encuentran la poli 1,4-(N-acetil- -D-gluocosamida) glicanohidrolasa, EC 3.2.1.14) que cataliza la hidrólisis de la quitina, lo cual es importante ya que la pared celular de muchos hongos contiene quitina o B-D-glucano

TESIS CON
FALLA EN

como principales constituyentes. De tal manera que dichas enzimas se han propuesto como potenciales compuestos antifúngicos en el control de enfermedades vegetales.

Oliveira y Zambolim (1987) encontraron en la desorganización de *Fusarium* correlacionada en la colonización por hongos micorrízicos, un vínculo con la degradación de la quitina, lo cual indica que existe un aumento en la producción de quitinasa en la planta; sin embargo, descubrieron que las mismas moléculas de quitinasa también ocurren sobre las paredes de las células libres de hifas, por lo que las quitinas probablemente no son las principales determinantes en la secuencia de eventos que establecen la resistencia de las plantas.

Se han reportado algunas diferencias en la expresión de las PR proteínas durante la simbiosis o interacción patogénica entre plantas. La producción de patogénesis relacionada con PR-b1 proteínas, ha sido comparada en las raíces de tabaco infectadas por hongos patogénicos o por hongos contaminantes. El nivel de proteínas PR-b1 y la cantidad de RNA codificada para esas proteínas fue muy bajo en raíces micorrizadas en comparación con raíces infectadas con el patógeno y además micorrizadas. Por otra parte, las proteínas PR-b1 parecen estar localizadas estrictamente en la interfase simbiótica en contraste con la amplia localización en la pared de las plantas durante la interacción con el patógeno (Benhamou *et al.*, 1994).

Según Perrin y Salerno (1994), algunos genes involucrados en los mecanismos de defensa están más débilmente activados durante una interacción simbiótica que en una infección patogénica.

La MVA no sólo activa los mecanismos de resistencia sino que también induce la tolerancia, mencionan Dugassa *et al.*, (1996); así mismo indican que encontrando un incremento tanto en la concentración de fitohormonas, tales como las auxinas y giberelinas, como en la producción de etileno, además el contenido y composición de esteroides libres, fueron alterados considerablemente en las hojas de las plantas micorrizadas; por otra parte, hubo aumento en la actividad respiratoria y una reducción de DNA metilación. Los mismos

autores describen la influencia de la micorriza en todas las partes cercanas de la planta, no obstante manifestarse de diferente manera.

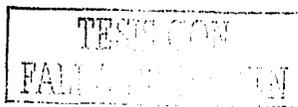
Menos estudiado, pero altamente probable, es el mecanismo de supresión del patógeno por un incremento selectivo de las poblaciones de los antagonicos en la micorrizósfera como un resultado de alteración en los patrones de exudación (Linderman, 1992).

En el caso de hongos ectomicorrizicos la producción de antibióticos por hongos micorrizicos han sido reportados para más de 100 especies de los mismos, sólo algunos investigadores han incursionado en la función de esos hongos en la síntesis de antibióticos *in situ* y protección de las plantas a las enfermedades. Un ejemplo de antibiosis es el ácido oxálico producido por *Paxillus involutus*, el cual es estimulado por los exudados de *Pinus resinosa* y protege a la raíz contra la pudrición causada por *Fusarium* (Duchesne *et al.*, 1989).

Una explicación más para entender el efecto protector de la micorriza, es su facultad de mejorar la nutrición mineral de las plantas hospedantes, y más concretamente, la entrada de fósforo; sin embargo, existen reportes que señalan que la nutrición adecuada de fósforo está asociada con un incremento en la severidad de la enfermedad (Cordier *et al.*, 1996). Las enfermedades virales son generalmente incrementadas por los HMA (Hongos micorrízico arbuscular) (Hamel y St. Arnaud, 1998). Ha sido mostrado que altos niveles de fósforo en los tejidos de las plantas origina una mejor capacidad de absorción. Se encontró que las plantas micorrizadas pueden estimular la réplica del virus e incrementar la severidad de este tipo de enfermedades (Daft y Okusanya, 1973).

4.4 Efecto de la endomicorriza en enfermedades causadas por patógenos del suelo

Caron *et al.*, (1986) estudiaron el efecto de *Glomus intraradices* en la colonización de raíces de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* f.sp., *radicis-lycopersici*, aplicando además 6 dosis de fósforo (41, 82, 164, 328, 656 y 1 312 ? g·g⁻¹) utilizando como fuente NaH₂PO₄·2H₂O. Encontraron que la presencia de *G. intraradices* promovió un decremento



significativo en el porcentaje de raíces necrosadas, así como en el número de propágulos de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* en todas las concentraciones aplicadas de fósforo.

La presencia de *G. intraradices*, en cualquiera de las concentraciones de fósforo, promovió un menor desarrollo en la necrosis de las raíces del tomate y una menor proliferación de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, demostrándose de esta manera que las altas concentraciones de fósforo en la planta no son las responsables del bajo desarrollo de la enfermedad y las bajas poblaciones del patógeno, confirmando que la necrosis de las raíces y las poblaciones de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* se ven reducidas cuando exista algún nivel de colonización de la endomicorriza. Por otra parte señalan que para evaluar la interacción entre hongos endomicorrizicos, el patógeno y la planta hospedera, los parámetros elegidos deben ser medidos frecuentemente, para asegurar observaciones completamente representativas.

Iqbal *et al.*, (1990) trabajaron en diferentes variedades de papa enraizadas a partir de cultivo de tejidos, y estudiaron la influencia de hongos endomicorrizicos contra la presencia de *Rhizoctonia solani*, encontrando en la variedad "Cardinal" un incremento en la colonización micorrízica, mejorando el crecimiento y suprimiendo la infección del patógeno.

Por su parte Liu (1995) estudió los efectos de los hongos endomicorrizicos *Glomus mosseae*, *G. versiforme* y *Sclerocystis sinuosa* contra *Verticillium dahliae* en las especies *Gossypium hisutum* y *Gossypium barbadense*, observando que ambas especies de algodón fueron colonizadas por las especies de endomicorrizas, formando vesículas y arbusculos en las células corticales de la raíz después de la inoculación. Cuando existió infección por *V. dahliae* la colonización ocurrió más en la punta de la raíz y 2 cm arriba.

Dicho autor también encontró que cuando la endomicorriza y el patógeno se aplican simultáneamente ambos reducen su porcentaje de infección, observando que la inoculación del endófito disminuye el número de microesclerocios germinados en la micorrizósfera y que el número de esporas de las endomicorrizas no se vio afectado en presencia del

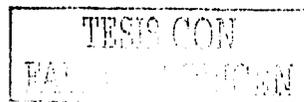
patógeno. Sin embargo el porcentaje de arbusculos en la raíces estuvo negativamente correlacionado con los grados de la enfermedad, lo que no ocurrió con el número de vesículas.

Esto sugiere que existe cierta competencia y reacciones de antagonismo entre los hongos endomicorrizicos y *V. dehliae*. La endomicorriza redujo la incidencia e índice de la enfermedad en algodón durante todo su crecimiento, reflejándose en el número de flores (cápsulas) y en consecuencia una mejora en la producción. Aunque todas las especies de endomicorriza fueron efectivas, se observó que *G. versiforme* fue la más efectiva seguida de *Sclerocystis sinuosa*.

Fitter y Garbaye (1994) señalaron la existencia de relaciones entre la endomicorriza con otros organismos del suelo, y que éstas pueden ser inhibitorias o estimulatorias, competitivas o mutualísticas y pueden observarse en todo el ciclo de vida del endófito, influyendo, también, en la interacción de las plantas con otros organismos del suelo, tanto en el caso de patógenos, como son los nemátodos y hongos, como con organismos mutualísticos, siendo particularmente notable en el caso de bacterias fijadoras de nitrógeno.

Asimismo Pearson (1991) trabajó con plantas de yute (*Corchorus olitorius*) y estudió las interacciones entre *Glomus macrocarpum* y *Fusarium solani* y entre *G. macrocarpum* y *Azospirillum brasilense*, observando que la ocurrencia del hongo patógeno en la raíz, fue menor cuando se inoculó con la endomicorriza, mostrando mejor crecimiento en términos de altura y peso seco, encontrando, además, que la interacción endomicorriza-*A. brasilense* presentó el mejor crecimiento.

Sreenivasa (1994) evaluó la actividad del control biológico de *Glomus macrocarpum* y de *Trichoderma harzianum* contra *Sclerotium rolfsii* (*Corticium rolfsii*), un patógeno del chile (*Capsicum annum*), ensayando varios niveles de fósforo, y encontró que la combinación de *G. macrocarpum* y *T. harzianum* fue más efectiva para suprimir a *S. rolfsii*. En consecuencia indica que la actividad biológica de éstos se incrementó con el nivel de



fósforo, pero no existieron diferencias significativas entre el 75 y 100% de fósforo recomendado.

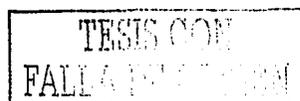
De este modo concluye que para evaluar la interacción entre hongos endomicorrizicos, el patógeno y la planta hospedera, los parámetros elegidos deben ser medidos frecuentemente, para asegurar observaciones representativas.

Torres-Barragán *et al.*, (1996) estudiaron en campo el efecto de la inoculación de cebolla con *Glomus* sp Zac-19 sobre el desarrollo de la pudrición blanca causada por *Sclerotium cepivorum* y los rendimientos. Encontraron que la micorrización retarda la presencia de la enfermedad por dos semanas y provee de una significativa protección por 11 semanas después del trasplante con cebolla en comparación con plantas no micorrizadas. Por otra parte, las plantas micorrizadas mostraron un incremento de 22% en rendimiento, a pesar de la presencia del patógeno.

4.5 Interacción entre nemátodos fitopatógenos y hongos micorrizicos

Los nemátodos y los hongos micorrizicos se encuentran frecuentemente en la misma área, la dinámica estacional de ambos ocurren en el mismo periodo; esta sobreposición en tiempo y espacio incrementa la posibilidad de interacción (Ingham, 1988). Debido a daños que los nemátodos ocasionan a los cultivos, éstos han sido estudiados desde hace muchos años; sin embargo, la asociación micorrizica ha atraído la atención por el beneficio que aportan al desarrollo de las plantas durante las últimas 3 décadas (Roncadori, 1994).

La reacción de crecimiento de las plantas a las interacciones entre nemátodos y HMA, está en función de cuánto daño hace el nemátodo o cuánto beneficio causan los HMA (Hussey y Roncadori, 1982). Varios estudios han revelado que la presencia de los HMA pueden reducir el daño causado por nemátodos (Tylka *et al.*, 1991; Camprubi *et al.*, 1993; Fernández *et al.*, 1994; Pinochet *et al.*, 1995; Pinochet *et al.*, 1996; Vaast *et al.*, 1997). Sin embargo, otros sugieren que el potencial micorrizico podría ser limitado en suelos crónicamente infectados por nemátodos y que la reacción de éstos mediante la aplicación



de nematicidas puede incrementar el número de esporas, arbusculos y vesículas (Bird *et al.*, 1974; Rich y Bird, 1974; Germani *et al.*, 1980; Rich y Schenk, 1981).

El resultado de estas interacciones depende de una variedad de factores, considerando los HMA como una alternativa en la reducción del uso de nematicidas. Por ello es importante contar con información que nos ayude a entender los elementos que condicionan el éxito de los HMA en el biocontrol de nemátodos patógenos.

4.5.1 Interacciones entre nemátodos y micorrizas

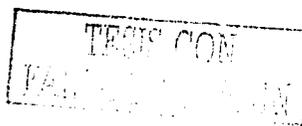
De acuerdo con Hussey y Roncadori (1980) e Ingham (1988), la respuesta de la planta a la infección puede ser evaluada basándose en: 1) la influencia de la interacción en el crecimiento o rendimiento de las plantas; 2) la estimulación en el desarrollo micorrízico; y 3) la supresión del nemátodo.

Basándose en las consideraciones hechas por Hussey y Roncadori (1980), los posibles efectos de la interacción entre plantas-nemátodos-micorrizas se denotan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Posibles efectos de la interacción entre las plantas, el nemátodo y la endomicorriza arbuscular (Tomado parcialmente de Hussey y Roncadori, 1980).

Tipo de interacción	Componente	Efecto en el componente
Neutral	Hongo	La infección de la raíz o la esporulación no se altera
	Hospedante	No hay efecto de la micorriza en el crecimiento de la planta, ni supresión del nemátodo.
Positivo	Nemátodo	Atracción de las raíces, penetración o subsiguiente desarrollo y la reproducción no es alterada.
	Hongo	Infección de la raíz o esporulación incrementada.
	Hospedante	Supresión del nemátodo o crecimiento o producción afectado
Negativo	Nemátodo	Atracción a las raíces, penetración o subsiguiente desarrollo y reproducción suprimida.
	Hongo	Infección de la raíz o esporulación suprimida.
	Hospedante	Respuesta de crecimiento o producción a la micorriza suprimida.
	Nemátodo	Atracción a raíces, penetración o subsiguiente desarrollo e incremento en la reproducción.

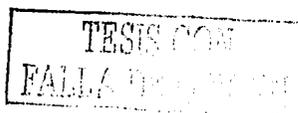
Los HMA no colonizan regiones de raíces ya infectadas por nemátodos y los nemátodos sólo raramente afectan regiones previamente colonizadas por micorrizas. En las plantas ocupadas tanto por micorrizas y nemátodos endoparásitos, las poblaciones de nemátodos



pueden ser incrementadas como un resultado de un mayor sistema radical en plantas micorrizadas, pero generalmente la penetración y desarrollo de los nemátodos puede ser inhibido por los HMA. La función de HMA, sin embargo no es generalmente afectadas excepto en las áreas de estrecha proximidad a la infección de nemátodos. La resistencia de las plantas a las enfermedades es posible que se incremente por HMA, pero ocasionalmente los hongos no tienen efecto. En algunas asociaciones los nemátodos reducen la cantidad de estimulación sobre el crecimiento de las plantas, disminuyendo el efecto de los hongos endomicorrizcos, mientras que en otras, los HMA reducen el parasitismo de los nemátodos. El tipo de respuesta depende de la planta en cultivo, del nemátodo y de las especies de hongos, así como de los nutrientes del suelo, del tiempo de inoculación y de la cosecha (St. Arnaud *et al.*, 1994).

Sin embargo ha sido demostrado que en la misma combinación hongo-nemátodo-hospedante, se pueden encontrar diferentes niveles de poblaciones de nemátodos dependiendo de la superficie de raíz colonizada por HMA; si el porcentaje de colonización era por abajo del 38%, entonces no se presentaba una disminución de las poblaciones de nemátodos, donde hubo un 54% fue ligeramente disminuida y cuando los porcentajes de colonización se encontraban entre 85 y 96%, tanto huevecillos como adultos fueron suprimidos (Saleh y Sikora, 1984).

Inglam (1988) señala que las interacciones entre nemátodos endoparásitos y HMA son expresadas generalmente en dos tipos. El **TIPO 1** es cuando el nemátodo reduce la estimulación causada por el simbionte micorrizico; así que el crecimiento de una planta tratada con nemátodos y HMA es menor que cuando sólo es inoculada con HMA, pero mayor que el control (Fig. 3a). En el **TIPO 2** los HMA compensan la reducción de crecimiento causada por los nemátodos; el rendimiento de las plantas tratadas con nemátodos y HMA es mayor que los tratamientos con nemátodos, pero menor que el control (Fig. 3b).



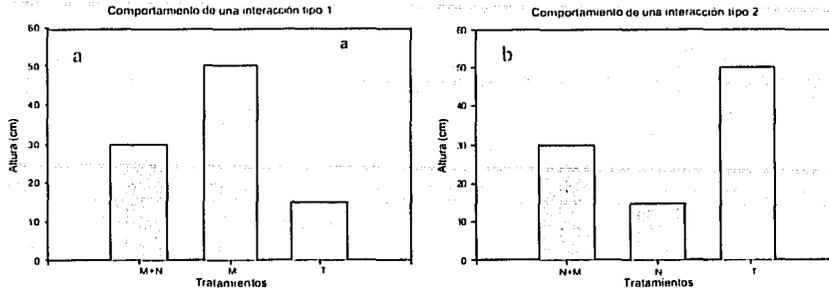


Figura 3. Representación del efecto de las interacciones Tipo I y II entre nemátodos (N) endoparásitos y HMA (M) en el crecimiento de plantas. Testigo (T) a) Comportamiento de una interacción Tipo I. b) Comportamiento de una interacción Tipo II. (Según Ingham, 1988).

Mientras más se acerque el rendimiento al tratamiento control, más fuerte es el efecto que HMA tiene en la patogenicidad de los nemátodos. En una revisión de 45 experimentos de interacciones, el 45% fueron del Tipo I y 34% del Tipo II; en un 17% la producción fue mayor en los tratamientos con nemátodos y micorrizas y en un 4% la adición de HMA a los tratamientos con nemátodos redujo la biomasa por abajo del tratamiento con nemátodos solos (Ingham, 1988).

Estudios de campo revelaron que había una interrelación inversa entre la incidencia de HMA y las plantas parasitadas con nemátodos (a mayor colonización menor daño) y que la aplicación de nematicidas incrementa la colonización y esporulación de los HMA. Por otra parte, se observó que los HMA preveleaban más en campos con una baja población de nemátodos que en aquellos altamente infestados (Bird *et al.*, 1974, Schenk y Kinloch, 1974).

Este tipo de asociaciones despertó interés en realizar estudios en condiciones controladas y fueron también indicadores iniciales de la complejidad de la relación tripartita (Roncadori, 1994). Por esta razón Smith (1987) sugiere la necesidad de considerar la densidad inicial del nemátodo y del endófito, la separación de inoculación y modelos estadísticos en la planeación de las investigaciones, de tal suerte que la información reunida en estudios bajo

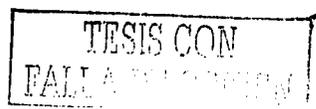
condiciones de control sea eventualmente transferida a campo o por lo menos a sistemas de manejo especializado como los viveros.

Durante mediados de los setenta se realizaron aproximadamente 50 estudios acerca de la interacción nemátodos y micorrizas; sin embargo, los primeros trabajos fueron conducidos en suelos pobres en P para favorecer el desarrollo de los HMA, pero bajo tales condiciones no fue posible determinar si la tolerancia o resistencia era debida solamente al mejor aprovechamiento del hospedante en la entrada de fósforo o también a otros factores. Por lo que en experimentos subsecuentes incluyeron el uso de P con rangos subóptimos y óptimos para el crecimiento de las plantas (Roncadori, 1994). La mayor cantidad de estudios se han realizado en el género *Meloidogyne*, debido a dos factores principales: 1) la abundancia e importancia económica y, 2) la fácil manipulación. Por otra parte, los géneros de HMA más estudiados han sido *Glomus* y *Gigaspora* (Cuadro 2).

4.5.2 Efecto protector de los hongos micorrízicos arbusculares

Lo mecanismos que gobiernan esos efectos son desconocidos, pero cambios en los exudados podrían alterar la atracción de los nemátodos; en alteraciones estructurales tales como el grosor de la pared, las vesículas podrían determinar la penetración y en cambios en la fisiología podrían retardar el desarrollo de los nemátodos y su reproducción (Franel y Dropkin, 1985). Por otra parte, existe la hipótesis para el caso de nemátodos migratorios de que la competencia por espacio, fuente de alimento y acumulación de compuestos fenólicos, hormonas y fitoalexinas dentro de los tejidos, pueden ser factores que afectan sus hábitos alimenticios (Pinochet *et al.*, 1996), así como los procesos de suberización y lignificación (Hayman, 1982; Smith, 1987) que impiden la penetración y los cambios en la microflora del suelo; cambios en exudados de las raíces inducidos por los simbiosntes parecen tener cierta influencia en esos patógenos del suelo.

Gerdemann (1968), Smith (1987) y Roncadori (1994) señalan que el efecto de cada uno de los microorganismos está mediado aparentemente por los cambios que produce el hospedante. Algunos de los posibles mecanismos son descritos a continuación:

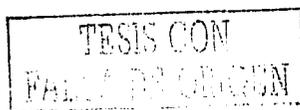


Cuadro 2. Relación de trabajos realizados sobre el estudio de la interacción nemátodos-IIMA

Hospedante	IIMA	Nemátodo	Interacción			Fuente
			II	P	N	
Algodón	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	0	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
		<i>Pratylenchus brachyurus</i>	0	+	-	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	-	Roncadori, 1982
Soya	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+		
	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	+	+	0	Schenck <i>et al.</i> , 1975
	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Heterodera glycines</i>	0	+	+	
		<i>Meloidogyne incognita</i>	-	+	-	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
	<i>Endogone calospora</i>	<i>Heterodera glycines</i>	0	+	+	
	<i>Glomus macrocarpus</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+		
Tomate	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+		
	<i>Glomus heterogama</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+		
	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	?	?	-0	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
Tabaco	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	-	-	0	
	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	?	?	-	Sikora y Schönbeck, 1975
	<i>Gigaspora gigantea</i>	<i>Heterodera solanacearum</i>	-	-	-	Fox y Spasoff, 1972
Zanahoria	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Meloidogyne halpa</i>	?	?	-	Sikora y Schönbeck, 1975
Durazno	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	-0	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	0	
Cacahuete	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i>	0	+	+	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i>	+	+	+	
Cítricos	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	0	+	0,+	Tomado de Hussey y Roncadori, 1982
	<i>Glomus mosseae</i>	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	0	+	0	
	<i>Glomus etunicatum</i>	<i>Radopholus similis</i>	-	+	0	
Vid	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Meloidogyne arenaria</i>	-	+	0	Atilano <i>et al.</i> , 1976
Durazno	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	-	Strobel <i>et al.</i> , 1982
Algodón	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	?	+	-	Saleh y Sikora, 1984
Soya	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Heterodera glycines</i>	?	+	-	Franel y Dropkin, 1985
Tamarillo	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	0	+	-	Cooper y Grandison, 1986
	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Meloidogyne hapla</i>	-	+	-	Cooper y Grandison, 1986
Tomate	<i>Glomus fasciculatum</i>	<i>Meloidogyne hapla</i>	-	+	-	Cooper y Grandison, 1986
	<i>Glomus mosseae</i>					
	<i>Glomus temure</i>					
Algodón	<i>Gigaspora margarita</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>				Smith <i>et al.</i> , 1986
	<i>Glomus intraradices</i>					
	<i>Gigaspora margarita</i>					

1) Mejoramiento de la nutrición y el crecimiento.

La mayor tolerancia de las plantas al ataque de los nemátodos, frecuentemente ha sido atribuido por incremento en la nutrición de fósforo (Smith, 1987). El aumento en la absorción de los nutrientes puede incrementar el crecimiento de las raíces. El crecimiento



extremadamente rápido de las raíces podría diluir la densidad de población de los nemátodos y promover el escape de algunas raíces y, por otra parte, la mayoría de las veces se ha visto que los nemátodos no atacan la red de hifas extramatricial. Es posible que una red más extensiva de hifas en el suelo reduzca la necesidad de ramificar extensivamente las raíces, por lo que son pocos los sitios disponibles que existirían para la infección de nemátodos (Roncadori, 1994).

2) Competencia por espacio

La hipótesis de competencia por espacio puede jugar un papel en las interacciones con el endófito, pero esto aún no está bien documentado. Se podría especular que este mecanismo podría ser el más importante para los nemátodos migratorios, los cuales causan daños extensos y necrosis en la corteza y epidermis, dejando el tejido inadecuado para la colonización simbiótica (Hussey y Roncadori, 1978). Sin embargo, al observar menos nemátodos en las raíces micorrizadas que en las no micorrizadas no podría apoyar esta hipótesis. Suponiendo que cada individuo utiliza la misma cantidad de espacio.

Por otra parte, se ha visto que la actividad del nemátodo no es afectada si el 40 ó 60% de la raíz es micorrizada y que los puntos de alimentación se localizan en la zona de crecimiento de la raíz, la cual raramente es colonizada por la micorriza.

3) Cambios en los exudados de la raíz y fisiología de las raíces.

La influencia de la nutrición de P en la permeabilidad de la membrana y los exudados, afectan la penetración de los HMA (Ratnayake *et al.* 1978). Incrementos en la concentración de azúcar y aminoácidos en la rizósfera y rizoplano en plantas con deficiencia de P, favorecen la actuación del endófito; tales cambios en los exudados de raíces micorrizadas podrían afectar directamente la actuación de los nemátodos o indirectamente alterar las poblaciones de los microorganismos de la rizósfera o del rizoplano, promoviendo la presencia de antagonistas. La micorriza inducen cambios bioquímicos entre el tejido de la raíz y ha sido reportado que podría inhibir la infección y el

desarrollo de los nemátodos. Incrementos en la producción de fitoalexinas han sido reportados en soya asociados a la micorriza.

4) Competencia por los fotosintatos del hospedante. Esta hipótesis tiene su fundamento en que hay competencia por un recurso común del hospedante. Se ha estimado que el costo de carbón por el hongo varía alrededor del 4 al 12% (Smith, 1987). De manera similar los nemátodos también requieren de carbohidratos. Si el hongo tuviera un acceso primario a los carbohidratos, es lógico que el crecimiento y reproducción de los nemátodos se viera afectado.

Algunos estudios han revelado que los HMA han sido más abundantes en campos libres de nemátodos y, por otra parte, se ha visto que el número de esporas, arbusculos y vesículas se ha incrementado cuando la densidad de nemátodos patógenos es disminuida con el uso de nematicidas (Schenck y Kinloch, 1974).

Atilano *et al.*, (1981) encontraron que *Meloidogyne areanaria* puede inhibir el desarrollo de *G. fasciculatum*; suponen que una de las causas es que el nemátodo invade el tejido de la raíz y se desarrollan las células que forman las agallas, por lo que el transporte de agua y metabolitos es alterado interfiriendo con el movimiento de los metabolitos requeridos por los HMA y, por otra parte, una vez que las raíces son afectadas llegan nuevos patógenos que destruyen el tejido cortical donde coloniza el hongo. La respuesta de la planta puede ser completamente diferente cuando los HMA y los nemátodos son inoculados simultáneamente, u opuesta cuando primero se inoculan los HMA y después los nemátodos, ya que muchos de estos últimos pueden invadir las raíces en pocas horas o pocos días mientras los HMA pueden requerir días hasta dos semanas para una colonización exitosa (Ingham *et al.*, 1986).

El efecto de los HMA sobre los nemátodos contra la penetración y desarrollo de éstos, puede ser insignificante en algunas asociaciones, pero no en otras (Francel, 1993). Roncadori y Hussey (1986) encontraron que en un cultivo susceptible de algodón, la reproducción de *Meloidogyne incognita* incrementó cuando las plantas habían sido



inoculadas con *Gigaspora margarita*, pues la población de huevos fue mayor que en plantas inoculadas sólo con nemátodo.

Sin embargo, en el cultivo resistente no hubo diferencias estadísticas entre plantas micorrizadas y no; ellos suponen que el efecto de incremento en plantas micorrizadas se debió a que éstas desarrollaban un sistema radical mayor, lo que pudo soportar una cantidad más grande de nemátodos; en este caso, la fertilidad del suelo no tuvo ningún efecto.

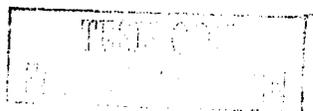
Otros estudios han demostrado que existe una baja población de *Pratylenchus brachyurus* cuando el tejido cortical se encuentra extremadamente colonizado por *Gi. margarita*, lo que sugiere que el tejido colonizado no es un buen alimento para el nemátodo; por otra parte, cabe señalar que los arbuscúlos de *Gi. margarita* pueden ocupar más del volumen interior de las células corticales; por lo tanto, sugieren que puede haber una competencia por espacio entre los organismos (Hussey y Roncadori 1978).

Kellan y Schenck (1980) describen que en las raíces, cuando la micorrización es mayor, el número de agallas es menor, lo cual podría ser resultado de la reducida habilidad de los nemátodos para penetrar las raíces micorrizadas o que el hongo pueda influir en el desarrollo de las células gigantes, lo que podría intervenir con el desarrollo de los nemátodos.

Los HMA, sin embargo, podrían tener un efecto antagónico en los nemátodos parásitos de las plantas y tales efectos podrían tener bases físicas o fisiológicas, ya que pueden: 1) incrementar el vigor y crecimiento de las plantas para disminuir las pérdidas en rendimiento que normalmente causan los nemátodos; 2) fisiológicamente alteran o reducen los exudados de la raíz responsables de la reacción quimiostática de atracción a los nemátodos; y 3) de una manera directa retardando el desarrollo de los nemátodos o la reproducción dentro de los tejidos (Hussey y Roncadori, 1980).

4.5.3 Efecto de los nemátodos sobre los hongos micorrízicos arbusculares

Algunos estudios revelan que los HMA han sido más abundantes en campos libres de nemátodos (Schenck y Kinlock, 1974) y, por otra parte, se ha visto que el número de



esporas y arbusculos y vesículas se han incrementado cuando la densidad de nemátodos patógenos es disminuida con el uso de nematicidas; datos similares fueron reportados por Ingham *et al.*, (1986) encontrando que cuando los nemátodos son reducidos, se presenta un doble incremento en la actividad arbuscular y la colonización; sin embargo, ellos sugieren que bajo ciertas condiciones los nemátodos impactan significativamente la colonización de las raíces bajo condiciones de campo, pero los mecanismos que influyen en esta interacción no son aún entendidos.

Carling *et al.*, (1989) encontraron que el efecto de *Meloidogyne incognita* afecta de manera inconsistente la esporulación y colonización de los HMA, ya que aunque la presencia del nemátodo tuvo un efecto mínimo en la colonización, tendió a suprimir la esporulación de *G. etunicatum* y estimuló la de *Gi. margarita*. No se sabe la causa de esta respuesta, pero efectos similares han sido reportados en otros trabajos (Hussey y Roncadori, 1982, Smith 1987).

4.5.4 Importancia del fósforo en la interacción nemátodo-hongos micorrízicos arbusculares

Las investigaciones sobre el potencial de los HMA para limitar la actividad del patógeno y el rendimiento, han sido realizadas en invernadero, en suelos esterilizados y deficientes en P para maximizar el crecimiento de los HMA. Diversos autores señalan la necesidad de realizar investigaciones en campo e invernadero considerando el papel del P en la interrelación huésped-simbionte-patógeno (Smith *et al.*, 1986; Carling *et al.*, 1986, Tylka *et al.*, 1991).

Wallace (1983) señala que la mayoría de los estudios realizados hasta esta época eran meramente descriptivos y la interacción entre HMA y patógenos no podría ser correlacionada debido a que otros componentes de la interacción no están presentes (Smith, 1988).

Trabajos realizados a partir de los ochenta consideran el P como el factor importante en el estado nutricional de las plantas, ya que las plantas micorrizadas están en desventaja con las no micorrizadas.

Smith (1988) menciona que, con pocas excepciones, los efectos de la simbiosis micorrízica han sido relacionados con el mejoramiento de la adición de P en base al uso de los HMA. Sin embargo, estudios recientes con nemátodos sedentarios y HMA, han dado la evidencia de que los HMA pueden afectar la relación patógeno-hospedante de manera diferente que el P.

Tylka *et al.*, (1991) señalan que el efecto de los HMA en el crecimiento de las plantas se debe al incremento de P, ya que las plantas con altos niveles de P presentaron el mismo desarrollo que las inoculadas; realizaron experimentos en campo e invernaderos con soya y encontraron que se presenta una leve reducción en la población de nemátodos.

La tolerancia de los HMA a los nemátodos se debe a la presencia de P, ya que las plantas micorrizadas presentan un mayor crecimiento radical, lo que permite una dilución de nemátodos y esto promueve el escape de algunas raíces al patógeno (Smith, 1987 y Hussey y Roncadori, 1978).

4.5.5. Efectos en plantas perennes

Los nemátodos parásitos de las plantas han sido reconocidos como una de las principales enfermedades de las cosechas. En manzana, pera, almendro, durazno, cereza, ciruela y café, se ha visto que los nemátodos destruyen el parénquima cortical de las raíces, causando cavidades y lesiones que predisponen al tejido a infecciones secundarias por hongos y bacterias (Pinochet *et al.*, 1996). Estos daños pueden afectar seriamente estados tempranos de desarrollo en invernadero, cuando las plantas son transplantadas a campo; este es expresado en retraso de la producción, bajos rendimientos, frutos pequeños, deficiencias nutricionales y reducción en la longevidad de los huertos (Pinochet *et al.*, 1996).

En algunos porta injertos, la colonización micorrízica no tiene efectos directos en los nemátodos, permitiendo una similar reproducción en plantas de ciruela atacadas por *Prathylenchus vulnus* con y sin micorriza (Camprubi *et al.*, 1993) y en cereza Santa Lucía 64 y quince BA-29 inoculadas con *Glomus intraradices* (Calvet *et al.*, 1995, Pinochet *et al.*, 1995); sin embargo, en esos tres casos los efectos benéficos de la infección micorrízica en

crecimiento vegetativo podría ser indirecto y aparentemente relacionado con un incremento en la capacidad nutritiva del huésped. Los niveles de P en cereza y quince BA-29 micorrizadas con y sin nemátodo fueron altos y equivalentes a aquellas plantas con alta fertilización fosforada. De manera similar en manzana EMLA-26 inoculada con *Glomus mosseae* con y sin *P. vulnus* creció significativamente mejor que en plantas inoculadas con nemátodos con o bajo nivel de P; las plantas micorrizadas también mostraron alto nivel de nitrógeno en las hojas (Pinochet *et al.*, 1993). El crecimiento de plantitas de limón rugoso inoculadas con HMA fue mayor que en plantas no micorrizadas o plantas inoculadas con el nemátodo *Radophulus similis* (*R. citrophilus*). Cuando las plantas fueron inoculadas con el nemátodo y el simbionte, la supresión del crecimiento de plantas causado por el nemátodo fue aliviado en plantas inoculadas con *Glomus etunicatum*, comparadas con las no inoculadas (O'Bannon y Nemeč, 1979). También Smith y Kaplan (1988) reportaron en cítricos un incremento en el crecimiento de limón rugoso asociado con la colonización de la raíz por *G. intraradices*, como resultado del mejoramiento en la nutrición de fósforo.

El plátano es considerado como un cultivo herbáceo perenne que responde bien a la micorrización (Jaizme y Azcón, 1995). Plantas de plátano cultivadas en maceta inoculadas con *G. fasciculatum* solo y con *R. similis*, desarrollaron grandes sistemas radicales y mostraron altos contenidos de N, P y K en las hojas (Umesh *et al.*, 1989) que las no inoculadas. Sin embargo, no siempre una inoculación micorrízica temprana tiene un efecto benéfico en el crecimiento de las plantas en presencia de nemátodos endoparásitos (Pinochet *et al.*, 1996). En durazno *Glomus mosseae* favoreció el crecimiento, pero no le dio un efecto protector contra *P. vulnus* (Pinochet *et al.*, 1995).

Desafortunadamente mucha de la información disponible que podría subrayar los beneficios de la absorción de microelementos (Ca, Mg, Mn, Fe, Zn y Cu) debido a la micorriza en presencia de *Radophulos* o *Pratylenchus*, se ha obtenido en pruebas de invernadero o microparcels con resultados variables. Aunque las microparcels permiten un crecimiento de raíces considerablemente grande y estimulan una mejor respuesta a condiciones de campo, son todavía sistemas con ambiente artificial que requiere adición de nutrimentos (Sikora, 1978). Información de campo para justificar los beneficios de la

entrada de microelementos en árboles frutales como en membrillo (Calvet *et al.*, 1995) y cereza (Pinochet *et al.*, 1995) no están disponibles. *G. mosseae* en plantas de plátano atacados por *Meloydogyne incognita* inhibió el agallamiento de las raíces y el incremento de los nemátodos en h raíces. El porcentaje de colonización micorrízica fue alto (80%) en plantas con baja fertilización, aunque cuando se usa la dosis óptima de P para plátano se mostró que la colonización disminuye (Jaizme-Vega *et al.*, 1997).

Calvet *et al.*, (1995) estudiaron la interacción entre *Glomus intraradices* y *Pratylenchius vulnus* en el portainjertos de membrillo BA-29, durante una estación de crecimiento, encontrando que aquellas plantas inoculadas con la endomicorriza incrementaron significativamente su crecimiento en suelos con bajos niveles de fósforo, resultando más efectivas, inclusive que aquellas que fueron fertilizadas con fósforo, mejorando el desarrollo total de la planta. Cuando la planta estuvo en presencia del nemátodo, las plantas micorrizadas fueron las que presentaron el mejor comportamiento en todas las variables evaluadas. Sin embargo el nemátodo causó un decremento significativo en el porcentaje de colonización radical y en la formación de vesículas, así como bajos niveles de Al, Fe, Mn y Zn en plantas no micorrizadas y con nemátodos en el suelo pobre en fósforo.

Plantas inoculadas con *G. intraradices* presentaron altos niveles de N, Ca, Mg, Mn, Cu y Zn. Plantas micorrizas e infectadas con *P. vulnus* mantuvieron estos niveles, concluyendo que la inoculación confiere protección contra *P. vulnus* al mejorar la nutrición de la planta.

El uso de nematicidas (fumigantes del suelo y compuestos no volátiles) todavía son comunes en viveros. Debido a los riegos que el uso de éstos tiene por su elevada toxicidad (bromuro de metilo), serán retirados del mercado en un futuro. Los productores tendrán que manejar nemátodos con productos químicos menos efectivos (pre y post transplante) en frutales que en general carecen de resistencia a nemátodos migratorios. La implementación de tempranas inoculaciones a nivel de invernadero, puede representar una alternativa en la producción de plantas que van a ser transplantadas a campos infestados.

Pinochet *et al.*, (1996) mencionan que antes de implementar un posible uso comercial de los HMA a nivel de invernadero, deben realizarse importantes investigaciones para lograr que la micorriza, pueda ser utilizadas como una práctica de manejo para contrarrestar los efectos de los nemátodos patógenos tales como:

- Selección de los HMA para incrementar la capacidad de las plantas al estrés por trasplante, salinidad, sequía y tolerancia a los nemátodos.
- Estudios de la eficiencia de diferentes cepas y especies de HMA para asegurar una respuesta óptima al daño por nemátodos.
- Mayor conocimiento del tiempo que requieren las plantas para ser expuestas al simbionte antes de llevar al campo y exponerlas al nemátodo para asegurar una buena respuesta.
- Mejorar formulaciones para inoculaciones efectivas a gran escala, determinar los factores comerciales para su implementación, el uso de inóculo de suelo, substratos de crecimiento, arcilla expandible y geles, son ejemplos de una tecnología de inoculación desarrollada.
- Garantizar la colonización en invernadero; pero es importante que el productor tenga un punto de vista de cuándo hay una respuesta positiva de la planta antes de llevarla a campo.
- El uso de nematicidas (fumigantes de suelo y compuestos no volátiles) todavía son comunes en suelo de invernadero; se han disminuido debido a los riegos de contaminación ambiental.

Se requerirán investigaciones básicas para determinar cómo diferentes HMA afectan negativamente a la migración de los nemátodos y su reproducción dentro de las células corticales de las raíces. Los cambios bioquímicos y estructurales en los tejidos de la raíz son aspectos que ameritan futuras investigaciones en cultivos perennes.

4.5.6 Consideraciones finales

Lo mecanismos que gobiernan los efectos de protección a los patógenos en plantas micorrizadas son desconocidos, pero cambios en los exudados podrían alterar la atracción

de los nemátodos; alteraciones estructurales tales como el grosor de la pared de las vesículas podrían determinar la penetración y cambios en la fisiología podría retardar el desarrollo de los nemátodos y la reproducción Franci y Dropkin (1985). Por otra parte, existe la hipótesis para el caso de nemátodos migratorios de que la competencia por espacio, fuente de alimento y acumulación de compuestos fenólicos, hormonas y fitoalexinas dentro de los tejidos, pueden ser factores que afectan los hábitos alimenticios de éstos (Pinochet *et al.*, 1996), así como los procesos de suberificación y lignificación (Hayman, 1982; Smith, 1987) que impiden la penetración y los cambios en la microflora del suelo, y cambios en exudados de las raíces inducidos por los simbiontes, parecen tener cierta influencia en esos patógenos del suelo (Gerdemann, 1968; Smith, 1987).

Parte de la dificultad para hacer generalizaciones acerca de las interacciones HMA-nemátodos está relacionada con los parámetros de evaluación. Mientras algunos estudios reportan acerca de la biomasa de las plantas, otros reportan rendimientos de frutos y semillas, pero raramente ambos. El rendimiento puede ser más susceptible a la interacción entre HMA y nemátodos que la biomasa de las raíces y parte aérea, pero puede requerir mayor periodo experimental y especiales condiciones de crecimiento (Roncadori y Hussey, 1977).

La respuesta de la planta puede ser completamente diferente cuando los HMA y los nemátodos son inoculados simultáneamente u opuesta cuando primero se inoculan los HMA y después los nemátodos, ya que muchos nemátodos pueden invadir las raíces en pocas horas a pocos días, mientras los HMA pueden requerir días a dos semanas para una colonización exitosa (Vaast *et al.*, 1997).

Pocos estudios han sido realizados con nemátodos migratorios, micorrizas y cultivos perennes y este tipo de estudios se han quedado atrás en relación con otros cultivos y asociaciones, debido, posiblemente, a la dificultad en establecer metodologías confiables para medir los efectos de la interacción entre el crecimiento de las plantas y la nutrición con este grupo de nemátodos (Pinochet *et al.*, 1996).

En la última década, varios estudios han contribuido al mayor entendimiento de la función benéfica que la micorriza puede jugar en el desarrollo de patrones infectados con endoparásitos migratorios, específicamente con el género *Pratylenchus*, los cuales están de manera significativa involucrados en el decaimiento de los árboles y problemas de replante de huertos (Nyczepir y Halbrecht, 1993). El incremento en la tolerancia al nemátodo agallador asociada con la fertilización según (Carling *et al.*, 1989) necesita ser estudiada en campo.

4.6 Factores de manejo de la endomicorriza-arbuscular que influyen sobre el efecto de control

Linderman (1994) señala diversos factores que influyen sobre el efecto del control biológico:

- Tiempo de establecimiento de la simbiosis. Para que la endomicorriza pueda suprimir las enfermedades de la raíz, ésta debe establecerse antes de la inoculación del patógeno, considerando un porcentaje de infección más rápido de los hongos patógenos comparado con el de la endomicorriza y el tiempo necesario para que los efectos de la micorriza en la fisiología y morfología del hospedante ocurran.
- Nivel de inóculo del patógeno. El potencial de control biológico en cualquier sistema de producción está directamente relacionada con el potencial de inóculo del patógeno, ya que altas densidades del patógeno inhibe al agente de biocontrol; por esta razón es difícil dar conclusiones acerca del potencial para biocontrol a menos que un rango de densidad de inóculo sea utilizado.
- Variación en la endomicorriza, genotipo del hospedante y la composición química y microbiana del suelo.

