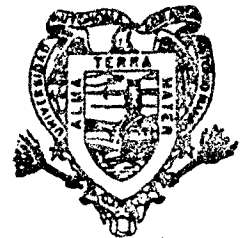


MICORRIZAS ASOCIADAS A LOS CULTIVOS DE
PAPA, MANZANO Y NOGAL, EN EL AREA DE
INFLUENCIA INMEDIATA A LA UAAAN

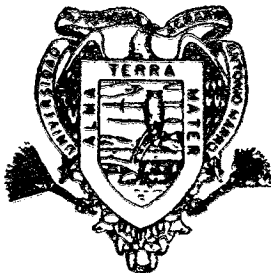
INDIRA ISELA DE LA ROSA ALVARADO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN SUELOS



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.



Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

SEPTIEMBRE DE 1999

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

MICORRIZAS ASOCIADAS A LOS CULTIVOS DE PAPA, MANZANO Y NOGAL EN EL
ÁREA DE INFLUENCIA INMEDIATA A LA UAAAN
TESIS

POR
INDIRA ISELA DE LA ROSA ALVARADO

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como
requisito parcial para optar al grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
EN SUELOS

COMITÉ PARTICULAR


Asesor principal:

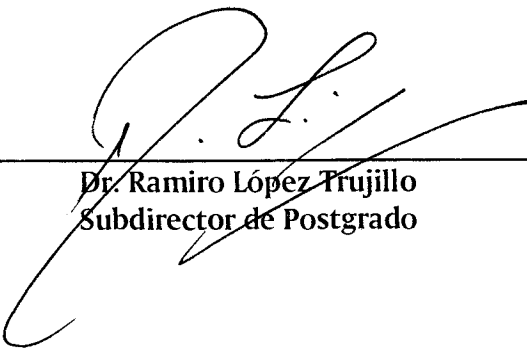

M.C. Víctor Samuel Peña Olvera

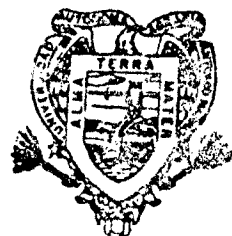
Asesor:


M.C. Jesús García Camargo

Asesor:


M.C. Blanca Alma Valdivia Urdiales


Dr. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado



Buenavista, Saltillo, Coahuila. Septiembre de 1999

BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

DEDICATORIAS

A Dios:

Quien es la luz que guía mi vida, a quien le debo todo lo que tengo y todo lo que soy. Gracias por permitirme llegar a este momento.

A Alfredo Serrato:

Mi esposo, a quien amo, y quien en todo momento me demuestra su amor y apoyo incondicional. Gracias por llenar mi vida de felicidad.

A mi Madre: Gloria Olivia Alvarado.

Por su amor y dedicación de siempre y por su apoyo desmedido en toda mi vida que me ha ayudado a ser quien soy. Gracias por contar contigo.

A “Mayita”:

Quién ya no está aquí, pero sé que desde donde esté, siempre estará conmigo.

A mi mejor amiga:

Elena Cedillo, con quien he compartido más de la mitad de mi vida.

A mis hermanos:

Edgar A. y J. Antonio de la Rosa, por todos esos momentos de alegría que hemos compartido y por el cariño que nos une.

A Héctor y Elsita:

Mis segundos padres, gracias por sus consejos y su apoyo.

A todos y cada uno de mis amigos muy especialmente a **Arturo Rodríguez Flores**.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor: **M.C. Víctor Samuel Peña Olvera.**

Mi más sincero agradecimiento por la disposición y consejos que siempre me brindó, quién con su experiencia y sugerencias me permitió la realización y culminación del presente trabajo.

A mis co-asesores:

M.C. Blanca Valdivia Urdiales y M.C. Jesús García Camargo, mi gratitud por su orientación y consejos durante la realización de este trabajo, así como también por su acertada guía y revisión.

A todas las laboratoristas del departamento de suelos, por su ayuda, en particular a la **Lic. Margarita Castillo**, del laboratorio de Microbiología.

A las secretarias:

Chayito y Lili, gracias por su disposición.

Al Departamento de Fitomejoramiento:

Muy especialmente a la **M.C. Francisca Ramírez** y a la **T.L.Q. N. Leticia Porthos**, por permitirme hacer uso de sus instalaciones.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por brindarme su apoyo para llevar a cabo los estudios de Maestría.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por la formación académica.

COMPENDIO

Micorrizas Asociadas a los Cultivos de Papa (*Solanum tuberosum*), Manzano (*Pyrus malus*) y Nogal (*Carya illinoensi*) en el Área de Influencia Inmediata a la UAAAN

POR

INDIRA ISELA DE LA ROSA ALVARADO

MAESTRIA
SUELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
Buenavista, Saltillo, Coahuila. Septiembre, 1999.

M.C. Víctor Samuel Peña Olvera. – Asesor –

Palabras Clave: Papa, Manzano, Nogal, Micorriza, *Glomus*, *Sclerocystis*.

Cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), manzano (*Pyrus malus*) y nogal (*Carya illinoensi*) fueron sometidos a una serie de muestreos en los ciclos primavera-verano y otoño-invierno de 1998 en el área de influencia inmediata a la UAAAN, con la finalidad de encontrar micorrizas asociadas a cultivos de importancia económica y observar sus estructuras, así como el tipo de micorriza y lograr su caracterización.

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Suelos y en el laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el material

recolectado en una serie de muestreos del sistema radical y de suelo en diferentes sitios.

Se realizaron muestreos del sistema radical y suelo en plantas de manzano y papa en Los Llanos, El Bayonero, San Antonio de las Alazanas, Los Lirios y Jamé y de nogal en el área denominada como “bajío” de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Derramadero y General Cepeda. Los muestreos se realizaron en huertos escogidos al azar de agricultores de las zonas mencionadas. Se realizaron tres muestreos en cada lugar, colectando diez plantas seleccionadas por sitio, las cuales presentaban mejor aspecto visual, considerando: follaje (frondosidad), altura, color de hojas, etc.

De acuerdo con los resultados obtenidos se encontró que el 88.8, 93.3 por ciento y 91.1 por ciento de las plantas de papa, manzano y nogal, respectivamente, están micorrizadas. Esto indica que el 91 por ciento de las plantas que se muestrearon presentan la asociación micorrícica. Cabe mencionar que el tipo de micorrizas encontradas en todos los cultivos fueron del tipo vesículo-arbuscular.

A partir de las observaciones microscópicas, de las laminillas y de las esporas se hizo la caracterización de los hongos micorrícicos con base a las claves taxonómicas (Gerdeman y Trappe, 1993) y claves taxonómicas pictóricas (página del Internet, vea materiales y métodos) encontrándose esporas y esporocarpos de dos géneros de micorrizas, *Sclerocystis* y *Glomus*.

La caracterización de los hongos micorrícicos se hizo de cada cultivo por separado. Se detectó la presencia de *Glomus* y *Sclerocystis* en manzano (*Pyrus malus*), de *Glomus* en nogal (*Carya illinoensi*) y de *Sclerocystis* en papa (*Solanum tuberosum*).

Cabe señalar que no obstante el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) presentó el número más bajo de plantas micorrizadas, el porcentaje sigue siendo alto tomando en cuenta que el cultivo es de ciclo anual, en comparación de los frutales que su raíz permanece en el suelo durante períodos más largos. Este patrón de crecimiento así como el gran uso de agroquímicos aplicados al cultivo probablemente puedan explicar el número más bajo de plantas micorrizadas en papa con respecto del nogal.

El cultivo del manzano fue el que presentó mayor número de plantas micorrizadas, probablemente debido a que en este cultivo se encontró la presencia de los dos géneros fúngicos. Esto contrasta con el por ciento de plantas micorrizadas en papa y nogal en los cuales sólo se detectó un género en cada uno.

ABSTRACT

Mycorrhizae Associated with Potato, Apple and Pecan Crops in the Immediate Influence Area Next to UAAAN.

BY

INDIRA ISELA DE LA ROSA ALVARADO

MASTER SCIENCE

SOIL

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenvista, Saltillo, Coahuila. September of 1999.

M.C. Víctor Samuel Peña Olvera - Advisor -

Key Words: Potato, apple, and pecan crops, mycorrhiza, *Glomus*, *Sclerocystis*.

Potato, apple and pecan crops were submitted to a series of samplings in spring – summer and fall – winter on 1998 at the area of immediate influence next to the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), to find mycorrhizae associated with crops of economic importance, to observe its structures and to determine the types and characterization of the mycorrhizae found.

This work was carried out in the microbiology laboratory of the soils department and the cytogenetic laboratory of the plant breeding department at the

UAAAN, with the material collected in a samplings series of the root system and soil in different areas.

Samplings of the roots system and soil in apple and potato plants were made at the “Los Llanos”, “El Bayonero”, “San Antonio de las Alazanas”, “Los Lirios” y “Jamé” ranches. Similar samples were made with pecan crops at the area known as “Bajío” in the UAAAN and “Derramadero” and “General Cepeda”. Three samplings were made in randomly selected orchards of farmers of the areas mentioned. Ten plants were choosen from each area considering visual aspect, foliage, height, leaf color, etcetera.

The results show that the 88.8, 93.3 and 91.1 per cent of the potato, apple and pecan plants respectively, have mycorrhizal associations. This suggests that 91.1 per cent of the sampled plants have mycorrhizae. It is important to mention that the mycorrhizae found in the all the cases were of the vesicular-arbuscular class.

Characterization of the vesicular-arbuscular fungi was carried out based on the microscopic observations of the mycorrhizae structures, Gerdeman and Trappe’s (1993) taxonomic keys and an internet website page. Spore and sporocarps of two mycorrhizal genera were identified *Sclerocystis* and *Glomus*.

The mycorrhizal fungi characterization was made for each crop separatly. *Glomus* and *Sclerocystis* were found in apple crops, *Glomus* in pecan and *Sclerocystis* in potato plants.

It is important to emphasize that even though the potato crop had the lowest number of mycorrhizal plants the percentage is still high, considering that the crop is of annual cycle compared to the fruit trees whose roots are in the soil during larger periods. This growth pattern probably can explain the low number of mycorrhizal plants in the potato crop, with regard to pecan crop.

The apple crop had the highest number of mycorrhizal plants, probably because this crop had the two genera of fungi in contrast with the per cent of mycorrhizal plants in potato and pecan, that had only one type each.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Concepto y clasificación.....	4
Micorrizas ectótrofas.....	8
Ectendomicorrizas.....	8
Micorrizas endótrofas o VA.....	8
Formación de la asociación micorrícica.....	10
Formación de las MVA.....	10
Activación de los propágulos del hongo.....	11
Crecimiento hacia la raíz.....	12
Unión de la hifa infectiva.....	13
Progresión de la infección en la raíz.....	14
Crecimiento del micelio externo en el suelo.....	15
Ectomicorrizas.....	16
Endomicorrizas.....	17
Fisiología de las MVA.....	18
Importancia de las micorrizas.....	21
Funciones adicionales de los hongos micorrícicos.....	25
Factores que afectan la micorrización.....	26
Factores que afectan a la planta.....	26
Factores que afectan al hongo.....	26
Algunos usos importantes de las micorrizas.....	27
Taxonomía de las MVA.....	30
MATERIALES Y METODOS.....	32
Muestreo.....	32
Muestreo de suelo.....	33
Muestreo del sistema radical.....	33
Procesamiento de la muestra.....	35
Suelo.....	35
Sistema radical.....	36
Tinción.....	36
Cortes histológicos.....	39
Caracterización de las MVA.....	43
RESULTADOS.....	44

CONCLUSIONES.....	55
Recomendaciones.....	56
LITERATURA CITADA.....	57

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	Página
2.1 Características más importantes de las micorrizas.....	7
2.2 Clasificación actual de los hongos endomicorrícicos.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	Página
2.1	Representación diagramática de los tres tipos de micorrizas..... 9
2.2	Modelo de intercambio nutritivo en las MVA a través de la membrana de un arbusculo..... 15
2.3	Estructuras principales de una micorriza..... 20
2.4	a) Una endomicorriza; azigosporas de b) <i>Glomus</i> ; c) <i>Gigaspora</i> d) <i>Acaulospora</i> ; e) esporocarpo de <i>Sclerocystis</i> 31
3.1	Diagrama de flujo de la metodología utilizada..... 34
4.1	Microfotografía a 40X de una micorriza vesículo-arbuscular en una tinción simple con azul de tripano, en la que se aprecia una vesícula..... 46
4.2	Microfotografía tomada a 10X de una micorriza VA en manzano, en una tinción simple con azul de tripano en la que se aprecian las Hifas y vesículas del hongo..... 47
4.3	Microfotografía tomada a 40X de una raíz de papa micorrizada, teñida con azul de tripano en la que se puede apreciar el micelio del hongo dentro de la célula..... 47
4.4	Microfotografía tomada a 100X de una endomicorriza de papa dentro De una célula teñida con azul de tripano..... 48
4.5	Microfotografía tomada a 40X de una raíz de nogal micorrizada, en una tinción simple con azul de tripano, en la que se observan las hifas del hongo dentro de la raíz..... 48
4.6	Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15 μ de una raíz de manzano micorrizada..... 49
4.7	Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15 μ de una MVA en Manzano, en la que se observan los puntos de entrada del hongo y los arbusculos..... 49
4.8	Microfotografía tomada a 100X de un corte en microtomo a 15 μ de

	una raíz de manzano micorrizada en la que se aprecian puntos de las hifas infectivas esporas del hongo.....	50
4.9	Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15 μ de una MVA en papa, en la que se observan hifas y vesículas.....	50
4.10	Microfotografía tomada a 100X de un corte en microtomo a 15 μ de Una raíz de papa micorrizada. Se aprecian las hifas dentro de las células.....	51
4.11	Microfotografías tomadas a 40X de esporas de <i>Glomus sp</i>	53
4.12	Microfotografía tomada a 40X de un esporocarpio de <i>Sclerocystis</i>	53

INTRODUCCIÓN

Durante su existencia el hombre ha realizado la mayoría de sus actividades sobre el suelo. Los insumos y materiales que para su bienestar ha extraído del mismo le han servido para satisfacer su necesidad de alimentación, vivienda y desarrollo urbano. Sin embargo, ha mantenido equivocada su idea de inagotabilidad, provocando en consecuencia un uso y explotación irracional.

Actividades como la ganadería, la agricultura intensiva y el uso inmoderado de fertilizantes químicos han sido los responsables de que en sólo unas décadas se hayan modificado substancialmente las características del suelo.

Hoy en día se propone el uso de los fertilizantes orgánicos, agricultura sustentable y otras alternativas, como el uso de microorganismos, para mejorar la fertilidad del suelo sin propiciar su deterioro. Existen algunas asociaciones de mutualismo o simbiosis entre ciertos microorganismos y las plantas, como las micorrizas, que constituyen una relación entre raíces y determinados hongos del suelo, de las cuales las micorrizas vesículo-arbusculares ocurren en aproximadamente el 97 por ciento de las plantas vasculares.

No es muy difícil demostrar el impacto que las micorrizas pueden tener sobre la producción de las cosechas, especialmente en los suelos con bajo nivel de

nutrimentos. La importancia principal de las asociaciones micorrícicas es que permite a las plantas aumentar la absorción mineral tanto en los suelos fértiles como en los no fértiles, principalmente en lo que respecta a la absorción de los macro y microelementos presentes en el suelo, reduciendo en gran medida el uso de fertilizantes químicos. Además, las micorrizas reducen la incidencia del ataque de patógenos y contribuyen a la formación de agregados en los suelos, mejorando sus propiedades físicas y disminuyendo por ende su erosión.

Por otra parte el efecto de las MVA no solamente se restringe a campo, ya que también se ha reportado el mejoramiento de la calidad, sobrevivencia y crecimiento de las plántulas en vivero después de la formación de la micorriza.

La finalidad del presente trabajo fue determinar la presencia de micorrizas en el área de influencia inmediata a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), manzano (*Pyrus malus*) y nogal (*Carya illinoensi*).

Objetivos

- ◆ Determinar la presencia de las micorrizas en los cultivos de papa, manzano y nogal.
- ◆ Caracterizar los hongos micorrícicos encontrados.

Hipótesis

- ◆ Existen microorganismos del tipo de las micorrizas asociados a los cultivos de papa, manzano y nogal.

REVISIÓN DE LITERATURA

Concepto y Clasificación

Durante el proceso de evolución biológica diferentes organismos empezaron a adaptarse a vivir juntos y a tener beneficios mutuos. Tal asociación se conoce como simbiosis mutualista y es muy común en la naturaleza (Mukerji, *et al.*, 1988).

Albert Bernard Frank (1885), propone por primera vez el término micorriza, el cual se compone de dos vocablos griegos *mikes* que significa hongo y *rhiza* que significa raíz, para describir un fenómeno común en las raíces de ciertos árboles de los bosques templados de Norteamérica. Para Frank las raíces asociadas a los hongos del suelo diferían morfológicamente de aquellas que carecían de estos hongos (Harley y Smith, 1983) y representaban un fenómeno de naturaleza generalizada resultante de la unión orgánica entre las raíces y el micelio del hongo, en un órgano morfológicamente independiente, con dependencia fisiológica, íntima y recíproca, seguida por el crecimiento de ambas partes y con funciones fisiológicas muy estrechas (Siqueira, 1988).

Frank clasificó a las micorrizas en dos tipos: micorriza ectótrofa y micorriza endotrofa. Esta terminología ha sufrido nuevas proposiciones como la de Peyronel, *et al.* (1969), quienes introdujeron el término de ectomicorriza, endomicorriza y

ectendomicorriza. Esta terminología es la más empleada actualmente (Ferrara-Cerrato *et al.*, 1993).

Lewis (1973) propone el cambio del término ectomicorriza por micorriza envainada (*sheating mycorrhiza*) y divide a la endomicorriza en tres categorías por considerarlos estos grupos más uniformes: a) micorriza vesículo-arbuscular (MVA), b) micorriza ericaeae y c) orchidáceas.

Las aportaciones de Lewis y otros investigadores ha permitido ampliar más la terminología, encontrándose en el libro de Harley y Smith (1983) un resumen del estado de la micorriza (Cuadro 2.1).

Las asociaciones micorrícicas vesículo-arbuscular son las de ocurrencia más generalizada, ya que se han detectado en aproximadamente el 97 por ciento de las plantas vasculares (por lo menos 300,000 especies), conociéndose alrededor de 140 especies de hongos (Siqueira 1988).

El término micorriza se refiere a la raíz de una planta más un hongo simbionte asociado, y se considera en conjunto como un órgano funcionalmente distinto (en ocasiones también morfológicamente) cuya función es la absorción de nutrimentos del suelo. Es conveniente considerar a las micorrizas dentro del tema del parasitismo vegetal aún cuando son asociaciones mutualistas, ya que el hongo por lo regular

depende de la planta hospedera para obtener nutrimentos que contengan carbono (Castillo, 1987).

Los hongos micorrícicos pertenecen a la clase Zygomycetes, orden Endogonales y familia Endogonaceae. Esta familia consta de seis géneros los cuales son: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora* (Trappe y Schenck, 1982; Shenck y Pérez, 1988; Barea, 1991). Sin embargo, algunos otros autores incluyen dentro de esta familia al género *Endogone* (Castellano y Molina, 1989). Por otro lado, Morton y Benny (1990) clasifican a los hongos micorrícicos en el orden de los Glomales y la familia Glomaceae con seis géneros: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*, además del orden de los Endogonales con el género *Endogone*.

Aparentemente muchas especies y géneros de estos hongos se encuentran distribuidos alrededor del mundo. Sin embargo, la razón de la gran distribución de estos organismos no es del todo clara, puesto que se sabe que las esporas no presentan un mecanismo especial para dispersarse. Por lo que su distribución por el mundo puede deberse a la antigüedad de este grupo de hongos, los cuales pudieron estar asociados a las primeras plantas de la tierra hace más de 300 millones de años (Nicolson, 1975).

De acuerdo al tipo de hifa presente, los hongos micorrícicos se clasifican en: Ectótrofas o ectomicorrizas, ectendomicorrizas y micorrizas vesículo-arbusculares.