Diferentes interacciones entre la endomicorriza, planta hospedera y el patógeno ocurren; sin embargo, pocos estudios han comparado un rango de hongos endomicorrizicos para cualquiera de estos efectos y ninguno se ha hecho considerando las enfermedades de las plantas, añadiendo al complejo planta-endomicorriza-patógeno la variación de la interacción de la química y composición microbiana del suelo. No es asombroso que las

interpretaciones y comparaciones entre diferentes estudios sean difíciles, no obstante, es concebible la correcta combinación de los factores existentes.

4.7 Problemas del uso de hongos micorrízicos en el control biológico

Debido a que la micorriza interfiere en el desarrollo con los patógenos, puede ser usada como forma de control biológico. Sin embargo, se han encontrado resultados contradictorios en estudios con el mismo sistema planta-simbionte-parásito, en diferentes suelos o sustratos, posiblemente porque la eficiencia de esos mecanismos, pueden ser afectados por las condiciones del suelo. Los dos factores del suelo principalmente involucrados son la disponibilidad de P y la microflora (Fitter y Gabaye, 1994), ya que se ha visto que las infecciones micorrízicas pueden, eventualmente, aumentar la incidencia de enfermedades (Caron *et al.*, 1986).

Por otra parte, las diferencias entre los genotipos tanto de los patógenos como del hongo micorrízico, determinan la interacción, así que algunas cepas pueden ser efectivas para unas cepas de patógenos y para otros no, como se observó en los trabajos de Strobel y Sinclair (1991a, 1991b) donde se encontró que *Laccaria bicolor* previene la diseminación de *Fusarium oxysporum* en las raíces del abeto de Douglas, pero sólo en el caso de cepas no agresivas.

Otro punto crítico puede ser la selección de cepas eficientes (Graham, 1986). Un problema más encontrado en el uso de los hongos endomicorrízicos en relación al control biológico, es que la susceptibilidad a la enfermedad y a la micorriza, puede estar correlacionada positivamente como se ha reportado para el caso de la raíz, donde la colonización micorrízica es afectada por la creación de líneas resistentes a hongos patógenos (Toth *et al.*, 1990).

5. MÉTODOS

5.1 Propagación de inoculantes

5.1.1. Sitios de recolecta

El muestreo se realizó en 7 localidades (Paso Grande, Bella Esperanza, Miradores, Estanzuela, Juchique de Ferrer, Xico y La Concepción) de la zona cafetalera en la parte central de Veracruz, eligiendo agroecosistemas con diferencias respecto al suelo, sistemas de producción y microclimas.(Fig. 4). En cada una de las fincas elegidas se llenó una ficha de registro (A¹)

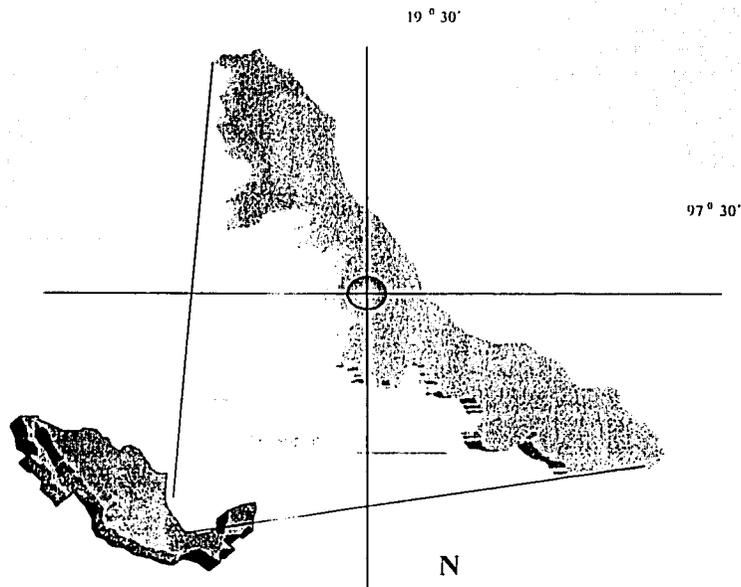


Figura. 4. Localización del área de colecta

A¹ Formatos y técnicas se describen detalladamente en el apéndice

5.1.1.1 Colecta de suelo en cada una de las fincas seleccionadas

Se muestreó en un área de 1000 m², aprovechando la disposición de los surcos de las matas de café, se eligieron surcos alternados, cada 5 plantas cambiando de surco, haciendo un zig-zag por 50 plantas y se tomó suelo cercano a las raíces a una distancia de 0-20 cm alrededor de cada planta y de 0-20 cm de profundidad, tomando aproximadamente 1 kg de suelo por planta. Todas las muestras fueron colocadas en una sola bolsa, posteriormente llevadas al laboratorio y guardadas en un lugar frío y seco.

La muestra fue homogeneizada en una bolsa de plástico grande, revolviéndola con una pala, retirando aquellas piedras mayores de 2 cm de diámetro.

5.1.1.2 Análisis del suelo

De la muestra homogeneizada se tomó una submuestra de 1 kg, y se determinó:

- pH
- % materia orgánica
- Fósforo
- Nitrógeno
- Potasio
- Por ciento de arena
- Por ciento de arcilla
- Por ciento de limo
- Densidad

5.1.1.3 Cuantificación de diferentes tipos de esporas en suelo de campo

1) Se tomaron 5 submuestras de 50 g de cada una de las muestras homogeneizadas en una de las cuales se determinó el contenido de agua (por peso antes y después de secar por 48 hs a 80°C). La separación de esporas en los 50 g de las 4 submuestras se realizó según la técnica de (Gerdemann y Nicolson, 1963) A²

Se calculó el número y morfotipos de esporas por 100g de suelo y se realizaron preparaciones permanentes de cada tipo de esporas para su posterior identificación.

5.1.2. Propagación de hongos micorrizicos arbusculares

La técnica de propagación utilizada fue una modificación de la técnica propuesta por Sieverding, (1991). Se llenaron Macetas con capacidad de 2 kg con 1 kilo de arena estéril. En la superficie se colocó una capa del suelo recolectado (aproximadamente 250g) y se cubrió con 0.5 kg de arena estéril. Se Pusieron tres repeticiones de las macetas trampa; en una se utilizó como hospedante frijol y en el otro maíz. Se dejaron crecer por espacio de tres meses regando semanalmente con solución nutritiva de Hoagland deficiente en fósforo (A^3). Posteriormente, las raíces y suelo fueron transferidos a macetas de mayor volumen y se utilizó como hospedante cebolla. Tres meses después, el porcentaje de colonización y número de esporas se determinó en maíz y frijol, para lo que se tomó una muestra de raíces y suelo. El suelo y raíces se transfirieron a macetas de mayor capacidad (3 kg.) y se sembró cebolla con hospedero. Se reprodujeron masivamente por espacio de 3 meses y se realizó una prueba de eficiencia de los consorcios de HMA.

5.1.3.Evaluación del inóculo en cultivos trampa

5.1.3.1 Evaluación del número de de esporas en invernadero

Tres, cinco, nueve, once y trece meses después de establecido el cultivo trampa se tomaron tres muestras de 50 g de suelo, de cada una de las macetas de las siete procedencias y se determinó el contenido de agua (por peso antes y después de secar por 48 hs a 80°C). La separación de esporas en los 50 g de las tres muestras se realizó según la técnica de (Gerdemann y Nicolson, 1963) A^2 y se calculó el número de esporas por 100g de suelo

5.1.3.1.2 Porcentaje de colonización de los cultivos trampa

Tres meses, después de establecido el cultivo trampa se tomaron tres muestras de raíces de plantas de frijol y maíz utilizadas como hospederos, de cada una de las macetas de las siete procedencias, se determinó el porcentaje de colonización mediante la técnica de Phillips y Hayman, 1970 A⁴ y McGonigle *et al.*, 1990 A⁵. Debido a un problema de contaminación por nemátodos en la macetas con frijol, solo se continuó determinando la colonización micorrizica en macetas de maíz a los cinco, 11 y 15 meses después de establecido el cultivo trampa.

5.1.4 Técnica propuesta por Sieverding, (1991) modificada

Macetas con capacidad de 2 kg fueron llenadas con 1 kilo de arena estéril. En una superficie se colocó una capa de suelo submuestreado (aproximadamente 250g) y se cubrió con otra capa de arena estéril de 0.5 kg. Se tuvieron tres repeticiones de las macetas trampa; en una se utilizó como hospedante frijol y en el otro maíz. Se dejaron crecer por espacio de tres meses regando semanalmente con solución nutritiva de Hoagland deficiente en fósforo (A³). Posteriormente, las raíces y suelo fueron transferidos a macetas de mayor volumen y se utilizó como hospedante cebolla.

Tres meses después, se determinó el porcentaje de colonización y número de esporas y se transfirieron a macetas de mayor capacidad (3 kg). Se reprodujeron masivamente por espacio de 3 meses y se realizó una prueba de eficiencia de los consorcios de HMA.

5.1.5 Pruebas de eficiencia de los 7 consorcios micorrízicos

5.1.5.1 Pruebas de eficiencia en papaya

Estudios realizados anteriormente en café (Trejo, 1997), han demostrado que la expresión del efecto de los HMA se manifiesta desde 90 hasta 230 días después de la inoculación. Por otra parte, pruebas con papaya indican que responde en un periodo de 15 a 20 días (Lara *et al.*, 1996), por lo que, simultáneamente, se sembró un lote de plantas de papaya de la variedad "Maradol" y otro de café de la variedad "Garnica".

Preparación del sustrato. Se preparó una mezcla de suelo-arena-materia orgánica (pulpa de café descompuesta) en proporción 2:1:1 que fue desinfectada con 35 g/m² de basamid por 10 días (Rosenstein, 1998; López-Aranda *et al.*, 2001) y aireado por una semana.

Germinación. Semillas de papaya de la variedad "maradol" fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 10 %, por 15 min. Posteriormente, fueron germinadas en charolas con arena estéril hasta que las plantas contaron con un primer par de hojas (8 días).

Inóculo. Para designar a los consorcios micorrízicos se utilizó una clave que constituida por las primeras dos letras del nombre de la localidad con un subíndice de siglas que indican el nivel de tecnología de la finca (SB= sombra, nivel de tecnología bajo; SM= sombra, nivel de tecnología medio; EDSA= exposición directa al sol, nivel de tecnología alto). El inóculo consistió en una mezcla de fragmentos de 1cm raíces frescas de cebolla y arena con los siguientes porcentajes de colonización: PG_{SB} 55% (Paso Grande), BE_{SB} 34% (Bella Esperanza), MI_{SM} 55.93% (Miradores), ES_{SM} 75.2% (Estancuela), JU_{SM} 92.5% (Juchique de Ferrer), XI_{EDSA} 46.15% (Xico), CO_{EDSA} 53.68% (La Concepción).

Inoculación. Se tomaron 10g de inóculo de cada una de las localidades y se colocaron sobre las raíces de las plantas al momento del trasplante a vasos de 1L de suelo estéril.

Diseño Experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones y 8 tratamientos, teniendo como unidad experimental una planta (Cuadro3).

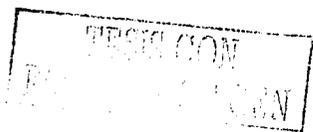
Cuadro 3. Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de papaya

No de tratamiento	Clave	Descripción de la finca (Procedencia del suelo)	
1	PG _{SB}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
2	BE _{SB}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
3	MI _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
4	ES _{SM}	Nivel de tecnología alto	Sombra
5	JU _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
6	XI _{EDSA}	Nivel de tecnología alto	Exposición directa al sol
7	CO _{EDSA}	Nivel de tecnología medio	Exposición directa al sol
8	testigo		

Evaluación de variables. La efectividad de los hongos micorrízicos fue estudiada, principalmente, por comparación en el desarrollo de las plantas colonizadas con hongos HMA y plantas creciendo en suelo estéril, para lo cual se evaluaron los parámetros que se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los 7 consorcios en plantas de papaya

Variable	Método	Época
Altura		A los 15 días después de la inoculación (DDI) y 5 mediciones cada 7 días (DDI)
Número de hojas		A los 15 días después de la inoculación (DDI) y 5 mediciones cada 7 días (DDI)
Área foliar	Con un medidor de área foliar CID, Mod. CI-202	Al final del experimento 50 DDI
Peso seco	Secado en estufa a 80 °C hasta 72hs peso constante por 3 días	Al final del experimento 50 DDI
Porcentaje de colonización	Phillips y Hayman, 1970 Λ^4 y McGonigle <i>et al.</i> , 1990 Λ^5	Al final del experimento 50 DDI



5.1.5.2 Pruebas de eficiencia en café durante la fase de invernadero

Preparación del sustrato. Se preparó una mezcla de suelo-arena-materia orgánica en proporción 2:1:1 y fue desinfectado con 35 g/m² de basamid (ingrediente activo dazomet [tetrahidro-3,5-dimetil-2H-1,3,5-tiadzin-2-tional]) por 10 días (Rosenstein, 1998; López-Aranda *et al.*, 2001) y aireado por una semana.

Germinación. Semillas de café de la variedad Garnica fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 10%, durante 15 min. Posteriormente, fueron pregerminadas en estufa a una temperatura de 30°C, por una semana. Una vez emitida la radícula, se estableció el almácigo en charolas con arena estéril, hasta obtener plantas en fase de mariposa, es decir, cuando presentan las hojas cotiledonares.

El inóculo consistió en una mezcla de de fragmentos de 1cm de raíces frescas de cebolla y arena con los siguientes porcentajes de colonización: PG_{SB} 55% (Paso Grande), BE_{SB} 34% (Bella Esperanza), MI_{SM} 55.93% (Miradores), ES_{SM} 75.2% (Estancuela), JU_{SM} 92.5% (Juchique de Ferrer), XI_{EDSA} 46.15% (Xico), CO_{EDSA} 53.68% (La Concepción).

Inoculación. Se inoculó con 10g de una mezcla de fragmentos (1cm) de raíces frescas de cebolla mezcladas con el sustrato y se colocó en un hoyo de 15 cm de profundidad al momento en que se transplantó la plántula en fase de "mariposa" (Trejo, 1997).

Diseño Experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones, y 9 tratamientos, teniendo como unidad experimental una planta (Cuadro 5).

TESTE COM
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 5. Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de invernadero

No. De tratamiento	Clave	Descripción de la finca (Procedencia del suelo)	
1	PG _{SH}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
2	BE _{SH}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
3	MI _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
4	ES _{SM}	Nivel de tecnología alto	Sombra
5	JU _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
6	XI _{EDSA}	Nivel de tecnología alto	Exposición directa al sol
7	CO _{EDSA}	Nivel de tecnología medio	Exposición directa al sol
8	testigo		
9	Fertilizado (800ppm)		

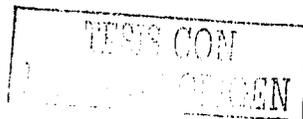
Evaluación de variables. La efectividad de los hongos micorrízicos fue estudiada, principalmente, por comparación en el desarrollo de las plantas colonizadas con hongos endógenos y las plantas creciendo en suelo estéril, para lo cual se evaluaron las variables que se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los 7 consorcios en plantas de café, bajo condiciones de invernadero

Variable	Método	Época
Altura		A partir de los 90DDI, cada 7 DDI, 7 lecturas
Número de hojas		A partir de los 90DDI, cada 7 DDI, 7 lecturas
Diámetro		A partir de los 90DDI, cada 7 DDI, 7 lecturas
Área foliar	Con un medidor de área foliar CID, Mod. CI-202	Al final del experimento 90 DDI
Peso seco	Secado en estufa a 80°C durante 72hs peso constante por 3 días	Al final del experimento 130 DDI
Porcentaje de colonización	Phillips y Hayman, 1970 Λ^1 y McGonigle <i>et al.</i> , 1990 Λ^5	Al final del experimento 130 DDI

5.1.5.3 Evaluación de plantas de café inoculadas con 7 consorcios micorrízicos bajo condiciones de campo

Con el propósito de observar el comportamiento de las plantas inoculadas con los diferentes consorcios de hongos micorrízicos, se seleccionaron las 8 plantas más homogéneas producidas en invernadero y fueron llevadas a una finca infestada por "corchosis" enfermedad de los cafetos que se caracteriza por la presencia de agallas y acorchamiento



del tejido, causado, posiblemente, por la presencia de los hongos *Fusarium* y *Trichoderma* y los nemátodos *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Helicotylenchus*) a fin de someter a las plantas a una mayor presión ambiental durante el trasplante.

5.1.5.3.1 Ubicación del experimento y descripción de la finca

La finca está ubicada en la localidad de Mata de Indio, Municipio de Totutla, Ver., a 13 km de la cabecera municipal, a 19° 14' latitud N y 96° 51' longitud O. Es una finca de 10 años de edad, con plantas injertadas de la variedad "Caturra" y "Mondo novo", utilizando como patrón *Coffea canephora*, con rendimientos de 10 t ha⁻¹. Aunque las raíces de las matas de café ya establecidas tienen un daño considerable de "corchosis" (Fig. 5), en el follaje no presentan daño alguno ni deficiencias nutricionales, ya que la variedad del patrón tiene la capacidad de emitir gran cantidad de raicillas que son las que participan en los procesos de absorción de nutrimentos.

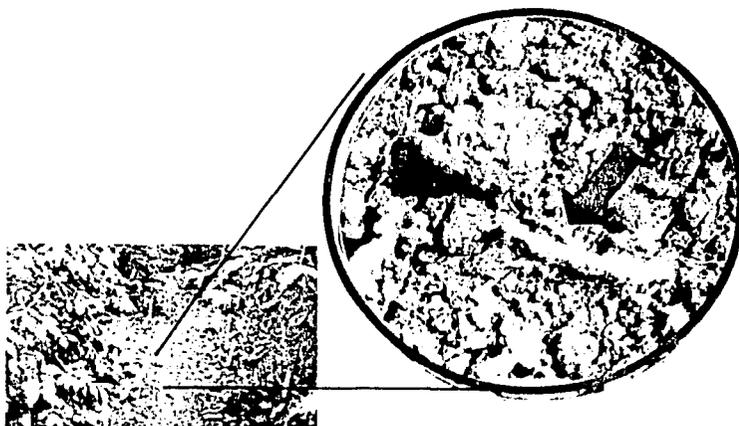


Figura. 5. Suelo de una finca de 10 años de edad con "corchosis", con una fuerte infestación de nemátodos que deforman el tejido radical.

5.1.5.3.1.1 Descripción del experimento

Se sembraron plantas inoculadas con HMA, alrededor de una planta de café en edad productiva, con el propósito de permitir el contacto de las raíces sanas de las plantas recién sembradas con raíces ya infestadas de las plantas ya establecidas en la finca (Fig. 6). Las plantas fueron marcadas en el tallo con etiquetas metálicas, además de colocárseles una estaca junto a cada planta con el propósito de dar el seguimiento correcto e identificarlas como parte del experimento, para evitar el daño por parte de los trabajadores de la finca.

5.1.5.3.1.2 Diseño Experimental

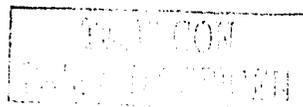
Se utilizó un diseño completamente al azar con 8 repeticiones y 9 tratamientos, teniendo como unidad experimental una planta (Cuadro7).

Cuadro 7. Descripción de los tratamientos en la evaluación de pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de campo

No de tratamiento	Clave	Descripción (Procedencia del suelo)	
1	PG _{SB}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
2	BE _{SB}	Nivel de tecnología bajo	Sombra
3	MI _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
4	ES _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
5	JU _{SM}	Nivel de tecnología medio	Sombra
6	XI _{EDSA}	Nivel de tecnología alto	Exposición directa al sol
7	CO _{EDSA}	Nivel de tecnología alto	Exposición directa al sol
8	Fertilizado sin inocular	1400ppm de fósforo	
9	testigo	Sin inocular	



Figura 6. Plantas inoculadas con HMA trasplantadas a una finca con "corchosis", a 60 cm del tallo de una planta de café en edad productiva



5.1.5.3.1.3 Evaluación de variables

El comportamiento de las plantas previamente inoculadas y evaluadas en invernadero, fue valorado en campo con los parámetros que se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Variables evaluadas en las pruebas de eficiencia de los siete consorcios en plantas de café bajo condiciones de campo

Variable	Método	Época
Altura		A partir de los 90DDI, cada 7 DDI, 7 lecturas hasta 330 DDI
Número de hojas y Diámetro		A partir de los 90DDI, cada 7 DDI, 7 lecturas hasta 330 DDI
Porcentaje de colonización de plántulas trasplantadas y de arvenses	Phillips y Hayman, 1970 A ² y McGonigle <i>et al.</i> , 1990 A ³	Al final del experimento 330 DDI
Porcentaje de colonización de plantas maduras, ya establecidas	Phillips y Hayman, 1970 A ⁴ y McGonigle <i>et al.</i> 1990 A ⁵	Cada 30 días durante un año
Porcentaje de supervivencia	Conteo de plantas	A partir de los 130 DDI, cada 30 días hasta 330 DDI
Potencial infectivo	Sieverding, 1991 A ⁶	Al final del experimento 330 DDI
Viabilidad de esporas	Anderson e Ingram, 1993 A ⁷	Al final del experimento 330 DDI
Porcentaje de pudrición de raíces y número de agallas	Zuckenman <i>et al.</i> , 1987 A ⁸	Al final del experimento 330 DDI
Población de nemátodos	Zuckenman <i>et al.</i> , 1987 A ⁹	Al final del experimento 330 DDI
Población de esporas	Gederman y Nicolson, 1963 A ¹⁰	Al final del experimento 330 DDI
Micelio extrarradical	Sylvia, 1992; Jakobsen <i>et al.</i> , 1992 A ¹¹	Al final del experimento 330 DDI
Área foliar	Con un medidor de área foliar CID, Mod. CI-202	Al final del experimento 330 DDI
Peso seco	Secado en estufa a 80°C durante 72hs; peso constante por 3 días	Al final del experimento 330 DDI

5.1.5.3.1.4 Determinación del Porcentaje de colonización micorrízica en plantas de café ya establecidas en las fincas infestadas y en fase reproductiva

Con el propósito de conocer el nivel de micotrofia en plantas de café atacadas por la "corchosis" durante ocho meses se colectaron raicillas en cuatro fincas infestadas de nemátodos. Estas fueron sometidas a clareo y tinción mediante la técnica de Phillips y Hayman (1970, A⁴) y el porcentaje de colonización se determinó de acuerdo con la técnica de intersección de cuadrantes de McGonigle *et al.*, (1990, A⁵).

El potencial infectivo de la finca en la que se realizó el estudio, mediante la técnica del número más probable (Sieverding, 1991 [A⁶]), y la viabilidad de esporas (Anderson e Ingram, 1993 [A⁷]).

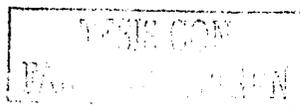
5.1.5.4 Efecto de la micorriza arbuscular en interacción con el nemátodo "agallador" *Meloidogyne incognita* en invernadero

Germinación. Semillas de café de la variedad Garnica fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 10%, durante 15 min. Posteriormente, fueron pregerminadas en estufa a una temperatura de 30°C, por una semana; una vez emitida la radícula se estableció el almácigo en charolas con arena estéril, hasta obtener plantas en fase de mariposa, es decir, cuando presentan las hojas cotiledonares.

5.1.5.4.1 Inoculación de los consorcios micorrízicos

Inóculo. El inóculo consistió en una mezcla de fragmentos de 1 cm de raíces frescas de cebolla y arena con los siguientes porcentajes de colonización: PC_{SB} 69%, BE_{SB} 79.5%, MI_{SM} 64.6%, ES_{SM} 69.1%, JU_{SM} 56%, XI_{EDSA} 39.3%, CO_{EDSA} 56.3%.

Se inoculó con 10g de una mezcla de fragmentos (1 cm) de raíces frescas de cebolla mezcladas con el sustrato y se colocó en un hoyo de 15 cm de profundidad al momento en que se transplantó la plántula en fase de "mariposa" (Trejo, 1997).



Se utilizó un diseño completamente al azar con nueve tratamientos (siete complejos nativos de diferente procedencia y un testigo creciendo en suelo estéril sin micorriza) y 15 repeticiones.

5.1.5.4.2. Inoculación del nemátodo

Producción del inóculo. Raíces fuertemente infestadas, pero sin necrosis, fueron colectadas de una finca dañada. Se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.05% durante 5 min. Posteriormente fueron sumergidas en una solución de Benlate por 24 h y lavadas con agua destilada estéril. Dichas raíces fueron cortadas en segmentos de 5 cm de longitud y colocadas en charolas conteniendo suelo estéril, semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y estropajo (*Luffa cylindrica*); finalmente, se sembraron. Las plantas fueron cosechadas cuando alcanzaron 20 cm de altura, ya que se ha probado que en esta etapa de desarrollo las raíces cuentan una alta densidad de nemátodos (Fig. 7) (García, 1994)

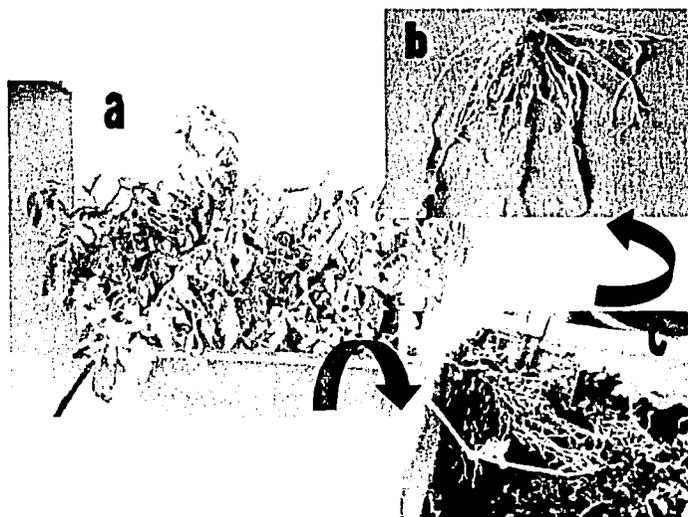


Figura.7. Propagación de nemátodos de café en plantas de tomate y estropajo. a) Cultivo de plantas de tomate 30 días después inoculadas con nemátodos. b) extracción de las raíces agalladas. c) raíces preparadas para la extracción de nemátodos

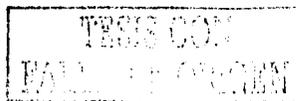
Inoculación. El inóculo fue preparado por la maceración de las raíces en una licuadora durante 10 segundos, en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, para dispersar las masas de huevos (Hussey y Barker, 1973). La inoculación se realizó con una población entre 1500 unidades de inóculo (huevos y larvas) en suspensión, ya que Echeverry y Fernández (1987) han demostrado que ésta es la concentración adecuada. La inoculación con nemátodos se llevó a cabo 7 meses después de la inoculación micorrízica, debido a que se pretendió asegurar la presencia de los HMA dentro de las raíces. La inoculación del nemátodo se realizó aplicando la suspensión de nemátodos en cuatro agujeros en el suelo, a 3 cm de la base del tallo (Fernández *et al.*, 1994).

5.1.5.4.3 Diseño Experimental

Se utilizó un diseño factorial completamente al azar con dos factores. El primer factor micorriza con 9 niveles; el segundo *Meloidogyne incognita*. Se tuvieron 9 tratamientos con 5 repeticiones. La descripción de los tratamientos se presenta en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Descripción de los tratamientos de un diseño factorial completamente al azar con dos factores

No de tratamiento	Inóculo	Presencia de nemátodo	Descripción (Procedencia del suelo de inóculo)
1	PG _{SB}	+	Nivel de tecnología bajo
	PG _{SB}	-	
2	BE _{SB}	+	Nivel de tecnología bajo
	BE _{SB}	-	
3	MI _{SM}	+	Nivel de tecnología medio
	MI _{SM}	-	
4	ES _{SM}	+	Nivel de tecnología medio
	ES _{SM}	-	
5	JU _{SM}	+	Nivel de tecnología medio
	JU _{SM}	-	
6	XI _{EDSA}	+	Nivel de tecnología alto
	XI _{EDSA}	-	
7	CO _{EDSA}	+	Nivel de tecnología alto
	CO _{EDSA}	-	
8	Fertilizado en invernadero	+	1400ppm de fósforo
	Fertilizado en invernadero	-	
9	testigo	+	Sin inocular
	testigo	-	



5.1.5.4.4 Evaluación de variables

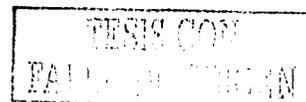
Desde la inoculación con HMA hasta el final del experimento, se evaluaron las variables que se presentan en el Cuadro 10.

5.1.6 Identificación taxonómica de las especies de HMA de los consorcios

Las esporas turgentes y con citoplasma intacto, no parasitadas (que sugieren viabilidad) (McGee, 1989), se colectaron y agruparon por características morfológicas similares. Posteriormente, se procedió a la elaboración de preparaciones permanentes siguiendo la técnica propuesta por Varela y Hernández (1997)A¹³ y se procedió a medir y determinar el grupo de paredes que caracterizó a las esporas para su identificación a nivel de especie, de acuerdo a los criterios taxonómicos de Schenck y Pérez (1990) y la páginas del International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM), creada y mantenida por el Dr. Morton de la West Virginia University, en la cual se presentan descripciones e imágenes la mayoría de los géneros y especies de los HMA, que son de referencia.

Cuadro 10. Efecto de la micorriza arbuscular en interacción con el nemátodo "agallador" *Meloidogyne incógnita* en invernadero

Variable	Método	Época
Altura		Cada 15 días
Número de hojas		Cada 15 días
Diámetro		Cada 15 días
Área foliar	Con un medidor de área foliar CID, Mod. CI-202	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Peso seco	Secado en estufa a 80°C durante 72hs peso constante por 3 días	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Porcentaje de colonización	Phillips y Hayman, 1970 A ¹ y McGonigle <i>et al.</i> , 1990 A ⁵	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Población de nemátodos	Zuckerman <i>et al.</i> , 1987 A ⁹	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Población de esporas	Gederman y Nicolson, 1963 A ¹⁰	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Micelio extrarradical	Sylvia, 1992; Jakobsen <i>et al.</i> , 1992 A ¹¹	7 meses después de la inoculación con el nemátodo
Clorofila A, B y total	Harborne, 1973 A ¹²	7 meses después de la inoculación con el nemátodo



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización de los sitios de muestreo para la propagación de los consorcios de hongos micorrízicos nativos

Las localidades muestreadas contemplan 3 niveles de tecnología en la producción del café:

1) **Bajo**: con sombra, una fertilización por año, deshierbes manuales, sin aplicación de agroquímicos y una producción promedio de 1 t ha^{-1} ; 2) **Medio**: con sombra, dos fertilizaciones por año, deshierbes manual y químico, regulación de la sombra, podas fitosanitarias y producción promedio de 3.5 t ha^{-1} ; 3) **Alto**: sin sombra, más de tres fertilizaciones por año, aplicación de herbicidas, fungicidas e insecticidas, programa de rejuvenecimiento, y producción promedio 7.5 t ha^{-1} (Fig. 8).

En el cuadro 11 se resumen las características del manejo de cada una de las fincas cafetaleras de las cuales procede el inóculo.

Cuadro 11. Características de los sitios de colecta de suelos para la obtención del inóculo

Localidad	Clave	Edad (años)	Condiciones de estrés	Pendiente (%)	Nivel de tecnología	Densidad de siembra (plantas/ha)	Sombra (%)
Paso Grande	PG _{SH}	10	Ninguna	0	Bajo	1500	70
Bella	BE _{SH}	15	Ninguna	30	Bajo	1500	70
Esperanza							
Miradores	MI _{SM}	10	Sequía	25	Medio	1000	50
Estanzuela	ES _{SM}	27	Sequía	50	Medio	1400	60
Juchique	JU _{SM}	30	Roya de café	0	Medio	1500	60
Xico	XI _{EDSA}	8	Exposición directa al sol	75	Alto	1500	0
La Concepción	CO _{EDSA}	20	Exposición directa al sol	0	Alto		0

SH= Sombra, nivel de tecnología bajo; SM= Sombra, nivel de tecnología medio; EDSA= Exposición directa al sol, nivel de tecnología alto

La zona de muestreo está localizada en la zona centro del Estado de Veracruz y presenta variación en los parámetros climatológicos.



Sombra, nivel de tecnología bajo (SB)



Sombra, nivel de tecnología medio (SM)



**Exposición directa al sol,
nivel de tecnología alto (EDSA)**

Figura 8. Fincas con 3 niveles de tecnología en la producción del café, Fincas localizadas en: Paso Grande (SB); Miradores (SM) y La Concepción (EDSA)

6.1.1. Análisis del suelo

Las características físicas y químicas de los suelos (Cuadro 12) variaron en pH, presentando un rango de 3.61 a 5.84; todos son ácidos típicos de suelos cafetaleros de la región Central de Veracruz que se caracteriza por retener el fósforo.

Cuadro 12. Características físicas y químicas de los suelos usados para la obtención del inóculo

Localidad ad	Textura %			Clase textural	pH (H ₂ O)	Materia orgánica % Walkey-Back	N (Kjeldahl) g kg ⁻¹	P (Bra ppm)	K Extractable (g kg ⁻¹)
	Arcilla	Limo	Arena						
PG _{SB}	16	migajón arenoso	21	63	3.84	4.71	0.24	28	0.30
BE _{SB}	18	migajón arenoso	27	55	3.71	5.65	0.31	20	0.45
JU _{SM}	24	migajón arcilloso	27	39	5.84	7.81	0.40	30	0.40
MI _{SM}	20	migajón	34	46	4.86	3.97	0.20	20	0.35
ES _{SM}	17	migajón arenoso	29	54	4.80	3.67	0.20	14	0.30
XI _{EDSA}	11	migajón arenoso	30	59	4.77	1.04	0.50	14	0.30
CO _{EDSA}	28	migajón arcilloso	26	46	3.61	8	0.40	25	0.45

6.2 Evaluación de la población de esporas procedentes de campo

La cantidad de las esporas varió de acuerdo a la procedencia. Se encontró una población abundante en los suelos bajo nivel de tecnología. Se hallaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) entre el número densidad de esporas de los cultivos de bajo nivel de tecnología y la de alto nivel (Cuadro 13).

Cuadro 13. Densidad de esporas de procedencia directa de campo

Procedencia del inóculo	Nivel de tecnología	Número de esporas (100g de suelo)
PG _{SB}	Bajo	8592a
BE _{SB}	Bajo	7414ab
JU _{SM}	Medio	4110bc
MI _{SM}	Medio	4769abc
ES _{SM}	Medio	4110bc
XI _{EDSA}	Alto	1399c
CO _{EDSA}	Alto	1160c
F		11.71
Pr >F		0.0001
GI		21
CV		41.79

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.0001$).

Las concentraciones de los propágulos de HMA están principalmente correlacionados con la vegetación, la cubierta vegetal y las prácticas agronómicas (Sieverding, 1991; Rutto *et al.*, 2002). Es evidente que la cantidad de esporas presentes en las fincas con nivel de



tecnología alto, se ve afectada por la condición de manejo del agroecosistema; este tipo de manejo elimina las malezas con lo cual excluyen otros posibles hospedantes que disminuyen la densidad de esporas. Las interacciones entre la cubierta vegetal y la cantidad de esporas han sido más claramente explicadas por Burrows y Pfleger (2002a), quienes encontraron que en un lote con 16 especies de plantas, se producen de un 30% a 150% más esporas que en un lote con una sola especie. He *et al.*, (2002) demostró que diferentes coberturas afectan significativamente la densidad de esporas. Los números más bajos de propágulos se han encontrado en vegetaciones degradadas (Sieverding, 1991), como lo es una finca de café con exposición directa al sol y alto nivel de tecnología (COEDSA y XIEDSA), en la cual se elimina todo tipo de planta que no sea café, con la aplicación constante de herbicidas; Smith (1980) encontró que el continuo monocultivo reduce significativamente el número de esporas.

La degradación de la vegetación afecta negativamente la densidad de propágulos porque los HMA dependen de la asimilación de fotosintatos asimilados por sus hospedantes (Black *et al.*, 2000). En fincas con mayor cantidad de materia orgánica la población de esporas fue mayor. Efectos positivos en la población de HMA han sido encontrados en diversos trabajos (Gould *et al.*, 1996; Loth, 1996; Noyd *et al.*, 1996). Hrselova *et al.*, (2000) descubrieron una correlación positiva entre la cantidad de materia orgánica y la cantidad de propágulos HMA. Sus resultados indican que los HMA están asociados con micrositios ricos en fracciones fácilmente mineralizables de materia orgánica del suelo; por otra parte Khalil *et al.*, (1992) determinaron en soya una correlación negativa entre la cantidad de materia orgánica y la cantidad de esporas.

Las poblaciones bajas en un nivel de tecnología alto, posiblemente se deben al efecto del manejo como lo es la aplicación de fertilizante inorgánico, pues una correlación negativa se ha encontrado entre la cantidad de P en el suelo y el número de esporas (Muleba y Coulibaly, 1999; Joner, 2000; Zangaro *et al.*, 2000; Huat *et al.*, 2002), así como fungicidas. La exposición directa al sol puede traer cambios bruscos en la temperatura del microambiente edáfico. Estas alteraciones ambientales pueden influir en el desarrollo y reproducción de los HMA (Abbott y Robson, 1991; Allen, 1996).



Las poblaciones en el nivel de tecnología bajo y con sombra, crecen y se desarrollan en un ambiente más estable, lo que podría permitir un crecimiento abundante ya que no hay cambios bruscos de temperatura (Baon *et al.*, 1994; Newman y Davis, 1988). Sin embargo, Heinemeyer y Fitter (2001) señalan que la simbiosis bajo sombra puede desarrollarse pobremente.

6.3 Evaluación del inóculo en cultivos trampa

6.3.1 Evaluación de la población de esporas en invernadero (cultivo trampa)

Tres meses después de establecido el cultivo trampa, el número de esporas en maceta disminuyó considerablemente con relación a las poblaciones encontradas en campo (Fig. 9).

Las observaciones al microscopio estereoscopio (10x) permitieron observar una gran diversidad de formas, tamaños y colores de esporas (Fig. 10).

En las observaciones al microscopio óptico y siguiendo el procedimiento para la identificación taxonómica sugerido por Schenck y Pérez (1990), se encontró que muchas de las esporas pertenecen a la misma especie; aun cuando presentaban gran diversidad de color y tamaño.

Durante el ciclo de vida de las esporas es posible encontrar grandes diferencias en color y tamaño dentro de una misma especie; por ejemplo, Morton, en su pagina del International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi señala que *Glomus mosseae* puede presentar hasta 4 diferentes colores y tamaños de acuerdo con la edad (Figs. 11 y 12).



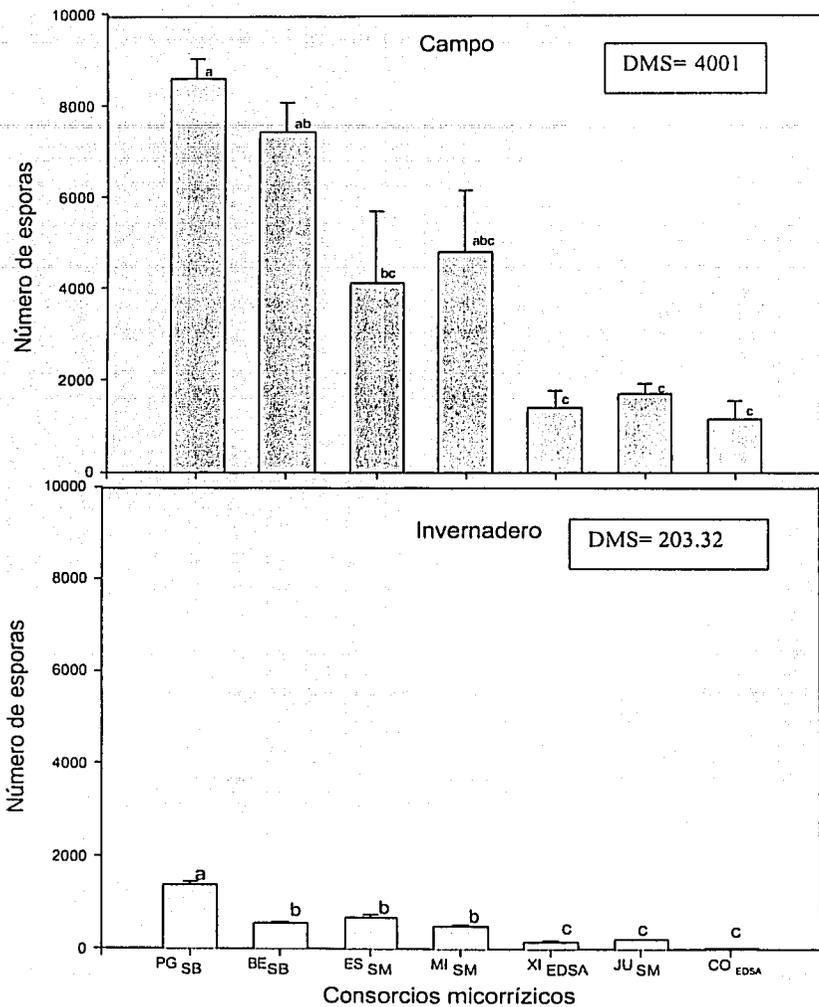
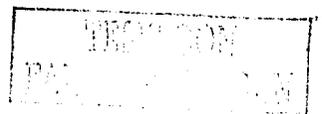


Figura.9. Cantidad de esporas procedentes de campo y en invernadero utilizando como hospedante maíz tres meses después de la siembra.