Cuadro 2.1 Características más importantes de las micorrizas

TIPOS DE MICORRIZA									
Características	Vesicular- Arbuscular	Ectomicorriza	Ectendomicorriza	Arbutoide	Monotropoide	Ericoide	Orquidoide		
Hongos Septados	-	+	+	+	+	+	+		
Sin septas	+	(+)	-	-	-	-	-		
Hifas intracelulares	+	-	+	+	+	+	+		
Manto fúngico presente	-	+	+ ó -	+	+	-	-		
Red de Hartig presente	-	+	+	+	-	-	-		
Hifas enrolladas en la célula	+	-	+	+	-	+	+		
Haustoria Dicotómica	+	-	-	-	-	-	-		
No dicotómica	-	-	-	-	+	-	-	+ ó -	
Vesículas en la célula o tejidos	+ ó -	-	-	-	-	-	-		
Adorofíceas	- ó +	-	-	- ó +	+	-	-		
Grupos taxonómicos de hongos	Phyco	Basidio Asco Phyco	Basidio	Basidio	Basidio	Asco (Basidio)	Basidio		
Grupos taxonómicos de hospederas	Bryo Pterido Gymno	Gymno Angio	Gymno Angio	Ericales	Monotropaceae	Ericales	Orchidaceae		

Tomado Harley, J.L. y S.F. Smith. 1983

Phyco: Ficomicetos; Basidio: Basidiomicetos; Asco: Ascomicetos; Bryo: Brioterioditas; Pterido: Pteridoditas; Gymno: Gimnospermas; Angio: Angiospermas

Micorrizas Ectótrofas o Ectomicorrizas.

Según Marks y Kozlowski, (1973), éstas se caracterizan por la penetración intercelular de micelio con modificaciones morfológicas evidentes en las raíces colonizadas. Estas se encuentran en árboles de hoja ancha como el roble y la haya, y en coníferas como el pino, el abeto y el arce e incluyen a miembros de los Ascomycotina o, con mayor frecuencia, de los Basidiomycotina. La penetración entre las células corticales y no a través de ellas da lugar al término *ectótrofo* que significa “que se alimenta del exterior”(Figura 2.1).

Ectendomicorrizas.

Son generalmente ectomicorrizas de penetración intracelular. Estos hongos penetran las células hospederas sin causar alteración celular; forman enrollamientos algunos de los cuales al parecer están en proceso de autólisis o están siendo digeridos (Castillo, 1987).

Micorrizas Endótrofas, Vesículo -Arbusculares o Endomicorrizas.

Se caracterizan por la penetración intra e intercelular y ausencia de modificaciones morfológicas en las raíces. Son de ocurrencia muy generalizada y se subdividen en ericoides, orquidoides y vesículo -arbusculares (MVA). Estas micorrizas son muy comunes en una amplia gama de plantas herbáceas y también en algunos

árboles, tanto en especies cultivables como en las naturales (Sanders *et al.*, 1975). Estas micorrizas no forman un manto, por lo que las raíces infectadas parecen normales; si no que penetran a la planta creciendo entre las células corticales de la raíz y formando grandes vesículas hinchadas y arbusculos (sistemas de ramificación semejantes a los de un árbol) intrincadamente ramificados dentro de las células individuales. Estas estructuras dan origen a su nombre, micorrizas vesículo-arbusculares (Figura 2.1).

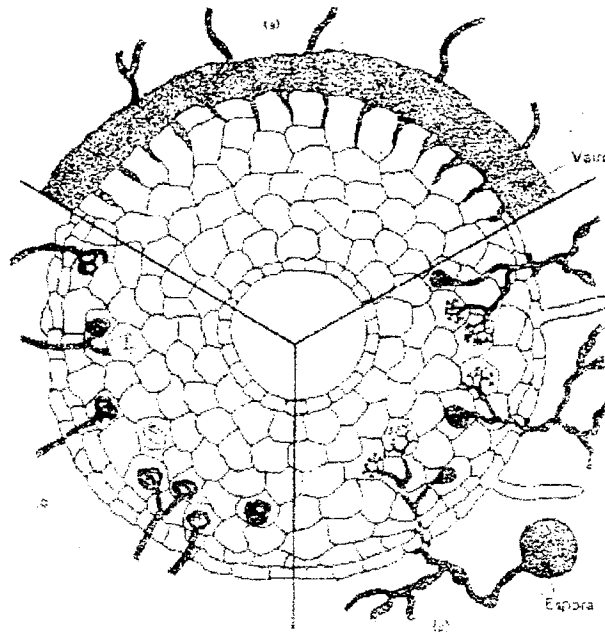


Figura 2.1. Representación diagramática de los tres tipos de micorrizas, que se muestran en un corte transversal de una raíz; a) Ectomicorriza, b) Micorriza vesículo-arbúscular o endomicorriza y c) Ectendomicorriza.

Formación de la Asociación Micorrícica

La asociación micorrícica se inicia a partir de la interfase formada entre los propágulos del hongo (esporas, células auxiliares y/o hifas infectadas) que, estimulados por los componentes bióticos de los exudados de la raíz y por las condiciones físico químicas de la rizosfera, crecen abundantemente aumentando los sitios de contacto entre la raíz y el hongo. Las hifas se encuentran como raicillas adheridas a la superficie de la raíz formando un apresorio a través del cual penetran a las células de la epidermis sin infectar el meristemo de la misma, a unos 0.5 cm – 1.5 cm del ápice, no interfiriendo así con el desarrollo de la raíz (Mosse, 1981).

La velocidad de dispersión, la diferenciación intra y extraradicular y la esporulación, dependen del genoma de la planta hospedera, de la especie del hongo micorrícico y de las condiciones del medio ambiente, especialmente del suelo (pH, temperatura y humedad). Además de las estructuras intraradicales, se forma una red de micelio, el cual generalmente no es septado, con un diámetro variado de 2-27 μ

Formación de las MVA.

Existen cinco hechos clave en el proceso de formación de las MVA (Bowen, 1981; Hayman, 1983; Barea y Azcon-Aguilar, 1983): a) activación de los propágulos del hongo que persiste en el suelo; b) estimulación de los micelios formados cuando

alcanzan la rizosfera de una planta susceptible; c) unión de la hifa infectiva a la superficie de la raíz y formación de los primeros puntos de penetración del hongo; d) progreso de la infección en la raíz y e) crecimiento del micelio externo en el suelo que la circunda. Los procesos a), b) y c) constituyen la fase de pre-infección mientras que d) y e) son la fase de desarrollo de la micorriza.

Activación de los Propágulos del Hongo.

Para establecer cuáles son los propágulos del hongo se sabe que hoy en día se acepta que existen en el suelo tres formas de inóculo, las cuales, aunque con diferente grado en su capacidad de supervivencia y potencial infectivo, pueden originar la simbiosis. Estas son: (a) Las grandes esporas de resistencia de los hongos MVA. Las azigosporas de *Acaulospora* y *Gigaspora*, así como las clamidosporas de *Glomus* y *Sclerocystis* son capaces de persistir considerables períodos en el suelo, en donde resisten condiciones adversas germinando cuando éstas le son favorables. Tommerup y Kidby (1979), han puesto de manifiesto la existencia de un período de letargo innato de las esporas VA que, en suelo húmedo y dependiendo de la especie, puede durar varias semanas a partir de la formación de la espora. En suelo seco se reduce significativamente tal período de reposo; (b) Raíces micorrizadas o sus fragmentos, procedentes de plantas preexistentes o coexistentes. La infección VA se produce más rápidamente a partir de raíces previamente micorrizadas que a partir de esporas (Hall, 1976; Powell, 1976). Esto puede deberse bien a dificultades en la germinación de estos propágulos en el suelo, o al escaso vigor del micelio formado. Es

obvio suponer que la viabilidad de este inóculo dependa por un lado de la edad y capacidad metabólica del fragmento de raíz y por otra parte de otro tipo de estructuras fúngicas que posean esos fragmentos; (c) Agregados de hifas que sobreviven en el suelo. Las hifas de los hongos VA presentes en el suelo poseen una capacidad infectiva, no obstante, existe un punto de discusión sobre si la infectividad de la hifa depende de su asociación directa con un fragmento de raíz, o bien los agregados de hifas independientes poseen *per se*, capacidad infectiva (Read, *et al.*, 1976).

Crecimiento del Hongo Hacia la Raíz y Estimulación Rizosférica.

Los estudios de Powell (1976) pusieron de manifiesto que ni la germinación de esporas ni la dirección inicial de las hifas son influenciadas por la presencia de las raíces de la planta hospedera. Los tubos de germinación no son atraídos por la raíz hasta que, erráticamente, llegan a la rizosfera; e incluso, a veces, la raíz e hifa se cruzan ignorándose. Esta misma situación la encontraron Mosse y Hepper (1975) cuando intentaron provocar micorrizas en cultivos de órganos de raíz. En contraste con estas observaciones, Koske (1981) detectó la producción de una sustancia volátil, por parte de la raíz, que atrae a los tubos de germinación aérea de *Gigaspora gigantea*.

Con respecto a las causas de estimulación de las hifas cuando llegan a la rizosfera de una planta sólo cabe hacer mención de la influencia que en ello deben de tener los exudados radicales. De cualquier manera, como el efecto de un incremento

en la exudación radical sobre la fase de pre-infección en MVA suele evaluarse por la estimulación en la formación de la micorriza, no queda claro si lo que se produce es una acción directa sobre el micelio del hongo, o sí por el contrario, la clave es la alteración de la permeabilidad, y por tanto la penetrabilidad de las células de la raíz. Es posible que los microorganismos del suelo, activados en la rizosfera, jueguen un papel clave en la estimulación de los micelios VA. Este hecho es apoyado por los ensayos de Azcón-Aguilar y Barea (1983).

Unión de la Hifa Infecciosa a la Superficie de la Raíz y Penetración de Ésta.

Una vez que una hifa infecciosa llega a la superficie de la raíz se forma una apresorio sobre las células de la epidermis (incluyendo los propios pelos radicales). A partir de aquí pueden ocurrir dos tipos de situaciones: a) que se produzca una infección abortiva; y b) que el contacto vaya seguido de una auténtica infección.

Se ignora si la penetración es mecánica o si tiene lugar mediante un mecanismo enzimático. Lo cierto es que el hongo no penetra por heridas ni por lugares en los que la corteza está rota por cualquier causa, incluso, para la emergencia de una raíz lateral (Hayman, 1983). Esto indica que se necesita un sitio fisiológicamente funcional para la penetración. De otro lado se conoce que una vez producido el primer punto de entrada, la raíz se vuelve más propensa a la formación de nuevos puntos de infección. El número de puntos de entrada por longitud de raíz

es muy variable, pero se han descrito hasta 20 por mm de raíz (Rhodes y Gerdemann, 1980).