Nº 1000
1980

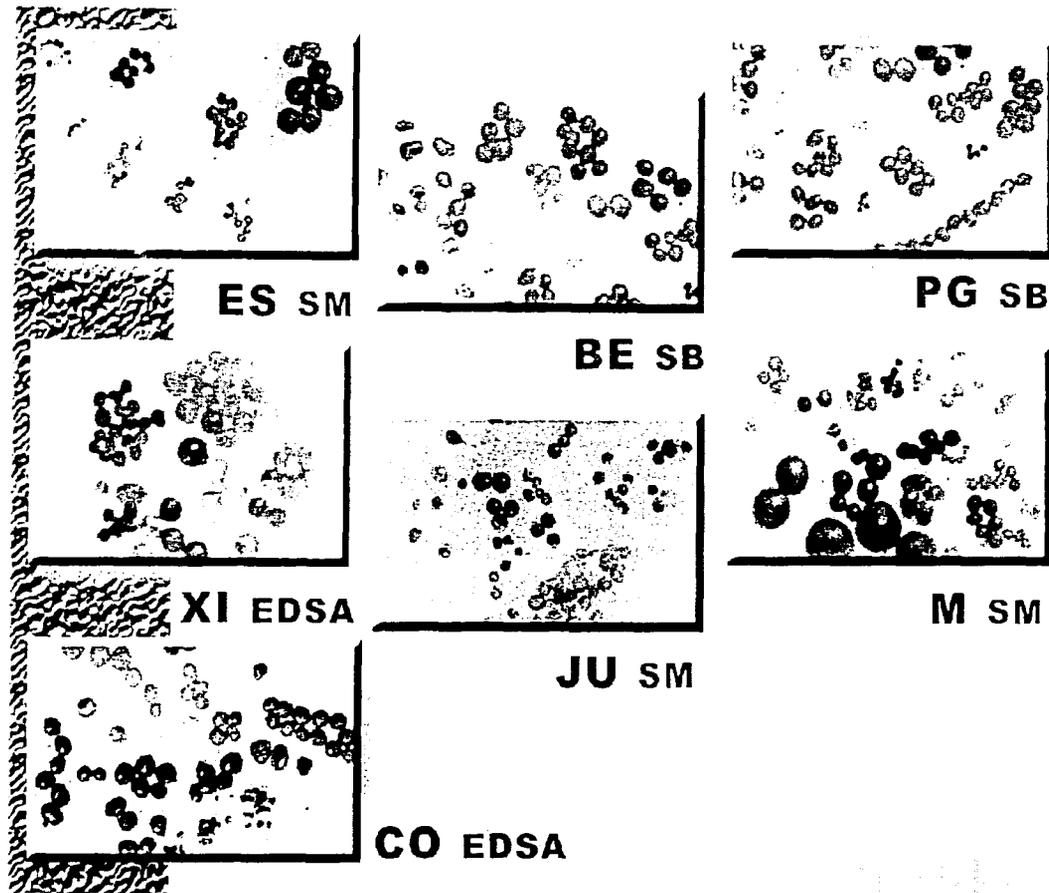


Figura10 Morfotipos de esporas provenientes de campo , en donde se puede apreciar la diversidad de formas y colores de las esporas

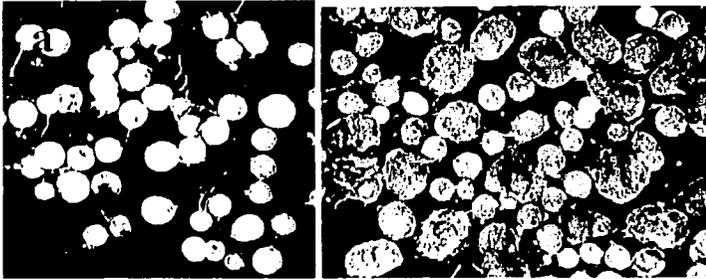


Figura.11 Variación del color de las esporas de acuerdo a la edad. a) esporas jóvenes b) esporas maduras con peridio (Tomado de http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/Glomaceae/Glomus/mosseae/mossewh2.jpg)

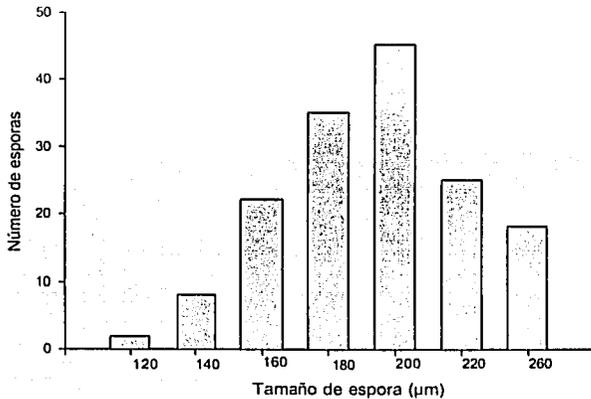


Figura 12. Variación del tamaño de esporas

(Tomado de http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/Glomaceae/Glomus/mosseae/mossewh2.jpg)

Después de 90 días de establecido el cultivo trampa, se detectó una considerable disminución en la población de esporas, mostrándose un incremento 13 meses después (Fig. 13).



La disminución en la cantidad de esporas provenientes de campo cuando son llevadas a cultivo trampa, puede deberse a diversas causas: el cambio en el ambiente edáfico, climático y de hospedante, así como a una baja infectividad de los propágulos de campo, ya que diversos factores pueden ser determinantes para el desarrollo de las poblaciones en invernadero (Bever, 1996, Schultz *et al.*, 2000); sin embargo, a los 13 meses se observan incrementos en la densidad con una tendencia similar a la original, durante el desarrollo en invernadero, en los consorcios PG_{SB} MI_{SM}, ES_{SM} y BE_{SB}; aunque los consorcios JU_{SM} y

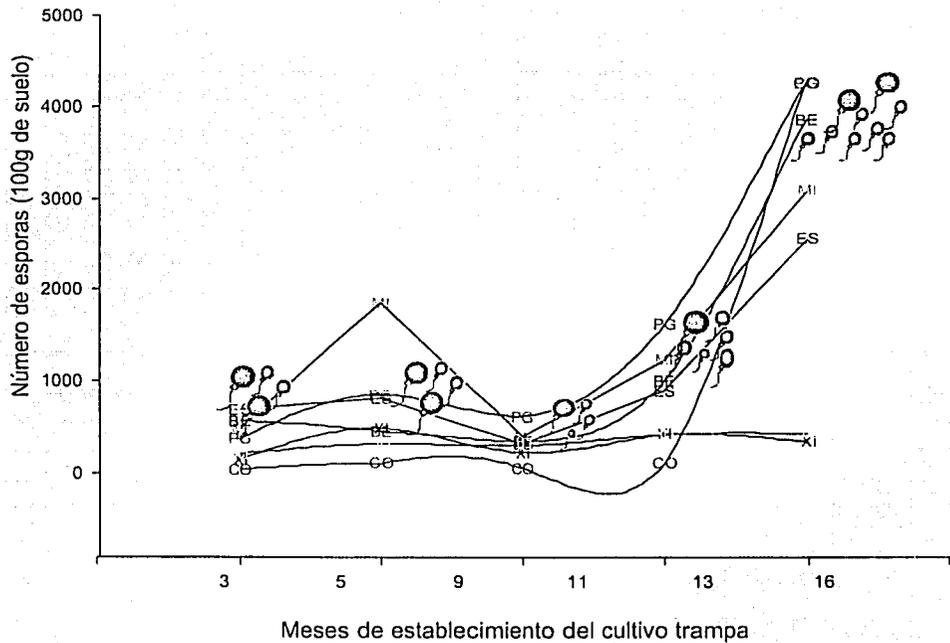


Figura. 13 Dinámica poblacional de esporas en cultivo trampa

Después de 3 ciclos de cultivos sucesivos de cultivo trampa encontró una mayor diversidad de especies, identificando un total 21 especies (Cuadro 14). Schultz y Morton (1996), requirieron de tres ciclos sucesivos de cultivos trampa para determinar la estructura taxonómica de los HMA asociados con el mesquite (*Prosopis* spp) en tres localidades de Sonora; en el tercer ciclo se encontró el 75% de las especies que no esporularon en el primer muestreo.

Cuadro 14. Número de géneros y especies* detectados en las 7 localidades en observaciones a partir de cultivo trampa en maceta.

Especies de hongos micorrízicos	Procedencia de los consorcios						
	PG _{SH}	BE _{SH}	MI _{SM}	ES _{SM}	JU _{SM}	CO _{EDSA}	XI _{EDSA}
<i>Acaulospora affinemii</i>		X		X			
<i>Acaulospora foveata</i>	X			X			
<i>Acaulospora mellea</i>	X		X		X	X	
<i>Acaulospora spinosa</i>	X						
<i>Acaulospora scrobiculata</i>			X	X	X		X
<i>Acaulospora sp1</i>					X		
<i>Gigaspora sp1</i>	X					X	X
<i>Gigaspora giganteae</i>				X			
<i>Glomus aggregatum</i>			X				
<i>Glomus constrictum</i>				X			
<i>Glomus geosporium</i>	X	X	X	X		X	X
<i>Glomus intraradices</i>		X					
<i>Glomus macrocarpum</i>	X		X				X
<i>Glomus sp1</i>			X	X		X	
<i>Glomus sp2</i>				X			
<i>Glomus sp3</i>			X				
<i>Sclerocystis coremioides</i>		X	X	X	X		
<i>Sclerocystis sinuosa</i>			X				
<i>Scutellasporea sp.</i>			X				

* Fotografías de los géneros y especies, así como su ubicación taxonómica se presentan en el apéndice

Del total de las 21 especies encontradas en el suelo rizosférico de los siete cafetales muestreados, el género predominante en los cultivos trampa, fue *Acaulospora*, así como el género *Glomus*. Los géneros *Acaulospora* y *Glomus* también predominan en otras regiones cafetaleras de Venezuela y Colombia (Cruz, 1989 y Toro-García, 1987).

La mayor ocurrencia de las especies de esos géneros pudiera reflejar su alta adaptación y capacidad de esporulación en el ecosistema (Saggin- Junior y Siquiera, 1996). Picone (2000) encontró que las especies de HMA predominantes en pastizales presentan esporas pequeñas, mientras que la mayor cantidad de esporas grandes puede encontrarse en hospedantes forestales (>300 µm) y mostró que la abundancia de esporas grandes, es más común en la época de lluvias.

Saggin-Junior y Siquiera (1996) señalan que en la rizosfera de café se han identificado un total de 45 especies de HMA. Fernández, 1989 indica que los estudios de estos hongos en fincas cafetaleras del sudeste brasileño evidencian la ocurrencia generalizada de especies de *Acaulospora*, seguido de *Glomus* (Cuadro 15).

Cuadro 15. Géneros de HMA presentes en fincas cafetaleras muestreadas en este trabajo y en Brasil (Saggin-Junior y Siquiera, 1996)

Géneros	No de especies	
	México	Brasil
<i>Acaulospora</i>	6	12
<i>Glomus</i>	12	17
<i>Entrophospora</i>	--	2
<i>Sclerocystis</i>	2	4
<i>Gigaspora</i>	2	4
<i>Scutellospora</i>	1	6

XI_{EDSA} disminuyeron, el consorcio CO_{EDSA} se incrementó, posiblemente porque proviene de un ambiente expuesto a la sequía, lo cual puede disminuir la esporulación como lo sugieren Stutz y Morton (1996).

Ya que fue necesaria la presencia constante de raíces jóvenes no lignificadas, factibles de ser colonizadas, se establecieron cultivos de relevo, lo que modificó posiblemente la dinámica de esporulación. Si bien el incremento de la población puede deberse a su propia dinámica, es muy probable que los hongos presenten una dinámica paralela a los tiempos fenológicos del hospedante y esto es resultado de una dinámica natural y no de la manipulación experimental; se podría decir que el estado fenológico del hospedante determina la fenología del hongo

Por otra parte, ya que cada consorcio está constituido de una diversidad de esporas y éstas son unidades de propagación capaces de dar origen a una población de células con características genéticas similares (cepa), existe una posibilidad de selección.

Las consorcios provenientes de exposición directa al sol (CO_{EDSA} y XI_{EDSA}) con una intensa aplicación de insumos agrícolas, pudieron seguir las siguientes tendencias: 1) ser preseleccionadas en un ambiente de cambios bruscos y tener una mayor carga de adaptación; 2) perder cierta funcionalidad en la adquisición de nutrimentos debido a la continua aplicación de fertilizantes inorgánicos en su hábitat; y 3) disminuir la población por la aplicación continua de fungicidas.

Las especies de hongos provenientes de fincas bajo sombra crecen en un ambiente más estable, por lo que las poblaciones podrían ser más abundantes ya que el equilibrio de las condiciones pudiera permitir un mayor desarrollo poblacional y tal vez con poca diversidad debido a la mínima presión de selección existente (Douglas, 1998; Ramachela, 2002).

Las poblaciones de los consorcios provenientes de fincas bajo sombra y con nivel de tecnología bajo (BE_{SB} y PG_{SB}) fueron altas en campo, pero si la multiplicación es alta por la estabilidad de las condiciones en las que se desarrollan, podría disminuir bajo cambios ambientales abruptos tal como lo menciona Abbott y Robson (1991)

6.3.2 Porcentaje de colonización

Tres meses después de establecido el cultivo trampa, se observaron altos porcentajes de colonización en las raíces de las plantas de maíz y frijol utilizadas como hospedantes. La colonización micorrízica fue confirmada por la presencia de arbusculos o vesículas.

La presencia de hifas internas no reportó diferencias significativas entre seis de los consorcios probados. En frijol, los más exitosos respecto a su habilidad para colonizar fueron BE_{SB} y JU_{SM} . Los porcentajes de colonización fueron elevados (desde 96.03% a 100%). En maíz, la colonización fue de 79.9% a 99.6%.

En ambos hospedantes CO_{EDSA} mostró diferencias estadísticas significativas con respecto a los otros 6 consorcios; bajos porcentajes se reportaron, 22% y 35%, para frijol y maíz (Cuadro 16). En cuanto a la intensidad de la colonización cuantificada por la presencia de estructuras (vesículas y arbusculos) fue baja con relación a las hifas. La presencia de vesículas presentó mayor variación estadística entre los consorcios. En el cultivo de frijol, los más altos valores se presentaron en MI_{SM} ; hubo con porcentajes de colonización entre 0 a 40.45%, no se encontraron vesículas ni arbusculos en CO_{EDSA} . (Cuadro 16).

Cuadro 16. Colonización radical de HMA en siete consorcios en cultivos trampa La colonización total se expresa en el porcentaje de hifas.

Consortio	Hospedante	Presencia de estructuras de HMA (%)		
		Hifas	Vesículas	Arbúsculos
PG _{SH}	Frijol	99.9a	26.13b	17.5a
	Maíz	99a	28.4b	1.43bc
BE _{SH}	Frijol	100a	12cd	4bc
	Maíz	79a	16.5b	3.51a
JU _{SM}	Frijol	100a	45cd	0c
	Maíz	99.63a	21.10b	1.4bc
MI _{SM}	Frijol	99.2	40.4a	2.2c
	Maíz	99.46a	52.51a	4.13a
ES _{SM}	Frijol	99.6a	17.8bc	0c
	Maíz	99.03a	23.6b	0c
CO _{EDSA}	Frijol	22b	0c	8b
	Maíz	35.5b	45.3a	3.09ab
XI _{EDSA}	Frijol	96.03a	10.9cd	2.1c
	Maíz	99.63	21.10b	1.4bc
F		726.37	37.87	57.64
Pr > F		0.0001	0.0001	0.0001
GL		14	14	14
CV		2.12	24.20	30.08

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$)

Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre la cantidad de hifas entre los consorcios, así mismo para el porcentaje de vesículas e hifas. En el cultivo de maíz el valor más alto fue también para las plantas inoculadas con JU_{SM}, se encontró un alto porcentaje de arbúsculos para plantas inoculadas con CO_{EDSA}. En las raíces de las plantas inoculadas con MI_{SM} se encontraron altos porcentajes de vesículas y al igual que en frijol, no se encontraron arbúsculos en las raíces de las inoculadas con el consorcio ES_{SM}.

Una observación realizada dos meses después reveló que la colonización en maíz disminuyó entre 4% y 23.3% con respecto al primer muestreo (tres meses después de establecido el cultivo trampa), en todos los consorcios, a excepción del correspondiente a

JU_{SM} donde la disminución fue mayor, un 41.77%. Durante 11 meses la colonización siguió una tendencia hacia la disminución en la mayoría de los consorcios; sin embargo, el consorcio CO_{EDSA} y JU_{SM} se incrementaron en un 34.81% y 18.27% respectivamente a partir de ese tiempo. Durante 15 meses en que se mantuvieron los cultivos trampa, los consorcios disminuyeron constantemente en el porcentaje de colonización. En seis de los consorcios el porcentaje de colonización bajó en un intervalo entre 49.98% a 7.1% pero CO_{EDSA} incrementó la colonización 35.5% a 53.6% (Fig. 14).

6.3.3 Colonización en cebolla utilizada para la propagación masiva

Al momento de la cosecha del inoculó, los porcentajes fueron altos, mayores de 80%, excepto CO_{EDSA} que presentó un 40%; este consorcio proviene de una finca altamente tecnificada y con exposición directa al sol.

6.4 Evaluación de la eficiencia de 7 complejos nativos procedentes de café

6.4.1 Evaluación de la eficiencia de 7 complejos nativos procedentes de café en papaya

Los beneficios de los HMA sobre el crecimiento de las plantas de papaya han sido mostrados en diversas investigaciones. Efectos claros se observan entre los 20 y 30 días después de la inoculación (DDI) (Lara *et al.*, 1996), mientras que en café pueden presentarse desde los 90 hasta los 230 DDI (Trejo 1997).



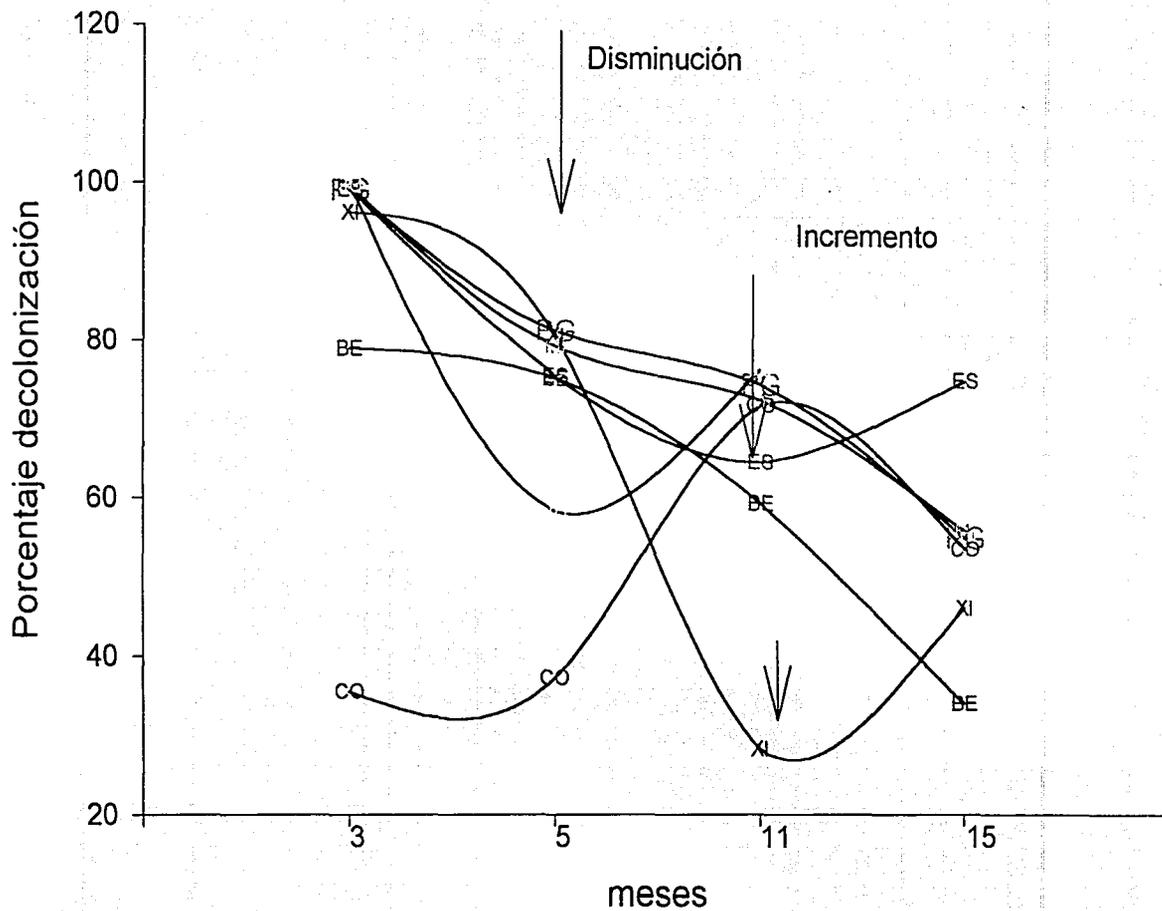


Figura. 14. Desarrollo de la colonización micorrízica en maceta durante 15 meses

La observación de la colonización radical en papaya es bastante evidente por lo que se consideró una "planta modelo" para probar la eficiencia de los inoculantes nativos de café.

6.4.1.1 Respuesta al crecimiento

La colonización micorrizica por los endófitos nativos fue de 20% a 40% en los 7 complejos nativos después de 15 días de inoculados (DDI).

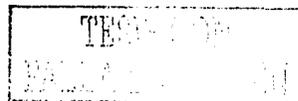
Altura. A partir de los 16 DDI se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las plantas inoculadas con XI_{EDSA} y ES_{SM} con las inoculadas con PG_{SB}, (Fig. 15). Las plantas inoculadas con los otros consorcios fueron similares estadísticamente incluyendo al testigo. A los 24 DDI se observaron diferencias en las plantas inoculadas con XI_{EDSA} que presentó diferencias con BE_{SB} y el testigo. Los complejos XI_{EDSA}, ES_{SM}, JU_{SM}, CO_{EDSA} y MI_{SM}, fueron similares entre sí, así como los complejos BE_{SB}, JU_{EDSA}, CO_{EDSA} y MI_{SM} y PG_{SB} fueron estadísticamente similares al testigo. A los 32 DDI los complejos XI_{EDSA}, ES_{SM}, JU_{SM}, CO_{EDSA} presentaron igualdad estadística y diferencias con el testigo, y los complejos BE_{SB}, MI_{SM} y PG_{SB} fueron estadísticamente similares al testigo (Cuadro 17). El mayor tamaño de planta fue para aquellos inoculados con XI_{EDSA} y los menores con PG_{SB}, el cual fue aún menor en altura.

Cuadro 17. Altura de plantas durante 4 semanas

Procedencia	8 DDI	16DDI	24DDI	32DDI
PG _{SB}	3.86b	4.24b	4.79 c	5.26cd
BE _{SB}	4.06ab	4.41ab	4.95bc	5.54bcd
MI _{SM}	4.6ab	5.00ab	5.61abc	6.32abcd
ES _{SM}	4.77a	5.34a	6.16ab	6.77ab
JU _{SM}	4.60ab	5.14ab	5.95abc	6.60abc
CO _{EDSA}	4.46ab	5.0 ab	5.91abc	6.69ab
XI _{EDSA}	4.44ab	5.27a	6.35a	7.17 ^a
T	4.13ab	4.66ab	4.74c	4.92d

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)

Numero de hojas. Después de 8 DDI se encontraron diferencias estadísticas significativas; el consorcio MI_{SM}, promovió la mayor cantidad de hojas presentando una similitud



estadística con los consorcios CO_{EDSA}, JU_{SM}, ES_{SM}, y XI_{EDSA} y se observaron diferencias con el testigo y los consorcios BE_{SB} y PG_{SB}. A los 16 DDI el consorcio XI_{EDSA} promovió la mayor cantidad de hojas y presentó similitud estadística con los consorcios JU_{SM}, CO_{EDSA}, MI_{SM}, PG_{SB} y ES_{SM}. Los consorcios, BE_{SB} y PG_{SB} fueron similares al testigo; a los 24 DDI la mayor cantidad de hojas se presentó en las plantas inoculadas con XI_{EDSA}, el cual fue similar estadísticamente a ES_{SM}, JU_{SM} y CO_{EDSA} y sólo las plantas inoculadas con BE_{SB} presentaron similitud con el testigo. A los 32 DDI la mayor cantidad de hojas continuó promovida por XI_{EDSA}, siendo similar estadísticamente con ES_{SM}, JU_{SM}, CO_{EDSA}, MI_{SM} y PG_{SB}; para esta fecha todos los tratamientos inoculados presentaron diferencias estadísticas con el testigo (Cuadro 18 y Fig. 16).

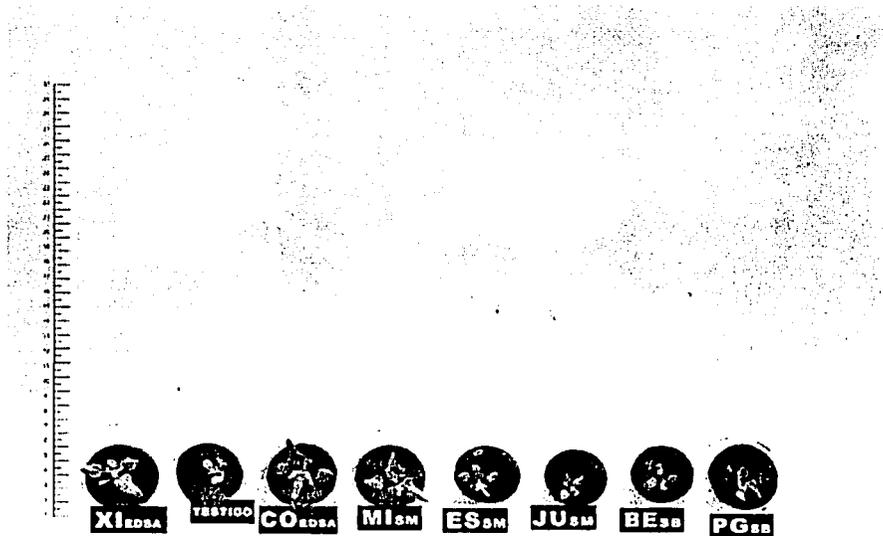


Figura 15 Respuesta de papaya con diferentes consorcios provenientes de café después de 15 días de inoculación



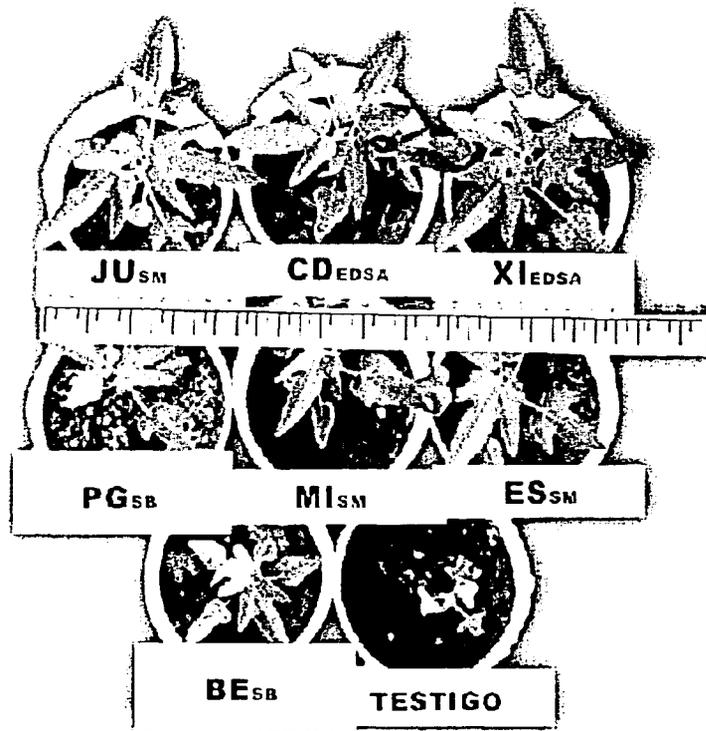


Figura 16. Plantas de papaya inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos de fincas cafetaleras

Cuadro 18. Número de hojas en plantas de papaya inoculadas con 7 consorcios micorrízicos durante 4 semanas

Procedencia	8 DDI	16DDI	24DDI	32DDI
PG _{SB}	4.70 bcd	6.30 abc	7.10bc	8.80 ab
BE _{SB}	4.30cd	5.60 bc	6.20cd	8.10 b
MI _{SM}	6.10a	7.20 a	7.60bc	8.90 ab
ES _{SM}	5.60ab	6.80ab	8.40ab	9.60 ab
JU _{SM}	5.70ab	7.10a	8.10ab	9.60 ab
CO _{EDSA}	5.40abc	7.00a	7.90ab	10.20 a
XI _{EDSA}	5.80ab	7.50a	9.10a	10.40 a
T	4.20d	5.50 c	5.10d	5.20 c

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)

En la figura 17 se pueden observar las diferencias entre plantas inoculadas con los consorcios XI_{EDSA}, JU_{SM}, MI_{SM} a los 42 DDI con respecto al testigo. Es evidente que estos consorcios de HMA promovieron un excelente desarrollo de las plantas de papaya, aún cuando no provenían del cultivo.

El peso seco del follaje mostró diferencias estadísticas significativas siendo mayor en las plantas inoculadas con CO_{EDSA}, el cual presentó similitud estadística con los complejos XI_{EDSA}, ES_{SM}, BE_{SB} y diferencias con JU_{SM}, MI_{SM}, PG_{SB} y el testigo. Los consorcios MI_{SM}, y PG_{SB} fueron estadísticamente iguales al testigo (Cuadro 19). En el peso seco de raíz el valor más alto se reportó para las plantas inoculadas con el complejo BE_{SB}, el cual fue similar a CO_{EDSA}, PG_{SB}, y MI_{SM}, y diferentes a los consorcios XI_{EDSA}, ES_{SM}, JU_{SM} y el testigo. En los consorcios todas las plantas inoculadas presentaron diferencias estadísticas con el testigo (Cuadro 19).

Cuadro 19. Peso seco de plantas de papaya a los 42 DDI

Procedencia	Peso seco	
	Follaje	raíz
XI _{EDSA}	0.79ab	0.52cd
ES _{SM}	0.74abc	0.57bcd
BE _{SB}	0.70abc	0.73a
JU _{SM}	0.64bc	0.50d
CO _{EDSA}	0.88 a	0.63abcd
MI _{SM}	0.57cd	0.69ab
PG _{SB}	0.64bc	0.65abc
T	0.17d	0.13c

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)



Ha sido probando, que la papaya es un cultivo altamente micotrófico que responde de manera exitosa a la inoculación micorrizica. Esto se ha comprobado ya que las plantas inoculadas con HMA presentan un desarrollo de plantas más grandes y vigorosas con un mayor tamaño de diámetro, área foliar y altura, resultados similares han sido reportados por otros autores (Elder, 2002; Lara, 1996; Mohandas, 1992; Trindade, 2000), contenido de P y Zn (Reddy *et al.* 1996) además de notar que pueden tolerar la sequía y presentan una mayor actividad fotosintética (Wang, 1996).

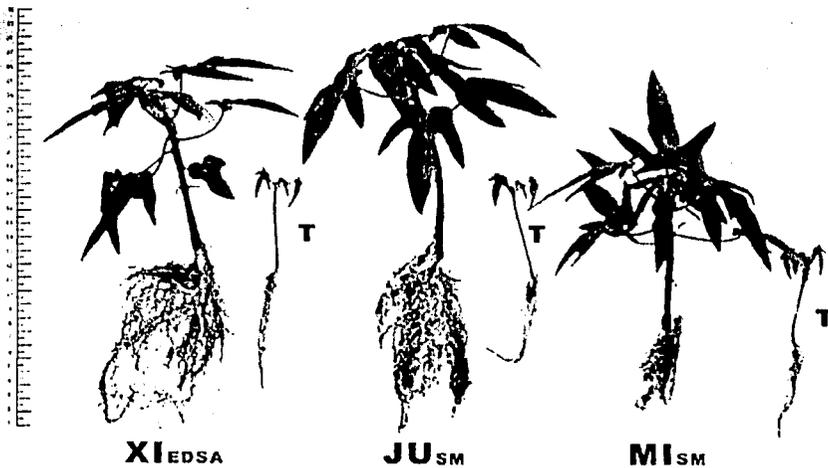


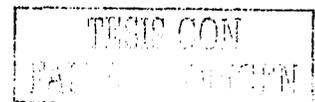
Figura 17 Comparación del desarrollo de plantas de papaya inoculadas con respecto a las testigo, observándose un buen desarrollo de la raíz y el follaje en las plantas inoculadas con los consorcios XI_{EDSA}, JU_{SM} y MI_{SM}



Los consorcios que produjeron los más altos valores de biomasa de la parte aérea, fueron XI_{EDSA} y CO_{EDSA}, los cuales se caracterizaron por tener una baja diversidad en su composición de especies (4 especies cada una) (Cuadro 21), y provienen de sistemas de producción a pleno sol. Ha sido mencionado que una baja diversidad no es desventajosa si las pocas especies son benéficas en un amplio rango de condiciones ambientales y edafológicas; aunque una diversidad de HMA podría resultar en una más sustentable y sana producción agrícola previendo que diferentes especies de hongos pueden beneficiar a la planta bajo diferentes condiciones de estrés (Sieverding, 1991). Gavito y Varela (1995) mencionan que la posibilidad de encontrar especies inefectivas en las regiones tropicales es alta, por lo que habría que ser cuidadoso y se requiere de más estudios.

Otra posible forma de explicar la eficiencia de los consorcios XI_{EDSA} y CO_{EDSA} en papaya, podría ser atribuida al hecho de que ésta, es un cultivo de sol y los consorcios provienen de un ambiente soleado. Sin embargo la relación entre condiciones de procedencia del inóculo y los requerimientos ambientales de la planta aún deben ser estudiados.

El peso seco de la raíz, presentó valores más bajos que el follaje; debido a que en las plantas micorrizadas puede haber una disminución en el desarrollo de la longitud de raíz (Berta *et al.* 1995; Eltrop 1996); algunos trabajos han reportado que la raíz larga es la primaria, tendría, entonces, un mayor peso, un sistema radicular con mayor cantidad de raíces secundarias, poseyendo una mayor superficie de absorción, lo que se podría traducir en un menor peso de raíz, pero con un mejor desarrollo de follaje, debido al aporte de nutrimentos y agua. Por otra parte, hay un costo de carbono para mantener la raíz, mismo que pudiera ser aprovechado por los HMA (Douds *et al.* 2000; Graham *et al.* 1996; Rygiewicz *et al.* 1994; Peng *et al.* 1993).



6.4.2 Respuesta de café a siete consorcios de hongos micorrízicos bajo condiciones de invernadero y campo

6.4.2.1 Desarrollo en invernadero

Siete semanas DDI, aun cuando no se detectaron diferencias estadísticas, se observó diferente respuesta de crecimiento de las plantas de café a los consorcios probados (Fig. 18).

Altura. Efectos significativos fueron mostrados para las variables evaluadas 90 días después de la inoculación (DDI) (Fig. 19). Plantas con los complejos nativos presentaron diferencias notorias; sin embargo, sólo el complejo ES_{SM} mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) con respecto al testigo (Cuadro 20). El diámetro del tallo también se encontraron diferencias significativas ($P < 0.001$) entre las plantas inoculadas con complejos MI_{SM}, ES_{SM}, JU_{SM} y el testigo. Los complejos BE_{SB}, PG_{SB}, CO_{EDSA} y XI_{EDSA}, así como el tratamiento fertilizado, presentaron igualdad estadística con el testigo. El número de hojas también mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$); las plantas inoculadas con el consorcio MI_{SM} presentaron la mayor cantidad de hojas, pero similares estadísticamente al testigo y mostró diferencias con CO_{EDSA} y las fertilizadas con fósforo; los demás presentaron igualdad estadística (Cuadro 20).

Cuadro 20. Respuesta de crecimiento en invernadero de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrízicos 90 DDI

Tratamientos	Características de crecimiento		
	Altura (cm)	Diámetro del tallo(mm)	Número de hojas
MI _{SM}	7.93ab	0.75ab	7.5 ^a
ES _{SM}	8.18 ^a	0.76a	7.2ab
JU _{SM}	7.43ab	0.75ab	6.75abc
BE _{SB}	7.22ab	0.68abc	6abc
PG _{SB}	6.5abc	0.71abc	6.75abc
CO ₉	5.22c	0.63abc	5.5bc
XI _{EDSA}	5.12c	0.53c	6.25abc
Fertilizado	6.23bc	0.53c	5.37c
Testigo	6.23bc	0.52c	6.25abc
F	8.02	4.84	3.48
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0023
GL	63	63	63
CV	17.24	19.06	17.30

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$)

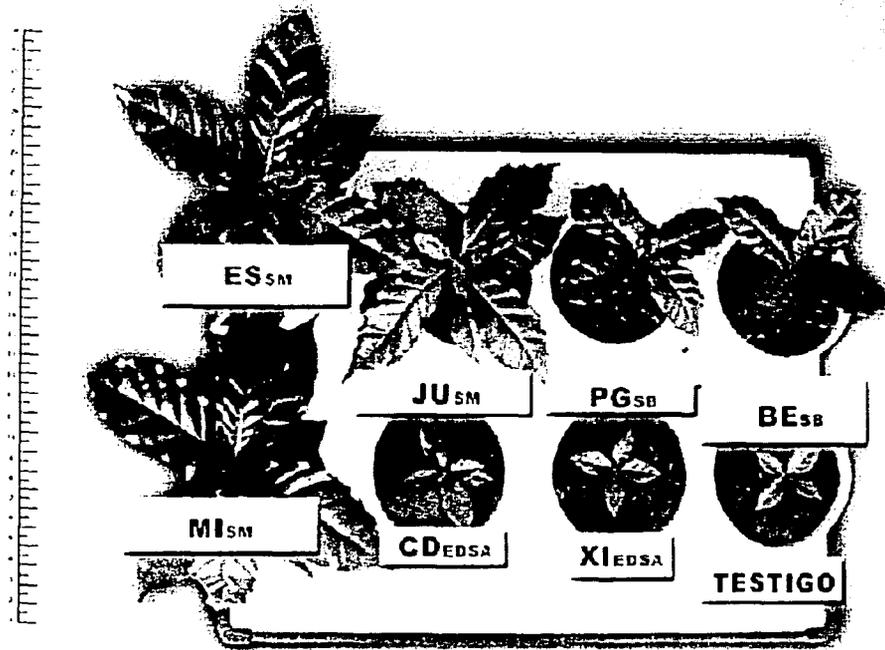


Figura 18. Plantas de café inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos, siete semanas después de la inoculación, se aprecia la variabilidad en la efectividad de los consorcios

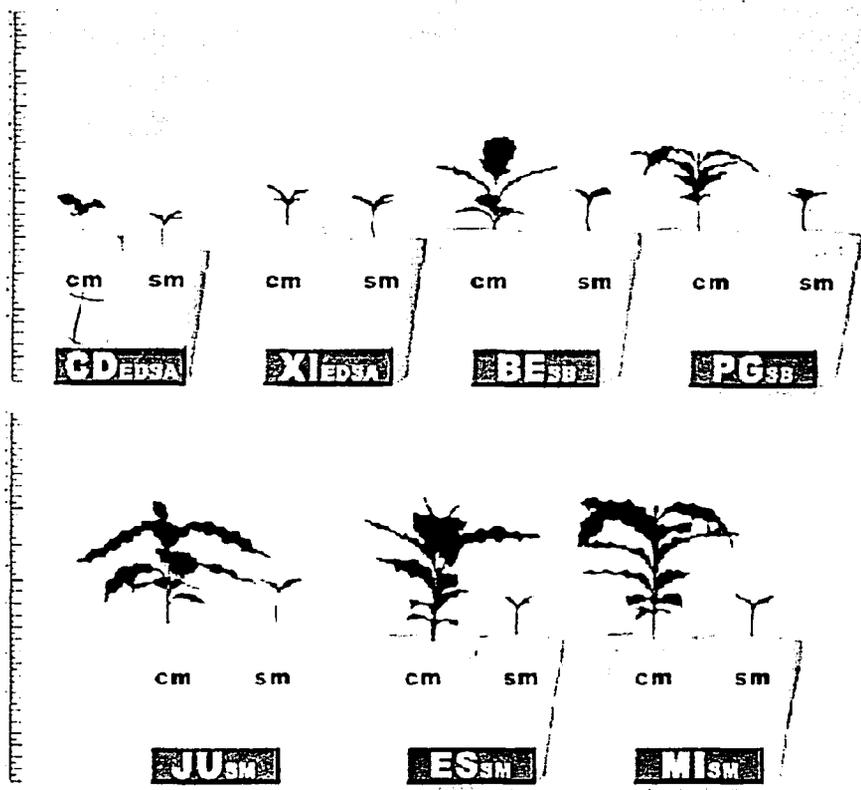


Figura 19. Plantas de café inoculadas con los diferentes consorcios de HMA nativos, en invernadero 90 días después del trasplante

A los 97 DDI el mayor tamaño se presentó por efecto de la cepa y sólo los complejos XI EDSA y CO EDSA fueron estadísticamente similares al testigo. A partir de esa fecha y por espacio de 30 días la tendencia en el crecimiento, por efecto de los siete consorcios nativos de HMA se mantuvo constante (Fig. 20).

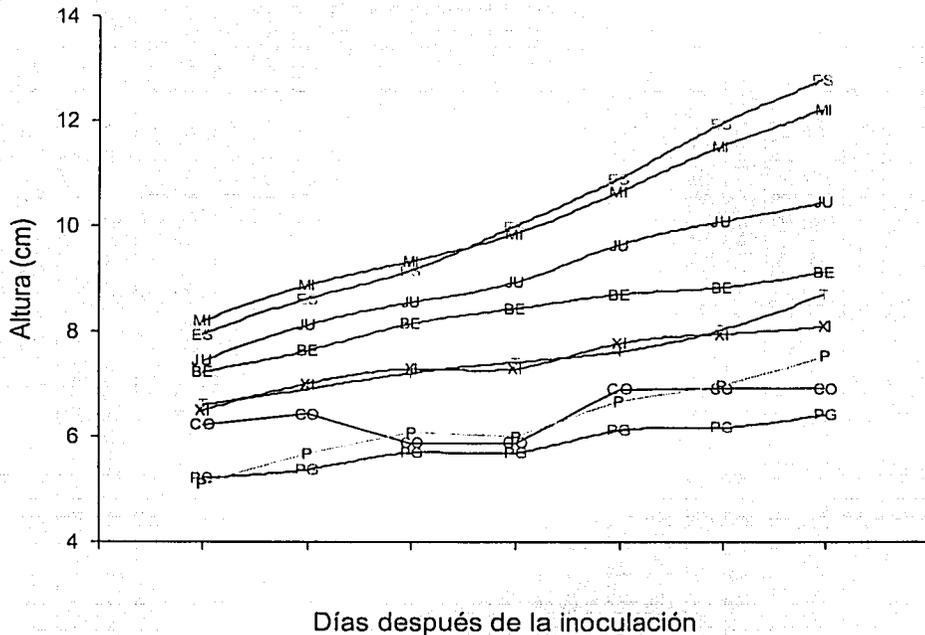


Figura. 20 Tamaño de las plantas de café durante 130 DDI

Las plantas inoculadas con los consorcios nativos MI_{SM}, ES_{SM}, JU_{SM}, BE_{SB} presentaron diferencias estadísticas significativas con respecto al testigo en altura; las plantas inoculadas con los consorcios PG_{SB}, CO_{EDSA}, y XI_{EDSA} presentaron igualdad estadística con el testigo (Fig. 20).



Aunque las plantas con los consorcios PG_{SB} y XI_{EDSA} presentaron igualdad estadística con el testigo, propiciaron un incremento de 16.68% y 8.52% respectivamente; sin embargo, el tamaño de las plantas inoculadas con CO_{SM} fueron incluso 1.22% menores.

El diámetro de las plantas inoculadas con los complejos MI_{SM}, ES_{SM}, JU_{SM}, BE_{SB} y PG_{SB} fueron diferentes al testigo y los complejos CO_{EDSA}, y XI_{EDSA}, y el testigo fertilizado presentó igualdad estadística. Un comportamiento similar se observó en el número de hojas (Cuadro 21).

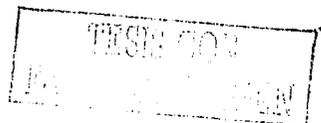
Cuadro 21. Respuesta de crecimiento en invernadero de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrízicos 130 DDI.

Tratamientos	Características de crecimiento		
	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
MISM ₉₉	12.75a	1.01a	10.5a
ES _{SM}	12.18ab	0.96a	11a
JU _{SM}	10.43cb	0.95a	10.2a
BE _{SB}	9.11c	0.88ab	9.25ab
PG _{SB}	8.07cd	0.93abc	9ab
CO _{EDSA}	7.51de	0.73bcd	8cb
XI _{EDSA}	6.42e	0.70bcd	7.25ab
Fertilizado	6.60e	0.68cd	9.25ab
Testigo	6.92e	0.60d	6c
F	29.33	12.15	11.80
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0001
GL	63	63	63
CV	13.61	14.27	14.90

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)

Durante 130 DDI la cantidad de hojas no varió considerablemente, aunque a los 102 DDI, la cantidad de hojas en el testigo fue mayor que en las plantas inoculadas con los complejos PG_{SB}, CO_{EDSA} y XI_{EDSA} y el fertilizado con fósforo; sin embargo, después de los 109 DDI, el número de hojas en el testigo disminuyó ligeramente con respecto a los demás tratamientos (Fig. 21).

La respuesta positiva del café a la inoculación micorrízica expresada en peso seco, área foliar, número de hojas, altura entre algunas variables de crecimiento ha sido reportada en diversos trabajos (Souza y Siqueira, 1991; Vaast y Zasoski, 1992; Siqueira *et al.*, 1996; Trejo 1997; Siqueira *et al.*, 1998; Bhattacharya y Bagyaraj, 2002; Osorio *et al.*, 2002).



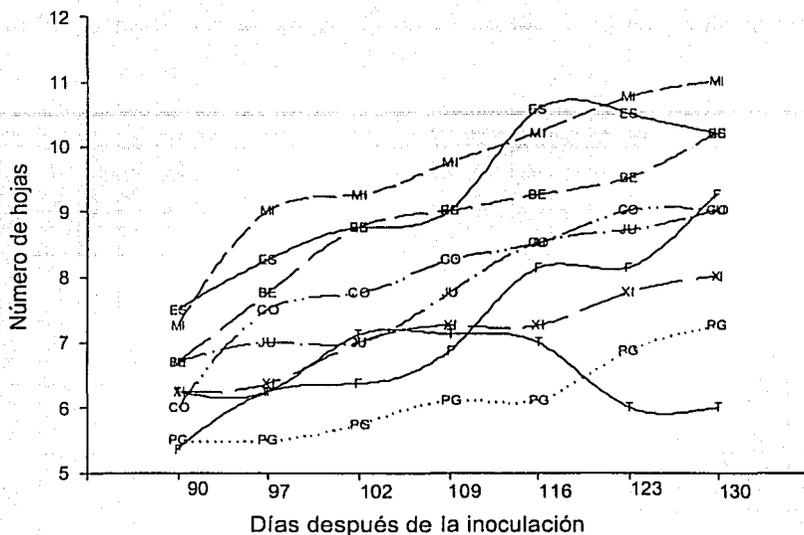


Figura. 21. Número de hojas de las plantas de café durante 130 DDI

El efecto promovido por los complejos CO_EDSA y XI_EDSA en las plantas de papaya no se expresó de igual manera en las plántulas de café durante su estancia en el vivero; aun después de 130 DDI no se mostraron diferencias estadísticas con el testigo en ninguna de las variables estudiadas. Estos consorcios provienen de un ambiente soleado y parece ser que no fueron eficientes en condiciones de media sombra que es como se establece un plantel de café. Posiblemente porque las especies que componen este inóculo no están adaptadas a un ambiente sin exposición directa al sol aunque Abbott y Robson (1991) señalan que las poblaciones de HMA podrían ser capaces de ajustarse a cambios graduales en ambientes sin cambios abruptos Vosatka *et al.*, (1998) encontró que los aislamientos de HMA presentan una adaptación ecológica al estrés de suelos contaminados y que posiblemente haya una habilidad de las poblaciones de HMA para adaptarse a una estrés crónico y mantener las características de adaptación bajo condiciones de estrés continuas: el efecto encontrado en las condiciones continuas de estrés por contaminación de suelo,



podrían ser análogas a las condiciones de estrés por exposición directa al sol y al cambiarlas a sombra dejan de ser funcionales.

El complejo MI_{SM} fue el más eficiente en café y produjo los valores más altos de altura, diámetro y número de hojas antes de ser transplantadas, en contraste con papaya, a pesar de que se inoculó en la misma época, y crecida en condiciones ambientales semejantes, no produjo ningún efecto en las plantas de papaya, dado que no se observaron diferencias estadísticas entre las plantas inoculadas y el testigo. El consorcio MI_{SM} proviene de una finca bajo sombra, que en invernadero y durante el desarrollo del experimento se mantuvo en condiciones de luz similares a las de origen.

En este caso se observó que la efectividad de los HMA de estos consorcios nativos presentan cierta selectividad por sus hospedantes, aunque existen algunos consorcios que son igualmente efectivos en cualquier tipo de hospedantes como es el caso de Zac-19; consorcios compuestos por *Glomus albidum*, *Glomus claroides* y *Glomus diaphanum* (Davies *et al.*, 2000) y que han probado ser muy eficientes en fresa, chile ancho, café y otros hospedantes más (Trejo, 1997; Alarcón *et al.*, 2000; Davies *et al.*, 2000; Estrada-Luna *et al.*, 2000).

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo podrían sugerir que existe una compatibilidad funcional entre las especies que conforman los diferentes consorcios y las plantas hospederas, aun cuando en todos los casos se encontró colonización, la efectividad no fue la misma, efectos similares fueron encontrados por Ravnskov y Jakobsen (1995), quienes encontraron en plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) y lino (*Linum usitatissimum*), inoculados con *Glomus caledonium* y *Glomus invermaium* que la simbiosis difirió marcadamente con respecto a la compatibilidad funcional como la entrada de fósforo, la cual dependió de las especies de plantas hospederas; el transporte de P fue alto en *G. caledonium* en simbiosis con las tres especies de plantas, mientras que *G. invermaium* transportó cantidades significativas sólo cuando fue asociado con lino. Consecuentemente, determinaron que la efectividad en el transporte de P es incrementado sólo en el contexto de su asociación con las especies de plantas hospederas.

Los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} constan de 10 especies de HMA, en contraste los consorcios XI_{EDSA} y CO_{EDSA} están constituidos por 4. Según Gavito y Varela (1995), la participación de un número elevado de especies representa la suma de todas las posibles interacciones en una mezcla de diferentes habilidades competitivas, fisiológicas e infectivas. Por otra parte, diferentes comunidades de HMA pueden tener efectos variables en el crecimiento de las plantas; sin embargo, aunque la diversidad de éstas juega un papel importante, es de considerarse la abundancia de cada una de ellas en la composición de la comunidad, ya que determina el efecto del crecimiento de las plantas (Lovelock y Morton, 2001).

Colonización de la raíz. En 130 DDI la intensidad de la colonización varió estadísticamente entre los consorcios. Los valores más altos de colonización se reportaron para PC_{SB} con 90.22% de colonización que fue estadísticamente similar a JU_{SM} y MI_{SM}. Los más bajos porcentajes se presentaron en XI_{EDSA} y CO_{EDSA} (Fig. 22).

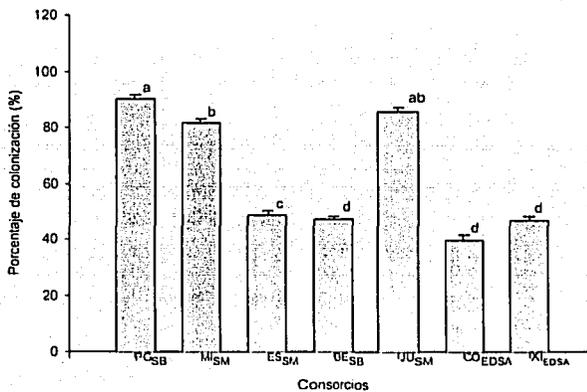


Figura. 22. Colonización micorrizica en plantas de café antes del trasplante a campo 130 días después de la inoculación

Los resultados indican que no es posible definir diferencias, ya que hay una tendencia entre la eficiencia y la colonización pues los porcentajes mayores de colonización no siempre coinciden con el mayor efecto.

6.4.2.2 Desarrollo en campo de plantas inoculadas con hongos micorrízicos

A los 30 días después del trasplante a campo, el efecto del crecimiento promovido por los consorcios micorrízicos MI_{SM} , ES_{SM} , JU_{SM} , BE_{SB} y PG_{SB} , resultaron en plantas más altas, fuertes y vigorosas, con mayor número de hojas y diámetro que el testigo (Fig. 23). Los valores más altos de altura se presentaron en plantas inoculadas con MI_{SM} que presentó diferencias estadísticas respecto a las plantas inoculadas con los consorcios BE_{SB} , PG_{SB} , XI_{EDSA} y CO_{EDSA} , así como el fertilizado y el testigo. Las plantas inoculadas con el consorcio ES_{SM} presentaron igualdad con las de los consorcios MI_{SM} , JU_{SM} , BE_{SB} y PG_{SB} y el fertilizado y fueron diferente con el testigo. Las plantas con los consorcios JU_{SM} , BE_{SB} , PG_{SB} , XI_{EDSA} y CO_{EDSA} y las plantas fertilizadas mostraron igualdad estadística con el testigo (Cuadro 22).

El mayor tamaño de diámetro de las plantas inoculadas con el consorcio MI_{SM} que presentó diferencias con los complejos XI_{EDSA} y CO_{EDSA} , así como el fertilizado y el testigo; los demás tratamientos no presentaron diferencias estadísticas entre ellos y el testigo (Cuadro 22).

El complejo MI_{SM} , promovió la mayor cantidad de hojas y presentó similitud estadística con los consorcios ES_{SM} , JU_{SM} , BE_{SB} , PG_{SB} y CO_{EDSA} ; el fertilizado sólo presentó diferencias con el consorcio XI_{EDSA} y el testigo. Todas las plantas micorrizadas presentaron diferencias con el testigo (Cuadro 22).

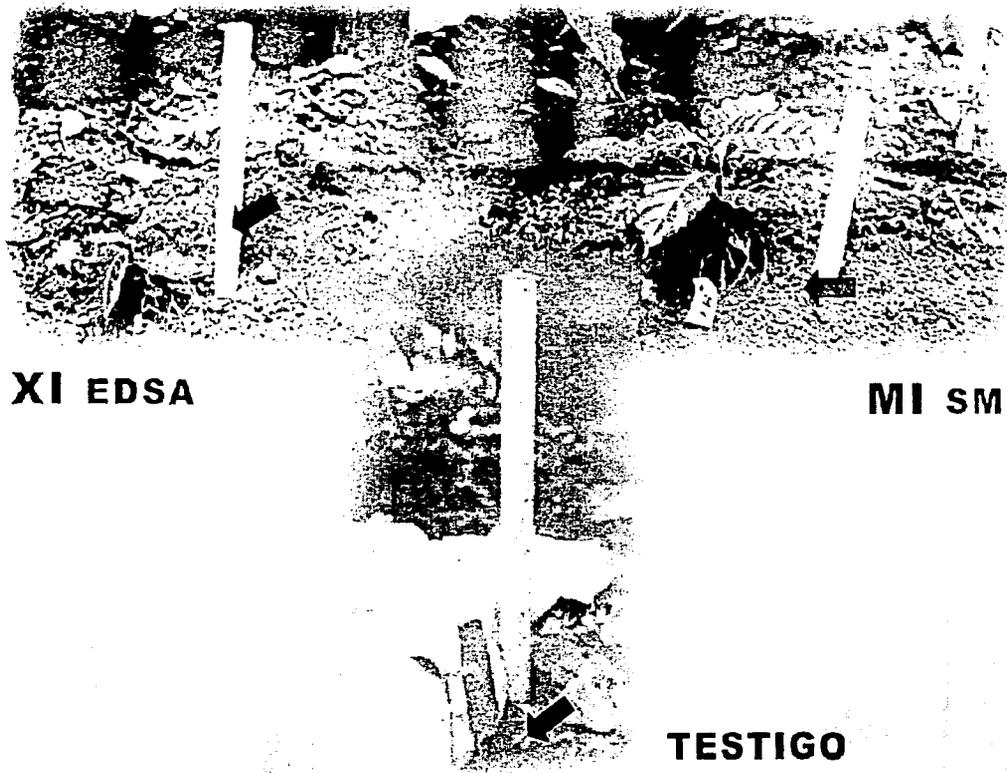


Figura 23 Desarrollo de las plantas inoculadas con hongos micorrizicos bajo condiciones de campo, se observan las diferencias entre consorcios y con el testigo

Cuadro 22. Respuesta de crecimiento de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos 30 DDT

Tratamientos	Características de crecimiento		
	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
MI _{SM}	15.27a	1.07a	12.5a
ES _{SM}	13.15ab	0.92ab	13a
JU _{SM}	10.70abc	0.90ab	9.7ab
BE _{SB}	9.62cb	0.80ab	10.5ab
PG _{SB}	8.67cb	0.77ab	9b
CO _{EDSA}	6.85c	0.55b	9.5ab
XI _{EDSA}	7.87c	0.60b	9b
Fertilizado	9.17cb	0.65b	10ab
Testigo	7.05c	0.62b	3.7c
F	7.90	1.03	11.01
Pr > F	0.0011	0.0030	0.0001
GL	27	27	27
CV	20.17	22.06	16.47

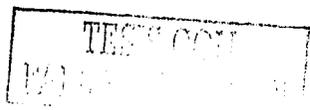
Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)

A los 60 DDT las plantas inoculadas con el consorcio MI_{SM} siguieron presentando los mayores valores para altura y sólo presentaron similitud estadística con el consorcio ES_{SM}, el cual presentó igualdad estadística con MI_{SM}, JU_{SM}, BE_{SB}, PG_{SB} y el fertilizado. Todos los demás tratamientos mostraron igualdad con el testigo (Cuadro 23). En diámetro se presentó una similitud estadística entre los complejos MI_{SM}, JU_{SM}, BE_{SB}, PG_{SB}, XI_{EDSA} y el complejo CO_{EDSA}, así como el testigo; fueron diferentes con respecto a los otros tratamientos. En el número de hojas sólo se observaron diferencias entre el consorcio MI_{SM} y el testigo (Cuadro 23).

Cuadro 23. Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con 7 consorcios de hongos micorrizicos 60 DDT

Tratamientos	Características de crecimiento		
	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
MI _{SM}	17.12a	1.17a	13.5a
ES _{SM}	13.75ab	1.12ab	13ab
JU _{SM}	11.37ab	0.97abc	9.5ab
BE _{SB}	10.65cb	0.82abc	8.75ab
PG _{SB}	8.92cb	0.90abc	9ab
CO _{EDSA}	7.5c	0.72c	8.25ab
XI _{EDSA}	8.18c	0.8abc	9.5ab
Fertilizado	9.4777cb	0.77ab	8.75ab
Testigo	7.02c	0.67c	5.25b
F	9.05	1.60	2.25
Pr > F	0.0001	0.0013	0.0554
GL	27	27	27
CV	20.55	18.33	34.08

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)



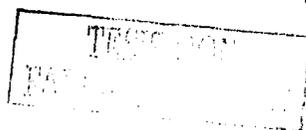
A los 90 DDT se presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.0001$) para la variable altura y diámetro; significativas ($P < 0.0118$) para número de hojas. Los valores mas altos fueron provocados por el consorcio MI_{SM} en todas las variables. Los consorcios ES_{SM} , MI_{SM} y JU_{SM} fueron similares entre si en altura y diferentes a los demás consorcios los cuales fueron similares al testigo en diámetro y número de hojas sólo el consorcio MI_{SM} fue diferente (Cuadro 24).

Cuadro 24. Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos micorrízicos 90 DDT

Tratamientos	Altura (cm)	Características de crecimiento Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
MI_{SM}	20.15a	1.3a	15.75a
ES_{SM}	17.7ab	1.2ab	14.25ab
JU_{SM}	12.3ab	1.07ab	10.5ab
BE_{SM}	11c	1.07b	6.7ab
PG_{UV9}	9.80c	1.07b	10.5ab
CO_{EDSA}	8.22c	1.05b	9ab
XI_{EDSA}	9.8c	1b	8ab
Fertilizado	10.12c	1.02b	10.25ab
Testigo	6.7c	1.b	5.25b
F	12.05	3.63	3.01
$Pf > F$	0.0001	0.0057	0.0168
GL	27	27	27
CV	21.87	10.91	38.63

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$)

A los 120 DDT se encontraron diferencias altamente significativas para la variable altura y diámetro ($P < 0.0001$) y para el número de hojas ($P < 0.0123$). En altura los consorcios MI_{SM} , ES_{SM} y JU_{SM} fueron similares entre sí y diferentes al testigo; el consorcio MI_{SM} fue diferente a JU_{SM} , BE_{SB} , PG_{UV9} , CO_{SB} y XI_{EDSA} y al tratamiento fertilizado y el testigo. Los consorcios BE_{SB} , PG_{SB} , CO_{EDSA} , XI_{EDSA} fueron estadísticamente similares al testigo; un comportamiento similar se observó en el diámetro de tallo. En el número de hojas sólo MI_{SM} fue diferente al testigo y todos los demás tratamientos presentaron similitud estadística (Cuadro 25).



Cuadro 25. Respuesta de crecimiento en campo de plantas de café inoculadas con siete consorcios de hongos micorrizicos 120 DDT

Tratamientos	Características de crecimiento		
	Altura (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de hojas
MI _{SM}	22.5a	3.85a	19a
ES _{SM}	19.32ab	3.09ab	15.7ab
JU _{SM}	13.22ab	3ab	10.2ab
BE _{SB}	11.47c	1.89b	8.7ab
PG _{SB}	10.55c	2.17b	10ab
CO _{EDSA}	8.5c	1.58b	9.25ab
XI _{EDSA}	10.20c	1.80b	9ab
Fertilizado	9.5c	1.61b	10ab
Testigo	7.02c	1.58b	5.5b
F	13.41	6.37	5.13
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0123
GL	27	27	27
CV	22.56	28.56	42.26

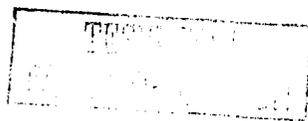
Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.0001$)

Los incrementos con respecto al testigo en el crecimiento de las plantas en campo no fueron los mismos que en invernadero después de 120 días ya que en invernadero se detectaron incrementos menores.

Se observó una tendencia similar a la de invernadero en los efectos de los consorcios sobre la altura, grosor del tallo y número de hojas. Las plantas inoculadas con los consorcios CO_{EDSA}, XI_{EDSA}, y el fertilizado que en invernadero habían mostrado decrementos en tamaño durante su estancia en vivero; una vez trasplantadas a campo presentaron un desarrollo mayor que el testigo; aunque en altura eran menores presentaron incrementos en grosor del tallo y número de hojas. Un tallo más vigoroso permitió un mejor desarrollo de las plantas ya que es la estructura de la planta y soporte de las hojas, además del sistema de transporte de agua y nutrientes lo que conecta las raíces con las hojas (Urban *et al.*, 1994).

Una mayor área fotosintética expresada por el mayor número de hojas permitirá un mejor desarrollo de planta, así como del hongo (Wright *et al.*, 1998), lo que proporciona una mayor posibilidad de desarrollo de la planta una vez trasplantada a campo.

El área foliar fue estadísticamente diferente entre las plantas inoculadas con MI_{SM}, ES_{SM} y PG_{SB} y el testigo; el consorcio MI_{SM} y ES_{SM} presentaron diferencias entre sí y fueron



diferentes a todos los demás tratamientos; PG_{SB} presentó similitud estadística con los complejos JU_{SM} BE_{SB}. Los tratamientos JU_{SM}, BE_{SB}, CO_{EDSA}, XI_{EDSA} y Fertilizado fueron similares al testigo (Cuadro 26).

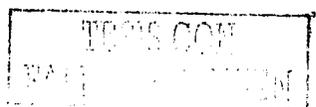
Cuadro 26. Área foliar de las plantas de café a los 330 DDI.

Procedencia	Área foliar
MI _{SM}	1525.6 a
ES _{SM}	1084.7b
JU _{SM}	288.1 dc
BE _{SB}	341.11dc
PG _{SB}	587.7c
CO _{EDSA}	217.8d
XI _{EDSA}	129.4d
Fertilizado	130.5d
Testigo	60.8d
F	50.73
Pr > F	0.0001
GL	36
CV	33.26

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo a la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.0001)

La expansión del área foliar es la resultante del control hormonal que tienen las plantas, asumiendo que éstas tienen un oportuno aporte de nutrimentos y agua. Una mayor área fotosintética expresada por el mayor número de hojas permitirá un mejor desarrollo de planta, así como del hongo (Wright *et al.*, 1998), lo que proporciona una mayor posibilidad de desarrollo de la planta una vez trasplantada a campo. Aunque los consorcios CO_{EDSA} y XI_{EDSA} no presentaron diferencias estadísticas significativas, propiciaron un incremento con respecto al testigo de 112.82% y 114.63%, respectivamente.

El peso seco de la parte aérea varió significativamente entre los complejos MI_{SM} ES_{SM} PG_{SB} comparadas con las plantas fertilizadas e inoculadas con los complejos JU_{SM} BE_{SB} CO_{EDSA} XI_{EDSA} y el testigo. El peso seco de la raíz sólo fue significativamente incrementado en las plantas inoculadas con MI_{SM} y ES_{SM}. Todos los demás tratamientos presentaron similitud estadística (Fig. 24).



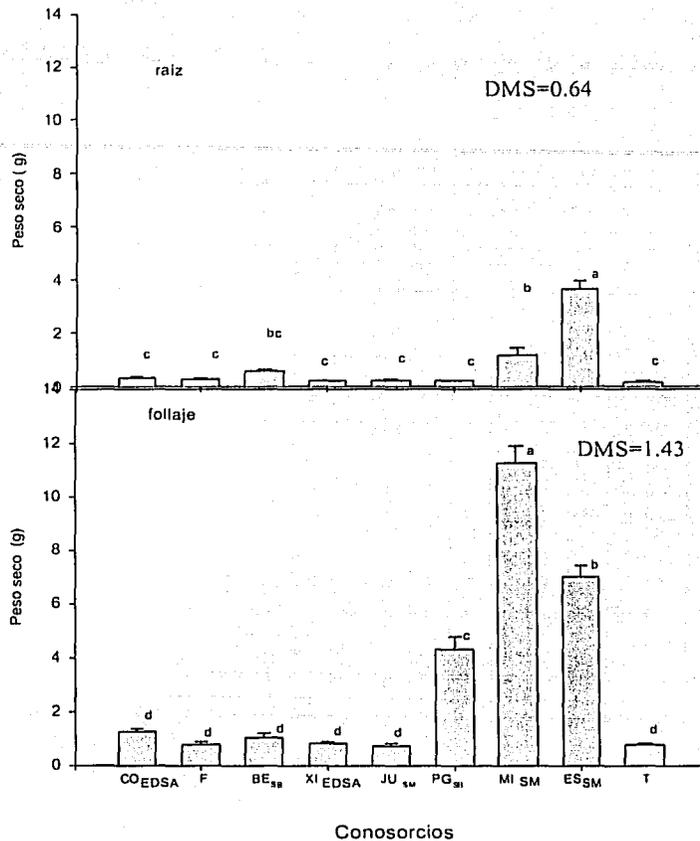
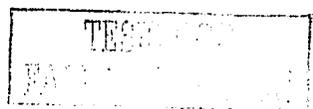


Figura. 24 Peso seco de la raíz y follaje en plantas de café bajo condiciones de campo, donde se observa que los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} promueven el mejor desarrollo.

Las diferencias en biomasa entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas representan el beneficio derivado de la asociación micorrízica. Al-Karaki (1998), determinó el efecto de la inoculación micorrízica en el crecimiento costo-beneficio y uso eficiente del agua en dos genotipos de trigo bajo condiciones de estrés hídrico y con buen aporte de agua; encontró también que la biomasa y la colonización de las raíces fueron mayores para condiciones de



buen aporte hídrico, pero las plantas micorrizadas fueron más eficientes en el uso de agua que las no micorrizadas; la diferencia entre el peso seco de la parte aérea entre plantas micorrizadas y no representa el beneficio derivado de raíces micorrizadas; el valor del costo/benéfico para las asociaciones fue mayor cuando fueron sometidas a condiciones de estrés.

A los 320 DDT las plantas inoculadas mostraron un desarrollo considerable (Fig. 25) en comparación con el testigo, incluso con aquellos consorcios que en condiciones de invernadero no mostraron gran diferencia con el testigo.

6.4.2.2.1 Supervivencia de las plantas al trasplante

Treinta días después del trasplante (DDT), sobrevivieron el 100% de las plantas inoculadas con los complejos MI_{SM} , ES_{SM} y BE_{SB} , así como las testigo; sin embargo, el 12.5% de las plantas inoculadas con JU_{SM} y CO_{EDSA} así como las fertilizadas, y el 25% de las plantas del consorcio XI_{EDSA} , murieron (Fig. 26).

Los porcentajes de supervivencia disminuyeron considerablemente durante los siguientes 190 DDT (324 DDI), observándose que las plantas con una procedencia vigorosa y de mayor área foliar en vivero (MI_{SM} y ES_{SM}) presentaron una mejor adaptación en campo. Los porcentajes de supervivencia más bajos se presentaron después de un periodo fuerte de sequía y alta temperatura (Fig. 27).

Como ya ha sido demostrado en diversos estudios, la supervivencia de las plantas micorrizadas fue mayor que las fertilizadas y sin micorriza, ya que éstas cuentan con un sistema biológico que les permite una mejor y rápida adaptación a las condiciones adversas del trasplante. La inoculación micorrizica lleva a incrementar el crecimiento y la entrada de P y Zn en plantas jóvenes de café durante su fase de invernadero (López *et al.*, 1985) e incrementa la tolerancia a los nemátodos (Baon *et al.*, 1994).



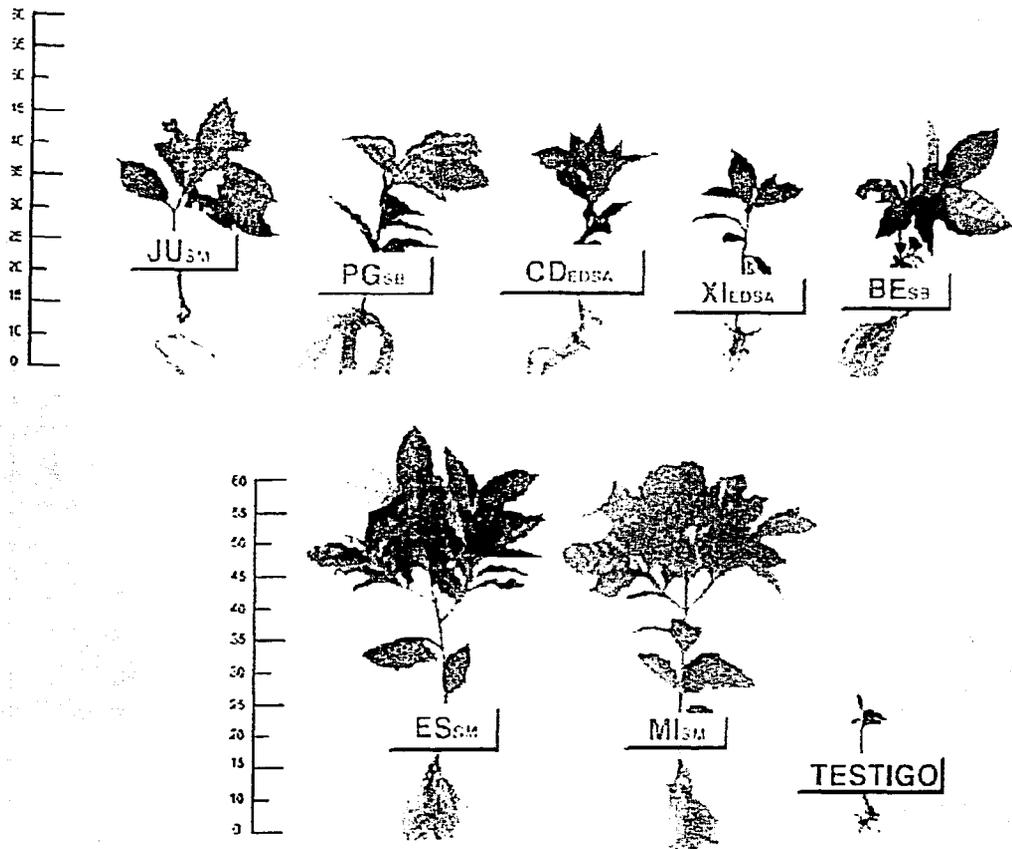


Figura 25 Plantas de café inoculadas con diferentes consorcios de HMA y transplantadas en una finca con "corchosis, donde los consorcios micorrizicos ES_{SM} y MI_{SM} presentaron los mejores efectos

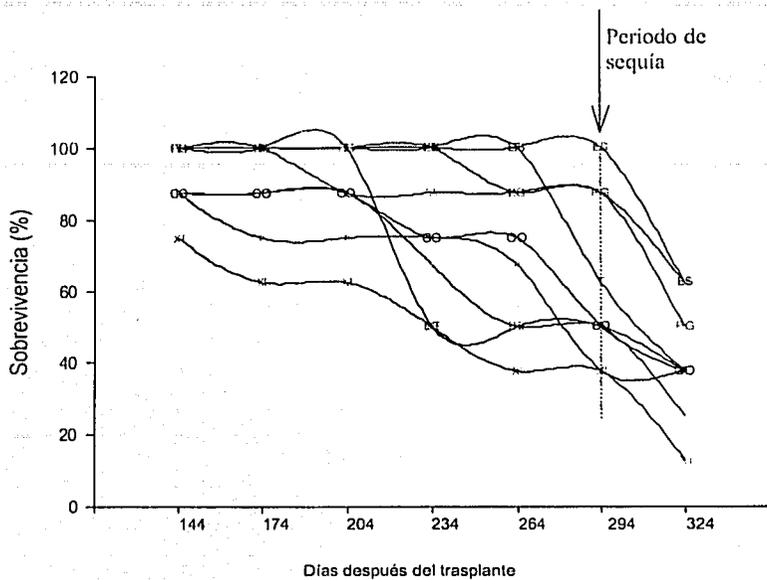


Fig. 26. Supervivencia de las plantas de café después del trasplante a campo.

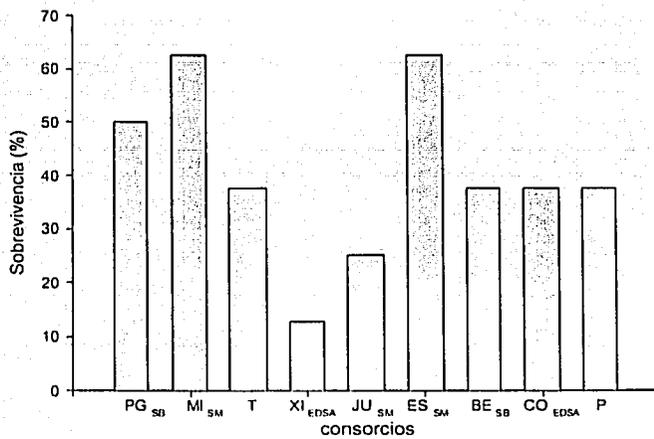
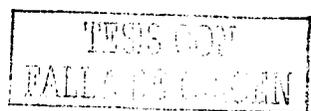


Figura. 27. Supervivencia de las plantas de café ocho meses días después del trasplante a campo.



6.4.2.2 Colonización micorrízica

Después de 210 DDT las plantas inoculadas mostraron colonización micorrízica (37.50% a 57.50%); no presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos. Las observaciones al microscopio compuesto mostraron la presencia de hifas, arbuscúlos y vesículas en el tejido cortical sólo en raíces sanas. No se detectó colonización micorrízica como resultado de la colonización por HMA nativos, aún después de siete meses de establecidas las plantas en campo.

6.4.2.3 Micorriza nativa

En plantas de café ya establecidas (Fig. 28), no se observó colonización micorrízica en ninguno de los 7 muestreos realizados mensualmente, a pesar de que estas plantas contaban con 15 años de establecidas en campo. El potencial infectivo de esa finca fue de 2.96 y la cantidad de micelio extrarradical fue de 338.81 mm/g. Se cuantificaron 2282 esporas/100g de suelo y sólo el 14.8% (en promedio) resultaron viables.

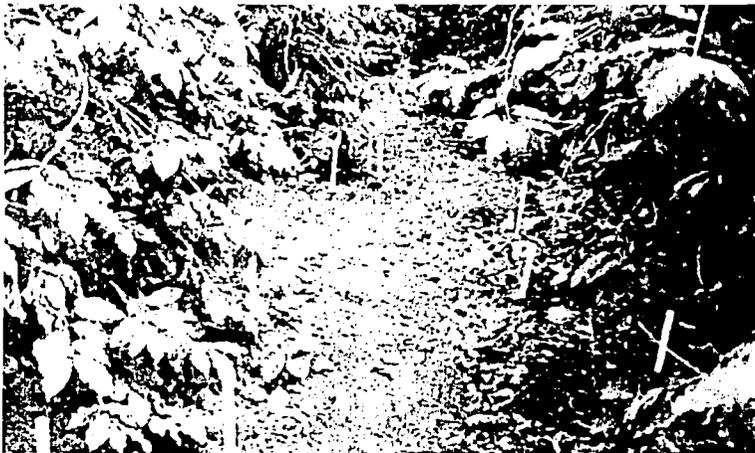


Figura. 28. Plantas de café en edad productiva en una finca infestada con "corchosis", en las cuales no se observó colonización micorrízica

Varios factores podrían ser atribuidos a la ausencia de la colonización micorrízica en las plantas de café ya establecidas.

Las raíces parasitadas por los nemátodos no representan un tejido adecuado para los hongos micorrízicos, ya que hay una competencia por espacio y por nutrientes (Ingham 2003). Dentro de las raíces los nemátodos pueden físicamente modificar el tejido y causar alteraciones fisiológicas, lo cual impide la dispersión interna del micelio (Brussaard *et al.*, 2001).

Una situación similar fue reportada por Atilano *et al.*, (1981) quienes encontraron que *Meloidogyne arenaria* puede inhibir el desarrollo de *G. fasciculatum*; ellos suponen que una de las causas es que el nemátodo invade el tejido de la raíz y se desarrollan las células que forman las agallas, por lo que el transporte de agua y metabolitos es alterado interfiriendo con el movimiento de los fotosintatos requeridos por los HMA y, por otra parte, una vez que las raíces son afectadas por el nemátodo, llegan nuevos patógenos que destruyen el tejido cortical donde coloniza el HMA.

Otra de las causas por las que no se encontró colonización micorrízica podría ser atribuida a la asociación con cambios en la composición microbiana de la rizosfera, ejemplificada por la micorrización ayudada por bacterias y otros organismos (Fitter y Garbaye , 1994).

Por otra parte, el tiempo de inoculación es una variable importante para el establecimiento de la micorriza; si el suelo de la finca cafetalera ya estaba infestada con nemátodos o la planta estaba desde vivero infectada, es posible que estando el tejido cortical destruido y ocupado por los nemátodos esto sea lo que limitó el progreso de la simbiosis micorrízica antes de ser establecida. Varios estudios han demostrado que la infección previa con el nemátodo inhibe o disminuye la colonización de los HMA (Forge *et al.*, 2001; Suresh y Bagyaraj, 1984; Talavera *et al.*, 2001).

En café, Vaast *et al.*, (1997) encontraron que la inoculación temprana (4 meses antes de la inoculación del nemátodo) con cualquier especie de HMA, mejora la tolerancia de la planta a *Pratylenchus coffeae* y pesar de la presencia de altas densidades de nemátodos, se

encontraron pocas lesiones y más localizadas en las raíces de las plantas inoculadas. En cambio, en una inoculación tardía, la población de HMA (simultánea a la inoculación del nemátodo) se redujo en un 60% cuando las plantas fueron infectadas por nemátodos y resultó en una mayor penetración y reproducción de los mismos.

Al no encontrar colonización en la finca estudiada, las bondades de la simbiosis no se presentan, Ingham (2003) señala que por lo menos el 12% del sistema radical debería ser colonizado para obtener los beneficios mínimos requeridos de la interrelación simbiótica. Colonizaciones por arriba de 40% son generalmente encontradas en suelos sanos. Señaló que además que la colonización puede disminuir el ataque de nemátodos siempre y cuando la población de nemátodos no sea alta también. Experimentos *in vitro* con *Lycopersicon esculentum* y *Meloidogyne incognita* revelaron que la colonización micorrízica ya que cuando se encontraron ocho esporas por gramo de suelo, la colonización y subsecuente formación de esporas declinó, aunque posteriormente se observó dos esporas /g de suelo eran suficientes para obtener un 50% de colonización. Bajo condiciones de invernadero, 4 esporas fueron requeridas para obtener el 50% de colonización, lo cual es indispensable para reducir la población de nemátodos en las raíces (Nagesh, 1999).

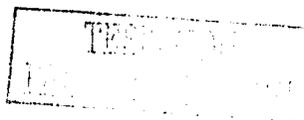
La finca de café presentaba un alto grado de daño en las raíces, causada por la presencia de nemátodos, lo que también pudo haber causado un rompimiento en la red de micelio, que al desconectar la hifa de la planta podría provocar su muerte y como consecuencia un disminución de esporas y otros propágulos infectivos, necesarios para dar paso a la colonización en las plantas de café ya establecidas. Un efecto análogo se ha visto en soya donde altas poblaciones de nemátodos son inversamente relacionados con una abundante cantidad de esporas y micelio (Schenck y Kinloch, 1974). Así también Pinochet *et al.*, (1995) descubrieron que la cantidad de esporas internas es disminuida o ausente en las raíces micorrizadas de las plantas inoculadas con nemátodos. Camprubi *et al.*, (1993) encontraron también que la colonización micorrízica en tres portainjertos de ciruela, era mayor antes de la inoculación del nemátodo, pero 30 meses después de la inoculación micorrízica, las plantas inoculadas con el nemátodo presentaron menos colonización que las que se encontraban libres de éstos.

El efecto de los nemátodos en el desarrollo del micelio de los HMA en el cultivo de café, bajo condiciones de campo aún no ha sido investigado. Sin embargo Bakhtiar *et al.*, (2001) señala que puede influenciar la efectividad e infectividad del suelo y entonces podría tener una significancia ecológica en la fertilidad del suelo. En invernadero se ha visto que en cultivos de macetas de HMA pueden ser fuertemente infestados por nemátodos fungívoros, lo que resulta en un inóculo de pobre calidad debido a la baja producción de esporas (Bakhtiar *et al.*, 2001).

Lo comentado anteriormente pudo propiciar un potencial infectivo bajo, en el suelo de la finca de café estudiada, debido a las altas poblaciones de nemátodos, ya que se ha sugerido que el potencial micorrízico puede ser limitado en suelos crónicamente infectados con nemátodos parásitos de plantas (Bird *et al.*, 1974). Asimismo Bird *et al.*, (1974) notaron que el daño causado por nemátodos puede ser mayor a través de sus efectos dañinos en la asociación simbiótica de las plantas. Es evidente que una alta densidad poblacional de nemátodos patógenos disminuye el desarrollo de los HMA (Winkler, 1994); sin embargo, los mecanismos que rigen tales situaciones son desconocidos y por otra parte sería importante estudiar a fondo otros aspectos de la interacción de los HMA con el suelo, como lo es el estado nutricional del suelo de dicha finca.

Los resultados de este estudio de campo, dejan aun muchas dudas acerca de la interacción entre los HMA y los nemátodos fitopatógenos, por lo que son necesarios más estudios bajo condiciones controladas en invernadero para definir más claramente este tipo de interacciones. Aplicaciones de fenaninfos en macetas de invernadero, son sugeridas por Bakhtiar *et al.*, (2001) sugiere aplicaciones de fenaninfos en macetas de invernadero, para restaurar el porcentaje de colonización y la cantidad de esporas, sin embargo este tipo de nematocida es considerado altamente peligroso para el hombre, por lo que sería necesario buscar otras opciones para la disminución de los nemátodos en campos infestados.

Habría que considerar que los nemátodos presentes en las raíces de las plantas de café pueden causar incrementos en los exudados de la raíz, y de ese modo afectar la comunidad microbiana y su actividad (Bardgett *et al.*, 1999). Por lo que la hipótesis de la modificación de exudados radicales por la presencia de nemátodos deberá comprobarse científicamente.



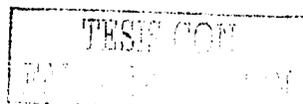
Tales exudados consisten en una mezcla compleja de aniones de ácido orgánico, azúcares, vitaminas, aminoácidos, purinas, iones inorgánicos, moléculas gaseosas y enzimas que tienen efectos directos o indirectos en la adquisición de nutrientes que son requeridos para el crecimiento de la planta. Mas algunos afectan el desarrollo de los hongos micorrízicos, entre los que se pueden mencionar al ácido fenólico y al aldónico (Dakora y Phillips, 2002).

No sabemos a ciencia cierta cuales son los mecanismos y suponemos que la presencia de los nemátodos o micorrizas en suelos cafetaleros, modifican los exudados de las raíces, pero se desconoce la cantidad de exudados que se desvía dentro de la rizósfera antes de la colonización los hongos; la cantidad liberada puede variar bajo diferentes condiciones y se ha visto que cambios en patrones de exudados no sólo afecta la colonización, sino cambia marcadamente la calidad del sustrato y de esta manera el crecimiento de patógenos y organismos benéficos de la rizósfera (Ingham y Molina, 1991).

Los patógenos y los hongos micorrízicos compiten por los exudados de las plantas y el ganador frecuentemente cambia los exudados de la planta, presuntamente para suprimir al competidor o mejorar su propia colonización (Ingham y Molina, 1991).

Trabajos relacionados con el análisis cualitativo y cuantitativo de los exudados radicales bajo el efecto de los nemátodos, de los HMA y de la interacción son necesarios para entender las relaciones que se presentan entre ellos

Otro aspecto importante a considerar es que la densidad de las plantas de café más la sombra de los árboles de la finca no permite un vasto crecimiento de arvenses, por lo que el cafeto es casi único hospedante, cuya producción de raíces esta limitada. Un estudio realizado por Fischer *et al.*, (1994) demostró que un bosque secundario y sitios que han estado sin vegetación por 4 a 6 años, presenta NMP (most probable number) menor a un sitio con plantas que tienen producción ciclica de raíces como son los pastos.