Progresión de la Infección en la Raíz.

Con respecto al posterior desarrollo de la micorriza se sabe, que el hongo que ha penetrado en, o entre las células epidérmicas coloniza la corteza de la raíz mediante hifas distributivas que se ramifican ínter e intracelularmente. La distancia que recorre el hongo en el interior de la raíz a partir de un punto de entrada es lo que se denomina unidad de infección. Suele oscilar entre 0.5 y varios centímetros y puede verse afectada por la especificidad hongo-raíz, es decir, por la receptibilidad de un huésped a un determinado hongo VA.

A los pocos días de iniciada la infección, y por división dicotómica repetida de las hifas intracelulares se forman los *arbúsculos*. La función de éstos es el intercambio biotrófico bidireccional de nutrientes (Figura 2.2). Los arbúsculos tienen una vida media de cuatro a 14 días, y cuando degeneran la célula recupera su actividad normal, e incluso es susceptible de amparar a un nuevo arbúsculo. Cuando el desarrollo de las hifas internas está establecido se forman las vesículas, las cuales tienen función de almacenamiento de reservas.

Crecimiento del Micelio Externo en el Suelo que Circunda la Raíz.

Simultáneamente al desarrollo intrarradical del hongo, las hifas de penetración se ramifican exteriormente y dan lugar a una red tridimensional de micelio, sobre las que se forman las esporas de resistencia. Estas son ricas en material lipídico y se acepta que constituyen el final y principio del ciclo de vida de estos hongos. En ciertas especies las esporas se encuentran agrupadas en esporocarpos.

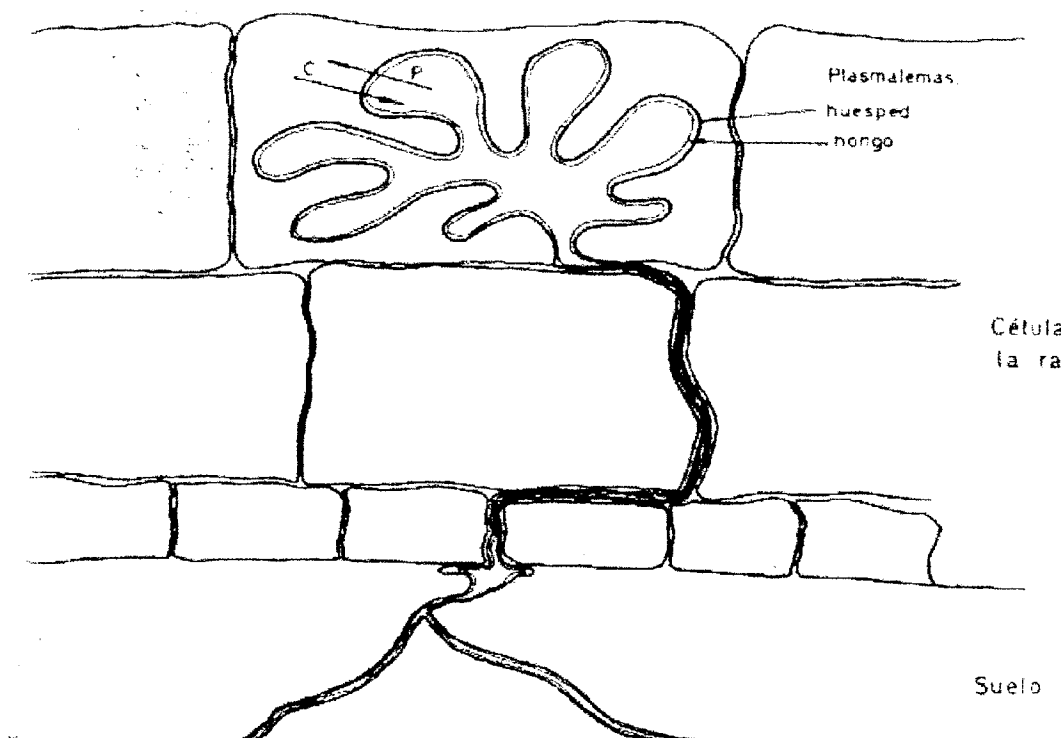


Figura 2.2. Modelo del intercambio nutritivo en las MVA, a través de la membrana de un arbusculo.

Ectomicorrizas.

Las ectomicorrizas colonizan una baja diversidad de especies de plantas, predominando en las gimnospermas. Ordinariamente se les conoce por dos características principales: a) un manto organizado de hifas compactas, fácilmente visible sobre la superficie y alrededor de las hifas colonizadas y b) un plexus de hifas que penetra de modo intercelular a la raíz y que rodea a las células de la corteza formando lo que se conoce como red de Hartig (Wilcox, 1990).

El desarrollo ectomicorrícico se inicia de propágulos, de esporas o de hifas del hongo simbiote que se encuentra en la rizosfera del sistema radicular. El propágulo se estimula por exudados de la raíz y crece vegetativamente sobre las raicillas, formando el manto fúngico. Los tejidos meristemáticos y vasculares de la raíz no son infectados. Los compuestos reguladores de crecimiento se producen tanto por el hongo como por la planta causando un incremento en el tamaño de las células de la raíz lo cual trae consigo cambios morfológicos en el sistema radicular, lo que origina formas simples, bifurcadas o coraloides. El color de la ectomicorriza puede ser café, negro, gris, blanco, rojo, amarillo o mezcla de estos colores (Castillo, 1987).

A diferencia de la micorriza vesículo-arbuscular (MVA), estos hongos producen esporas en sus cuerpos fructíferos, las cuales son diseminadas a grandes distancias por el viento, lluvia y pequeños mamíferos (Marx, 1991).

Endomicorrizas.

Estas ocurren en las raíces de la mayoría de las especies de plantas, muchas de ellas de importancia económica como son los cultivos agronómicos. Se presentan en algodón, maíz, trigo, frijol, soya, tabaco, cítricos, cereales, tomate, chícharo, papa, chile y cultivos forrajeros o en frutales como manzano, cerezo, vid, almendro, nogal y muchos más.

En las endomicorrizas las hifas se desarrollan tanto intra como intercelularmente en las células de la raíz, pero no forman un manto fúngico. Este tipo de micorriza se denomina también micorriza vesículo arbuscular (MVA). Este nombre se deriva de las vesículas internas usadas para el almacenamiento, interconectadas con hifas fúngicas que se extienden de 10 a 100 μm entre células, conteniendo lípidos principalmente. Las otras estructuras internas son los arbuscúlos, que consisten de hifas finamente ramificadas similares a los haustorios de las plantas parásitas. Estos arbuscúlos tienen una duración de cuatro a diez días dentro de las células vegetales (Paul y Clark, 1989; Barea, 1991). Se estima que cerca de un 95 por ciento pertenecen a micorrizas de estas características (Trappe, 1987).

Los hongos MVA pertenecen al orden de los Glomales e incluyen un número limitado de géneros (*Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*). En la actualidad se conoce muy poco sobre su taxonomía, debido principalmente a que no ha sido posible mantenerlos en cultivos puros aislados lo que permitiría conocer sus estructuras de

reproducción sexual, por lo que se han clasificado principalmente basándose en las características morfológicas de sus esporas (Bonfante-Fasolo y Perotto, 1994).

Las endomicorrizas son muy eficientes en la absorción de nutrimentos, especialmente de fósforo. La extensiva red de micelio del hongo permite explotar un mayor volumen de suelo, lo que no sucede con las plantas no micorrizadas. Las investigaciones sobre micorrizas establecen que los beneficios aportados por las ectomicorrizas pueden también aplicarse al caso de las endomicorrizas; la única excepción es que las endomicorrizas no protegen contra la invasión de fitopatógenos (Castillo, 1987).

Fisiología de las MVA.

El estudio de los procesos fisiológicos en las MVA es un tema de investigación que ocupa actualmente la atención de numerosos investigadores y aunque restan muchas facetas por esclarecer, en los últimos años se ha logrado un considerable avance en el conocimiento de los efectos de las micorrizas sobre el crecimiento y nutrición vegetal, así como sobre los aspectos nutritivos del hongo. Los trabajos sobre el tema han sido revisados en diversas publicaciones (Rhodes y Gerdeman, 1980; Smith, 1982; Harley y Smith, 1983; Hayman, 1983 y Gianinazzi-Pearson, 1989;).

El hongo al hacer contacto con la raíz expresa un mecanismo de reconocimiento mediante el ensanchamiento apical de la hifa, que al interactuar con la

superficie vegetal forma un apresorio a partir del cual se origina una hifa de penetración que coloniza la epidermis y el parénquima cortical de la raíz.

Como resultado de la interacción fisiológica entre el hongo y la raíz se desarrolla un micelio capaz de explorar hasta ocho cm por encima de la raíz infectada, en busca de P, N, Ca, K, Mg y micronutrientes como Zn, Cu, Mn, y Fe, así como de otros elementos como el Br, I, Cl, Na, Al, Si y metales pesados, llegando a sitios donde la planta no puede alcanzar por sí misma (Rhodes y Gerdemann, 1975; Taiz y Zeiger, 1991) (Figura 2.3).

Las vesículas son estructuras terminales ovoides o esféricas que contienen abundantes gotas de aceite producidas por las hifas, tanto inter como intracelulares; se ha determinado que estas hifas funcionan como sitios de reserva para el simbionte y normalmente se forman después de que lo han hecho los arbuscúlos y cuando la planta está madura o bien cuando es tratada con altos niveles de fertilización (Mosse, 1981).

El arbuscúlo es una estructura haustorial producto de ramificaciones dicotómicas sucesivas que se forman a partir de un ensanchamiento de la misma hifa, denominado tronco arbuscular, cuando una rama de hifa intercelular penetra en la célula cortical (Mosse, 1963; Hayman, 1983) (Figura 2.3).