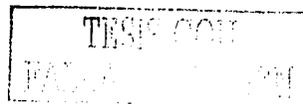
Por otra parte, si las raíces de café dañadas por nemátodos constantemente liberan tejido muerto, podría éste ser un reservorio de un gran número de organismos saprobios que de alguna manera pudieran estar parasitando las esporas de hongos micorrizicos.

En cuanto al número de esporas viables, el 14% nos muestra que tenemos por lo menos 3 esporas por gramo de suelo factibles de germinar, lo que podría ser adecuado para asegurar la colonización en las raíces de las plantas hospederas, ya que la presencia de 1 a 5 esporas por gramo de suelo es adecuado para muchos cultivos en campo (Ingham, 2003).

Sin embargo, es importante considerar que el cafeto es una planta perenne cuyas raíces crecen todo el año, pero el crecimiento de éstas puede estar condicionado por diversos factores ambientales. Por ejemplo, en la sequía las raíces susceptibles de ser colonizadas están ausentes, lo cual podría disminuir la cantidad de propágulos, aun cuando las esporas resisten generalmente a cambios ambientales y son importantes para la supervivencia de la simbiosis micorrizica durante los periodos cuando el crecimiento de la raíz está retrasado o ausente en la planta huésped (Giovannetti, 2000; McGonigle y Miller, 1999; Wagner *et al.*, 2001). Se ha sugerido que la producción de esporas está relacionado con las ciclos intermitentes del crecimiento de la raíz, de tal manera que los suelos con vegetación herbácea tienen mayor densidad de esporas que los cultivos donde las raíces crecen todo el año (Baylis, 1969).

La colonización puede también estar limitada por el daño del micelio externo que podría darse por la presencia de los nemátodos. Martins y Read (1997) realizaron un experimento con diferentes niveles de disturbio del micelio externo de HMA para probar la hipótesis de que la colonización micorrizica puede ser iniciada a través del micelio externo; sus resultados revelaron que el micelio externo intacto representa una vigorosa fuente de inóculo y que su alteración reduce el potencial del mismo.

Las plantas que posiblemente albergan la población de HMA son algunas de las escasas arvenses y plantas de sombra que crecen dentro de la finca cafetalera (Cuadro 27 y Fig. 29).



Cuadro 27. Especies de plantas de sombra y arvenses de la finca estudiada en relación a la presencia de estructuras de HMA.

Especie	Familia	Presencia de estructuras de HMA	
		Presente	Ausente
<i>Oxalis corniculata</i>	Oxalidaceae		v
<i>Hempea integerrima</i>	Malvaceae	v	
<i>Commelina diffusa</i>	Commelinaceae		v
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Chenopodiaceae		v
<i>Barrena laevis</i>	Rubiaceae		v
<i>Ocimum basilicum</i>	Labiatae		v
<i>Bidens pilosa</i>	Compositae	v	
<i>Sida rhombifolia</i>	Malvaceae	v	



Figura. 29. Finca de café con baja presencia de arvenses.

A pesar de la ausencia de colonización en las plantas de cafeto, la presencia de esporas viables en el suelo de esta finca, nos hace suponer que otros hospedantes dentro de la plantación de café alojan a los HMA y les permiten completar su ciclo, con base a los resultados del muestreo exploratorio donde se detectó la colonización micorrizica de

algunas plantas arvenses (Cuadro 27). Es importante resaltar que la totalidad de las especies de plantas muestreadas no presentaron daño por nemátodos, entonce, la calidad del suelo puede verse favorecida por la interacción HMA- arvenses, principalmente (Jordan *et al.*, 2000).

6.4.2.2.4 Pudrición de la raíz

En las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} se observó una mayor producción de raíces adventicias; el sistema radical presentó un mejor desarrollo como se muestra en la raíz (Fig. 30a); las plantas inoculadas con los consorcios JU_{SM} CO_{EDSA} y XI_{EDSA} mostraron sólo la presencia de raíces laterales primarias y secundarias; y la presencia de raíces adventicias fue considerablemente escasa (Fig. 30b).

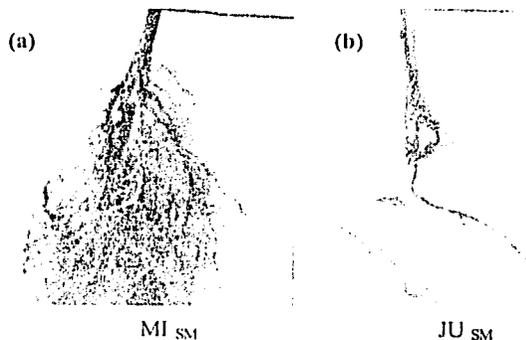


Figura. 30. Raíces de plantas de café inoculadas con los consorcios micorrizicos.

(a) Desarrollo radical en plantas inoculadas con MI_{SM} aún con agallas. (b) Desarrollo radical en plantas inoculadas con JU_{SM} que mostró raíz raquitica y gran daño por pudrición.

Las plantas inoculadas con los diferentes consorcios de HMA no mostraron síntomas del ataque en el follaje; sin embargo, todas presentaron daño en el sistema radical, aunque no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Las plantas inoculadas con MI_{SM} y ES_{SM} en las cuales se encontró el mayor volumen radical (expresado en peso seco), mostraron porcentajes bajos de agallamiento (41% y 40%, respectivamente), pero el mayor número de agallas, encontrándose diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$). Las plantas que presentaron el mayor número de agallas fueron

las inoculadas con el consorcio MI_{SM} y la menor cantidad en las inoculadas con los complejos XI_{EDSA}, CO_{EDSA} las fertilizadas, así como las testigo (Fig. 31).

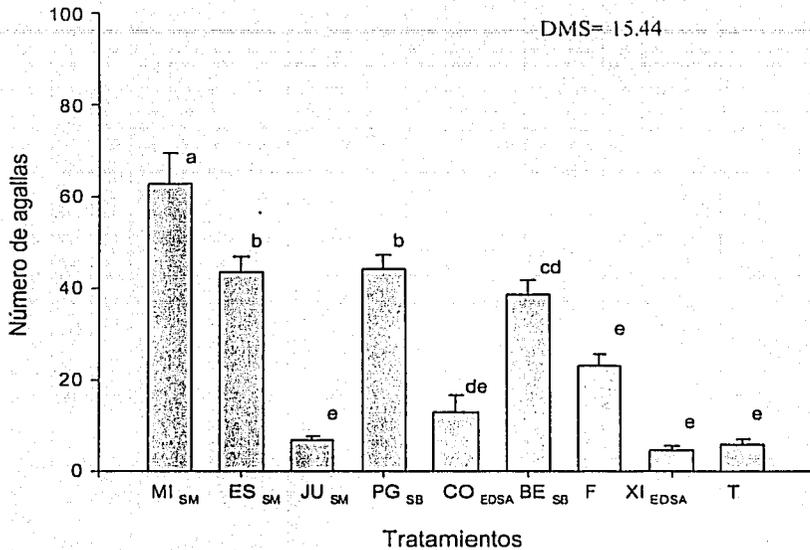
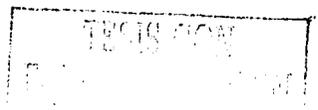


Figura. 31. Número de agallas en las plantas de café inoculadas con los diferentes complejos

El porcentaje de pudrición presentó diferencias estadísticas entre tratamientos ($P < 0.0001$); los valores más altos se presentaron en los tratamientos: fertilizado en invernadero con fósforo y los inoculados con JU_{SM}, BE_{SB}, presentando igualdad estadística con los complejos XI_{EDSA} y el testigo sin micorriza. Los complejos MI_{SM}, ES_{SM}, mostraron los más bajos porcentajes de pudrición y fueron similares estadísticamente (Fig. 32).

Aun cuando las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} tuvieron el mejor desarrollo vegetativo, presentaron la mayor cantidad de agallas. Un caso similar fue reportado por Calvet *et al.*, (1995) en la interacción entre *Glomus intraradices* y *Pratylenchus vulnus* en el portainjertos de membrillo BA-29, donde encontraron que aún



cuando la planta fue atacada por el nemátodo, las plantas micorrizadas fueron las que presentaron el mejor comportamiento en todas las variables evaluadas.

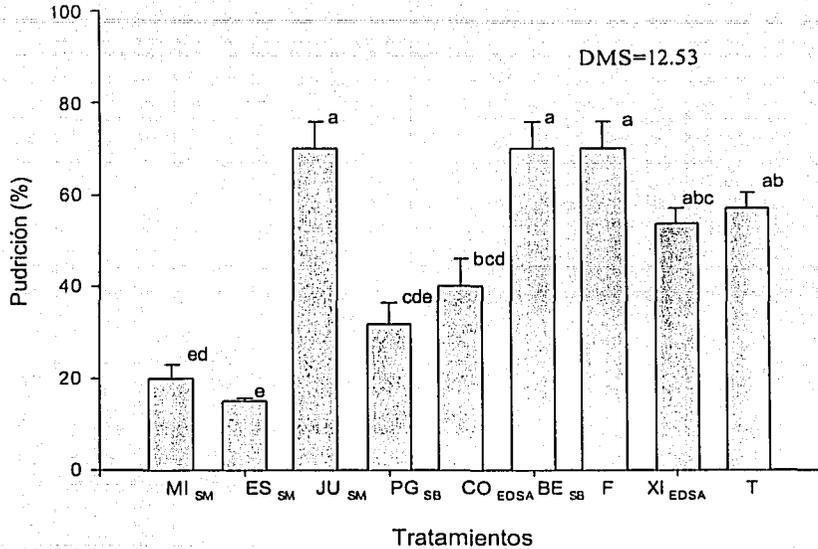
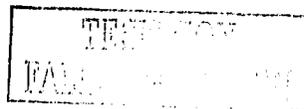


Figura. 32. Porcentaje de pudrición en las raíces de las plantas de café, bajo condiciones de campo.

Posiblemente dos factores podrían estar involucrados en esta respuesta: cambios en la morfología de la raíz y la nutrición de las plantas (Linderman, 2000).

Cambios en la morfología de las raíces micorrizadas podrían estar relacionadas con este efecto. Dehne (1982) encontró que los hongos micorrízicos reducen la enfermedad debido a algunos cambios morfológicos en las plantas. Las plantas micorrizadas desarrollan un vigoroso sistema radical, lo cual confiere una mayor fuerza mecánica para disminuir el ataque de los nemátodos (Shönbeck, 1979).



Los HMA promueven el crecimiento de los cultivos en suelo infestados por nemátodos porque promueven la entrada de nutrientes (Calvet *et al.*, 1995; Pinochet *et al.*, 1996) indirectamente por la reducción en la invasión y reproducción de nemátodos (Pinochet *et al.*, 1996).

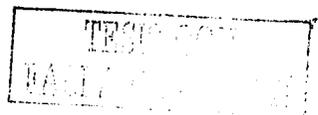
Las plantas testigo presentaron los más bajos porcentajes de agallamiento. Sería lógico suponer que plantas con estado nutricional bajo, podrían ser más susceptibles al ataque de patógenos y mostrar un mayor porcentaje de agallas, pero dadas las características de desarrollo tan raquítico de las plantas testigo, podrían no caracterizar un tejido radical, propicio para el desarrollo de los nemátodos. Una tendencia similar fue observada por Forge *et al.*, (2001) quienes en un estudio realizado en manzana y *Pratylenchus penetrans* encontraron que, las plantas testigo control con un peso seco de 21.4 g presentaban 42 430 nemátodos/sistema radical y plantas inoculadas con *Glomus etunicatum* con un peso seco de 24.4 g, contenían una población de 106 914 nemátodos /sistema radical.

Sin embargo, aunque las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} presentaron la mayor cantidad de agallas, la cantidad de tejido destruido fue menor en comparación con aquellas que presentaron menor grado de agallamiento, pero desarrollo menos vigoroso como fue el caso del testigo (Figs. 31 y 32). Posiblemente porque aún cuando los nemátodos fueron capaces de introducirse en el tejido, el daño por hongos patógenos fue disminuido por la presencia de los HMA (Abdalla y Abdel-Fattah, 2000; Vigo *et al.*, 2000; Abdel-Fattah y Shabana, 2002) aun cuando Greipsson y El-Mayas (2002) sugieren que la sinergia interactiva de hongos patógenos y nemátodos pueden romper el efecto protector de los HMA contra los patógenos.

6.4.3 Efecto de la micorriza arbuscular en plantas de café inoculadas con el nemátodo causante de la “corchosis” bajo condiciones de invernadero

6.4.3.1 Desarrollo vegetativo de las plantas de café inoculadas con los siete consorcios micorrízicos antes de la inoculación con nemátodos

Las plantas fertilizadas con fósforo y las inoculadas con el consorcio MI_{SM} presentaron diferencias estadísticas significativas a los 90 DDI con respecto al testigo; no se detectaron



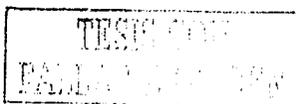
diferencias entre plantas micorrizadas con todos los demás consorcios y las testigo (Fig. 33). 60 DDI con, diferencias con el testigo se mostraron, entre las fertilizadas y las inoculadas con los complejos MI_{SM} y CO_{EDSA}; una tendencia similar en el crecimiento fue observada durante tres meses más. Antes de la introducción del nemátodo sólo las plantas inoculadas con los complejos ES_{SM} y MI_{SM}, así como las fertilizadas, presentaron diferencias con el testigo (Cuadro 28).

Cuadro 28. Altura de plantas de café inoculadas con siete consorcios antes de la inoculación del nemátodo (DDI).

Consortio	Altura (cm)	Altura (cm)	Altura (cm)
	90 DDI	150 DDI	210 DDI
PC _{EB}	9.36bcd	16.3bcd	21.3bcd
BE _{EB}	9.26bcd	14.1ed	19.08bcd
MI _{SM}	9.45b	19.68ab	31.99a
ES _{SM}	8.01cd	15.7ede	24.32b
JU _{SM}	8.15cd	14.6ede	23.8bc
XI _{EDSA}	8.26bcd	14.42cdc	18.7cd
CO _{EDSA}	7.84d	18.05abc	22.6abc
F	12.81*	21.3*	30.9a
T	7.84d	12.4e	17.72c
F	23.61	12.34	17.48
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0001
GL	1.71	1.71	1.71
CV	16.15	22.48	23.40

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P<0.0001)

A diferencia del primer experimento donde se probó la eficiencia de los complejos en una etapa inicial (6.4.2.1), en donde las plantas fertilizadas crecieron pobremente en comparación con las plantas inoculadas con los consorcios micorrizicos, las plantas con la adición de fertilizante presentaron un desarrollo vigoroso que superó a los demás tratamientos; la adición del fósforo fue realizada previo al trasplante, lo que permitió que el fósforo estuviera más disponible.



TESIS CON
FALTA DE
CONTENIDO

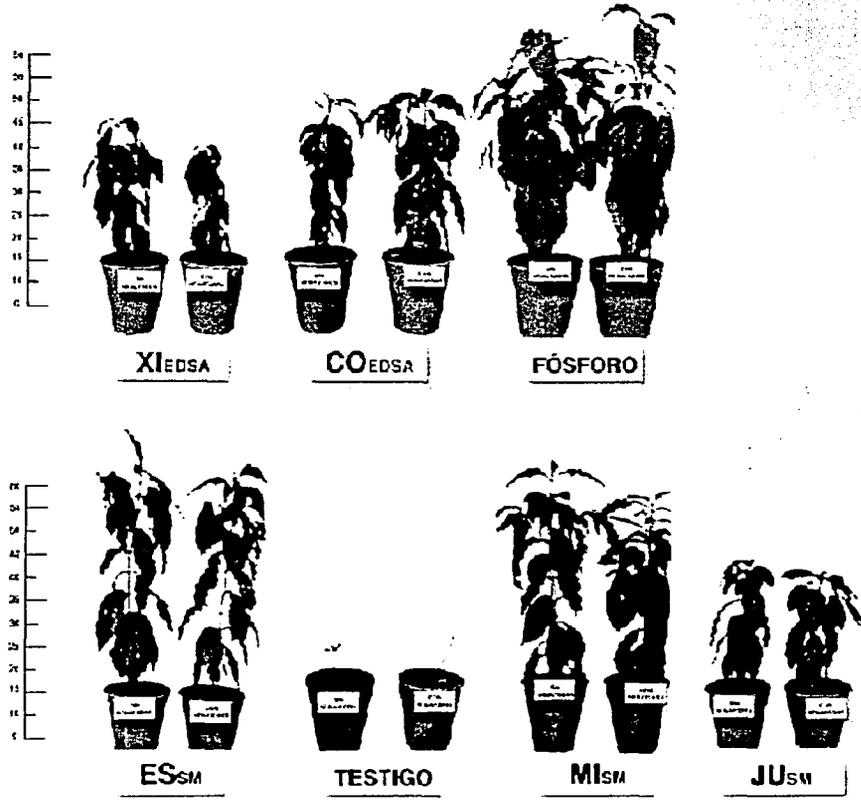


Figura 33 Comparación de plantas inoculadas con HMA con y sin nematodo, el efecto del nematodo es enmascarado por el efecto de la simbiosis micorrizica

Los consorcios de HMA presentaron efectos sobre el desarrollo de las plantas con una tendencia similar a la observada en el primer experimento. Aspectos del efecto de los consorcios sobre el desarrollo de las plantas ya ha sido discutido en el capítulo 6.4.2.1.

6.4.3.2. Desarrollo vegetativo de las plantas de café inoculadas con los 7 consorcios micorrízicos después de la inoculación con nemátodos.

Treinta días después de la introducción del nemátodo (DDIN) y 210 DDIM se encontraron diferencias estadísticas significativas para la variable altura entre las plantas inoculadas con los consorcios micorrízicos MI_{SM}, ES_{SM}, JU_{SM}, PG_{SB}, BE_{SB}, CO_{EDSA}, las fertilizadas (F) y las plantas inoculadas con XI_{EDSA}, sin nemátodos y las testigo. Las plantas más altas fueron aquellas inoculadas con los consorcios MI_{SM}, ES_{SM} y las fertilizadas (Fig. 34).

La misma tendencia se presentó durante los 180 días posteriores, y nunca se observaron diferencias estadísticas entre plantas inoculadas con el nemátodo y sólo micorrizadas con el mismo consorcio. El tamaño de las plantas infestadas por el patógeno fue ligeramente mayor en las plantas no inoculadas con el nemátodo pero no presentó diferencias estadísticas.

Al final del experimento, 180 DDIN, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.0001$) por efecto del consorcio en todas las variables evaluadas. Las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} presentaron la mayor altura y fueron estadísticamente similares a las fertilizadas con fósforo y todas las plantas inoculadas presentaron diferencias con el testigo (Cuadro 29).

Por efecto del nemátodo se encontró significancia para las variables volumen de raíz, peso fresco y seco de raíz y peso fresco del follaje. Los valores más altos se presentaron en plantas libres de nemátodos en todas estas variables (Cuadro 30).

Cuadro 29. Efecto del consorcio sobre las variables evaluadas después de la inoculación del nemátodo (180 DDIN)

Consortio	Altura	Diámetro	N de hojas	Peso fresco de raíz	Peso fresco del follaje	Peso seco de raíz	Peso seco del follaje	Área foliar	
PG _{SB}	29.20b	5.22bcd	25.2 b	5.08c	15.99cd	1.34cd	4.81bc	559.92de	
BE _{SB}	21.75c	4.64d	20.8 b	2.69c	10.13d	0.71cd	3.45cd	623.04ed	
MI _{SM}	41.85a	6.75a	55a	32.04a	34.88*	6.39ab	9.87a	1331.79b	
ES _{SM}	42.06a	6.67a	56.4a	34.66a	34.57b	9.48a	8.4ab	1470.3ab	
JU _{SM}	33.7b	6.13ab	38 b	18.16b	23.68b	4.52ab	6.91abc	551.62de	
F	44.7a	6.61ab	60.1a	3.03a	44.5a	7.5ab	9.42a	1610.18a	
XI _{HSA}	22.4c	5.61abcd	21.2b	2.58c	9.25d	0.65cd	4.4cd	419.86e	
CO _{HSA}	31.35b	5.11cd	29.6b	9.8 bc	16cd	2.1cd	5.01cb	758.72c	
T	10.60d	1.9380e	3.8 d	1.19c	0.23e	0.122d	0.26f	22.74f	
F	259.99	22.03	41.91	63.91	63.91	25.63	25.95	11.99	223.77
Pr > F	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	
GL	72	72	72	72	72	72	72	72	
CV	68.99	68.99	18.76	27.77	27.90	57.84	74.56	48.97	13.84

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05).

Cuadro 30. Efecto del nemátodo sobre el volumen, peso fresco y seco de raíz y peso fresco del follaje, después de la inoculación del nemátodo

Presencia de nemátodo	Peso fresco de raíz	Peso seco de raíz	Peso fresco del follaje
Ausente	18.34a	23.65a	4.61a
Presente	13.05b	18.34b	2.69b
F	11.14	13.47	19.47
Pr > F	0.0013	0.0073	0.0001
GL	72	72	72
CV	74.56	57.84	27.20

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05)

Como se puede observar en la figura 35, la plantas con y sin nemátodo en la parte aérea, presentan una apariencia similar; sin embargo, en la raíz de las plantas con nemátodos se puede notar una fuerte destrucción del tejido, seguramente por la presencia del nemátodo. Aunque las plantas presentaban un sistema radical limitado por el daño del nemátodo hasta en un 70.93% (calculado en base a una relación de peso de la raíz de plantas sanas y dañadas por el nemátodo) en el caso de plantas inoculadas con el consorcio PG_{SB} en

comparación con las plantas que lo tenían completo, lograron mantenerse con un vigor semejante a las que sí lo tenían.

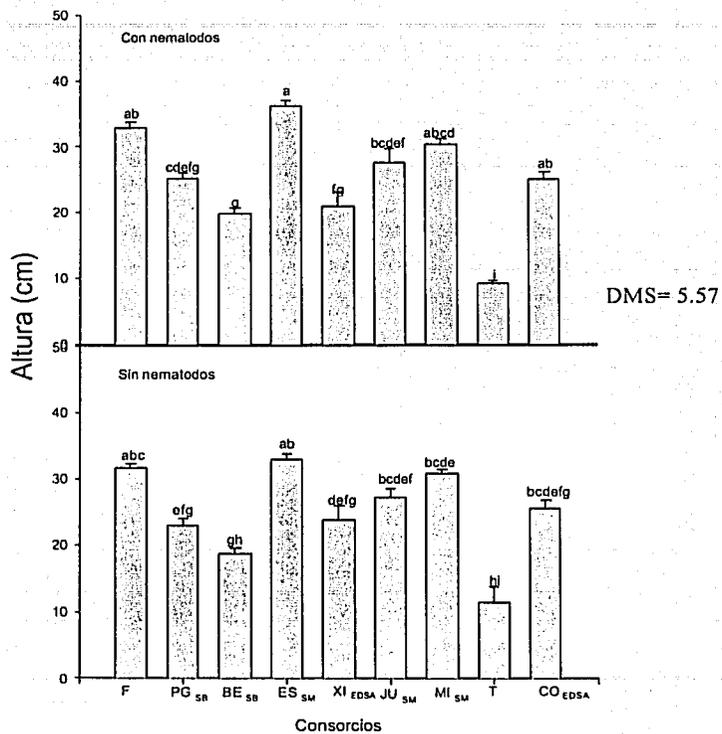


Figura. 34. Altura de plantas de café inoculadas con y sin nemátodo 30 DDIN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

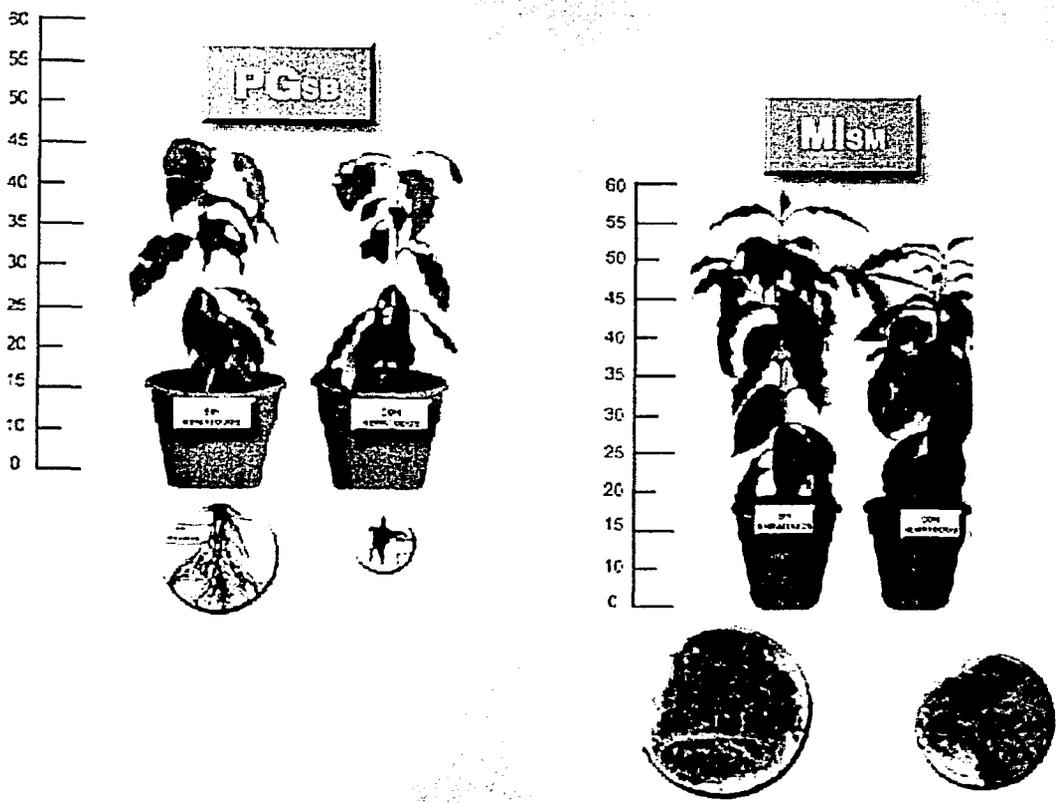


Figura 35. Comparación de plantas micorrizadas con y sin nematodo, plantas inoculadas con PG_{SB} con el sistema radical dañado pero con una apariencia sana del follaje. Lo que nos indica la capacidad compensatoria al sistema radical de parte de la simbiosis.

Una hipótesis que consiste en el valor sustitutivo de la raíz por las hifas y podría ser considerada como un "by pass" la cual se plantea y representa en la Fig. 36.

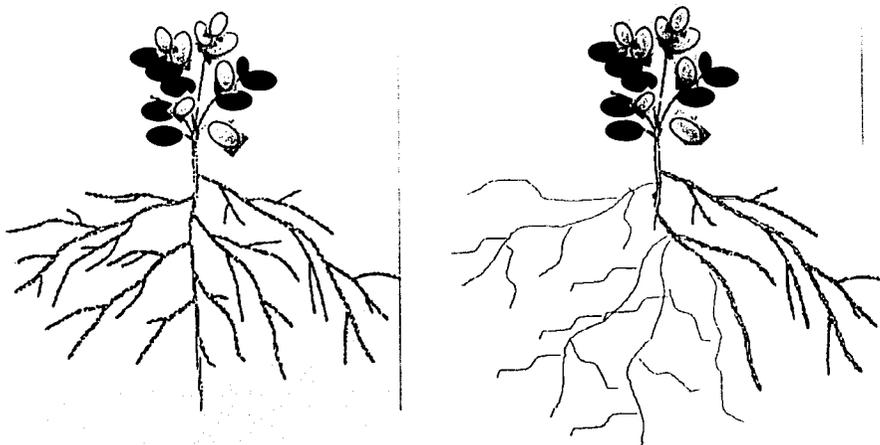


Figura.36. Representación esquemática de la hipótesis de "by pass"

Valores estadísticamente significativos por efecto de la interacción consorcio-nemátodo se presentaron en peso fresco de las hojas ($P < 0.0002$) entre plantas libres de nemátodos y con el nemátodo. Los valores más altos se encontraron en las plantas inoculadas con el consorcio MI_{SM} , y los más bajos en el testigo. Todas las plantas inoculadas con el mismo consorcio no presentaron diferencias entre aquellas con y sin nemátodo. (Cuadro 31). Todas las demás variables no presentaron diferencias por efecto de la interacción

El peso fresco del follaje de las plantas fertilizadas y sin nemátodos presentó los más altos valores y similitud estadística con las inoculadas con el consorcio MI_{SM} y ES_{SM} . Todas las plantas inoculadas con el mismo consorcio no presentaron diferencias entre aquellas con y sin nemátodo.

Las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} , ES_{SM} , JU_{SM} , PG_{SB} y CO_{EDSA} presentaron diferencias con respecto a las inoculadas con XI_{EDSA} y el Testigo (Cuadro 31).

Cuadro 31. Efecto de la interacción nemátodo-consorcio de HMA sobre el, peso fresco de follaje, después de la inoculación del nemátodo

Consortorio	Nemátodo	Peso fresco del follaje (g)
PG _{SB}	-	16.88cfgh
	+	15.10fgh
BE _{SB}	-	12.42ghi
	+	7.84ghi
MI _{SM}	-	39.94ab
	+	29.22bcde
ES _{SM}	-	36.98bc
	+	32.16bcd
JU _{SM}	-	26.58cdef
	+	20.78defg
CO _{EDSA}	-	20.88defg
	+	11.12ghi
XI _{EDSA}	-	7.26hi
	+	11.24ghi
Fertilizado	-	51.60 ^a
	+	37.54bc
Testigo	-	0.38i
	+	0.09i

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$).

Las plantas inoculadas con los HMA siguieron una tendencia por efecto del consorcio, lo cual podría sugerir que la eficiencia de las especies de hongos micorrizógenos juega un papel importante. Los resultados obtenidos, muestran que la presencia de nemátodos no afectó la biomasa y el desarrollo aéreo de las plantas porque posiblemente cuando el nemátodo se incorporó a sus raíces, la asociación micorrízica ya estaba establecida y no permitió el desarrollo de los nemátodos dentro del tejido radical.

La inoculación de HMA en plantas con nemátodos permite un desarrollo similar a las plantas sanas. Bajo las condiciones de invernadero en las que se llevó a cabo este experimento, el peso seco de las plantas fue incrementado por los HMA tanto en suelo infestado por nemátodos como en suelo libre de ellos, tal y como lo reportan Forge *et al.*, (2001) en portainjertos de manzana con tres especies de hongos micorrizicos: *G. clarum*, *G. etunicatum*, *G. intraradices* y *G. mosseae*. De esta manera los resultados demuestran que

los HMA son capaces de promover la entrada de nutrientes e indirectamente reducir la invasión y reproducción de nemátodos (Pinochet *et al.*, 1996).

Aun cuando la parte aérea no fue afectada por la presencia del nemátodo, el sistema radical se vio disminuido en volumen y biomasa pues a pesar de no haberse observado agallas lo más probable es que si ocurrió una destrucción del tejido.

La interacción del consorcio y los nemátodos sólo se manifestó en la variable peso fresco del follaje, los cuales son resultados que siguen una tendencia por efecto del consorcio de HMA. Al respecto se ha comprobado que la presencia de los HMA en plantas previamente colonizadas permite su buen desarrollo aún en presencia de nemátodos y a pesar de la inminente disminución del volumen de la raíz.

En relación con esto Vaast *et al.*, (1997) reportaron que la inoculación simultánea de HMA y *Pratylenchus coffeae* en plantas de café no promovían ninguna tolerancia a *P. coffeae* pues las plantas presentaron deficiencias de fósforo y después de 7.5 meses los nemátodos disminuyeron la colonización micorrízica. En contraste una inoculación temprana (4 meses antes de la introducción del nemátodo) mejoró la tolerancia al nemátodo y las lesiones de la raíz fueron menos numerosas y más localizadas.

Por su parte Villenave y Duponnois (2002) encontraron que cuando los hongos MA fueron inoculados junto con los nemátodos su presencia no redujo la biomasa de las plantas.

La habilidad del micelio fúngico para absorber nutrientes minerales del suelo, especialmente fósforo, y transferirlos a las raíces micorrizadas permitió un desarrollo de las plantas sin indicios de daño en la parte aérea, una condición atribuible a los HMA aun si las raíces colonizables son insuficientes, toda vez que las hifas externas penetran su tejido cortical en varios puntos y favorecen la nutrición de su hospedero (Brussaard *et al.*, 2001).

Además las estructuras fúngicas dentro de la raíz parecen estar especializadas en la absorción de azúcares (Smith *et al.*, 2001) lo que de alguna manera permitió al hongo MA seguir viviendo porque la planta era capaz de continuar produciendo fotosintatos.

En cuanto a la importancia del micelio externo de los HMA, es importante resaltar que una red hifal es capaz de desarrollarse y funcionar a modo de sistema radical complementario y altamente eficaz (Pfeffer *et al.*, 1999), de tal modo que incrementa el volumen total de suelo explorado (Bentivenga *et al.*, 1997). Por ello se le considera como la parte metabólicamente más activa de las raíces de las plantas (Kling y Jakobsen, 1998).

De acuerdo con Miller *et al.*, (1995) la longitud del micelio externo se estima en 111 m/cm³ en suelos de pradera y en 81 m/cm³ en suelos de pastizal, lo cual incrementa claramente la superficie de absorción de agua y nutrimentos (Rabatin y Stinner, 1991).

Así es posible que antes de la destrucción masiva del tejido radicular de las plantas los HMA promovieron un ingreso de nutrimentos a las plantas infestadas por nemátodos, de tal suerte que la producción de hifa externa fue capaz de proveer activamente de agua (Ruiz-Lozano y Azcón, 1995), P y otros macro y microelementos a las interfases simbióticas (Tobar *et al.*, 1994; Marschner y Dell, 1994; Clark y Zeto, 2000) y convertirse en una de las razones más importantes del porqué a menudo las plantas micorrizadas crecen mejor (Zabinski *et al.*, 2002; Al-Karaki, 2002; Siqueira *et al.*, 1998).

Si bien todos los nutrimentos son necesarios para el buen funcionamiento de los vegetales, atención especial merecen los iones de fosfato debido a su poca movilidad (Hinsinger, 2001) y a su lenta difusión y considerable fijación en casi todos los suelos (Bohn *et al.*, 1993). Sin embargo en la simbiosis micorrizógona arbuscular los hongos promueven el crecimiento de las plantas al aumentar principalmente la captación de recursos inmóviles (como es el caso del fosfato notablemente inorgánico), pues el poder funcional de las hifas es definitivo para adquirirlos más allá de la zona de agotamiento que rodea a las raíces (Sanders y Tinker, 1971, 1973; Joner, 1997).

El micelio externo adoptará el papel de absorción en las regiones más viejas de una raíz colonizada por hongos micorrizógenos y superará las dificultades fisiológicas impuestas por la difusión del fósforo en esta zona (Harley y Smith, 1983; Read, 1984; Smith *et al.*, 2001) de tal forma que la traslocación y transferencia del P hacia las plantas micorrizadas generalmente es más alta en comparación con las no asociadas con estos simbioses (Pearson y Jakobsen, 1993; Hinsinger, 2001).

Además las hifas no presentan tan alta afinidad al fósforo como las raíces, pero pueden mantener una entrada de la solución del suelo donde su concentración es baja (Del mismo modo

6.4.3.2.1. Contenido de Clorofila

Antes de la inoculación con el nemátodo se encontraron diferencias entre los tratamientos en la cantidad de clorofila A, B y total.

La cantidad de clorofila A y total fue estadísticamente similar en todas las plantas micorrizadas, pero diferente con respecto a las testigo. Los valores más altos se registraron en los complejos MI_{SM}, ES_{SM} y las fertilizadas (Cuadro 32).

En relación a la clorofila B sólo hubo diferencias entre las plantas inoculadas con ES_{SM} y BE_{SB} ya que todas las demás fueron similares entre sí. De esta manera los valores más altos de clorofila A, B y total se encontraron en las plantas inoculadas con ES_{SM}, y los más bajos en CO_{EDSA} (Cuadro 32).

Cuadro 32. Clorofila A, B y total antes de la inoculación del nemátodo

Consorcio	clorofila A (mg/mm ²)	clorofila B (mg/mm ²)	clorofila Total (mg/mm ²)
PG _{SB}	6.88a	2.71ab	9.62a
BE _{SB}	5.82a	1.93b	8.01a
MI _{SM}	7.44a	2.77ab	10.34a
ES _{SM}	7.26a	2.95a	10.21a
JU _{SM}	6.8a	2.70ab	9.32a
F	7.41a	2.61ab	9.93a
XI _{EDSA}	6.71a	2.89ab	9.69a
CO _{EDSA}	5.77a	2.23ab	7.96a
T	1.63b	0.62c	2.42b
F	18.07	10.87	16.32
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0001
GL	72	72	72
CV	21.80	29.64	22.50

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P< 0.0001)

Por otro lado y transcurridos siete meses de haberse realizado la inoculación con nemátodos se detectaron diferencias en la cantidad de clorofila A, B y total por efecto del consorcio. De hecho todas las plantas inoculadas y las fertilizadas reportaron diferencias en la cantidad de clorofila A con respecto al testigo, reportándose los valores más altos para BE_{SB} y los más bajos en las fertilizadas (Cuadro33).

Cuadro 33. Clorofila A, B y total después de la inoculación del nemátodo

Consortio	clorofila A (mg/mm ²)	clorofila B (mg/mm ²)	clorofila Total (mg/mm ²)
PG _{SB}	6.11b	3.02abc	10.35ab
BE _{SB}	9.19a	4.20a	12.91a
MI _{SM}	6.89	3.45ab	10.97ab
ES _{SM}	7.39ab	3.7ab	11.13a
JU _{SM}	6.85ab	3.14ab	8.74bc
F	4.98b	2.53bc	7.97bc
XI _{EDSA}	5.32b	2.83abc	7.7bc
CO _{EDSA}	6.94ab	1.56cd	4.87cd
T	1.57c	.23d	1.74d
F	11.39	12.29	14.09
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0001
GL	72	72	72
CV	32.10	39.56	34.34

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P72< 0.0001)

La cantidad de clorofila B y total fue diferente entre las plantas inoculadas y la testigo, y sólo el consorcio CO_{EDSA} presentó similitud con el testigo.

No se presentaron diferencias por efecto del nemátodo ni por la interacción nemátodo-consorcio. La cantidad de clorofila presente en las plantas inoculadas con los complejos CO_{EDSA}, XI_{EDSA}, las fertilizadas y la testigo fue mayor antes de la introducción del nemátodo, y 7 meses después decreció. En plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM} ES_{SM} JU_{SM} PG_{SB} y BE_{SB} la cantidad de clorofila se incrementó en el mismo periodo después de la inoculación con el nemátodo (Fig. 37).

Los resultados muestran que antes de la inoculación con el nemátodo la cantidad de clorofila total fue diferente entre plantas inoculadas con HMA y las testigo, lo cual concuerda con los resultados encontrados por Muhsin y Zwiasek (2002) quienes observaron que plantas de *Hebeloma crustuliniforme* micorrizadas presentaron mayor peso seco de la parte aérea y foliar, número de ramas laterales y mayores contenidos de clorofila confrontadas con las plantas no micorrizadas

Las diferencias entre la cantidad de clorofila de las plantas inoculadas con HMA y las testigo, evidenció la mala nutrición de estas, ya que elementos tales como el N tiene un importante papel en el proceso de la fotosíntesis por ser indispensable para la formación de la molécula de clorofila (Devlin, 1982). En esta percepción Boucher *et al.*, (1999); Louche-Tessandier *et al.*, (1999) y Bhattacharya y Bagyaraj (2002) han demostrado que la micorriza tiende a incrementar la cantidad de clorofila en las plantas de café.

Después de la inoculación con el nemátodo, el contenido total de clorofila varió entre los consorcios. Las plantas que tuvieron un decremento en la cantidad de clorofila fueron las testigo, las fertilizadas y las que se inocularon con los consorcios provenientes de sol, mismas que en las pruebas de eficiencia no resultaron ser las mejores, ya que la expresión del efecto evaluado en las variables de crecimiento a menudo se encuentran directamente relacionados con su nutrición, mientras que las plantas no micorrizadas con un buen aporte de P tuvieron un desarrollo óptimo que igualó tamaño a las plantas micorrizadas e incrementó la cantidad de clorofila, las plantas con deficiencia en fósforo redujeron su área foliar y el número de hojas, lo cual disminuyó la eficiencia fotosintética.

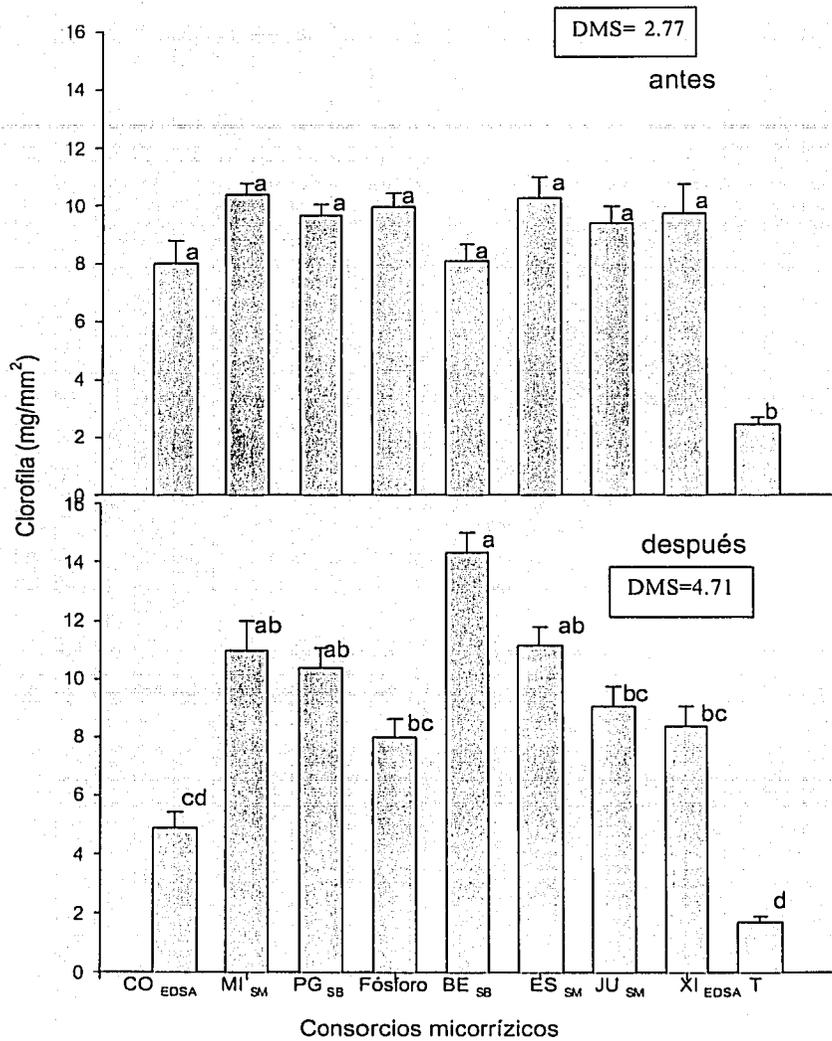


Figura 37. Cantidad de clorofila antes y después de la inoculación con los nemátodos

Las plantas inoculadas con los complejos XI_{EDSA} y CO_{EDSA} tuvieron un desarrollo raquítico contrastado con las inoculadas con los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} fueron estadísticamente similares, en el contenido de clorofila Aunque es evidente que los HMA juegan un papel fundamental en la apropiación de nutrimentos como Fe y Mg, los cuales son importantes en la formación de clorofila (Curtis *et al.*, 2001), se ha reportado que los nemátodos son una plaga que interfiere en su absorción (Devlin, 1982) y que factores estresantes como las enfermedades reducen la cantidad de clorofila en las plantas (Carter y Knapp (2001).

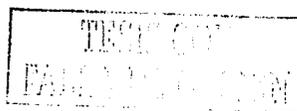
Si bien algunos trabajos confirman una disminución de la fotosíntesis por la presencia de nemátodos (Schans, 1991; Koening y Barker, 1995), nuestros resultados mostraron incrementos en el contenido de clorofila, un efecto similar ha sido reportado por Abrão y Mazzafera, (2001) en plantas de algodón, en donde la actividad fotosintética y el contenido de azúcar podría estar relacionado con una alta demanda de energía por mecanismos de defensa de la planta contra los nemátodos.

Esto podría sugerir que en las plantas micorrizadas la expresión de los genes implicados en la síntesis de clorofila pueden expresarse en un aumento de la misma como una respuesta al ataque del nemátodo. Sin embargo los mecanismos involucrados en este proceso son aún desconocidos, por lo que sería valioso que futuros estudios se enfocasen hacia su determinación con el fin de poseer más información para entender esta interacción.

6.4.3.2.2. Colonización micorrízica

Siete meses después de la inoculación con el nemátodo en todas las plantas previamente inoculadas con HMA se encontraron hifas intracelulares (27.3 a 47.5%), vesículas (2.5 a 22.6%) y arbuscúlos (2.2 a 9.6%). Se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.0001$) por efecto del consorcio.

Los valores de hifas más altos se alcanzaron en las plantas inoculadas con los consorcios ES_{SM}, JU_{SM} y CO_{EDSA} que fueron estadísticamente similares entre sí pero diferentes con respecto a los consorcios BE_{SM}, MI_{SM} XI_{EDSA} y PG. En las vesículas el porcentaje más



alto se encontró en los consorcios JU_{SM} y CO_{EDSA}, y el más bajo en XI_{EDSA} y en las vesículas el valor más alto se encontró en las raíces de las plantas inoculadas con el consorcio MI_{SM} (Cuadro 34).

Cuadro 34. Porcentaje de colonización micorrizica por efecto de los diferentes consorcios en plantas de café.

Consorcios	Hifas (%)	Vesículas (%)	Arbúsculos(%)
PG _{SH}	25.8b	4.5c	8.4ab
BE _{SB}	29.7b	5.52c	2.2*
MI _{SM}	27.3b	4.5c	9.6a
ES _{SM}	50.3a	13.9b	5.4ab
JU _{SM}	47.5a	22.6a	8.7ab
XI _{EDSA}	29.06b	2.5c	5.4ab
CO _{EDSA}	41.79a	16.6ab	8.4ab
Fertilizado	21.82	27.76	3.47
Pr > F	0.0001	0.0001	0.0071
GL	42	42	42
CV	27.39	38.25	67.69

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P<0.05).

Por efecto del nemátodo sólo se encontró significancia en el porcentaje de vesículas, encontrándose el valor más alto en las raíces libres de nemátodos (Fig. 38).

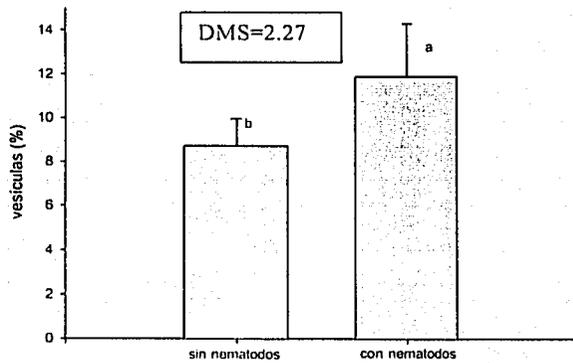


Figura. 38. Porcentaje de vesículas en plantas de café inoculadas con HMA y nemátodos.

Por efecto de la interacción consorcio-nemátodo se encontraron diferencias (P<0.0001) en el porcentaje de hifas, vesículas y arbúsculos, siendo altos los porcentajes en las raíces de las plantas inoculadas con el consorcio JU_{SM} sin nemátodos (Cuadro 35).



Cuadro 35. Efecto de la interacción consorcio-nemátodo sobre la colonización micorrizica después de la inoculación del nemátodo

Consortio	Nemátodo	Presencia de estructuras de HMA		
		Hifas	Vesículas	Arbúsculos
PG _{SB}	-	24.7ef	5de	6abc
	+	27ef	4.03e	16.5a
BE _{SB}	-	19.7ef	4.81e	3.5bc
	+	39.6bede	6.23de	1c
MI _{SM}	-	35cdef	7.2cde	11.7ab
	+	19.4f	5.25de	7.5abc
ES _{SM}	-	54.06a	16.37bc	7abc
	+	46.6bed	11.4bcde	3.8bc
JU _{SM}	-	65.02a	6.3ade	1c
	+	30ef	39a	16.5a
CO _{EDSA}	-	50.33a	18.3b	10.6abc
	+	33.2def	15bcd	6.2abc
XI _{EDSA}	-	30.1ef	4.5bc	4.5bc
	+	29ef	6.3abc	6.3abc
F		28.86	5.96	21.38
Pr > F		0.0001	0.0002	0.0001
GL		42	42	42
CV		27.39	39.25	47.69

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P < 0.05).

En dicho Cuadro se observan los porcentajes de colonización en lo que a las hifas se refiere, hay una cierta tendencia a la disminución de éstas en los tratamientos con nemátodos excepto en las plantas inoculadas con los consorcios PG_{SB} y BE_{SB} donde los mayores porcentajes se hallaron en plantas con nemátodos, en el caso de las vesículas y los arbúsculos no se observó ninguna tendencia

Aun cuando se observaron diferencias en la colonización, entre las plantas con y sin nemátodos éstas no fueron consistentes, ya que mientras las plantas inoculadas con los consorcios PG_{SB}, MI_{SM} y XI_{EDSA}, fueron estadísticamente similares, aquellas con ES_{SM}, JU_{SM} y CO_{EDSA}, presentaron diferencias, mostrando una disminución en la colonización hasta del 50% en aquellas donde el nemátodo estuvo presente, pero en plantas con el consorcio BE_{SB}, la colonización fue mayor aún en presencia del patógeno. La colonización reportada en nuestro estudio muestra en algunos casos que la presencia de los nemátodos, si afecto la colonización, sin embargo resultados de otros trabajos indican que la estancia de nemátodos no afectó la colonización micorrizica, condición reportada previamente por



diversos autores (Cooper y Grandison, 1986; Al-Raddad, 1995; Jaizme-Vega *et al.*, 1997; Forge *et al.*, 2001).

En plantas de café Vaast (1997) encontró que cuando se ha efectuado una inoculación micorrízica anticipada al nemátodo *Pratylenchus coffeae* no influyó sobre la colonización, pero cuando la inoculación de ambos es simultánea entonces la colonización de los HMA se reduce hasta en un 50%.

6.4.3.2.3. Población de esporas

Por efecto del consorcio se encontraron diferencias significativas en el número de esporas. En la Figura 39 se observa que el valor más alto se mostró en el consorcio ES_{SM} que sólo fue diferente al consorcio XI_{EDSA} que presentó los valores más bajos. No se encontraron diferencias por efecto del nemátodo ($P < 0.15$) ni por la interacción consorcio-nemátodo ($P < 0.09$).

Aunque en realidad el número de esporas no presentó ninguna tendencia en particular donde al finalizar el experimento se le pudiese asociar con alguno de los tratamientos evaluados, la mayor cantidad se halló en el suelo donde las plantas se habían inoculado con el consorcio ES_{SM}, lo cuál podría suponer un efecto exitoso en el desarrollo del huésped y en consecuencia una simbiosis altamente efectiva. Y lo contrario sucedió cuando las plantas se inocularon con el consorcio MI_{SM}.

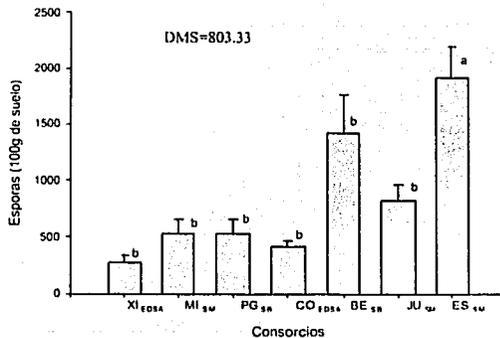


Figura 39. Cantidad de esporas en la rizósfera de las plantas inoculadas con siete consorcios micorrízicos.

Al respecto Ingham (1988) señala que la razón más probable de la inconsistencia obtenida en los resultados debe ser la inherente variación ocurrida al momento de efectuar el conteo de las esporas, de tal manera que pocas son las diferencias significativas notadas entre tratamientos. Es así que mientras diferencias tan bajas cercanas a 14% han mostrado significancia (Atilano *et al.*, 1981), otros estudios no pudieron demostrar significancia en cambios del 150% (Schenck *et al.*, 1975).

Los resultados obtenidos en este experimento revelan que el nemátodo no tuvo ningún efecto sobre la población final de esporas, lo cual coincide con los trabajos de Pinochet *et al.*, (1993), Vaast *et al.*, (1997) y Bakhtiar *et al.*, (2001). Incluso Rivas-Platero *et al.*, (1998) aseveran que en algunas ocasiones la población de esporas se ve estimulada. En contraste Carling *et al.*, (1989) señalan que la presencia de nemátodos es capaz de suprimir la esporulación de *G. ethenicatum* e incluso de estimular la de *Gi. margarita*. Si bien nada se sabe acerca de la causa de esta peculiar respuesta, efectos similares ya habían sido reportados por Hussey y Roncadori (1982) y Smith (1987).

Por otra parte De Souza (1979) observó que el efecto de la *M. exigua* en la esporulación de *Gi. margarita* fue dependiente del cultivar y de la nutrición de las plantas de café., de tal manera que la más baja esporulación se encontró en un cultivar susceptible al patógeno y con bajo nivel de fósforo, mientras que la más alta se produjo en plantas de cultivares resistentes infestadas con nemátodos y altos niveles de fósforo.

6.4.3.2.4. Micelio extrarradical

Por efecto del consorcio se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) en la cantidad de micelio extrarradical, alcanzándose el mayor valor en el suelo de plantas inoculadas con el consorcio ES_{SM}, que estadísticamente fue similar al micelio de los consorcios PC_{SB}, MI_{SM} y JU_{SM}, mas diferentes a BE_{SB}, CO_{EDSA} y XI_{EDSA} (Cuadro 36).



Cuadro 36. Cantidad de micelio extrarradical por efecto del consorcio

Consortio	Micelio extrarradical (mg/g de suelo)
PG _{SB}	856a
BE _{SB}	304b
MI _{SM}	824.4a
ES _{SM}	933.6a
JU _{SB}	818.2a
XI _{EDSA}	226.3b
CO _{EDSA}	285.2b
F	20.94
Pr > F	0.0001
GL	42
CV	29.76

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P<0.05).

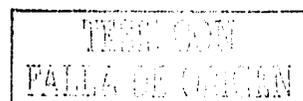
Por efecto del nemátodo también se detectó significancia (P< 0.0001) entre los tratamientos, descubriendo que la mayor cantidad de micelio la ostentó el suelo libre de nemátodos (Cuadro 37).

Cuadro 37. Cantidad de micelio extrarradical por efecto del nemátodo

Consortio	Micelio extrarradical (mg/g de suelo)
Sin nemátodos	863.5*
Con nemátodos	350.11b
F	4.46
Pr > F	0.0001
GL	42
CV	98.50

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey (P<0.05)

Por efecto de la interacción consorcio-nemátodo se observaron diferencias estadísticas (P< 0.0001) en la cantidad de micelio externo, del el suelo de las plantas inoculadas con los consorcios MI_{SM}, ES_{SM}, JU_{SM} y PG_{SB} libre de nemátodo donde los valores fueron los más altos, mientras que los valores más bajos se encontraron en los consorcios BE_{SB}, XI_{EDSA}, MI_{SM} y CO_{EDSA} con nemátodos (Fig. 40).



La cantidad de micelio extrarradical fue menor en plantas plagadas con nemátodos, de tal modo que parece aceptable sospechar que ello lo determina el volumen de tejido radical disponible para el desarrollo de las estructuras fúngicas de los HMA, sobre todo porque la biomasa radical en plantas dañadas por los nemátodos fue menor. Nuestros resultados coinciden con los reportados por Ingham (1988) quien aseveró que la presencia de nemátodos puede afectar el desarrollo del micelio extrarradical puesto que habitualmente estos alteran, rompen y destruyen las redes miceliares.

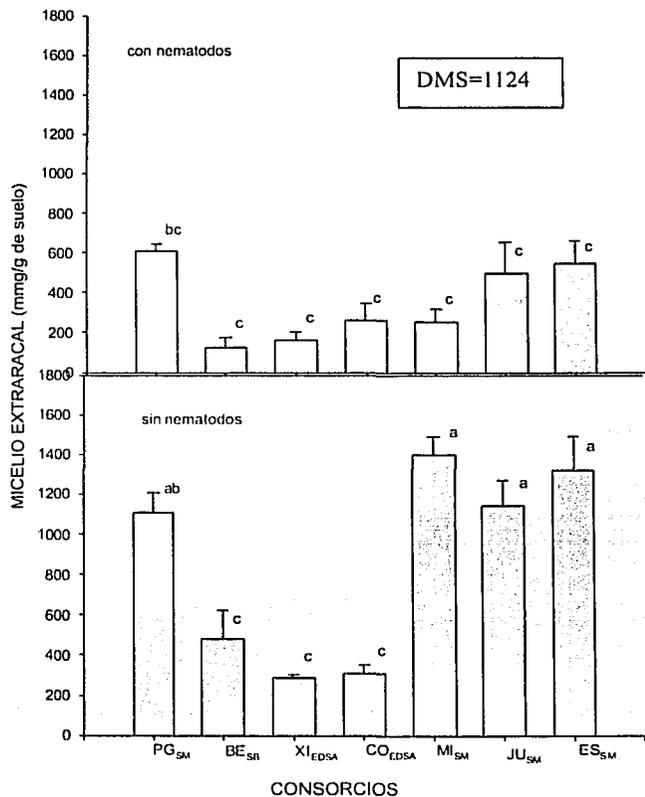


Figura. 40. Cantidad de micelio extrarradical en suelo con y sin nemátodos, observando la mayor cantidad de micelio en suelo libre del patógeno



El daño del micelio causado por los nemátodos puede limitar su desarrollo externo con efectos negativos como son la desconexión del micelio interno con el externo. Pero en ocasiones los efectos pueden ser positivos para el mejoramiento de las plantas, pues estimulan el crecimiento fúngico (Fitter y Sanders (1992), Lussenhop (1996) y Gange *et al.*, (2002).

6.4.3.2.5. Población de nemátodos

Después de siete meses de haber inoculado las plantas no se descubrieron agallas en las raíces, mas su destrucción era evidente. Tampoco se observaron huevecillos, pero dentro de las raíces se encontraron juveniles y diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$) en la cantidad de nemátodos/g de raíz.

Las plantas inoculadas con el consorcio JU_{SM} presentaron las más altas poblaciones de nemátodos y fue estadísticamente similar a las poblaciones de las plantas inoculadas con los consorcios ES_{SM} y MI_{SM} , las cuales a su vez fueron semejantes a las inoculadas con el consorcio CO_{EDSA} y a las fertilizadas. Las poblaciones más bajas se detectaron en las plantas testigo y en las inoculadas con el consorcio XI_{EDSA} (Fig. 41).

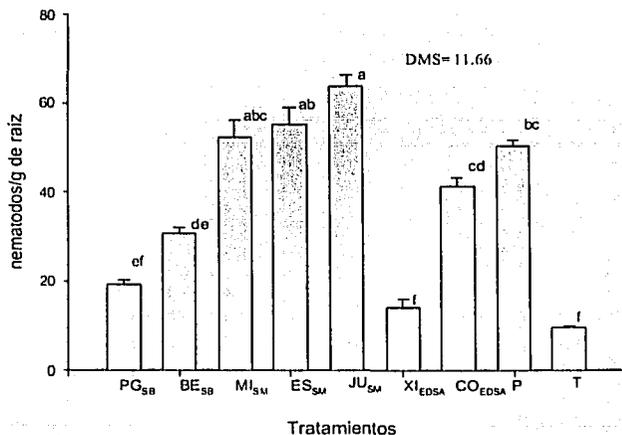


Figura. 41. Población de nemátodos/g de raíz después de siete meses de inoculadas

Las plantas inoculadas con los complejos JU_{SM}, ES_{SM} y MI_{SM} presentaron la mejor respuesta a la colonización micorrizica y por consiguiente una mayor biomasa radical que posiblemente favoreció la presencia del patógeno, ya que al parecer existe una clara relación entre ambas.

En el Cuadro 38 se muestra una estimación de la cantidad total de nemátodos por peso fresco de la raíz en la población inicial de nemátodos, 1500 μ (Los nemátodos tienen 4 estados larvarios, J1, J2, J3 y J4; los nemátodos J2 se encuentran en el segundo estado larvario, justo después del estado de huevo) donde aún en el complejo BE_{SB}, que fue el que presentó los más altos valores poblacionales, se observa una disminución con respecto a la inicial de un 30.74%, así como también la más baja población en las plantas micorrizadas disminuida hasta en un 97.2%. Casos similares de disminución de la población de nemátodos han sido reportados por Pinochet *et al.*, (1995) y Forge *et al.*, (2001).

Al-Raddad (1995) probó el efecto de *Glomus mosseae* y *Paelomyces lilacinus* en *Meloidogyne javanica* en tomate y de acuerdo al índice de agallamiento encontró que la población de nemátodos fue muy baja al final del experimento debido a la descomposición de los sistemas radicales infestados. Así también Pandey *et al.*, (1999) determinaron que la densidad de nemátodos (*Meloidogyne incognita*) en la raíz del beleño (*Hyoscyamus niger*) fue influida significativamente por la inoculación micorrizica, de tal manera que la reproducción del patógeno disminuyó en las plantas previamente inoculadas con HMA.

Cuadro 38. Relación peso fresco de raíz-población de nemátodos.

Tratamientos	Nemátodos/g de suelo	Peso fresco de raíz (promedios)	Nemátodos/total de raíz*
PG _{SB}	19df	32.04a	608
BE _{SB}	30de	34.66a	1039
MI _{SM}	52abc	18.16b	934
ES _{SM}	55ab	5.08c	275
JU _{SM}	63a	2.69c	169
XI _{EDSA}	14f	3.03a	42
CO _{EDSA}	41cd	2.58c	105
Fertilizado	50bc	9.8 bc	490
Testigo	9f	1.19c	10

Letras iguales muestran que no existen diferencias de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$).

*Datos no analizados estadísticamente, debido a que es una estimación de la relación nemátodos/g de suelo - peso fresco de la raíz

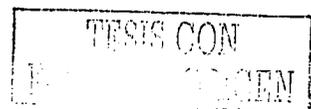
La disminución de las poblaciones de nemátodos pudiera ser atribuida a diversas causas:

Las plantas testigo presentaron un desarrollo radical muy escaso e insuficiente follaje, que seguramente limitaron la **disponibilidad energética** para la supervivencia del patógeno. Las hifas de los hongos micorrizicos son capaces de restringir el número de puntos de entrada para los nemátodos y de **ocasionar cambios fisiológicos** que reducen la susceptibilidad de las plantas a estos (Fitter y Garbaye, 1994)

En contraste un desarrollo radical prolífico de las raíces de las plantas micorrizadas con los consorcios BE_{SB} y MI_{SM}, quizá favoreció el establecimiento de los nemátodos, aunque las poblaciones fueron mayores nunca resultaron más altas que las iniciales (1500 J2) ya que posiblemente al tratar de ocupar los mismos tejidos radicales donde se encuentran establecidos los HMA se establece en primera instancia una **competencia directa por espacio** (Cervinkova, 1989; Trota *et al.*, 1996; Fernando y Linderman, 1994).

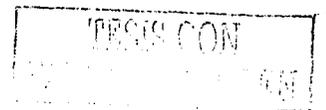
La disminución de la población de nemátodos en nuestro trabajo también pudiera deberse la existencia de un **mecanismo de inhibición por la presencia de los HMA**, hipótesis aún no confirmada debido a que no se ha encontrado infección patogénica por nemátodos en sitios cercanos donde hay estructuras micorrizicas (Harley y Smith, 1983).

Así también se ha sugerido que el micelio externo de algunas especies de HMA puede afectar negativamente a los patógenos de la raíz debido a la **producción de antibióticos u otros compuestos inhibidores** (Fitter y Sanders, 1992). Al respecto Filion *et al.*, (2001) utilizaron un sistema experimental *in vitro* para probar esta hipótesis y confirmaron que algunas sustancias relacionadas con el micelio extrarradical puede interferir directa o indirectamente con la biota microbiana de la rizósfera, a tal grado que al reducir la población de patógenos se convierten en el principal factor que explica el crecimiento diferencial de los microorganismos.

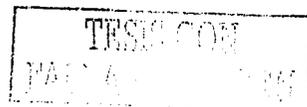


7. CONCLUSIONES

- Dada la respuesta diferente de los consorcios de HMA, es importante considerar que para el uso de este tipo de organismos, es necesario la selección aislamientos eficientes para los fines necesarios y con posibilidad de adaptación a condiciones edafoclimáticas y prácticas de manejo donde se pretenden aplicar. Lo que sugiere que aun cuando las mismas especies de HMA pueden estar involucradas, la procedencia de estas, es determinante para adaptarse y funcionar oportunamente en el desarrollo de los cultivos.
- Se encontraron altas poblaciones de esporas en los agroecosistemas cafetaleros con bajo nivel de tecnología y bajas en los suelos de las fincas altamente tecnificadas, la alteración del ambiente edáfico por la tecnología, disminuye la germinación esporulación y establecimiento de la simbiosis micorrízica.
- La mayor diversidad de hongos se encuentra en suelos provenientes de fincas con nivel de tecnología medio y las más bajas de aquellas con alta tecnología.
- El cambio de condiciones ambientales de campo a invernadero, disminuye considerablemente las poblaciones de esporas.
- Las especies provenientes de café funcionan eficientemente en otros cultivos tropicales, como la papaya.
- No hubo consistencia en el efecto de los mismos consorcios entre los hospedantes comparados, los HMA más eficientes en papaya, procedían de fincas con alto nivel de tecnología y pero no funcionaron con éxito en café, los consorcios MI_{SM} y ES_{SM} que provienen de plantaciones con nivel de tecnología medio, promovieron el mejor crecimiento y desarrollo de las plantas de café bajo condiciones de campo e invernadero. Mismos que presentaron una alta diversidad de HMA, lo que sugiere que una alta variedad de HMA podría promover el mejor desarrollo de las plantas de café.



- La colonización anticipada permite un mejor desarrollo de los HMA dentro del tejido radical como consecuencia un mejor efecto sobre la tolerancia a los patógenos, por lo que la práctica de micorrización es importante para el establecimiento de nuevas fincas cafetaleras en zonas con antecedentes de problemas de nematodos como es el caso de la zona de Huatusco Ver. donde ya hay un mas de 30 000 hectáreas infectadas
- Los nematodos tienen la capacidad de reducir la cantidad de micelio extraradical en la mayoría de los consorcios estudiados.
- Las plantas de café inoculadas previamente con los HMA fueron capaces de resistir el ataque de los nematodos patógenos, sin embargo fue evidente que plantas con un buen aporte de fósforo resistieron también, lo cual podría demostrar que el efecto "protector" de los HMA está fuertemente relacionado con la buena nutrición de las plantas.
- El trasplante de plántulas de café precolonizadas con HMA, tiene respuestas positivas en el desarrollo de estas, en campos infestados por nematodos, en contraste plantas no inoculadas presentan un crecimiento reducido, lo que indica la importancia de la inoculación micorrizica, en casos donde la planta será sometida a una fuerte presión de estrés, como lo son suelos infestados por nematodo.
- Una vez más ha sido corroborada la ausencia de la colonización micorrizica en plantaciones crónicamente infestadas por nematodos, sin embargo aun falta dilucidar cual son los mecanismos que determinan este efecto.
- La inoculación con HMA podría ser considerada como una opción mas en vez del uso de nematicidas para reducir los daños causados por nematodos.



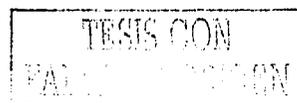
8. BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

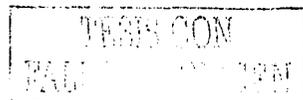
- Abbott, L.K., y Robson, A.D. (1991). Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Agriculture, Ecosystems and Environment, **35** (2-3), 121-150.
- Abdalla, M.E., y Abdel-Fattah, G.M. (2000). Influence of the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the development of peanut pod rot disease in Egypt. Mycorrhiza, **10** (1), 29-35.
- Abdel-Fattah, G.M. (1997). Functional activity of VA-mycorrhiza (*Glomus mosseae*) in the growth and productivity of soybean plants grown in sterilized soil. Folia Microbiologica, **42** (5), 495-502.
- Abdel-Fattah, G.M., y Shabana, Y.M. (2002). Efficacy of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus clarum* in protection of cowpea plants against root rot pathogen *Rhizoctonia*. Biocontrol, **47** (6), 715-727.
- Abraão, M.M., y Mazzafera, P. (2001). Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. Bragantia, **60** (1), 19-26.
- Aguilera-Gómez, L., Davies, F.T., Olalde-Portugal, V., Duray, S.A., y Phavaphutanon, L. (1999). Influence of phosphorus and endomycorrhiza (*Glomus intraradices*) on gas exchange and plant growth of chile ancho pepper (*Capsicum annum* L. cv. San Luis). Photosynthetica, **36**, 441-449.
- Ahmed, S.S., y Alsayed, A.A. (1991). Interaction between the vesicular-arbuscular mycorrhiza *Glomus macrocarpus* and *Meloidogyne incognita* infecting cowpea. Annals-of-Agricultural-Science, **29** (4), 1765-1772.
- Alarcón, A., M.C. González-Chávez, R. Ferrera-Cerrato y A. Villegas-Monter. (2000). Hongos micorrizicos arbusculares en la dinámica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa cv. Fern obtenidas por cultivo *in vitro*. Terra, **18** (3), 211-218.
- Albrecht, B., Burgess, C.T., Dell, B., y Japeyrie, F. 1994. Chitinase and peroxidase activities are induce in eucalytus roots according to aggressives of Australian ectomycorrhizal strain of *Pisulithus* sp. New Phytologist, **127**, 217-222.
- Al-Karaki, G.N. (1998). Benefit, cost and water-use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. Mycorrhiza, **8** (1), 41-45.
- Al-Karaki GN, y Clark RB. (1998). Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal of Plant Nutrition, **21**, 263-276.
- Al-Karaki, G.N. (2002). Field response of garlic inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi to phosphorus fertilization. Journal of Plant Nutrition, **25** (4), 747-756.
- Allen, M.F. (1996). The ecology of arbuscular mycorrhizas: A look back into the 20th century a peek into the 21st. Mycological Research, **100**, 769-782.
- Al-Raddad, A.M. (1995). Interaction of *Glomus mosseae* and *Paelomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica* of tomato. Mycorrhiza, **5** (3), 233-236.
- Anderson, J.M., e Ingram, J.S. I. (1993). Tropical soil biology and fertility: A hand-book of methods. (2nd ed.). Cambridge (UK): CAB International.
- Atilano, R.A., Menge, J.A., y VanGundy, S. (1981). Interaction between *Meloidogyne arenaria* and *Glomus fasciculatus* in grape. Journal of Nematology, **13**, 52-57.



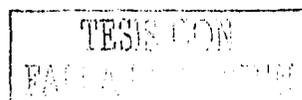
- Atilano, R.A., Rich J.R., Ferris H., y Menge, J.A. (1976). Effect of *Meloidogyne arenaria* on endomycorrhizal grape (*Vitis vinifera*) rooting. Journal of Nematology, **8**, 278-279.
- Bakhtiar, Y., Miller, D., Cavagnaro, T., y Smith, S. (2001). Interactions between two arbuscular mycorrhizal fungi and fungivorous nematodes and control of the nematode with fenamifos. Applied Soil Ecology, **17** (2), 107-117.
- Baon, J.B., Smith, S.E., y Alston, A.M. (1994). Phosphorus uptake and growth of barley as affected by soil-temperature and mycorrhizal infection. Journal of Plant Nutrition, **17** (2-3), 479-492.
- Bardgett, R.D., Cook, R., Yeates, G.W., y Denton, C.S. (1999). The influence of nematodes on below-ground processes in grassland ecosystems. Plant and Soil, **212**, 23-33.
- Barea, J.M., y Jeffries, P. (1995). Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems. En B. Hock and A. Varma (Eds.). Mycorrhizae structure and function molecular biology and biotechnology (pp. 521-559). Berlin: Springer Verlag
- Barea, J.M., Calver, C., Estaún, V., y Camprubi, A. (1996). Biological control as a key component in sustainable agriculture. Plant and Soil, **185**, 171-172.
- Baylis, G.T.S. (1969). Host treatment and spore production by Endogone. New Zealand Journal of Botany, 173-178.
- Bentivenga, S.P., Bever, J.D., y Morton, J.B. (1997). Genetic variation of morphological characters within a single isolate of the endomycorrhizal fungus *Glomus clarum* (Glomaceae). American Journal of Botany, **84** (9), 1211-1216.
- Berta, G., Trotta, A., Fusconi, A., Hooker, J.E., Munro, M., Atkinson, D., Giovannetti, M., Morini, S., Fortuna, P., Tisserant, B., Gianinazzi-Pearson, V., y Gianinazzi, S. (1995). Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera*. Tree Physiology, **15**, 281-293.
- Bethlenfalvay, G.J., Brown, M.S., Franson, R.L., y Mihara, K.L. (1989). The *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis. IX. Nutritional, morphological and physiological responses of nodulated soybean to geographic isolates of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Physiologia Plantarum, **76**, 226-232.
- Bever, J.D., Morton, J.B., Antonovics, J., y Schultz, P.A. (1996). Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. Journal of Ecology, **84** (1), 71-82.
- Beyeler, M., y Heyser, W. (1997). The influence of mycorrhizal colonization on growth in the greenhouse and on catechin, epicatechin and procyanidin in roots of *Fagus sylvatica* L. Mycorrhiza, **7**, 171-177.
- Bhattacharya, S., y Bagyaraj, D.J. (2002). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal isolates on arabica coffee (*Coffea arabica* L.). Biological Agriculture and Horticulture, **20** (2), 125-131.
- Bird, G.W., Rich, J.R., y Grover, S.U. (1974). Increased endomycorrhizae of cotton roots in soil treated with nematocides. Phytopathology, **64**, 48-51.
- Black, K.G., Mitchell, D.T., y Osborne, B.A. (2000). Effect of mycorrhizal-enhanced leaf phosphate status on carbon partitioning, translocation and photosynthesis in cucumber. Plant Cell and Environment, **23** (8), 797-809.



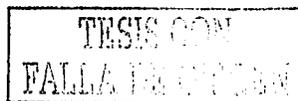
- Bohn, H.L., McNeal, B.L., y O'Connor, G.A. (1993). Química del suelo. LIMUSA, México. 370 p.
- Boller, T. (1993). Antimicrobial functions of the plant hydrolases, chitinase and β -1,3-glucanase. En B. Fritig y M Legrand (Eds.). Mechanisms of plant defense response (pp. 391-400). Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Publishers.
- Boucher, A., Dalpe, Y., y Charest, C. (1999). Effect of arbuscular mycorrhizal colonization of four species of *Glomus* on physiological responses of maize. Journal of Plant Nutrition, 22 (4-5), 783-797.
- Brogliè, R., y Brogliè, K. (1993). Chitinases and plant protection. En B. Fritig y M Legrand (Eds.). Mechanisms of plant defense response (pp. 411-421). Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Publishers.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., y Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture (Monograph Series 32). Canberra: CIAR. 374 p.
- Brussaard, L., Kuyper, T.W., y Goede, R.G.M. (2001). On the relationships between nematodes, mycorrhizal fungi and plants: functional composition of species and plant performance. Plant and Soil, 232 (1-2), 155-165.
- Burrows, R.L., y Pfleger, F.L. (2002a). Host responses to AMF from plots differing in plant diversity. Plant and Soil, 240 (1), 169-179.
- Burrows, R.L., Pfleger, F.L. (2002b). Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. Canadian Journal of Botany, 80 (2), 120-130.
- Calvet, C., Pinochet, J., Camprubí, A., y Fernández, C. (1995). Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. Mycorrhiza, 5 (4), 253-258.
- Camprubí, A., Pinochet, J., Calvet, C., y Estaun, V. (1993). Effects of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the growth of three plum rootstocks. Plant and Soil, 153, 223-229.
- Carling, D.E., Roncadori, R.W., y Hussey, R.S. (1989). Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi root-knot nematode and phosphorus fertilization on soybean. Plant Disease, 79 (9), 730-733.
- Carling, D.E., Roncadori, R.W., y Hussey, R.S. (1996). Interactions of arbuscular mycorrhizae *Meloidogyne arenaria*, and phosphorus fertilization on peanut. Mycorrhiza, 6 (1), 9-13.
- Caron, M., Fortin, J.A., y Richard, C. (1986). Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. Phytopathology, 76, 942-946.
- Caron, M. (1989). Potential use of mycorrhizae in control of soil borne disease. Canadian Journal of Plant Pathology, 11, 177-179.
- Carter, G.A., y Knapp, A.K. (2001). Leaf optical properties in higher plants: Linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. American Journal of Botany, 88 (4), 677-684.
- Catska, V. (1994). Interrelationships between vesicular-arbuscular mycorrhiza and rhizosphere microflora in apple replant disease. Biologia-Plantarum, 36 (1), 99-104.
- Cervinkova, H. (1989). Mycorrhizae and control of root pathogen *Heterobasidion annosum*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 28, 55-58.



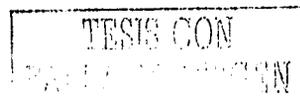
- Clark, R.B., y Zeto, S.K. (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. Journal of Plant Nutrition, **23** (7), 867-902.
- Cooper, K.M., y Grandison, G.S. (1986). Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and root-knot nematode cultivars of tomato and white clover susceptible to *Meloidogyne hapla*. Annals of Applied Biology, **108**, 555-565.
- Cordier, C., Gianinazzi, S., y Gianinazzi-Pearson V. (1996). Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotianae* var. *Parasitica* related to reduced disease in mycorrhizal tomato. Plant and Soil, **185**, 223-232.
- Cruz, S.J.C. (1989). Estudio de la simbiosis micorrizica vesicular arbuscular en el cultivo de *Coffea arabica* var. Caturra. Fitopatología Colombiana, **13** (2), 56-64.
- Curtis, H., Barnes, N.S., Schneck, A., y Flores, G. (2001). Biología. (6ª. ed.). España: Editorial Médica Panamericana. p. 776-781.
- Daft, M.J. y Okusanya, B.O. (1973). Effect of endogone mycorrhizae on plant growth. V. Influence of infection on the multiplication of virus in tomato, petunia and strawberry. New Phytologist, **72**, 975-983.
- Dakora, F.D., y Phillips, D.A. (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. Plant and Soil, **245** (1), 35-47.
- Davies Jr., F.T., Olalde-Portugal, V., Alvarado, M.J., Escamilla, H.M., Ferrera-Cerrato, R.C., y Espinosa, J.I. (2000). Alleviating phosphorus stress of chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L. cv. San Luis) by arbuscular mycorrhizal inoculation. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, **75** (6), 655-661.
- Davis, R.M., y Menge, J.A. (1980). Influence of *Glomus fasciculatum* and soil phosphorus on *Phytophthora* root rot of citrus. Phytopathology, **70**, 447-452.
- Dehne, H.W., y Schönbeck, F. (1979). The influence of endotrophic mycorrhiza on plant disease. II. Phenol metabolism and lignification. Phytopathology, **95**, 210-216.
- Dehne, H.W. (1982). Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology, **72**, 1115-1119.
- De Souza, P.V.D. (1979). Interactions of *Gigaspora margarita* and *Meloidogyne exigua* on coffee grow at three levels of phosphorus. Abstracts of North American Conference on Mycorrhizae (p. 103). USA: Colorado State University Press.
- Devi, T.P., y Goswami, B.K. (1992). Effect of VA-mycorrhiza on the disease incidence due to *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne incognita* on cowpea. Annals of Agricultural Research, **13** (3), 253-256.
- Devlin, R. (1982). Fisiología vegetal. La Habana: Editorial Pueblo y Educación. 468 p.
- Dhingra, O.D., y Sinclair, J.B. (1985) Basic plant pathology methods: Boca Raton (USA): CRC Press. 355 p.
- Dodd, J.C., Boddington, C.L., Rodriguez, A., Gonzalez-Chavez, C., y Mansur, I. (2000). Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: Form, function and detection. Plant and Soil, **226** (3), 131-151.
- Dominguez A., X. (1973). Métodos de investigación fitoquímica. LIMUSA, México. p. 40.
- Douds Jr., D.D., y Millner, P.D. (1999). Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment, **74**, 77-93.
- Douds Jr., D.D., Pfeiffer, P.E., y Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizae. En Y. Kapulnick y D.D. Douds Jr. (Eds.). Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function (pp. 107-130). Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Press.



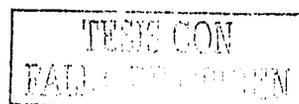
- Duchesne, L.C., Ellis, B.E., y Peterson, R.L. (1989). Disease suppression by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: Contribution of oxalic acid. Canadian Journal of Botany, 67, 2726-2730.
- Dugassa, G.D., Von-Alten, H., y Schönbeck, F. (1996). Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. Plant and Soil, 185, 173-182
- Douglas, A.E. 1998. Host benefit and the evolution of specialization in symbiosis. Heredity, 81:599-603
- Dumas-Gaudot, E., Slezak, S., Dassi, B. Pozo, M.J., Gianinazzi-Pearson, V., y Gianinazzi, S. (1996). Plant hydrolytic enzymes (chitinases and b-1,3-gluconases) in root reactions to pathogenic and symbiotic microorganisms. Plant and Soil, 185, 211-221.
- Echeverry, R. y Fernández, C.E. (1987). Informe de viaje a Campinas, Brasil. IAC-PROMECAFE, México. 11p.
- Elder, R.J., Reid, D.J., Macleod, W.N.B. et al.. 2002. Post-ratoon growth and yield of three hybrid papayas (*Carica papaya* L.) under mulched and bare-ground conditions. Australian Journal of Experimental Agriculture, 42 (1), 71-81.
- Eltrop, L., y Marschner, H. (1996). Growth and mineral nutrition of non-mycorrhizal and mycorrhizal Norway spruce (*Picea abies*) seedlings grown in semi-hydronic sand culture. 2. Carbon partitioning in plants supplied with ammonium or nitrate. New Phytologist, 133 (3), 479-486.
- Estrada-Luna, A.A., Davies, F.T., y Egilla, J.N. (2000). Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. Mycorrhiza, 10, 1-8.
- Etchevers, B.J. (1989). Análisis químicos de suelos y plantas: Notas de clases. CEDAF-Colegio de Posgraduados, México. 366 p.
- Ezawa, T., Yamamoto, K., y Yoshida, S. (2000). Species composition and spore density of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under different conditions of P-fertility as revealed by soybean trap culture. Soil Science and Plant Nutrition, 46 (2), 291-297.
- Fernandes, A.B., y Siqueira, J.O. (1989). Micorrizas vesicular-arbusculares em cafeeiros da região sul do Estado de Minas Gerais. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 24, 1489-1489.
- Fernández, C., Pinochet, J., Esmenjaud, D., Salesses, G., y Felipe, A. (1994). Resistance among new *Prunus* rootstocks and selections to rott-knot nematodes in Spain and France. HortScience, 29 (9), 1064-1067.
- Fernández, F.E., Cañizares, G.G., Rivera R., y Ferrera R.A. (1992). Efectividad de tres hongos micorrízico-arbusculares (MVA) y una cepa de bacteria solubilizadora de fósforo (BSF) sobre el crecimiento de posturas de café (*Coffea arabica* L.). Cultivos Tropicales, 13 (1), 23-27.
- Fernando, W.G.D., y Linderman, R.G. (1994). The effect of mycorrhizal (*Glomus intraradices*) colonization on the development of root and stem rot (*Phytophthora vignae*) of cowpea. Plant Disease, 77, 1158-1164.
- Ferrera-Cerrato, R., González C., M.C. y Rodríguez, M.N. (1993). Manual de agromicrobiología. TRILLAS, México. 142 p.