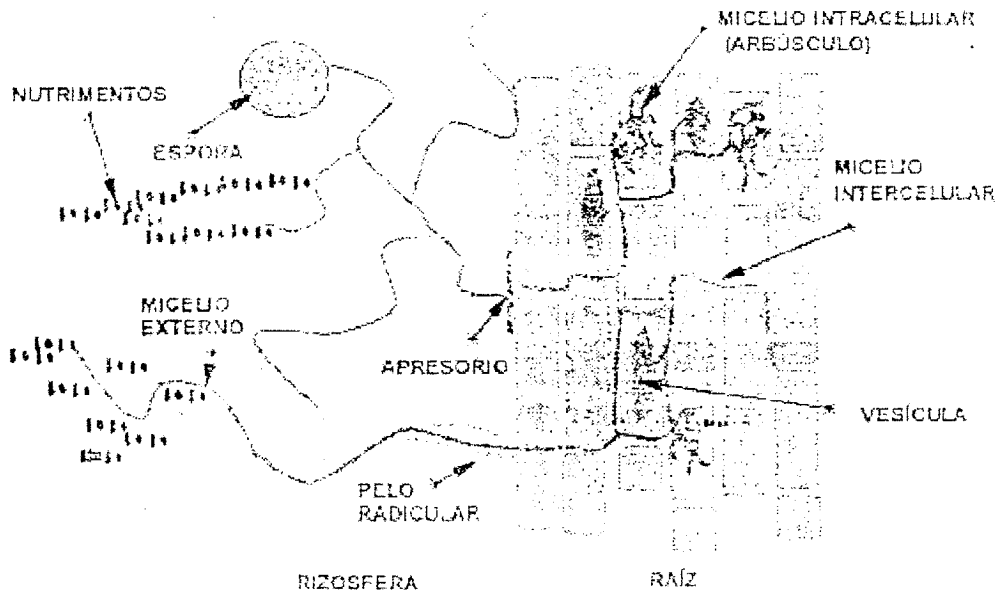


Figura 2.3. Estructuras principales de una micorriza.

Uno de los nutrientes esenciales que más se ha estudiado con relación a su absorción mediada por micorrizas arbusculares es el fósforo, debido a que las plantas lo requieren en cantidades relativamente grandes pero que también se encuentra en concentraciones muy bajas en la solución del suelo. La razón principal de este fenómeno es que los iones de fosfato inorgánico se unen rápidamente a los coloides del suelo o se fijan como sales de hierro o aluminio volviéndose relativamente inmóviles además de que una gran proporción del fósforo inorgánico total está normalmente en forma insoluble, no disponible fácilmente para las plantas (Harley y Smith, 1983).

La gran eficiencia con la cual las plantas micorrizadas absorben fósforo, en comparación con las plantas no micorrizadas, posiblemente se deba en gran medida

al incremento del área superficial disponible para la absorción como resultado de las hifas que se extienden de la raíz al suelo. Además, se sabe que los hongos micorrícicos son muy eficientes para acumular fósforo del suelo mediante la producción de ácidos o la posesión de fosfatasas eficientes (Castillo, 1987).

A causa de la baja concentración de fósforo en la solución del suelo, el flujo de masas hacia el sistema radical de la planta es insuficiente para cubrir normalmente sus requerimientos. La difusión de este nutrimento en el suelo es también extremadamente baja, por lo que en las plantas sin micorriza puede observarse una zona de agotamiento de iones de fosfato en derredor de la raíz (Stribley, 1987).

Importancia de las Micorrizas

Tanto las ecto como las micorrizas vesículo-arbusculares favorecen la absorción de nutrimentos, modifican la rizosfera, favorecen a los microorganismos productores de antibióticos, fijadores de N, heterotróficos, solubilizadores y mineralizadores de nutrimentos. Estas modificaciones pueden actuar sobre la planta hospedera favoreciendo su estado nutricional, crecimiento, producción y supervivencia en estados adversos.

Castillo (1987) menciona que las ectomicorrizas de los árboles forestales han sido consideradas importantes en lo que respecta a la absorción de nutrimentos

LITERATURA
CITADA
1987

minerales del suelo. De hecho, algunos árboles tales como las especies de *Pinus* son, para todos los propósitos, micorrícicos obligados: crecen muy poco y muestran signos de severa deficiencia de minerales si no están infectados con un hongo simbiote. Dicha infección lleva a la supresión de los pelos radicales y a una morfología de la raíz muy alterada que incidentalmente llevan a cabo las hormonas presentes en los filtrados de cultivo de algunos hongos micorrícicos. Estas características llevan por lo general a una reducción en la absorción de nutrimentos minerales, lo cual hace suponer que el hongo realiza esta función. Los experimentos con marcadores radioactivos han confirmado esto tanto en las ectomicorrizas como en las vesículo arbusculares; en el último caso, los arbusculos son el medio principal de transferencia de nutrimentos.

La respuesta del crecimiento micorrízico es mayor en los suelos deficientes en fósforo y en aquellos con una elevada capacidad para fijar fosfatos (oxisoles, andisoles, etc.); este efecto es explicado principalmente por el hecho que las raíces con MVA tienen un mayor poder de absorción que las raíces no micorrizadas ya que pueden absorber varias veces más fósforo y tiene tasa de flujo considerablemente mayores (Gianinazzi-Person, 1989).

El hongo puede acumular grandes cantidades de fosfato debido a que tiene la capacidad de almacenarlo dentro de sus vacuolas en la forma condensada de polifosfato; el fosfato liberado a la planta aparentemente se encuentra principalmente

en la interfase intracelular entre el arbusculo y el plasmalema de la célula vegetal (Gianinazzi- Person, 1989).

En sentido agronómico la importancia de las MVA radica en la habilidad de éstas para ayudar a la planta en la toma de nutrimentos, particularmente los que se encuentran en forma limitada en el suelo, tales como el P y el Zn. Esto debido a la conexión de varias hifas externas en cadena, que actúan como un captor adicional, absorbiendo de la superficie del suelo, los nutrimentos en algunas zonas inaccesibles para las raíces de la planta (Hattingh *et al.*, 1973).

El favorecimiento de las micorrizas en la absorción de nutrimentos, es el resultado de varios mecanismos como:

- Aumento de la superficie de absorción y exploración de las raíces en el suelo.
- Aumento en la capacidad absorptiva de la raíz.
- Modificaciones morfológicas y fisiológicas adicionales a la planta.
- Absorción de nutrimentos disponibles no accesibles para la raíz no micorrizada directamente por las hifas.
- Utilización de formas no disponibles de los nutrimentos para la raíz a través de solubilización y mineralización.

La penetración y la dispersión del hongo en las raíces resulta en modificaciones fisiológicas, bioquímicas y nutricionales de la planta hospedera, ejerciendo enorme efecto sobre su comportamiento.

Si las fuentes de fósforo en el suelo son extremadamente bajas, como en los suelos tropicales, las MVA son de gran importancia puesto que pueden causar el incremento hasta del 50 por ciento de materia seca en la planta. La inoculación con hongos micorrícicos en árboles y plantas agrícolas, estimula el crecimiento en suelos pobres en nutrientes, tal como ocurre en grandes áreas del trópico (Gerdeman, 1975; Harley, 1969).

En suelos húmicos, incluyendo suelos de bosques, por ejemplo, mucho del fosfato presente en la cercanía de las raíces de las plantas se encuentra en forma de fitatos (fosfatos de inositol) los cuales son insolubles pero pueden ser inducidos a formar soluciones mediante las fosfatasas de las raíces o de las hifas fúngicas (Harley y Smith, 1983).

Recientemente Bethlenfalvay *et al.*, (1991), comprobaron la interconexión de raíces de plantas de soya y maíz con seis cm de separación inoculadas con *Glomus mosseae* y determinaron su efectividad en el intercambio de nitrógeno.

Funciones Adicionales de los Hongos Micorrícicos.

La infección de las plantas por hongos micorrícicos tiene varias consecuencias, además del aumento en la absorción de nutrimentos. Por ejemplo la absorción micorrízica aumenta la disponibilidad de agua para las plantas en los medios áridos, incrementa el grado de establecimiento de los nódulos radicales (*Rhizobium* spp.) en las leguminosas y puede compensar o reducir las enfermedades de las plantas (Daft y El-Giahmi, 1976).

Los silvicultores y cuidadores de viveros han dado mucha atención a la función de las ectomicorrizas en la protección de árboles contra la infección del patógeno *Phytophthora cinnamoni*. El manto parece ser la barrera mecánica contra el patógeno. Otros mecanismos de resistencia a la infección son la producción de antibióticos por el hongo simbiote, o la formación de compuestos químicos parecidos a las fitoalexinas (volátiles y no volátiles) producidas por el árbol en respuesta a la infección por fitopatógenos o poblaciones antagónicas de microorganismos existentes en la rizosfera y algunos cambios en el patrón general de exudados. Al parecer, las ectomicorrizas reducen la incidencia de la enfermedad al menos de tres maneras: 1) presentando una barrera física a la infección, debido a la vaina micorrízica; 2) incrementando el vigor de la planta en general, por lo que la planta puede compensar la infección produciendo más raíces; y 3) produciendo antibióticos contra *P. cinnamoni*. No se sabe cuál de estos mecanismos es el más importante (Marks y Kozlowski, 1973).

Factores que Afectan la Micorrización.

La formación de las micorrizas es afectada por varios factores. Los factores deben ser considerados por separado, primero los que afectan a la planta y segundo los que afectan al simbionte.

Factores que Afectan a la Planta.

Entre éstos tenemos el potencial fotosintético y la fertilidad del suelo; por ejemplo, alta intensidad de luz y una baja o moderada fertilidad aumentan el desarrollo micorrícico, mientras que baja intensidad de luz y alta fertilidad reducen o eliminan el desarrollo de la micorriza. Los factores propios de la planta como especie, variedad, estadio nutricional, edad, síntesis de compuestos fungistáticos o alelopáticos, follaje, etcétera. Estas variables controlan principalmente la distribución espacial y temporal de las poblaciones de los vegetales superiores, ejercen influencias sobre las características físicas y químicas de los suelos y controlan de manera directa e indirecta la distribución geográfica de las diferentes micorrizas, sus variaciones estacionales así como su composición cualitativa y cuantitativa (Siqueira, 1988).

Factores que Afectan al Hongo.

Los factores que pueden afectar al simbionte fúngico, son aquellos que regulan la sobrevivencia de propágulos infectivos, los cuales ejercen gran influencia sobre las

diferentes fases de la simbiosis y sobre la formación y funcionamiento de las asociaciones con su entorno ecológico. Éstos pueden ser temperaturas altas en el suelo, variaciones de pH, humedad y presencia de antagonicos en el suelo, mismos que pueden afectar el crecimiento de la raíz. Los fungicidas que se usan en el control de fitopatógenos, pueden tener efecto inhibitor sobre los hongos micorrícicos. Otros destruyen los microorganismos antagonicos y en forma indirecta estimulan el desarrollo del simbiote (Castillo, 1987).

Algunos Usos Importantes de las Micorrizas

Nelsen y Safir (1982), trabajaron con plántulas de cebolla cultivada en envases e inoculada con *Glomus etunicatum* y mostraron que bajo condiciones de estrés de humedad del suelo las plántulas inoculadas fueron más tolerantes a la sequía que las que no se inocularon, además presentaron mayor peso fresco y seco así como un alto nivel de P en los tejidos.

Allen y Boosalis (1983) en ensayos en invernadero con trigo de invierno cultivando en suelos de pradera inoculados con *Glomus fasciculatum* comparando con plantas inoculadas con *G. mosseae* y controles sin micorriza obtuvieron igual peso seco tanto en condiciones de alta como de baja humedad de suelo, mientras que el ajuste osmótico fue mayor en plantas colonizadas con *G. fasciculatum*. De ahí que la presencia de las micorrizas formadas por este hongo pareciera incrementar la tolerancia del hongo a la sequía.

Waterer y Coltman (1989) analizaron la respuesta de chile (*Capsicum annum* L.) a la inoculación con *Glomus aggregatum*, bajo condiciones de invernadero y campo. En dicho estudio, la inoculación no tuvo efecto alguno en la concentración de fósforo en la planta, tanto en invernadero como en campo. Sin embargo, en suelos pobres en P la inoculación incrementó la concentración de dicho elemento en los tejidos, el peso de la planta y el rendimiento de fruto, en relación con las plantas no inoculadas.

Runjin L. (1989) observó los efectos de la inoculación de MVA y P sobre el crecimiento del manzano. Él hizo crecer plántulas de manzano en suelo estéril y sin esterilizar, con y sin fósforo e inoculando hongos MVA (*Glomus versiforme* y *G. macrocarpum*). En el suelo estéril la infección con MVA incrementó la tasa de transpiración en las hojas y redujo la resistencia estomática y el porcentaje de marchitez permanente e incrementó la razón de recuperación de la planta al estrés hídrico y el crecimiento de la planta (por ejemplo, número de hojas, diámetro del tallo y peso seco. También incrementó la absorción de la mayoría de los minerales, especialmente Zn y Cu, y debilitó las interacciones P-Cu y P-Zn. La fertilización con P tuvo algunos efectos positivos sobre el nivel de agua, nutrición del P y crecimiento, pero redujo la concentración de Cu. La inoculación de MVA mejoró el estado del agua e incrementó la tolerancia a la sequedad, en las plantas al reforzar la absorción y translocación del agua por las hifas externas.

En un trabajo diseñado para probar la capacidad de las hifas de *Glomus mosseae* en la absorción de agua y nutrimentos y su traslocación hacia *Agropyron repens*

(Poaceae) o *Trifolium repens* (Leguminosae), sus plantas simbiotes, George *et al.* (1992) encontraron que las hifas transportan considerables cantidades de P y N desde las zonas del suelo situadas a cierta distancia de la raíz, pero no hubo evidencia de un transporte significativo de agua hacia la planta por medio de las hifas.

Vosatka y Gryndler (1999) diseñaron un experimento utilizando como tratamiento cultivos de fracciones de *Pseudomonas putida* como modificadores en el desarrollo de *Glomus fistulosum* y su respuesta a la inoculación en plantas de maíz y papa. Ellos encontraron que las fracciones de bajo peso molecular mostraron efectos estimulatorios sobre el crecimiento del micelio extraradical del hongo MVA *Glomus fistulosum* y sobre su actividad de fosfatasa alcalina. Los efectos fueron constantemente observados en dos experimentos con papa (*Solanum tuberosum*) y maíz (*Zea mays*), cultivados en una mezcla de arena y vermiculita. Las células de *P. putida* estimularon significativamente el crecimiento y la actividad de la fosfatasa alcalina de las hifas extraradicales solamente en las plantas de maíz mientras que la colonización micorrícica en las raíces de papa se incrementó en los tratamientos inoculados fracciones de bajo peso molecular de cultivos de la bacteria. El total del área de las hojas de maíz se incrementó con la inoculación de *Glomus fistulosum* solo o junto con células de *P. putida* en comparación de los tratamientos que no fueron inoculados.

Taxonomía de las Micorrizas VA.

Hasta recientemente, los hongos formadores de endomicorrizas se agrupaban en el orden de los Endogonales que consistía de una sola familia, Endogonaceae (Alexópulos y Mims, 1979), con seis géneros claramente simbioses de plantas terrestres y un género, *Endogone* cuyos miembros eran saprobios o formaban asociaciones ectomicorrícicas. No obstante las limitaciones de esta clasificación las relaciones taxonómicas dentro y entre los niveles de jerarquías genealógicas eran demasiado nebulosas.

Pirozinsky y Dalpé (1989), separaron los géneros *Glomus* y *Sclerocystis* en una familia nueva que denominaron Glomaceae basados en la evidencia paleontológica de esporas fosilizadas a través de casi 400 millones de años y muy similares a esporas de *Glomus* y *Sclerocystis* actuales. El móvil para esta separación es muy válido, pero no se contemplaron tres aspectos taxonómicos importantes: a) el grado de diversidad morfológica dentro de taxa actuales, b) las relaciones filogenéticas entre taxa fosilizados y actuales y c) las afinidades filogenéticas entre Glomaceae y otros taxa de hongos micorrícicos arbusculares (Morton y Benny, 1990).

La sistemática de estos organismos se reestructuró considerando los caracteres de mayor importancia fisiológica en su ciclo de vida y tomando en cuenta también caracteres que se pudieran interpretar evolutivamente, lo que significa agrupar los taxa actuales que estén relacionados por su descendencia a partir de un ancestro

común, para organizar una clasificación natural. Morton y Benny (1990) propusieron colocar a los hongos endomicorrícicos según la clasificación que se muestra en el Cuadro 2.2:

Cuadro 2.2 Clasificación actual de los hongos endomicorrícicos (MVA).

Clase	Orden	Suborden	Familia	Género
	Endogonales		Endogonaceae	<i>Endogone</i>
Zygomycetes	Glomales	Glomineae	Glomaceae	<i>Glomus</i> <i>Sclerocystis</i>
			Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i> <i>Entrophospora</i>
		Gigasporaneae	Gigasporaceae	<i>Gigaspora</i> <i>Scutellospora</i>

La clasificación de estos géneros y de las especies existente se lleva a cabo en los extractos de suelo provenientes de la rizosfera de las plantas y se basa en características morfológicas únicas para las esporas de los hongos (Figura 2.4).

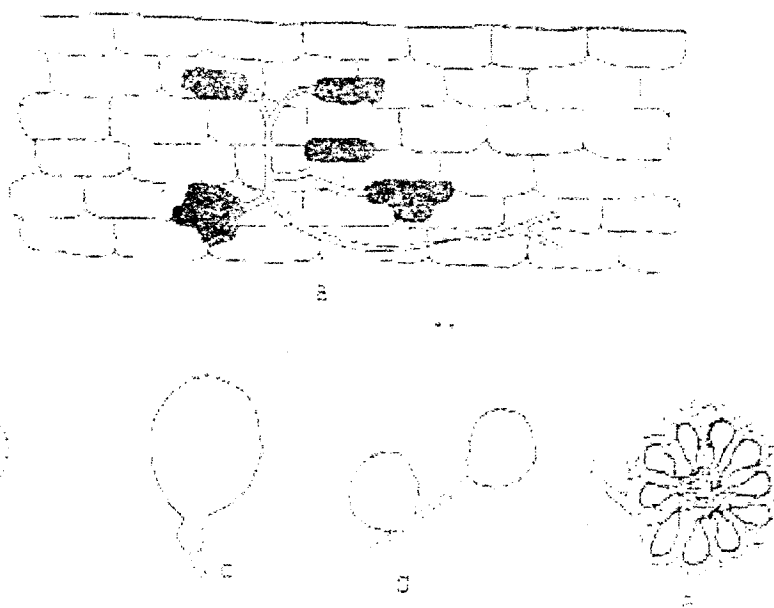


Figura 2.4.a) Una endomicorriza. b) *Glomus*, c) *Gigaspora*, d) *Acaulospora*, e) Esporocarpio de *Sclerocystis*

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en los ciclos primavera - verano y otoño - invierno de 1998, en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Suelos y en el laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el material recolectado en una serie de muestreos del sistema radical y de suelo en diferentes sitios, quedando la metodología utilizada dividida en los puntos que a continuación se detallan.

Muestreo.

Se realizaron muestreos del sistema radical y suelo en plantas de manzano y papa en Los Llanos, El Bayonero, San Antonio de las Alazanas, Los Lirios y Jamé y de nogal en el área denominada como "bajío" de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Derramadero y General Cepeda, todos ellos en Coahuila. Los muestreos se realizaron en huertos escogidos al azar de agricultores de las zonas mencionadas. Se realizaron tres muestreos no probabilísticos en cada lugar, es decir las muestras tomadas fueron dirigidas, a plantas seleccionadas, tomando diez plantas por sitio, las cuales, presentaban mejor aspecto visual, considerando: follaje (frondosidad), altura, color de hojas, etc., ver diagrama de flujo.

Muestreo de Suelo.

Las muestras fueron tomadas del suelo localizado en la rizosfera de las plantas (alrededor de la raíz) que fueron seleccionadas por su vigor. La muestra recolectada está integrada por la zona correspondiente a 5-10 cm de profundidad desde el nivel del suelo, aunque en las especies vegetales con raíces más profundas, manzano y nogal por ejemplo, pueden ser hasta 20 cm de profundidad, dependiendo además del estado de desarrollo de la planta y las características del suelo. Para la toma de la muestra fue necesario limpiar o eliminar de la superficie los residuos orgánicos antes de la extracción. Posteriormente se cavó un hoyo con una pala recta en la porción de suelo ubicada bajo la zona de goteo y se tomó el suelo que estaba justo en torno a las "raicillas" de la planta. Las muestras se colocaron en doble bolsa, primero en bolsas de papel y luego en bolsas de polietileno y se mantuvieron en hieleras hasta su procesamiento en el laboratorio. Vea la Figura 3.1.

Muestreo del Sistema Radical.