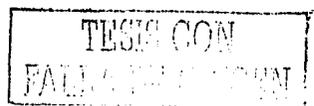
- Filion, M., St. Arnaud, M., y Fortin, J.A. (1999). Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms. New Phytologist, 141 (3), 525-533.
- Filion, M., St. Arnaud, M., Guillon, C., Hamel, C., y Jabaji-Harc, S.H. (2001). Suitability of *Glomus intraradices* *in vitro* produced spores and root segment inoculum for the establishment of a mycorrhizosphere in an experimental microcosm. Canadian Journal of Botany, 79 (8), 879-885.
- Fischer, C.R., Janos, D.P., Perry, D.A., y Linderman, R.G. (1994). Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. Biotropica, 26, 369-377.
- Fitter, A.H. (1991). Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. Experientia, 47, 350-355.
- Fitter, A.H., y Sanders, J.R. (1992). Interactions with the soil fauna. En M.F. Allen (Ed.). Mycorrhizal functioning an integrated plant-fungal process (pp. 333-354). London: Chapman and Hall.
- Fitter, A.H., y Garbaye, J. (1994). Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. Plant and Soil, 159 (1), 123-132.
- Forge T, Muehlichen, A., Hackenberg, C., Neilsen, G., y Vrain, T. (2001). Effects of preplant inoculation of apple (*Malus domestica* Borkh.) with arbuscular mycorrhizal fungi on population growth of the root-lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. Plant and Soil, 236 (2), 185-196.
- Fox, J.A., y Spasoff, L. (1972). Interaction of *Heterodera solanacearum* and *Endogone gigantea* on tobacco. Journal of Nematology, 4, 224-225.
- Fracchia, S., Garcia-Romera, I., Godeas, A., y Ocampo, J.A. (2000). Effect of the saprophytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials. Plant and Soil, 223 (3), 175-184.
- Francl, L.J. (1993). Interactions of nematodes with micorrhizae and micorrhizal fungi. En M.W. Khan (Ed.). Nematode interaction (pp. 116-203). London: Chapman and Hall.
- Francl, L.J., y Dropkin, V.H. (1985). *Glomus fasciculatum*, a weak pathogen of *Heterodera glycines*. Journal of Nematology, 17 (4), 470-475.
- French, E.R., y Hebert, T.T. (1982). Métodos de investigación fitopatológica. San José: IICA. 289 p.
- Gange, A.C., Bower, E., y Brown, V.K. (2002). Differential effects of insect herbivory on arbuscular mycorrhizal colonization. Oecologia, 131 (1), 103-112.
- González-Chávez, C., Harris, P.J., Dodd, J., y Mcharg, A.A. (2002). Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. New Phytologist, 155 (1), 163-171.
- García, R.B. (1994). Comportamiento de germoplasma de café ante el ataque del nemátodo *Meloidogyne* sp. bajo condiciones de vivero. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas, UV, México. 88 p.
- Gavito, M.E. y Varela, L. (1995). Response of "criollo" maize to single and mixed species inocula of arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 176, 101-105.
- Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society, 46, 235-244.



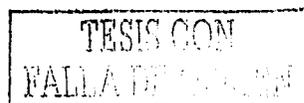
- Gerdemann, J.W. (1968). Vesicular arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annual Review of Phytopathology, 6, 396-418.
- Germani, G., Diem, H.G., y Dommergues, Y.R. (1980). Influence of 1,2 dibromo-3-chloropropane fumigation on nematode population, mycorrhizal infection, N, fixation and yield of field-grown groundnut. Revue de Nématologie, 3, 75-78.
- Gianinazzi, S., y Gianinazzi-Pearson, V. (1986). Progress and headaches in endomycorrhiza biotechnology. Symbiosis, 2, 139-149.
- Gianinazzi, S., y Schüepp, H. (1996). Preface. Plant and Soil, 185 (2), 171-172.
- Giovannetti, M., y Citeresi, A.S. (1993). Time-course of appressorium formation on host plants by arbuscular mycorrhizal fungi. Mycological Research, 97, 1140-1142.
- Giovannetti, S., y Gianinazzi-Pearson, V. (1994). Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. Mycological Research, 98, 705-715.
- Giovannetti, M. (2000). Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth. En Y. Kapulnick, y D.D. Douds Jr. (Eds.). Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function (pp. 47-68). Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Press.
- Gould, A.B., Hendrix, J.W., y Ferriss, R.S. (1996). Relationship of mycorrhizal activity to time following reclamation of surface mine land in western Kentucky. 1. Propagule and spore population densities. Canadian Journal of Botany, 74 (2), 247-261.
- Graham, J.H. (1986). Citrus mycorrhizae: Potential benefits and interactions with pathogens. HortScience, 21 (6), 1302-1306.
- Graham, J.H., Drouillard, D.L., y Hodge, N.C. (1996). Carbon economy of sour orange in response to different *Glomus* spp. Tree Physiology, 16 (11-12), 1023-1029.
- Grandmaison, J., Olah, G.M., Calsteren, M.R., Furlan, V., y Van-Calsteren, M.R. (1993). Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. Mycorrhiza, 3 (4), 155-164.
- Greipsson, S., y El-Mayas, H. (2002). Synergistic effect of soil pathogenic fungi and nematodes reducing bioprotection of arbuscular mycorrhizal fungi on the grass *Leymus arenarius*. Biocontrol, 47 (6), 715-727.
- Hamel, C., y St. Arnaud, M. (1998). Interaction between plants through arbuscular mycorrhiza and its relation with other soil organisms. En R. Zulueta R., M.A. Escalona A., y D. Trejo A. (Eds.). Avances de la investigación micorrizica en México (pp. 9-20). Universidad Veracruzana, México.
- Harborne, J.B. 1973. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis (pp. 204-208). Chapman & Hall. United Kingdom.
- Harley, J.L., y Smith, S.E. (1983). Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press. 483 p.
- Hayman, D.S. (1982). The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Canadian Journal of Botany, 6, 944-963.
- He, X.L., Mouratov, S., y Steinberger, Y. (2002). Spatial distribution and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi under the canopies of desert halophytes. Arid Land Research and Management, 1 (2), 149-160.
- Heinemeyer, A., y Fitter, A.H. (2001). Influence of temperature and light on the functioning of arbuscular mycorrhizal (AM) on the extraradical hyphae growth: Implications of climate change. ICOM 3, The Third International Conference on Mycorrhizas. Adelaide, Australia.
- Hernández A., H., Trejo A., D., y Ferrera-Cerrato, R. (1995). La endomicorriza arbuscular en la sanidad y vigor de café (*Coffea arabica* L.). variedad catimor. En J.L. Tovar



- S., V. Ordaz C., y R. Quintero L. (Eds.). Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo (p. 100) Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.
- Hinsinger, P. (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: A Review. Plant and Soil, 237, 173-195.
- Hoagland, D.R., y Arnon, D.J. (1938). Synthetic media for hidroponic culture. Calif. Agr. Ext. Public. 347:35-37.
- Hodge, A., Robinson, D., y Fitter, A.H. (2000). An arbuscular mycorrhizal inoculum enhances root proliferation in but not nitrogen capture from nutrient-rich patches in soil. New Phytologist, 145 (1), 575-584.
- Hrselova, H., Chvatalova, I., Vosatka, M., Klir, J., y Gryndler, M. (2000). Correlation of abundance of arbuscular mycorrhizal fungi, bacteria and saprophytic microfungi with soil carbon, nitrogen and phosphorus. Folia Microbiologica, 44 (6), 683-687.
- Huat, O.K., Awang, K., Hashim, A., y Majid, N.M. (2002). Effects of fertilizers and vesicular-arbuscular mycorrhizas on the growth and photosynthesis of *Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs seedlings. Forest Ecology and Management, 158 (1-3), 51-58.
- Hussey, R.S., y Barker, K.R. (1973). A comparasion of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter, 12, 1025-1028.
- Hussey, R.S., y Roncadori, R.W. (1978). Interaction of *Pratylenchus brachyurus* and *Gigaspora margarita* on cotton. Journal of Nematology, 10 (1), 18-20.
- Hussey, R.S., y Roncadori, R.W. (1982). Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Disease, 66, 9-14.
- Ingham E.R., Trofynow, J.A., Ames R.N., Hunt, H.W., Morley C.B., More, J.C., y Coleman, D.C. (1986). Trophic interaction and nitrogen cycling in a semiarid grassland soil. Part II System responses to removal of different groups of soil microbes or fauna. Journal of Applied Ecology, 22, 615-630.
- Ingham, E.R. (1988). Interactions between nematodes and vesicular- arbuscular mycorrhizae. Agriculture, Ecosystems and Environment, 24, 169-182.
- Ingham, E.R., y Molina, R. (1991). Interactions among mycorrhizal fungi, rhizosphere organisms, and plants. En P. Barbosa, V.A. Krischik, y C.G. Jones (Eds.). Microbial mediation of plant-herbivore interactions (pp. 169-197). New York: John Wiley & Sons.
- Ingham, E.R. (2003). The soil foodweb: It's importance in ecosystem health. Obtenido en la Red Mundial el 23 de mayo de 2003. <http://www.rain.org/~sals/ingham.html>
- Iqbal, S.H., Shahbaz-Rana, A.N., Masood-Khan, K., Rana, S, y Khan, M. (1990). The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) and *Aspergillus niger* as deterrents against *Rhizoctonia solani* in potatoes. Sarhad Journal of Agriculture, 6 (5), 481-484.
- Jaizme-Vega, M.C., y Azcón, R. (1995). Response of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. Mycorrhiza, 5, 213-217.
- Jaizme-Vega, M.C, Tenoury, P., Pinochet, J., y Jaumot, M. (1997). Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. Plant and Soil, 196, 27-35.
- Jakobsen, I., Abbott, L. K. y Robson, A. D. (1992). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. I. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. New Phytologist 120 (3): 371-380.
- Jakobsen, I. (1994). Research approaches to study the functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the field. Plant and Soil, 159 (1), 141-147.



- Jakobsen, I., Gazey, C., y Abbott, I.K. (2001). Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. New Phytologist, 149 (1), 95-103.
- Jiménez, J.L. (1989). Las micorrizas. ANACAFE: Guatemala. pp. 25-28.
- Johnson, N.C., y Pfleger, F.L. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses En G.J. Bethlenfalvay y R.G. Linderman (Eds.). Mycorrhizae in sustainable agriculture (ASA/SSSA special publication No. 54) (pp. 71-99). Madison (WI): American Society of Agronomy.
- Joner, E.J. (1997). Recycling of P from mineralized plant material through arbuscular mycorrhiza. En The Royal Swedish Academy of Agriculture and Forestry Library (Ed.). Phosphorus balance and utilization in agriculture - towards sustainability Workshop (pp. 137-140). Stockholm, Sweden.
- Joner, E.J. (2000). The effect of long-term fertilization with organic or inorganic fertilizers on mycorrhiza mediated phosphorus uptake in subterranean clover. Biology and Fertility of Soils, 32 (5), 435-440.
- Jordan, N.R., Zhang, J., y Hurd, S. (2000). Arbuscular-mycorrhizal fungi: Potential roles in weed management. Weed Research, 40 (5), 397-410.
- Kellan, M.K., y Schenck, N.C. 1980. Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. Phytopathology, 70, 293-296.
- Khalil, S., Loynachan, T.E., y McNabb, H.S. (1992). Colonization of soybean by mycorrhizal fungi and spore populations in iowa soils. Agronomy Journal, 84 (5), 1832-836.
- Kling, M, y Jakobsen, I. (1998). Arbuscular mycorrhiza in soil quality assessment. Ambio, 27 (1): 29-34.
- Koenning, S.R., y Barker, K. R. (1995). Soybean photosynthesis and yield as influenced by *Heterodera glycines* soil type and irrigation. Journal of Nematology, 27, 51-62.
- Koomen, I., Grace, C., y Hayman, D.S. (1987). Effectiveness of single and multiple mycorrhizal inocula on growth of clover and strawberry plants at two soil pHs. Soil Biology and Biochemistry, 19, 537-543.
- Kurle, J.E., Pfleger, F.L. (1994). Arbuscular mycorrhizal fungus spore populations respond to conversions between low-input and conventional management-practices in a corn-soybean rotation. Agronomy Journal, 86 (3), 467-475.
- Kurle, J.E., y Pfleger, F.L. (1996). Management influences on arbuscular mycorrhizal fungal species composition in a corn-soybean rotation. Agronomy Journal, 88 (2), 155-161.
- Lara C., L., Escalona A., M.A., y Trejo A., D. (1996). Respuesta de dos materiales de papaya a la inoculación con cepas de hongos endomicorrizicos nativos. En J. Pérez M., J.J. Almaraz S., y A. Ortiz C. (Eds.). Resúmenes del I Simposio Nacional de la Simbiosis Micorrizica (p. 36). México: Xalapa, Veracruz.
- Linderman, R.G. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions En American Society of Agronomy, Crop Science Society of America and Soil Science Society of America (Eds.). Mycorrhizae in sustainable agriculture (ASA Special Publication no. 54). (pp. 45-69). Madison (WI): USA.

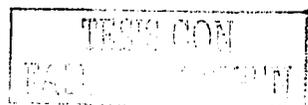


- Linderman, R.G. (1994). Role of mycorrhizae in biocontrol. En F.L. Pfleger y R.G. Linderman. (Eds.). Mycorrhizae and plant health (p. 1-17). San Diego (USA): Academic Press.
- Linderman, R.G. (2000). Effects of mycorrhizas on plant tolerance to diseases. En Y. Kapulnick y D.D. Douds Jr. (Eds.). Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function (pp. 345-366). Dordrecht (Netherlands): Kluwer Academic Press.
- Linderman, R.G., y and Marlow, J.L. (1992). Rhizosphere microorganisms in biological control of root diseases.
- Liu, R. J. (1995). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on verticillium wilt of cotton. Mycorrhiza, 5 (4), 293-297.
- López-Aranda, J.M., Romero, F., Montes, F., Medina, J.J., Miranda, L., de los Santos, B., Vega, J.M., Páez, J.I., y Dominguez, F. (2001). El problema de la prohibición del bromuro de metilo como fumigante de suelos agrícolas; Resultados sobre algunas alternativas para viveros de fresa en España. Revista Terralia, 20, 33-40.
- López M., H. 1990. Establecimiento y manejo de semilleros. En (faltan los editores). El cultivo del café en México (p. 65-69). INMECAFE-NESTLE. México.
- Louche-Tessandier, D., Samson, G., Hernández-Sabastiá, C., Chagvardieff, P., y Desjardins, Y. (1999). Importance of light and CO₂ on the effects of endomycorrhizal colonization on growth and photosynthesis of potato plantlets (*Solanum tuberosum*) in an *in vitro* tripartite system. New Phytologist, 142, 539-550.
- Loth, F.G. 1996. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores at different native sites in dependence on sewage sludge applications. Bodenkultur, 47 (2), 89-96.
- Lovelock, C.E., y Morton, J. (2001). Host and environment controls on arbuscular mycorrhizal communities in a moist tropical forest. ICOM 3, The Third International Conference on Mycorrhizas. Adelaide, Australia.
- Lussenhop, J. (1996). Collembola as mediators of microbial symbiont effects upon soybean. Soil Biology and Biochemistry, 28 (3), 363-369.
- Marschner, H., y Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil, 159, 89-102.
- Marshall, V.G. (2000). Impacts of forest harvesting on biological processes in northern forest soils. Forest Ecology and Management, 133 (1-2), 43-60
- Mason, P.A., Ibrahim, K., Ingleby, K., Munro, R.C., y Wilson, J. (2000). Mycorrhizal development and growth of inoculated *Eucalyptus globulus* (Labill.) seedlings in wet and dry conditions in the glasshouse. Forest Ecology and Management, 128 (3), 269-277.
- Martins, M.A., y Read, D.J. (1997). The effects of disturbance on the external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 32 (11), 1183-1189.
- Mathews, J.W., y Clay, K. (2001). Influence of fungal endophyte infection on plant-soil feedback and community interactions. Ecology, 82 (2), 500-509.
- McGee, P. A. (1989). Variation in propagule numbers of vesicular-arbuscular mycorrhizal in a semi-arid soil. Mycological Research, 92:28-33.
- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L. y Swan, J. A. (1990). A Methods Which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi. New Phytologist 115: 495-501

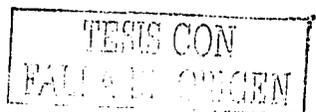


- McGonigle, T. P., Miller, M. H., Evans, D. G., Fairchild, G. L. y Swan, J. A. (1990). A Method Which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi. New Phytologist **115**: 495-501
- McGonigle, T.P., y Miller, M.H. (1999). Winter survival of extraradical hyphae and spores of arbuscular mycorrhizal fungi in the field. Applied Soil Ecology, **12** (1), 41-50.
- Miller, R.M., Reinhardt, D.R., y Jastrow, J.D. (1995). External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. Oecologia, **103** (1), 17-23.
- Mohandas, S. (1992). Effect of VAM inoculation on plant-growth, nutrient level and root phosphatase-activity in papaya (*Carica-papaya* cv. Coorg Honey Dew). Fertilizer Research, **31** (3), 263-267.
- Morandi, D. (1996). Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions, and their potential role in biological control. Plant and Soil, **185**, 241-251.
- Muhsin, T.M., y Zwiazek, J.J. (2002). Colonization with *Hebeloma crustuliniforme* increases water conductance and limits shoot sodium uptake in white spruce (*Picea glauca*) seedlings. Plant and Soil, **238** (2), 217-225.
- Muleba, N., y Coulibaly, M. (1999). Effects of phosphorus fertilizer sources on cowpea and subsequent cereal crop productivity in semi-arid West Africa. Journal of Agricultural Science, **132**, 45-60.
- Munro, R.C., Wilson, J., Jefwa, J., y Mbuthia, K.W. (1999). A low-cost method of mycorrhizal inoculation improves growth of *Acacia tortilis* seedlings in the nursery. Forest Ecology and Management, **113** (1), 51-56.
- Nagesh, M., Reddy, P.P., Kumar, M.V.V., y Nagaraju, B.M. (1999). Studies on correlation between *Glomus fasciculatum* spore density, root colonization and *Meloidogyne incognita* infection on *Lycopersicon esculentum*. Journal of Plant Diseases and Protection, **106** (1), 82-87.
- Newman, S.E., y Davies, F.T. (1988). High root-zone temperatures, mycorrhizal fungi, water relations, and root hydraulic conductivity of container-grown woody plants. Journal of the American Society for Horticultural Science, **113** (1), 138-146.
- Newsham, K.K., Fitter, A.H. & Watkinson, A.R. (1995) Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. Journal of Ecology, **83**, 991-1000.
- Nickle, W.R. (Ed.). (1991). Manual of agriculture nematology. New York (USA): Marcel Dekker. 1035 p.
- Norman, J.R., Atkinson, D., y Hooker, J.E. (1996). Arbuscular mycorrhizal fungal-induced alteration to root architecture in strawberry and induced resistance to the root pathogen *Phytophthora fragariae*. Plant and Soil, **185**, 191-198.
- Noyd, R.K., Pfleger, F.L., y Norland, M.R. (1996). Field responses to added organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi, and fertilizer in reclamation of taconite iron ore tailing. Plant and Soil, **179** (1), 89-97.
- Nyczepir, A.P., y Halbrendt, J.M. (1993). Nematode pests of deciduous fruit and nut trees. En K Evans, D.J. Trudgill, y J.M. Webster (Eds.). Plant parasitic nematodes in temperate agriculture (pp. 381-425). Wallingford (UK): CAB International.
- O' Bannon, J.H., y Nemeec, S. (1979). The response of *Citrus lemon* seedlings to a symbiont, *Glomus etunicatum* and a pathogen, *Radopholus similis*. Journal of Nematology, **11**, 270-275.

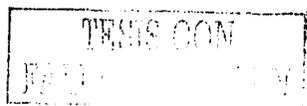
- Oliveira, A.A.R., y Zambolim. 1987. Interacao entro o fungo endomicorrizico *Glomus etunicatum* e o nematoide de galhas *Meloidogyne javanica* em feijoeiro com raiz partida. Fitopatologia Brasileira, **12**, 222-225.
- Olsen, J.K., Schaefer, J.T., Edwards, D.G., Hunter, M.N., Galea, V.J. and Muller, L.M. (1999). Effects of mycorrhizae, established from an existing intact hyphal network, on the growth response of capsicum (*Capsicum annuum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to five rates of applied phosphorus. Australian Journal of Agricultural Research, **50** (2), 223-237.
- Olsson, P.A., Thingstrup, I., Jakobsen, I., y Baath, F. (1999). Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. Soil Biology and Biochemistry, **31** (13), 1879-1887.
- Ortega-Larrocea, M.P., Siebe, C., Bécard, G., Mendez, I., y Webster, R. (2001). Impact of a century of wastewater irrigation on the abundance of arbuscular mycorrhizal spores in the soil of the Mezquital Valley of Mexico. Applied Soil Ecology, **16** (2), 149-157.
- Osorio, N.W., Alzate, J.M., y Ramirez, G.A. (2002). Coffee seedling growth as affected by mycorrhizal inoculation and organic amendment. Communications in Soil Science and Plant Analysis, **33** (9-10), 1425-1434.
- Pandey, R., Gupta, M.L., Singh, H.B., y Kumar, S. (1999). The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi alone or in combination with *Meloidogyne incognita* on *Hyoscyamus niger* L. Bioresource Technology, **69**, 275-278.
- Pearson, J.N., y Jakobsen, I. (1993). The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labeling with ³²P and ³³P. New Phytologist, **124** (3), 489-494.
- Peng, S., Eissenstat, D.M., Graham, J.H., y Williams, K. (1993). Growth depression in mycorrhizal citrus at high phosphorus supply: Analysis of carbon costs. Plant Physiology, **101** (3), 1063-1071.
- Perrin, R. (1991). Mycorrhizes et protection phytosanitaire. En D.G. Strullu (Ed.). Les mycorrhizes des arbres et plantes cultivées (pp. 93-130). Technique et Documentation Lavoisier, Paris, Francia.
- Perrin, R., y Salerno, M.I. (1994). Current developments in the research related to the influence of mycorrhiza on plant protection and resistance to abiotic stresses. En C. Azcón-Aguilar, y J.M. Barea (Eds.). Mycorrhizas in integrated systems from gene to plant development. Proceedings of the Fourth European Symposium on Mycorrhizas (pp. 401-407). Granada, Spain.
- Person, H. (1991). Interaction between VA mycorrhizal fungi and root microflora of jute. En M. Bali, K.G. Mukerji, y B.L. McMichael (Eds.). Plant roots and their environment. Proceedings of an ISSR symposium (pp. 396-401). Uppsala, Sweden.
- Pfeffer, P.E., Douds, D.D., Bécard, G., y Shachar-Hill, Y. (1999). Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. Plant Physiology, **120**, 587-598.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of The British Mycological Society, **55**, 158-160.
- Picone, C. (2000). Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. Biotropica, **32** (4), 734-750.



- Pinochet, J., Camprubi A, Calvet C. (1993). Effects of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal fungus *Glomus-mosseae* on the growth of EMLA-26 Apple rootstock. Mycorrhiza, 4 (2), 79-83.
- Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A., y Fernández, C. (1995). Interaction between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry rootstock. Plant and Soil, 170, 323-329.
- Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A., y Fernandez, C. (1996). Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal in perennial crops: A review. Plant and Soil, 185, 183-190.
- Rabatin, S.C., y Stinner, B.R. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhizae, plant, and invertebrate interactions in soil. En P. Barbosa, V.A. Kirschik (Eds.). Microbial mediation of plant- herbivore interactions (pp. 141-168). Chichester: John Wiley & Sons.
- Ramachela K 2002. Ecology and patterns of distribution of mycorrhizal fungi in the Uapaca kirkiana woodland ecosystem. Discovery And Innovation. 127-138.
- Ratnayake, M., Leonard, R.T., y Menge, J.A. (1978). Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytologist, 81, 543-552.
- Ravnskov, S., y Jakobsen, I. (1995). Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant. New Phytologist, 129 (4), 611-618.
- Read, D.J. (1984). The structure and function of vegetative mycelium of mycorrhizal roots. En D. H. Jennings and A.D.M. Rayner (Eds.). The ecology and physiology of the fungal mycelium (pp. 215-240). Cambridge: Cambridge University Press.
- Reddy, B., Bararaj, D.J., y Mallesha, B.C. (1996). Selection of efficient VA mycorrhizal fungi for papaya. Biological Agriculture and Horticulture, 13 (1), 1-6.
- Redecker, D., Morton, J.B., y Bruns, T.D. 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). Molecular Phylogenetics and Evolution 14:276-284.
- Rivas-Platero, G.G., Rojas M., T., y Cuervo A., J. (1998). Interacción del hongo vesículo arbuscular *Glomus* spp. con *Meloidogyne arabicida* en tomate. Manejo Integrado de Plagas, 47, 41-43.
- Rich, J.R., y Bird, G.W. (1974). Association of early-season vesicular-arbuscular mycorrhizae with increase growth and development of cotton. Phytopathology, 64, 1421-1425.
- Rich, J.R., y Schenck, N.C. (1981). Seasonal variations in populations of plant-parasitic nematodes and vesicular-arbuscular mycorrhizae in Florida field corn. Plant Disease, 65, 804-807.
- Roncadori, R.W. 1994. Interactions between arbuscular mycorrhizas and plant parasitic nematodes in agro-ecosystems. Department of plant pathology, University of Georgia, Athens.
- Roncadori, R.W. 1994b. Interactions between arbuscular mycorrhizas and plant parasitic nematodes in agro-ecosystems. En A.C. Gange, y V.K. Brown (Eds.). Multitrophic interaction in terrestrial systems. (36th Symposium of The British Ecological Society) (pp. 111-112). Blackwell, Oxford
- Roncadori, R.W., y Hussey, R.S. (1977). Interaction of the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* and root knot nematode on cotton. Phytopathology, 67, 1507-1511



- Roncardori, R.W., y Hussey, R.S. (1986). Effect of *Gigaspora margarita*, *Meloidogyne incognita*, and phosphorus fertility on peach growth and yield. Phytopathology, **76**, 1108.
- Rosenstein S., E. (1998). Diccionario de especialidades agroquímicas. 8a. ed. Ediciones PLM, México. 1288 p.
- Ruiz-Lozano, J.M., y Azcón, R. Hyphal (1995). Contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status." Physiologia Plantarum, **95** (3), 472-478.
- Rutto, K.L., Mizutani, F., Moon, D.G., y Kadoya, K. (2002). The relationship between cultural practices and arbuscular mycorrhizal (AM) activity in orchards under different management systems. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, **71** (5), 601-609.
- Rygielwicz, P.T., y Andersen, C.P. (1994). Mycorrhizae alter quality and quantity of carbon allocated belowground. Nature, **369**, 58-60.
- Saggin-Júnior, O.J. y Siqueira, J.O. (1996). Micorrizas arbusculares em cafeeiro. En J.O. Siqueira (Ed.) Avanços em fundamentos e aplicação de micorrizas. (pp. 203-254). DCS- DCF/UFLA, Lavras.
- Sanders, F.E., y Tinker, P.B. (1971). Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone mycorrhizas*. Nature, **233**, 278-279.
- Sanders, F.E., y Tinker, P.B. (1973). Phosphate flow into mycorrhizal roots. Pesticide Science, **4**, 385-395.
- Saleh, H., y Sikora, R.A. (1984). Relationship between *Glomus fasciculatum* root colonization of cotton and its effect on *Meloidogyne incognita*. Nematologica, **30**, 230-237.
- Sawaki, H., Sugawara, K., y Saito, M. 1998. Phylogenetic position of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Acaulospora gerdemannii*, and its synanamorph *Glomus leptotichum*, based upon 18S rRNA gene sequence. Mycoscience **39**:477-480.
- Schans, J. (1991). Reduction of leaf photosynthesis and transpiration rates of potato plants by second-stage juveniles of *Globodera pallida*. Plant, Cell and Environment, **14**, 707-712.
- Schenck, N.C., y Kinloch, R.A. (1974). Pathogenic fungi, parasitic nematodes and endomycorrhizal fungi associated with soybean roots in Florida. Plant Disease Reporter, **58**, 169-173.
- Schenck, N.C., Kinloch, R.A., y Dickson, D.W. (1975). Interaction of endomycorrhizal fungi and root-knot nematode on soybean. En F.E Sanders, B. Mosseand, y P.B. Tinker (Eds.). Endomycorrhizas 5. Proceedings of a Symposium held at the University of Leeds, England (pp. 615-617). New York: Academic Press.
- Schenck, N.C., y Pérez, Y. (1990). Manual for the identification of mycorrhizal fungi (3th ed.). Gainesville (USA): Synergistic Publications. 286 p.
- Schüßler, A., Schwarzott, D. y Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Micol. Res. **12**:1413-1421.
- Schreiner, R.P., y Bethlenfalvay, G.J. (1997). Plant and soil response to single and mixed species of arbuscular mycorrhizal fungi under fungicide stress. Applied Soil Ecology, **7** (3), 93-102.
- Shönbeck, F. (1979). Endomycorrhiza in relation to plant diseases. En B. Schippers and W. Gams (Eds.). Soil-borne plant pathogens (pp. 271-280). London: Academic Press.



- Sieverding, E. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Germany: G.T.Z. 371 p.
- Sikora, R.A. (1978). Effect of the endotrophic mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, on the host-parasite relationship of *Meloidogyne incognita* in tomato. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 85, 197-202.
- Sikora, R.A., y Schönbeck, F. (1975). Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza (*Indogone mosseae*) on the population dynamics of root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla*. Report and Informations, Section V, International Plant Protection Congress, Moskau. (pp. 158-166).
- Siqueira, J.O., Saggin-Junior, O.J., Colozzi-Filho, A., y de Oliveira, E. de (1996). The influence of nursery substrate and mycorrhiza on growth of transplanted coffee tree seedlings. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 30 (12), 1417-1425.
- Siqueira, J.O., Saggin-Junior, O.J., Flores-Aylas, W.W., y Guimaraes, P.T.G. (1998). Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. Mycorrhiza, 7 (6), 293-300.
- Smith, G.S., y Kaplan, D.T. (1988). Influence of mycorrhizal fungus, phosphorus and burrowing nematode interactions on growth of rough lemon citrus seedling. Journal of Nematology, 20, 539-544.
- Smith, G.S., Hussey, R.S., y Roncardori, R.W. (1986a). Penetration and postinfection development of *Meloidogyne incognita* on cotton as affected by *Glomus intrarradices* and phosphorus. Journal of Nematology, 18 (4), 429-435.
- Smith, G.S., Roncardori, R.W., y Hussey, R.S. (1986b). Interaction of endomycorrhizal fungi, superphosphate, and *Meloidogyne incognita* on cotton in microplot and field studies. Journal of Nematology, 18 (2), 208-216.
- Smith, G.S. (1987). Interactions of nematodes with mycorrhizal fungi. En J.A. Veech y D.W. Dickson (Eds.). Vistas on Nematology (pp. 292- 300). Society of Nematologists, Hyattsville, MD. USA.
- Smith, G.S. (1988). The role of phosphorus nutrition in interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with soilborne nematodes and fungi. Phytopathology, 78, 539-544.
- Smith, S.E., y Gianinazzi-Pearson, V. (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 39, 221-244.
- Smith, S.E., Dickson, S., y Smith, F.A. (2001). Nutrient transfer in arbuscular mycorrhizas: How are fungal and plant processes integrated. Australian Journal of Plant Physiology, 28 (7), 683-694.
- Smith, T.F. (1980). The effect of season and crop rotation on abundance of spores of vesicular-arbuscular(V-A) mycorrhizal endophytes. Plant and Soil, 57, 475-479.
- Solaiman, M.Z., e Hirata, H. (1998) *Glomus-wetland rice mycorrhizas influenced by nursery inoculation techniques under high fertility soil conditions*. Biology and Fertility of Soils, 27 (1), 92-96.
- Souza, C.A.S., y Siqueira, J.O. (1991). Development and nutrient levels of coffee seedlings inoculated with mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 26, 1989-2005.
- Sreenivasa, M.N. (1994). Biological deterrent activities of VA mycorrhiza and *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium rolfsii* at different P-level in chilli. Environment and Ecology, 12 (2), 319-321.

- St. Arnaud, M., Hamel, C., Caron, M., y Fortin, J.A. (1994). Inhibition of *Pythium ultimum* in roots and growth substrate of mycorrhizal *Tagetes patula* colonized with *Glomus intraradices*. Canadian Journal of Plant Pathology, 16, 187-194.
- Strobel, N.E., Hussey, R.S., y Roncardori, R.W. (1982). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Meloidogyne incognita*, and soil fertility on peach. Phytopathology, 72, 690-694.
- Strobel, N.E., y Sinclair, W.A. (1991a). Role of flavonolic wall infusions in the resistance induced by *Laccaria bicolor* to *Fusarium oxysporum* in primary roots of Douglas-Fir. Phytopathology, 81, 420-425.
- Strobel, N.E., y Sinclair W.A. (1991b). Influence of temperature and pathogen aggressiveness on biological control of *Fusarium* root by *Laccaria bicolor* in Douglas Fir. Phytopathology, 81, 415-420.
- Stutz, J.C., y Morton, J.B. (1996). Successive pot cultures reveal high species richness of arbuscular endomycorrhizal fungi in arid ecosystems. Canadian Journal of Botany, 74, 1883-1889.
- Stutz, J.C., Copeman, R., Martin, C.A., y Morton, J.B. (2000). Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. Canadian Journal of Botany, 78 (2), 237-245.
- Suresh, C. K. Bagyaraj, D. J., y Reddy, D.D.R.(1985). Effect of vesicular arbuscular mycorrhiza on survival, penetration and development of root-knot nematode in tomato. Plant and soil, 87, 305-308.
- Sylvia, D.M., y Sinclair, W.A. (1983). Phenolic compounds and resistance to fungal pathogens are induced in primary roots of Douglas-fir seedlings by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata*. Phytopathology, 73, 390-397.
- Sylvia, D. M. (1992). Quantification of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Methods Microbiology, 24, 54-65.
- Talavera, M., Itou, K., y Mizukubo, T. (2001). Reduction of nematode damage by root colonization with arbuscular mycorrhiza (*Glomus* spp.) in tomato-*Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidognidae) and carrot-*Pratylenchus penetrans* (Tylenchida: Pratylenchidae) pathosystems. Applied Entomology and Zoology, 36 (3), 387-392.
- Thingstrup, I., Kahiluoto, H., y Jakobsen, I. (2000). Phosphate transport by hyphae of field communities of arbuscular mycorrhizal fungi at two levels of P fertilization. Plant and Soil, 221 (2), 181-187.
- Tobar, R.M., Azcón, R., y Barea, J.M. (1994). The improvement of plant N acquisition from an ammonium-treated, drought-stressed soil by the fungal symbiont in arbuscular mycorrhizae. Mycorrhiza, 4 (3), 105-108.
- Tommerup, I.C. (1983). Temperature relations of spore germination and hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Transactions of the British Mycological Society, 81, 381-388.
- Toro-García, M. (1987). Efectividad del hongo *Gigaspora margarita* como micorriza de cafetos a exposición solar. Tesis de licenciatura. Universidad Central de Venezuela, Caracas. 108 p.

- Torres-Barragan, A., Zavaleta-Mejía, E., Gonzalez, Chavez, M.C., y Ferrera-Cerrato, R. (1996). The use of arbuscular mycorrhizae to control onion white root (*Sclerotium cepivorum* Berck) under field condition. *Mycorrhiza*, 6 (4), 253-257.
- Toth, R.O., Toth, O., Stake, O., y Smith, D.R. (1990). Vesicular arbuscular mycorrhizae colonization in *Zea mays* affected by breeding for resistance to fungal pathogens. *Canadian Journal of Botany*, 68, 1039-1044.
- Trejo A., D. (1997). Ecología y comportamiento de la endomicorriza-arbuscular en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). Tesis maestría en ciencias. UNAM, México. 131 p.
- Trindade, A.V., Faria, N.G., y De Almeida, F.P. (2000). Use of manure for development of papaya seedlings colonized with mycorrhizal fungi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35 (7), 1389-1394.
- Trota, A., Varese, G.C., Gnani, E., Fusconi, A., Sampoy S. and Berta, G. (1996). Interactions between the soilborne root pathogen *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in tomato plants. *Plant and Soil*, 185, 199-209.
- Tylka, G.L., Hussey, R.S., y Roncardori, R.W. (1991). Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, phosphorus, and *Heterodera glycines* on soybean. *Journal of Nematology*, 23 (1), 122-133.
- Umesh, K.C., Krishnappa, K., y Bagyaraj, D.J. (1989). Interaction of burrowing nematode. *Indian Journal of Nematology*, 18, 6-11.
- Urban, L., Fabret, C., y Barthélémy, L. (1994). Interpreting changes in stem diameter in rose plants. *Physiologia Plantarum*, 92 (4), 668-674.
- Vaast, P., y Zasoski, R.J. (1992). Effects of VA-mycorrhizae and nitrogen sources on rhizosphere soil characteristics, growth and nutrient acquisition of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.). *Plant and Soil*, 147, 31-39.
- Vaast, P., Zasoski, R.J. y Bledsoe, C.S. (1997). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation at different soil P availabilities on growth and nutrient uptake of *in vitro* propagated coffee (*Coffea arabica* L.). *Mycorrhiza*, 6 (6), 493-497.
- Van der Putten, W.H., y Peters, B.A.M. (1997). How soil-borne pathogens may affect plant competition. *Ecology*, 78 (6), 1785-1795.
- Varela F., L. y Hernández, L. 1997. Taxonomía de hongos micorrizogenos arbusculares. *Manual de laboratorio*. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México 19 P
- Vázquez, M.M., Bejarano, C., Azcón, R., y Barea, J.M. (2000). The effect of a genetically modified *Rhizobium meliloti* inoculant on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in mycorrhizal alfalfa plants as affected by the water status in soil. *Symbiosis*, 29 (1), 49-58.
- Vigo, C., Norman, J.R., y Hooker, J.E. (2000). Biocontrol of the pathogen *Phytophthora parasitica* by arbuscular mycorrhizal fungi is a consequence of effects on infection loci. *Plant Pathology*, 49 (4), 509-514.
- Villenave, C., y Duponnois, R. (2002). Interactions between ectomycorrhizal fungi, plant-parasitic and free-living nematodes and their effects on seedlings of the hardwood *Azelaia africana* Sm. *Pedobiologia*, 46 (2), 176-187.
- Vosatka, M, y Dodd, J.C. (1998). The role of different arbuscular mycorrhizal fungi in the growth of *Calamagrostis villosa* and *Deschampsia flexuosa* in experiments with simulated acid rain. *Plant and Soil*, 200(2): 251-263.

- Wagner, S.C., Skipper, H.D., Walley, F., y Bridges, W.B. (2001). Long-term survival of *Glomus claroideum* propagules from soil pot cultures under simulated conditions. Mycologia, 93 (5), 815-820.
- Wang, C. (1996). Response of papaya inoculated with mycorrhizal fungi to drought stress. ICOM 1, The First International Conference on Mycorrhiza. Berkeley, USA.
- Wallace, H.R. (1983). Interaction between nematodes and other factors on plants. Journal of Nematology, 15, 221-227.
- Wick, R.L., y More, L.D. (1984). Histology of mycorrhizal and nonmycorrhizal *Ilex cernata* 'Helleri' challenged by *Thielaviopsis basicola* Canadian Journal of Plant Pathology, 6, 146-150.
- Winkler, H.E., Hetrick, B.A.D., y Todd, T.C. (1994). Interactions of *Heterodera-glycines*, *Macrophomina-phaseolina*, and mycorrhizal fungi on soybean in Kansas. Journal of Nematology, 26, 675-682.
- Wright, D.P., Scholes, J.D., y Read, D.J. (1998). Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. Plant Cell and Environment, 21 (2), 209-216.
- Zabinski, C.A., Quinn, L., y Callaway, R.M. (2002). Phosphorus uptake, not carbon transfer, explains arbuscular mycorrhizal enhancement of *Centaurea maculosa* in the presence of native grassland species. Functional Ecology, 16 (6), 758-765.
- Zangaro, W., Bononi, V.R., y Trufen, S.B. (2000). Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. Journal of Tropical Ecology, 16, 603-621.
- Zuckerman, B., Mar, M.W.W., y Harrison, M.B. (1987). Fitonematología: Manual de laboratorio. Turrialba: CATIE. pp. 38-76, 113-120.