Se muestrearon diez plantas por sitio en el área de crecimiento radical de cada uno de los cultivos en cuestión, la toma de esta muestra se realizó de manera conjunta con la de suelo, las raíces fueron extraídas con precaución, para evitar que se perdieran las raicillas por daño mecánico.

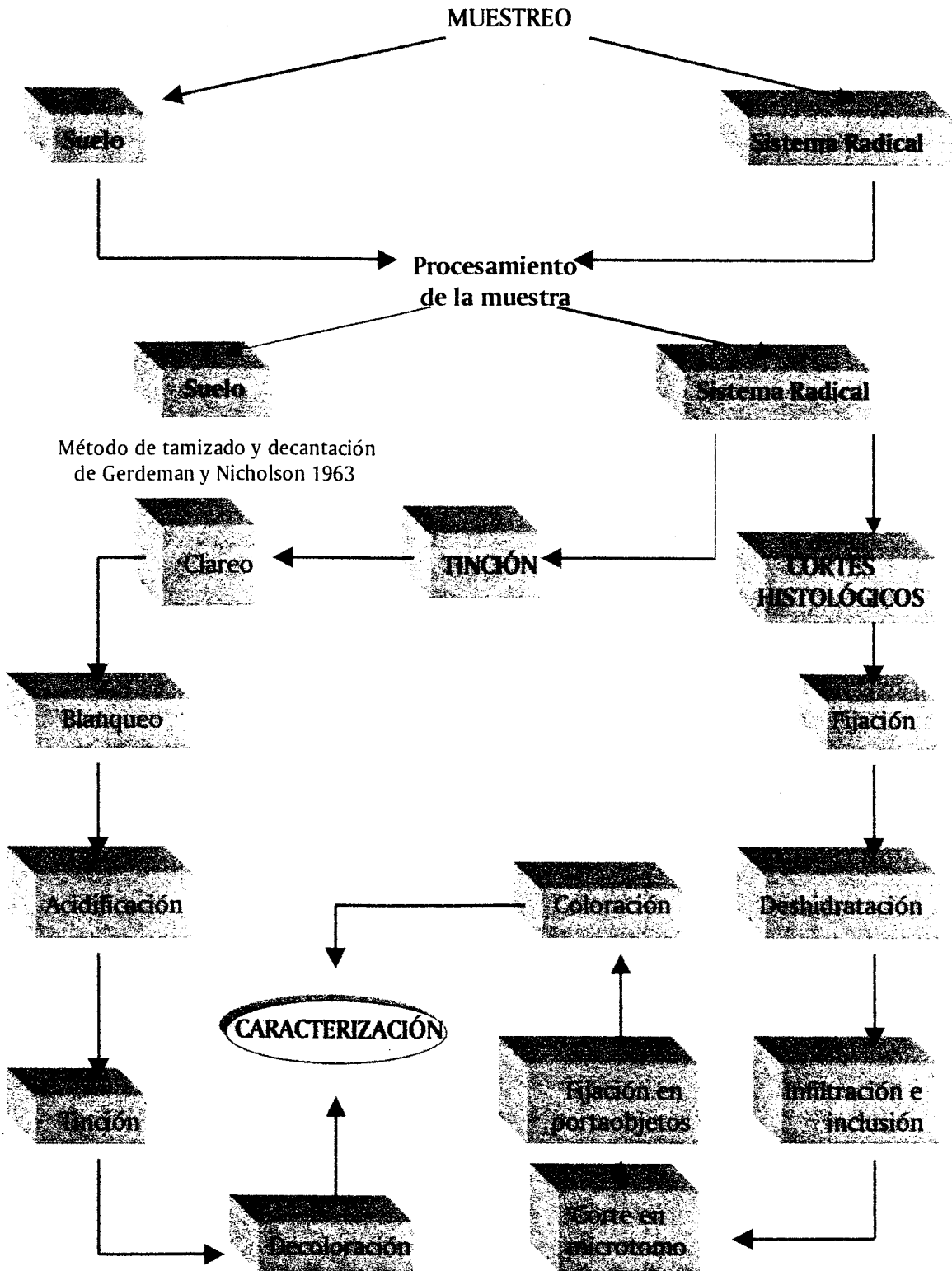


Figura 3.1. Diagrama de flujo de la metodología utilizada.

De igual manera fueron colocadas en bolsas de papel y polietileno y trasladadas en una hielera al laboratorio.

Procesamiento de la Muestra.

Una vez en el laboratorio las muestras se dividieron para su estudio en dos partes: las muestras de suelo y las del sistema radical.

Suelo.

Las muestras de suelo fueron utilizadas para obtener suspensiones de esporas, para lo cual se utilizó el método de tamizado y decantación de Gerdemann y Nicolson (1963), que consiste en la utilización de una serie de tres tamices de calibres 77μ , 63μ y 44μ , colocados uno encima del otro de menor a mayor número de mallas, respectivamente. Se hizo una suspensión de esporas con 100g de suelo y 1000 ml de agua, aproximadamente, se agitó durante cinco min y se dejó reposar durante tres min con la finalidad de eliminar las partículas más grandes por sedimentación. Enseguida se hizo pasar la muestra a través de los tamices, ordenados en orden decreciente, y se lavó con agua corriente hasta que el agua que pasaba a través de cada tamiz era clara. La suspensión de esporas se obtuvo de los residuos contenido en el último tamiz. Dicho residuos fueron transferidos a tubos de centrifuga de 40 ml con 20 ml de agua. Una vez en los tubos se les adicionó 10 ml de una solución de sacarosa al 70 por ciento (70 g de sacarosa disueltos en 100 ml de agua), los cuales

fueron inyectados en el fondo del tubo, con la ayuda de una jeringa de 10 ml, en la que la aguja fue remplazada por un tubo de plástico de 5-10 cm de longitud y un diámetro de 0.5 cm, para establecer un gradiente de concentración en los tubos de la centrífuga. Enseguida la muestra fue centrifugada a 1,500 – 2000 r.p.m. durante 1.5 – 2 min. Durante este proceso las partículas de suelo se acomodan en el fondo del tubo, mientras que las esporas permanecen sobre la superficie del gradiente. Las esporas fueron extraídas con la ayuda de una pipeta Pasteur y colocadas en un vial con agua destilada. Posteriormente fueron separadas y depositadas en viales según su morfología y color, para proceder a su caracterización con la ayuda de claves sinópticas y pictóricas.

Sistema Radical.

Las muestras del sistema radical se dividieron a su vez en dos partes. Una parte fue sometida a tinción y otra se utilizó para hacer cortes histológicos.

Tinción.

En el proceso de tinción se utilizó la técnica de Phillips y Hayman (1970), con ligeras modificaciones, la cual consta de los siguientes pasos: a) clareo, b) blanqueo, c) acidificación, d) tinción y e) decoloración.

Para cada uno de estos procesos se prepararon soluciones al 10 por ciento de cada uno de los siguientes reactivos: KOH (clareo), H_2O_2 para el proceso de blanqueo y HCl para la acidificación. Para la tinción se utilizó colorante azul de tripano al 0.05 por ciento en lactoglicerol y la decoloración se realizó en lactoglicerol, el cual se preparó en una mezcla de ácido láctico, glicerina y agua destilada en una solución 1:1.

a) Clareo.

Las raíces se lavaron en agua corriente y una vez libres de suelo se colocaron en vasos de precipitado de 50 ml a los que se les agregó suficiente KOH al 10 por ciento para cubrir las raíces y se calentaron por 10 min a 115 °C y 10 libras de presión en autoclave. Enseguida se eliminó el KOH y se enjuagaron las raíces con agua destilada.

b) Blanqueo.

Se agregó H_2O_2 en suficiente cantidad para cubrir las raíces y se dejó actuar durante tres minutos. Pasado este tiempo se enjuagaron con agua destilada, constituyendo esto el proceso de blanqueo.

c) Acidificación.

Para la acidificación, las raíces se cubrieron con HCl durante tres minutos, después el ácido se eliminó y se procedió a la tinción con las raíces sin enjuagar.

d) Tinción.

Para esto las raíces se cubrieron con azul de tripano al 0.05 por ciento y se calentaron por 10 minutos a 115 °C y 10 libras de presión en autoclave.

e) Decoloración.

Posteriormente el colorante se eliminó y las raíces se decoloraron con lactoglicerol limpio (decoloración) y se colocaron en cajas de petri.

A esta técnica se le hicieron algunas modificaciones dependiendo del tipo de raíz que se estuviera manejando; así, para las raíces de los frutales como el nogal y manzano, en los cuales las raíces son más gruesas y más pigmentadas se aumentó la concentración del KOH de 10 al 15 por ciento y el tiempo de clareo bajo presión de 10 a 15 minutos, mientras que el de tinción se disminuyó a ocho minutos. En el caso de las raíces de papa se utilizaron las soluciones originales, pero el tiempo de tinción también se redujo a ocho minutos.

Una vez terminada la tinción, las raíces clareadas y teñidas fueron fijadas en portaobjetos para realizar la observación de las estructuras al microscopio. Para esto se tomaron fragmentos de raíces de aproximadamente un cm, con la ayuda de una aguja de disección, se colocaron sobre el portaobjetos con una gota de lactoglicerol y

se taparon con un cubreobjetos. Las observaciones se realizaron a 10X y 40X. De cada laminilla se eliminaron las burbujas de aire y se sellaron con esmalte.

Cortes Histológicos.

La otra parte del material radical se incluyó en parafina con la finalidad de preparar cortes histológicos en microtomo y obtener fotografías de las raíces micorrizadas en cortes longitudinales. Esta técnica de inclusión está compuesta de los siguientes pasos: a) fijación, b) deshidratación, c) infiltración e inclusión en parafina, d) corte en microtomo, e) fijación de los cortes en portaobjetos y f) coloración.

a) Fijación.

El propósito de la fijación, es “matar y conservar” a los tejidos con un mínimo de alteraciones. Para esto, se utilizó el fijador FAA cuya fórmula es 10 por ciento de formaldehído, 35 por ciento de agua, 5 por ciento de ácido acético y 50 por ciento de alcohol etílico. El tiempo en el que permanecieron las raíces en esta solución fijadora fue de 24 h a temperatura ambiente.

b) Deshidratación.

En el caso de la deshidratación, la finalidad es quitar el agua de los tejidos fijados y endurecidos. Este procedimiento consistió en pasar las raíces por diferentes

agentes deshidratantes, de mayor a menor concentración. Esto se realizó en intervalos de una hora, con una serie de soluciones de alcohol etílico al 50, 60, 70, 85 y 96 por ciento más eosina; continuando con alcohol etílico absoluto I, alcohol etílico absoluto II, alcohol etílico absoluto más xilol a razón de 3:1, alcohol etílico absoluto más xilol en una solución 1:1, y alcohol etílico absoluto más xilol en proporción 1:3. Finalmente se pasaron las raíces en xilol puro, para dejarlas listas para la infiltración.

c) Infiltración e inclusión.

Para el proceso de la infiltración e inclusión en la parafina, primero se colocaron las raíces en frascos (un frasco por cada muestra que se iba a incluir) que contenían hasta la mitad de su capacidad de xilol, a los cuales se les fueron agregando periódicamente pequeñas cantidades de parafina en escamas. Posteriormente se taparon y se colocaron en la estufa a 30 °C y se les fue agregando parafina conforme se iba disolviendo; los frascos se dejaron a esa misma temperatura durante 24 h. Transcurrido este tiempo se elevó la temperatura de la estufa a 45 °C y se agregó parafina hasta saturar el xilol, luego se elevó nuevamente la temperatura a 55 °C y se esperó a que la parafina se licuara. Una vez disuelta se decantó la mezcla xilol y parafina de los frascos que contenían las raíces, para agregar únicamente parafina pura.

Para realizar la inclusión del tejido se utilizaron moldes de papel aluminio de 5 X 12 X 2.5 cm. Para hacer los bloques de parafina con la inclusión de la raíz, se vació

la muestra con parafina en el molde hasta quedar casi lleno, luego con la aguja de disección caliente se orientó el material de tal forma que quedara acomodado para poder hacer los cortes de forma longitudinal, no olvidando dejar el margen inferior más grueso que el superior. Para evitar que la parafina solidificara se realizaron todas estas maniobras con el calor de un mechero guiado por un popote metálico. Cada molde fue etiquetado en el extremo superior izquierdo. Después se dejaron solidificar para posteriormente poder retirar los moldes de papel aluminio.

d) Corte en microtomo.

Se removió cuidadosamente el bloque de parafina, con el material, del molde de papel aluminio. Con la ayuda de una navaja se realizaron cortes del bloque con las raíces, de tal forma que se retirara todo el exceso de parafina, posteriormente se montó el pedazo, ya resacado, sobre la platina del microtomo. Para montarlo se calentó la platina y la base del corte de parafina para poder unir ambos lados, después se dejó enfriar. Luego se colocó la platina en el microtomo de tal manera que la cuchilla quedara paralela al corte. Posteriormente se realizaron los cortes a 15μ .

e) Fijación de los cortes en portaobjetos.

Los portaobjetos se pusieron a desengrasar en alcohol etílico durante 10 min; posteriormente se secaron y se untaron uniformemente con adhesivo de Hampt (un g de gelatina, 15 ml de glicerina y dos g de metabisulfito de sodio por cada 100 ml de

agua destilada); sobre éste se aplicó una gota de formalina y se le colocaron de tres a cuatro cortes. Posteriormente se retiró el exceso de adhesivo del portaobjetos con un lienzo y se pasó suavemente por la flama del mechero con la finalidad de que el tejido se extendiera y se fijara totalmente. Esto se hizo cuidadosamente considerando que el calor no derritiera la parafina. La preparación fue pasada varias veces por la flama hasta lograr que el exceso de formalina se removiera y el tejido quedara bien extendido. Después con una aguja de disección se cercioró de que los cortes ya no se movieran.

f) Coloración.

Para la coloración se preparó una serie de alcoholes y xiloles en frascos de Coplin con capacidad para ocho preparaciones cada uno. Las preparaciones fueron colocadas de tal forma que el tejido quedara orientado del lado derecho, con el objeto de identificar la preparación y no maltratarla o deshacerla. Con la ayuda de unas pinzas de disección se fueron pasando las laminillas de una en una por los reactivos empezando con una serie de tres xiloles (desparafinador), Xilol I, Xilol II y Xilol III, por un periodo de 10 min respectivamente. Acto seguido se pasaron por una serie de alcoholes, empezando con alcohol etílico absoluto I y alcohol etílico absoluto II, después alcohol etílico al 96, 85, 70, 60 y 50 por ciento respectivamente, por un lapso de 3 – 5 min cada uno. El siguiente paso fue enjuagar las preparaciones haciéndolas pasar por agua destilada. Posteriormente pasaron al primer colorante que fue safranina, en solución acuosa al 1 por ciento, durante 30 min Una vez cumplido este

tiempo las preparaciones se pasaron nuevamente por agua, para enjuagarlas, usando para ello agua corriente, primero y agua destilada después, luego volvieron a pasar por otra serie de alcoholes pero, ahora de manera inversa, es decir empezando en alcohol de 50, 60, 70, 85 y 96 por ciento por tiempos de 3 –5 min cada uno, para seguir con el segundo colorante, que fue verde rápido preparado en etanol al 0.5 por ciento, por espacio de 5 seg. A continuación se enjuagaron las preparaciones en alcohol etílico al 96 por ciento, pasando después por alcohol absoluto I, alcohol absoluto II de 3 – 5 min y enseguida por una solución saturada de carbol xilol también durante 5 min, el cual se utilizó como diferenciador, para finalmente pasar por otra serie de xiloles, Xilol I, Xilol II y Xilol III. Por último se sacó la preparación del xilol se escurrió e inmediatamente después se colocó una gota de bálsamo de Canadá sobre los tejidos ya coloreados y se cubrió con un cubreobjetos. El exceso del bálsamo se retiró con una toalla de papel, se dejaron secar a temperatura ambiente y para su observación al microscopio a 10X, 40X y 100X y se tomaron microfotografías.

Caracterización de las micorrizas (MVA).

La caracterización se hizo de acuerdo a la morfología de las esporas, claves de la taxonomía de Gerdeman y Trappe (1993) así como una serie de fotografías y descripciones de Glomales, la cual consta de una recopilación de varios autores localizados en la página de Internet: <http://www.mycorrhizainformationexchange.html>.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos fueron organizados como se presentan a continuación:

PAPA

Número de muestreos por sitio: 3

Número de muestras por sitio: 10

Sitio 1: El Bayonero

Sitio 2: Los Llanos

Sitio 3: San Antonio de las Alazanas

No. de muestreo	Sitio 1 Plantas Micorrizadas	Sitio 2 Plantas Micorrizadas	Sitio 3 Plantas Micorrizadas
1	9	8	9
2	9	9	9
3	8	9	10

MANZANO

Número de muestreos por sitio: 3

Número de muestras por sitio: 10

Sitio 1: San Antonio de las Alazanas

Sitio 2: Los Lirios

Sitio 3: Jamé

No. de Muestreo	Sitio 1 Plantas Micorrizadas	Sitio 2 Plantas Micorrizadas	Sitio 3 Plantas Micorrizadas
1	10	9	9
2	10	10	9
3	9	9	9

NOGAL

Número de muestreos por sitio: 3

Número de muestras por sitio: 10

Sitio 1: UAAAN

Sitio 2: Derramadero

Sitio 3: Gral. Cepeda

No. de Muestreo	Sitio 1 Plantas Micorrizadas	Sitio 2 Plantas Micorrizadas	Sitio 3 Plantas Micorrizadas
1	8	9	9
2	9	10	10
3	9	9	9

De acuerdo con los datos arriba citados se encontró que el 88.8 por ciento de las plantas de papa que se muestrearon están micorrizadas; el 93.3 por ciento de las de manzano y el 91.1 por ciento de las de nogal. Cabe mencionar que el porcentaje de plantas con micorrización es muy cercano al que cita Siqueira (1988) el cual reporta aproximadamente el 97 por ciento de las plantas presentan micorrizas de tipo VA, y las micorrizas encontradas en todos los cultivos fueron del tipo vesículo-arbuscular.

De las micorrizas encontradas se tomaron microfotografías algunas de las cuales se presentan a continuación:



Figura 4.1. Microfotografía a 40X de una micorriza vesículo arbuscular en manzano, en una tinción simple con azul de tripano, en la que se aprecia una vesícula.

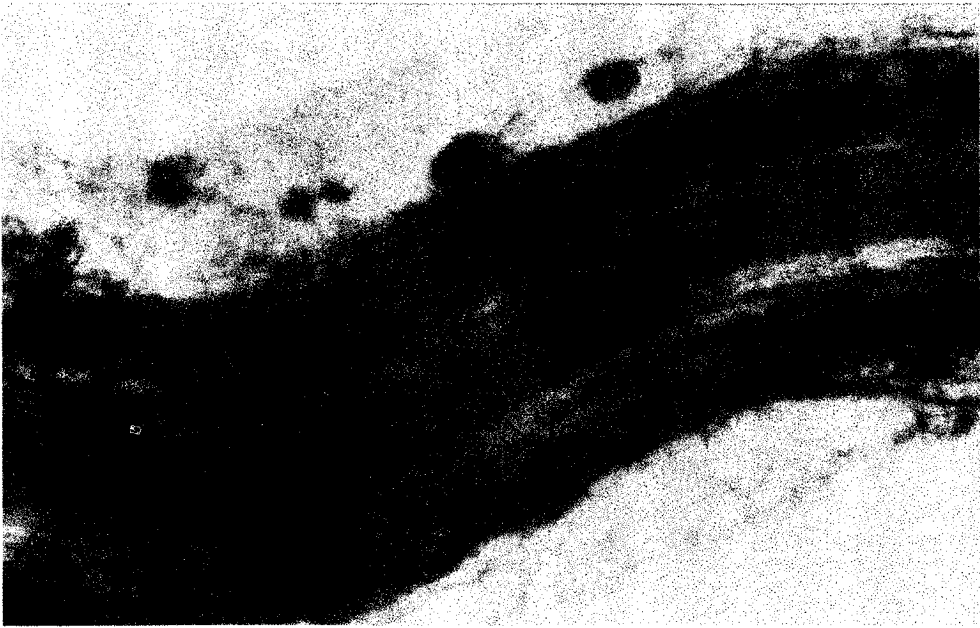


Figura 4.2. Microfotografía tomada a 10X de una micorriza VA en manzano en una tinción simple con azul de tripano, en la que se aprecian las hifas y vesículas del hongo.