APENDICE

ANEXO I (A1)

FICHA DE REGISTRO DE LOS SITIOS DE COLECTA (Sieverding, 1991)

Fecha de muestreo _____

Descripción del sitio de muestreo

- Ciudad o localidad cercana _____
- Nombre del productor _____ Nombre de la finca _____
- Edad de la plantación _____ variedad de café _____

Descripción del clima

- Precipitación _____ meses secos y lluviosos _____
- Distribución de la lluvia y temperatura _____

Topografía

- Pendiente _____

Descripción de las practicas de manejo

Descripción de condiciones de estres en el área (presencia de patógenos) _____

Información del suelo y manejo de cultivo _____

- Practicas de manejo del suelo antes del muestreo (deshierbes) _____
- aplicación de fertilizantes (niveles, fuentes, modo, tiempo y frecuencia) _____
- Aplicación de pesticidas (nivel, fuente, modo, época y frecuencia) _____
- Récord del manejo del suelo en los últimos 5 años, acerca de la fertilización _____
- Pesticidas u otros insumos _____

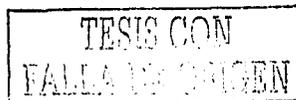
Tipo de vegetación

- Nombre del cultivo _____ Edad _____
- Estado de desarrollo _____ Densidad de plantas _____
- Hábitos de crecimiento _____
- Porcentaje de cobertura del suelo _____
- Malezas, cobertura y especies de malezas _____

Descripción del suelo

- Clasificación _____ Textura _____
- Drenaje _____ Área de colecta _____

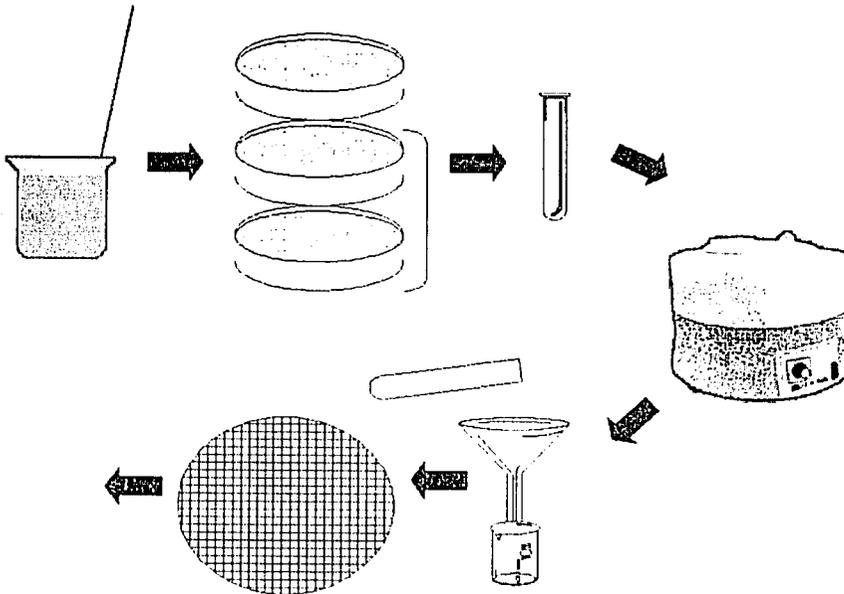
Indicar deficiencia nutricional o toxicidad _____



ANEXO 2 (A₂)

Método de separación de esporas por decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) y gradiente de sacarosa (Daniels y Skipper, 1982) modificada

- Disolver 50 g en 1000 ml de agua, agitar y después de 1-2 min. pasar por una serie de tamices de 0.350, 0.125, 0.045 μ .
- Transferir el contenido del tamiz del segundo y último tamiz se a tubos de centrifuga de 100 ml con agua y añadir una solución de 30 a 40 ml de solución azucarada (70 g de azúcar en 100 ml de agua) con una jeringa para establecer un gradiente en el tubo de la centrifuga. Centrifugar de 1500 a 2000 rpm de 1.5-2 mm
- Pasar a un tamiz de 0.045 μ y lavar las esporas por 2 a 3 min. Transferir las muestras a cajas Petri, o a papel filtro cuadrículado para su conteo y describir brevemente las esporas tomando en cuenta tamaño, color y género



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 3 (A₃)

Solución de Hoagland (Hoagland y Arnon, 1938)

Macro- Elementos	Concentración (mM)	Micro- Elementos	Concentración (uM)
KNO ₃	5 mM	MnSO ₄ *1 hidratado	9 uM
Ca(NO ₃) ₂ *4 hidratado	5 mM	ZnSO ₄ *7 hidratado	0.7 uM
MgSO ₄ *7 hidratado	2 mM	CuSO ₄ *5 hidratado	0.3 uM
		NH ₄ MoO ₄ *4 hidratado	0.1 uM
		H ₃ BO ₃	46 uM
		Fe-NaEDTA	24 uM

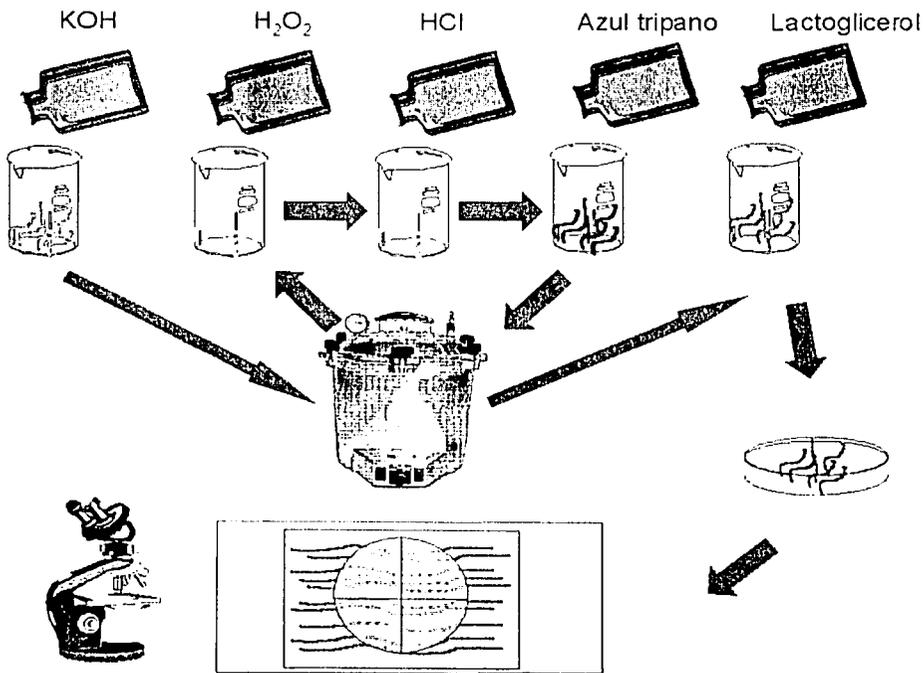
Ajustar pH a 5.7

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 4 (A4)

Determinación del porcentaje de colonización (Clareo y tinción Phillips y Hayman, 1970 modificada)

- Lavar las raíces con agua y se clarear con hidróxido de potasio (KOH) al 10% durante 10 minutos a 10 lb. de presión por dos veces.
- Vetrir el KOH y aplicar peroxido de hidrógeno (H_2O_2) al 10% por 3 minutos, enjuar con agua destilada y sumergir en ácido clorhídrico (HCL) al 10% por 1 minuto.
- Colocar las raíces en una solución de azul tripano al 0.05% durante 5 minutos a 5 lb. de presión, y eliminar el colorante pasar a lactoglicerol limpio y mantenerlas hasta su observación .
- Montaron 10 segmentos de 5 cm de longitud para la evaluación del porcentaje de colonización
- Observar al microscopio compuesto



TIENE CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 5 (As)

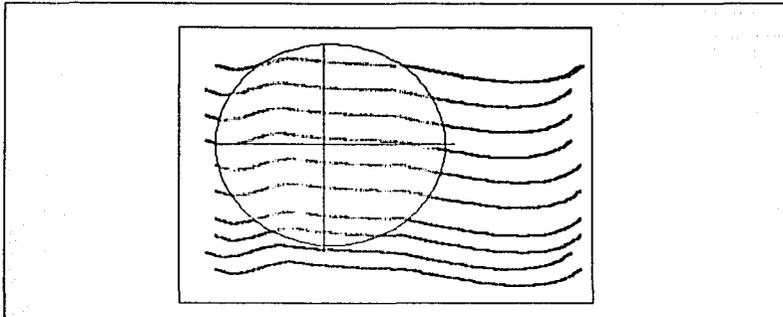
Cálculo del porcentaje de colonización micorrízico, mediante la ecuación de McGonigle et al. (1990)

- Colocar el portaobjetos en un microscopio compuesto con un ocular marcado con un reglilla en forma de cruz
- Revisar el portaobjetos de manera metódica, alineando un eje de la reglilla con el eje mas largo de cada segmento de raíz encontrado.
- Cada vez que la raíz es encontrada marcar la presencia o ausencia de las estructuras micorrizicas tocadas por el eje de la reglilla, la cual intercepta la raíz.
- Estimación en 100 intersecciones por preparación

Aplicar la siguiente formula:

$$\% \text{ RLC} = \frac{100 \times \text{Número de intersecciones con hifa arbuscular}}{\text{Total del número de intersecciones contadas}}$$

RLC (Porcentaje de longitud de raíz colonizada)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 6 (A₆)

Número más probable para determinación del potencial infectivo de HMA (Sieverding, 1991)

- Sustrato A: 1 Kg. de la muestra de suelo (homogeneizada) ligeramente secada al aire y tamizada.
- Sustrato B: 4 Kg. de la muestra de suelo (homogeneizada), esterilizada en autoclave, tamizada y completamente seca.
- Sustrato C: 11 Kg. de suelo de campo (homogeneizada), esterilizada en autoclave. No tamizada).
- Etiquetar macetas desde 4⁰ hasta 4⁹ con cinco repeticiones para cada dilución
- colocar 150 gramos del sustrato C en cada maceta
- Preparar diluciones del sustrato A y el sustrato B. Para la primera dilución colocar 50 g. del sustrato A sobre el sustrato C de cada maceta.
- Para las siguientes diluciones tomar 85 g de la dilución anterior a la que va ha preparar y mezclar en las bolsas de plástico con 255 gramos del sustrato B.
- Colocar 50 gramos de cada dilución en la maceta correspondiente
- Aplicar a cada maceta 50 g del sustrato C.
- Sembrar cada maceta con una planta micotrofa. Deshijar para que queden 5 plantas por maceta.
- Cosechar después de 4-6 semanas de la emergencia de las plantas.
- Cortar las raíces de las plantas por macetas y teñir (Anexo 3)
- Observar al microscopio estereoscopio y registrar presencia o ausencia de colonización.
- Se observaron bajo un microscopio compuesto y se denoto si la presencia de estructuras fúngicas de HMA con el signo de + y sin estructuras (-).
- Calcular el número más probable (NMP), siguiendo la formula:

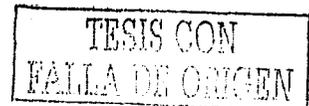
$$\text{Log } \Omega = x \cdot \text{Log } a - k$$

Donde: Ω = número infectivo de propágulos

X = Número medio de macetas con infección

N = Número total de macetas colonizadas

Número de replicas por dilución

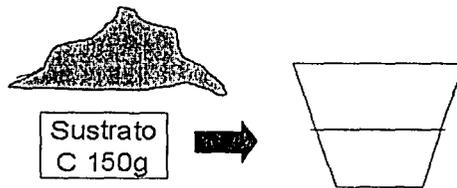
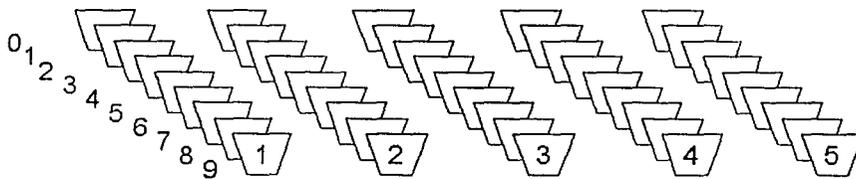
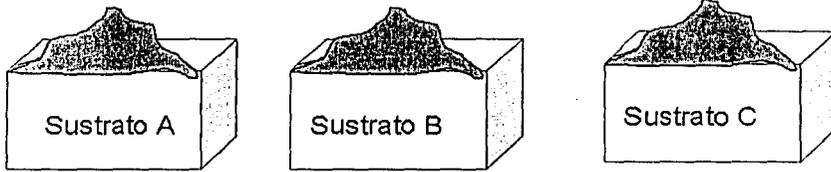


$Y = S - X$ Donde:

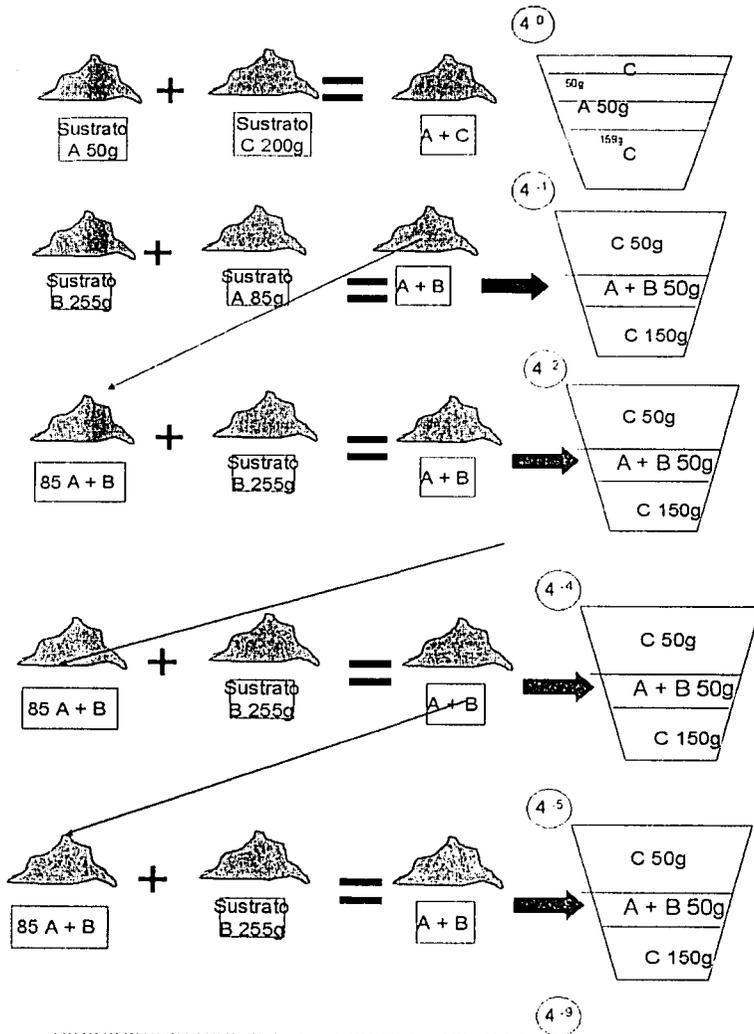
Y = Se requiere definir el valor de K por las tablas de Fisher y Yates.

S = Número de diluciones (niveles en donde 4^0 es el primer nivel)

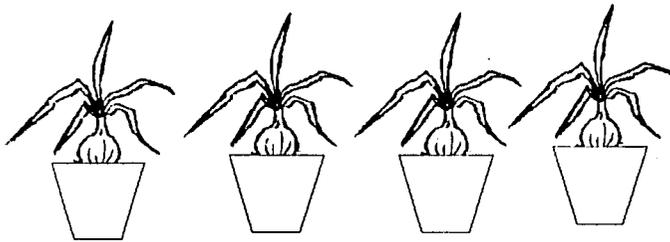
a = Es el factor de dilución.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



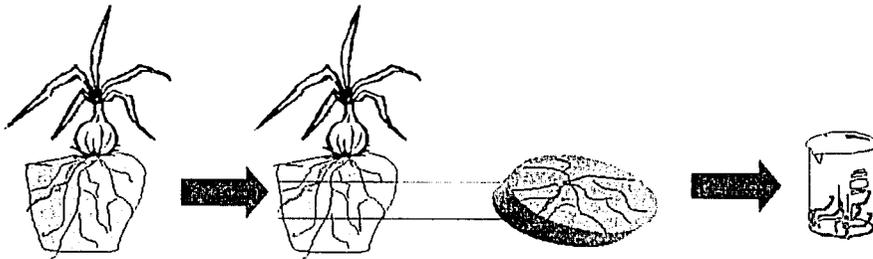
TESIS CON
FALLA DE CALIFICACION



Mantener de 4 a 6
semanas



Extraer la raíz con
suelo intacto

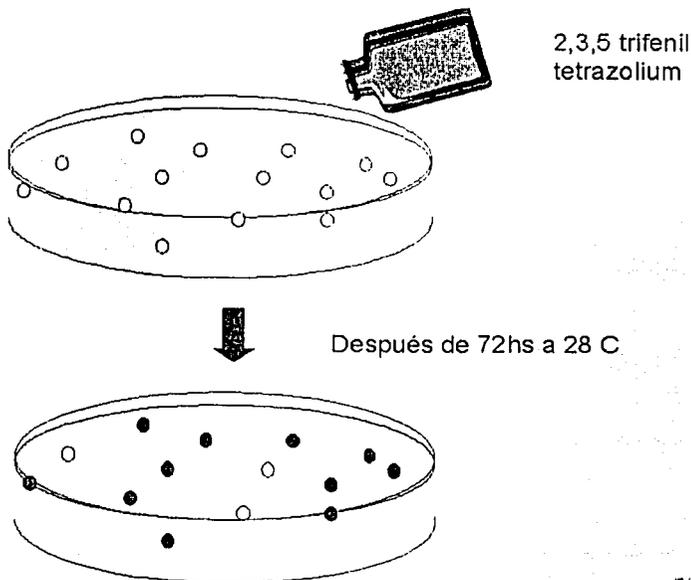


TESIS CON
FALLA DE CUBEN

ANEXO 7 (A7)

Viabilidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (Anderson e Ingram, 1993)

- Tomar muestras de 50 g. de suelo y extraer esporas por la técnica del tamizado en húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) y flotación en azúcar
- Para la extracción de esporas se utilizaron tamices de 74 a 500 μ .
- Colocar las esporas en cajas Petri de 4 cm de diámetro con poca agua.
- Adicionar 5 ml de una solución de cloruro de 2, 3,5 trifenil tetrazolio (CTT) a una concentración de 0.5 mg mL^{-1} .
- Mantener a temperatura de 28^oC durante 72 horas
- Cuantificar la totalidad de esporas y la cantidad de éstas que viraron de tonos rosa tenue a rojo intenso, colores que indican actividad metabólica.
- Pesar 50 g. de suelo fresco y se secar al horno (a peso constante) para hacer la relación del peso seco / peso fresco y reportar el número de esporas en 100 g. de suelo seco.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

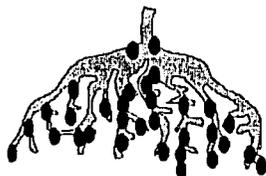
ANEXO 8 (A_R)

Determinación del número de agallas y porcentaje de pudrición en raíces dañadas por nematodos (Suckemman et al. 1987 modificada)

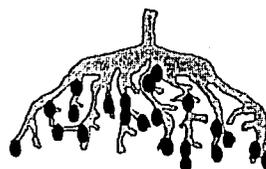
	Porcentaje de pudrición radical del total del sistema radical
1	0%
2	10%
3	20-30%
4	40-70%
5	80-90%
6	100%



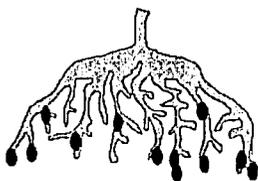
100%



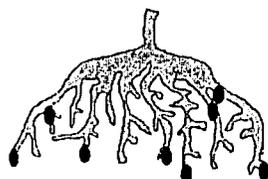
80-90%



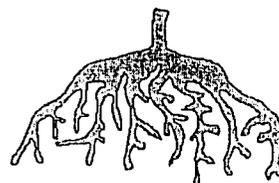
40-70%



20-30%



10%



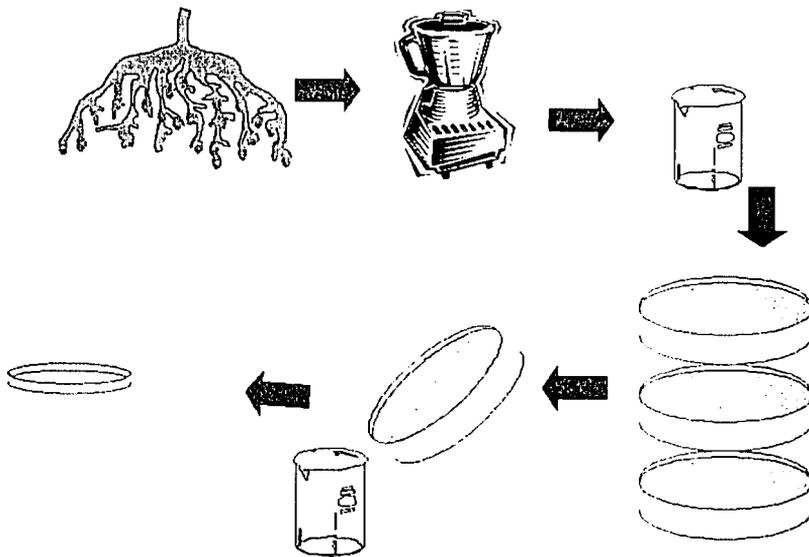
0%

TEGUS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 9 (A₉)

Determinación del número de nematodos (Zuckemman et al. 1987 modificada)

- Colocar uno sobre otro tres tamices de 20, 60 y 325 mallas, dejar correr agua corriente de la llave a través de los tamices para que estén bien húmedos
- Extraer las raíces de las macetas y lavar con agua corriente
- Triturar las raíces en una licuadora por 30 seg.
- Pasar por la serie de tamices
- Recoger los nematodos de la última malla (325), en un vaso de precipitados
- Colocar la muestra de agua conteniendo nematodos en una caja petri cuadriculada
- Contar los nematodos de toda la muestra

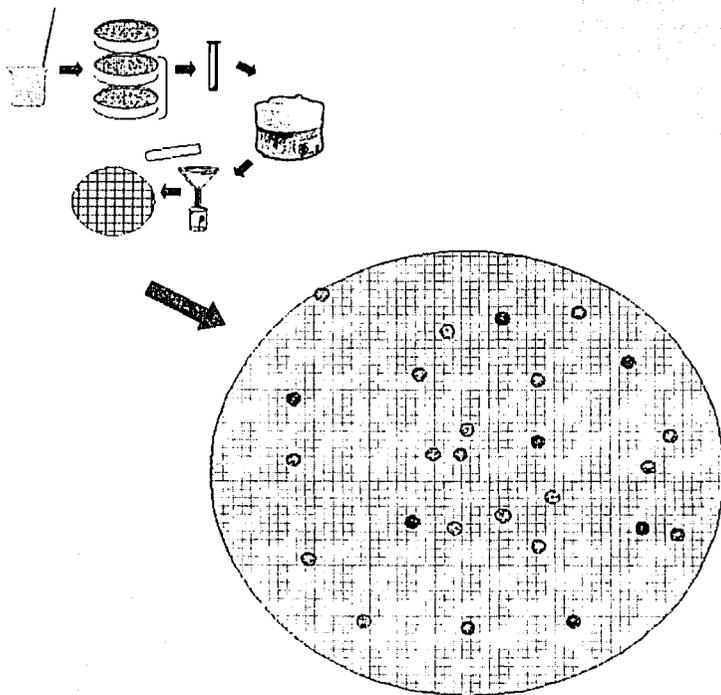


TRIS CON
FALLA DE CINCEN

ANEXO 10 (A10)

Determinación del número de esporas (Gedeman y Nicolsoson , 1963⁸)

Una vez extraídas las esporas, se transfirieron a un papel filtro cuadrículado y se cuantificó el total de esporas, con la ayuda de un microscopio estereoscópico y revisando metódicamente toda la cuadrícula.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 11(A₁₁)

Extracción y cuantificación del micelio extraradical Sylvia, 1992; Jakobsen *et al.* 1992

- Pesar 5 g de suelo por tratamiento, eliminando piedras y raíces con unas pinzas, colocar el suelo en botellas plásticas con 100 ml de agua desionizada y 15 ml. de hexametáfosfato de sodio.
- Agitar por 30 minutos, pasar por un tamiz de 38 μ lavando el suelo con suficiente agua.
- Recoger la muestra en una probeta midiendo primero 100 ml y enjuagar tres veces con 50 ml de agua, para completar 250 ml.
- Licuar la muestra en una licuadora por 30 segundos,
- Colocar la muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 ml se agitar 5 segundos con la mano, reposar 1 minuto, tomar 3 ml con una pipeta, procurar tomar la muestra en el mismo sitio siempre.
- Colocar bs 3 ml se en un aparato milipor, y se recoger en una membrana de celulosa, agregar 2 ml de azul de tripano y 5 minutos después se presionar a vacío
- La membrana se recoge en un portaobjetos dejar secar por 30 minutos, posteriormente adicionar cuatro gotas de azul de tripano y se colocar un cubreobjetos,
- Cuantificar la cantidad de micelio mediante la Ecuación de Tennant, (1975).citado por Jakobsen *et al.*, (1998)

$H = 11/14 \times N \times \text{unidad de gradiente (mm)}$

Donde:

H = Total de la longitud de la hifa sobre el área filtrada expresada en mm

N = Total del número de intersecciones

Unidad de gradiente = Es la medida de de la longitud del gradiente 10 x 10, sobre el área filtrada en mm, usando un objetivo micrométrico.

FA = Área filtrada sobre el filtro, expresada en mm²

CA = $(10 \times \text{unidad de gradiente})^2 \times 25$

Donde:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CA = Área filtrada contada, expresada en mm².

HL = (H/CA) x FA

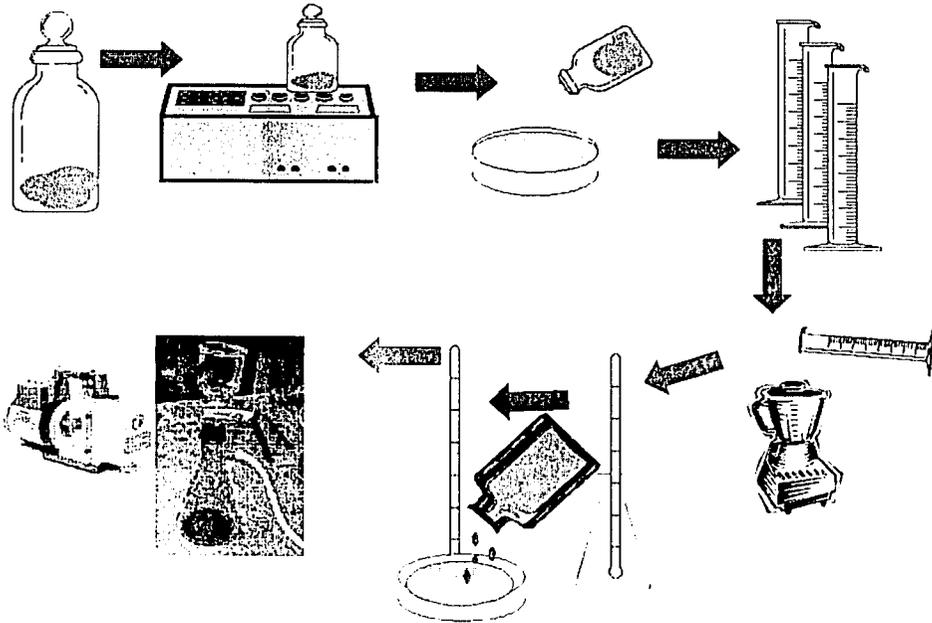
Donde:

HL = Total de la longitud de la hifa sobre el filtro, expresada en mm

TL = ((HL/3mL) x 250 ml) / 5 g

Donde:

TL = Total de la longitud de la hifa en el muestreo de suelo, expresada en mm/g.



TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 12(A₁₂)

Extracción y Determinación de clorofila (Harborne, 1973)

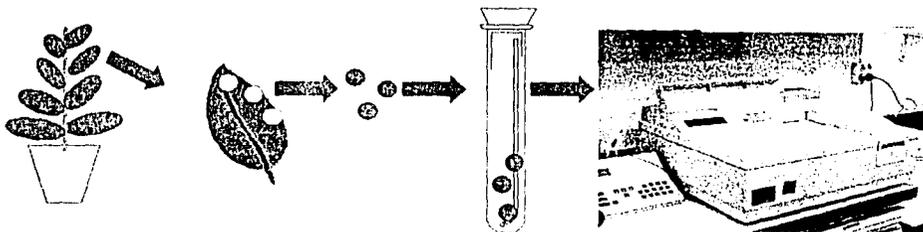
- A partir de hojas maduras totalmente expandidas se colectaron tres muestras de hojas de .2826cm², con la ayuda de una perforadora.
- Las muestras colectadas fueron colocadas en cinco mililitros de acetona al 80% en tubos de ensaye, mantenidos a 4°C durante por una semana para completar la extracción de la clorofila. Transcurrido este tiempo, se tomaron lecturas de 660 y 630 nm en espectrofotómetro.
- El blanco fue acetona al 80%.
- La cuantificación del contenido de clorofila se basa a las siguientes ecuaciones:
- Determinar el área de los discos
- Sumar el área total muestreada
- Dividir cada concentración de clorofila por esta área (mg ml⁻¹)

Ecuaciones:

$$\text{Clorofila A} = 12.7(\text{Abs663}) - 2.69(\text{Abs645})$$

$$\text{Clorofila B} = 22.9(\text{Abs645}) - 4.68(\text{Abs663})$$

$$\text{Clorofila total} = 8.02(\text{Abs663}) + 20.2(\text{Abs645})$$

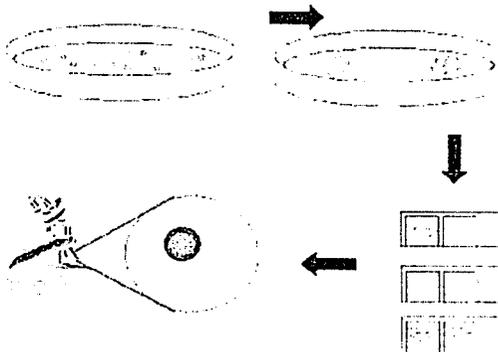


TRABAJO DE
FALLA DE CLASE

ANEXO 13 (A₁₃)

Elaboración de preparaciones permanentes (Várela y Hernández, 1997)

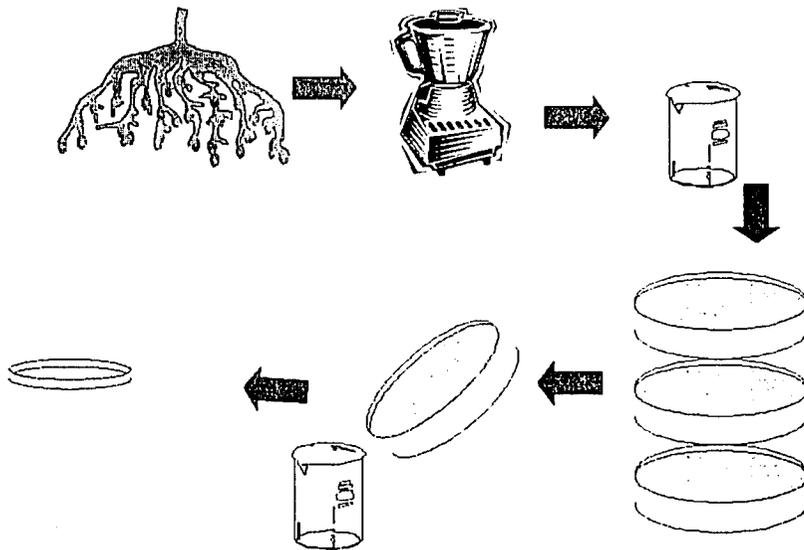
- Observar las muestras de la caja Petri en el estereoscopio a bajo aumento (2X-4X) y extraer las esporas con ayuda de la pipeta Pasteur con el bulbo succionador
- Separar las esporas en grupos de acuerdo con su tamaño, color y presencia y forma de la hifa. Para ello se debe colocar cada grupo por separado en las cajas Petri o en las cavidades de las placas de porcelana. Es importante que mientras se esta realizando la extracción. Las esporas ya separadas se encuentren húmedas.
- Colocar cada uno de los grupos de esporas sobre un cuadro de papel filtro.
- Preparar un portaobjetos con un gota de PVLG en un lado y otra con PVLG + Melzer en otro. El área del portaobjetos debe dividirse en tres porciones, dos de las cuales llevan los medios de montaje y la tercera la etiqueta.
- Poner una mitad de las esporas del grupo en PVLG (por lo menos de 10 a 25 esporas limpias) y la otra en PVLG+Melzer. Esto se logra humedeciendo la punta de la aguja de disección en el medio de montaje y tomando cada espora individualmente. Es importante acomodar las esporas en el centro de la gota.
- Colocar el cubreobjetos deslizándolo lentamente con una aguja de disección para evitar la formación de burbujas.
- Etiquetar cada una de las preparaciones con los siguientes datos planta de procedencia, fecha recolector y medio de montaje empleado.
- Dejar secar las preparaciones a temperatura ambiente o bajo calor (40°C) por un día y después aplicar presión ligera con una aguja de disección sobre cada una de las esporas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

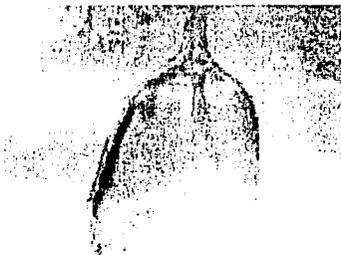
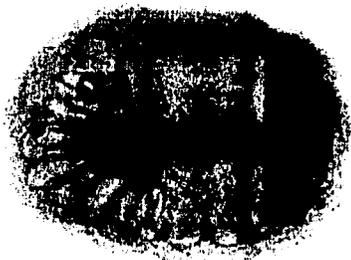
7* Determinación del número de nematodos (Zuckemman et al. 1987 modificada)

- Colocar uno sobre otro tres tamices de 20, 60 y 325 mallas, dejar correr agua corriente de la llave a través de los tamices para que estén bien húmedos
- Extraer las raíces de las macetas y lavar con agua corriente
- Triturar las raíces en una licuadora por 30 seg.
- Pasar por la serie de tamices
- Recoger los nematodos de la última malla (325), en un vaso de precipitados
- Colocar la muestra de agua conteniendo nematodos en una caja petri cuadriculada
- Contar los nematodos de toda la muestra



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

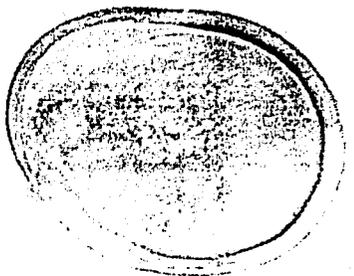
Esporas



Sclerocystis sinuosa (Gerdemann y Baks.)

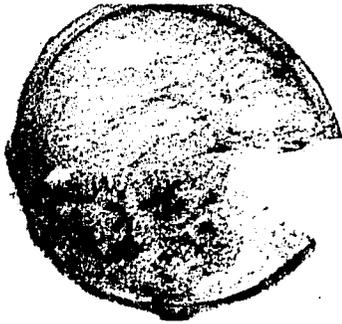


Sclerocystis coremioides (Kerkeley y Broome)



Gigaspora giganteae (Nicol. y Gerd.) Gerdemann y Trappe.

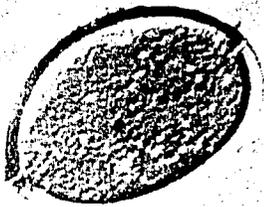
TRUSSARDI
FALLA WINTER 1981



Gigaspora sp1



Glomus coronatum (Blaszkowki) Giovannetti



Glomus macrocarpum (Tulasne y Tulasne)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

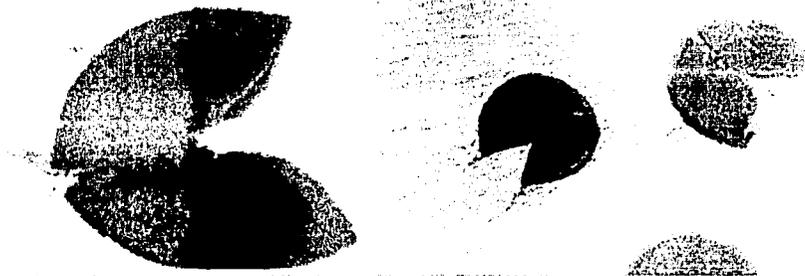


Figura 48 *Glomus geosporum* (Nicolson y Gerdemann) Walker.

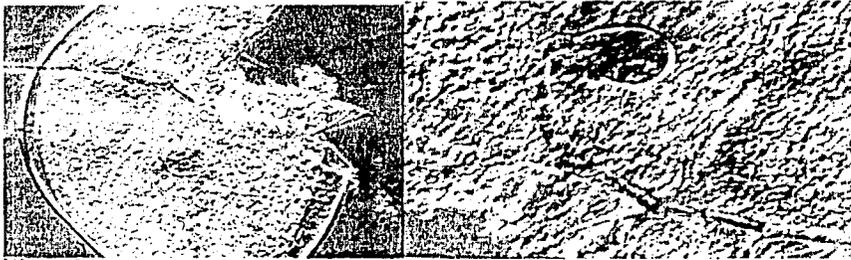


Glomus constrictum (Trappe).

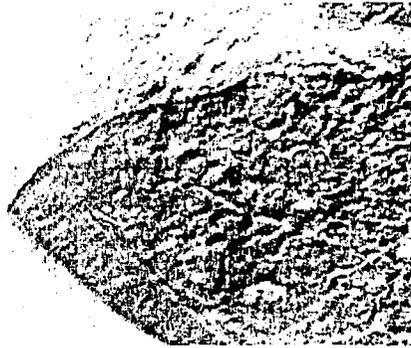
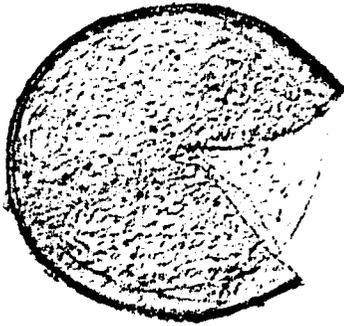


Glomus intraradices (Schenck y Smith)

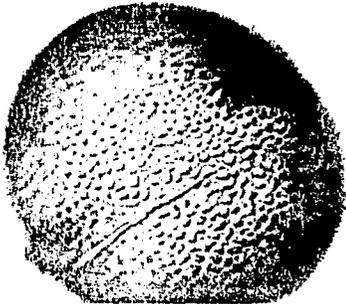
TESIS CON
FALLA DE COPIEN



Scutellospora sp

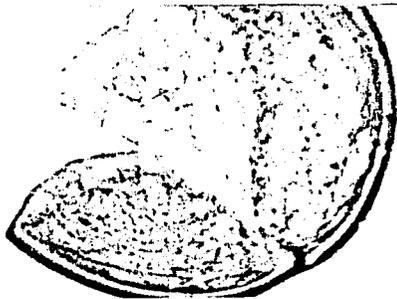


Acaulospora mellea



Acaulospora foveata (Trappe y Janos)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Acaulospora spinossa (Walker y Trappe)



Acaulospora scrobiculata (Trappe)

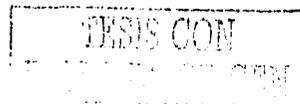


Acaulospora sp

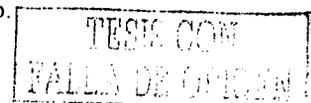
TESIS CON
FALLA DE ORKIEN

Glosario

- **Absorción:** movimiento de iones y agua en los organismos como resultado de procesos metabólicos, con frecuencia contra un gradiente potencial electroquímico activo) o como resultado de la difusión a lo largo de un gradiente (pasivo).
- **Agente de biocontrol:** se refiere a la manipulación directa o indirecta de agentes vivos que, de forma natural, tienen capacidad de controlar o de inhibir las enfermedades.
- **Agroecosistema:** término referido a un ecosistema modificado por el hombre con la finalidad de obtener un satisfactor.
- **Antagónico:** Agente biológico que reduce el número de enfermedades que puede producir un patógeno.
- **Antibiosis:** inhibición ó lisis de un organismo por medio de productos metabólicos del antagonista; estos productos incluyen agentes líticos, enzimas, compuestos volátiles, y otras sustancias tóxicas.
- **Antibiótico:** Sustancia orgánica producida por una especie de microorganismo que en baja concentración puede matar o inhibir el crecimiento de ciertos organismos..
- **Arbúsculo:** hifas finamente ramificadas que se forman dentro de las células corticales de una planta huésped.
- **Apresorio:** es por lo general el ápice del tubo germinativo morfológicamente modificado y engrosado, que proporciona al hongo la capacidad de adherencia a la superficie del huésped. Su estructura es discoidal entera o ramificada.
- **Clorofila:** pigmento verde requerido para la fotosíntesis
- **Colonización:** Establecimiento de una comunidad de microorganismos en un sitio específico o ecosistema.
- **Consortio:** Dos o más miembros de un ensamble natural en donde cada organismo se beneficia del otro. El grupo puede colectivamente llevar a cabo un proceso que solo no podría llevarlo a cabo por sí mismo.
- **Edáfico:** (1) Perteneciente al suelo. (2) Resultado de la influencia de factores inherentes en el suelo u otro sustrato, más que por factores climáticos.
- **Efectividad:** Capacidad para producir el efecto deseado
- **Endofito:** Organismo creciendo al alcance de una planta. Las asociaciones tal vez puedan ser simbióticas o parasíticas.
- **Endógeno:** Que se origina o nace en el interior, como la célula que se forma dentro de otra.
- **Endomicorriza:** Asociación micorrizica en la que hay una colonización intracelular del hongo en de la raíz de la planta hospedante dentro de las células corticales así como en la parte exterior en el suelo circundante.
- **Espora:** estructuras latentes y de resistencia que son formadas por muchas bacterias y hongos. Son unidades de diseminación que funcionan como una semilla, pero que difiere de estas porque la espora no contiene embrión preformado.
- **Esporulación:** producción de esporas que germinan originando un tubo germinal que desarrollará el micelio.
- **Exudado:** Secreción líquida de los tejidos vegetales sanos o enfermos. Metabolitos de bajo peso molecular que secretan las raíces de las plantas en el suelo.



- **Fenilalanina amonio liasa:** Enzima importante implicada en las reacciones de defensa de plantas a patógenos.
- **Fungicida:** Compuesto tóxico para los hongos.
- **Haustorio:** parte engrosada del micelio que se desarrolla como hifa, bien dentro o entre las células de las plantas. Hifa especializada (hifa de penetración o clavija de penetración) que, desde la base del apresorio en contacto con la superficie del huésped, crece en el interior del tejido vegetal.
- **Hifa:** filamento tubular que representa la unidad estructural de la mayoría de los hongos.
- **Hospedante:** organismo que es capaz de soportar el crecimiento de otro organismo
- **Inhibición:** Limitación del crecimiento o funciones.
- **Inocular:** Tratar con microorganismos con el propósito de crear una respuesta favorable. Por ejemplo, tratamiento de las semillas de leguminosas con *Rhizobium* para estimular la fijación del N₂.
- **Inoculo:** Material usado para introducir un microorganismo a una situación adecuada para el crecimiento.
- **Interfase simbiótica:** área de contacto entre los simbiote
- **Inoculante micorrízico:** material preparado con estructuras de hongos micorrizógenos capaces de asociarse con las raíces de una planta.
- **Macronutriente:** Sustancia requerida en grandes cantidades para provocar crecimiento, usualmente alcanzando una concentración mayor de 500 mg kg⁻¹ en plantas maduras. Usualmente se refiere a N, P, K, Ca, Mg y S.
- **Micorrizósfera:** comunidad única de microorganismos que se forman alrededor de la rizosfera
- **Micronutriente:** Elemento químico necesario para el crecimiento encontrado en pequeñas cantidades, usualmente menor a 100 mg kg⁻¹ en una planta. Estos elementos se refieren a B, Cl, Cu, Fe, Mn y Zn.
- **Microbiota:** conjunto de microorganismos que residen en el suelo. Generalmente se encuentran asociados y realizan funciones específicas.
- **Micorriza:** asociación mutualista entre un hongo del suelo y las raíces de una planta.
- **Nemátodo:** Eucarionte multicelular definido como un gusano usualmente microscópico y que viven como saprofitos en el agua o suelo, o como, parásitos de plantas, animales, hongos y bacterias.
- **Nutriente:** Sustancia tomada del medio ambiente por una célula, la cual es usada en reacciones catabólicas o anabólicas.
- **Parasitismo:** Organismos que se alimentan de las células de un segundo organismo, que es generalmente más grande que el primero. El parásito está, a un cierto grado, dependiente del anfitrión.
- **Patógeno:** organismo que es capaz de producir un daño en el hospedero produce enfermedad
- **Patogenicidad,** capacidad que tiene un organismo vivo de producir enfermedad.
- **pH:** Logaritmo negativo de la actividad de ion de hidrógeno. El grado de acidez o de alcalinidad de un suelo según lo determinado por medio del un electrodo o indicador conveniente es un cociente específico del contenido de agua en el suelo y expresado en los términos de la escala del pH
- **Plaguicida:** Sustancia que combate las plagas del campo.



- **Proteína PR b1:** proteína relacionada con la patogénesis, presenta actividad antifúngica.
- **Radícula:** es una raíz inmadura.
- **Resistencia:** capacidad que tiene un organismo para superar, totalmente o en parte, el efecto de un patógeno o de otro factor perjudicial.
- **Rizósfera:** suelo que se encuentra próximo a una raíz viva.
- **Simbionte:** Microorganismo que se asocia mutuamente con otros organismos estableciendo una asociación benéfica.
- **Síntoma:** respuesta de una planta atacada por un patógeno que la lleva finalmente a producir cambios apreciables.
- **Tolerancia:** capacidad que tiene una planta para soportar los efectos de una enfermedad sin que muera, sufra daños serios o se pierda la cosecha. Es también la cantidad de residuos tóxicos tolerables, en los órganos comestibles de la planta.
- **Vesícula,** aplicada a hongos micorrizógenos arbusculares, se refiere a un hinchamiento usualmente terminal de hifas dentro o sobre las células de las raíces de una planta huésped. No la forman todos los hongos capaces de formar micorriza arbuscular.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN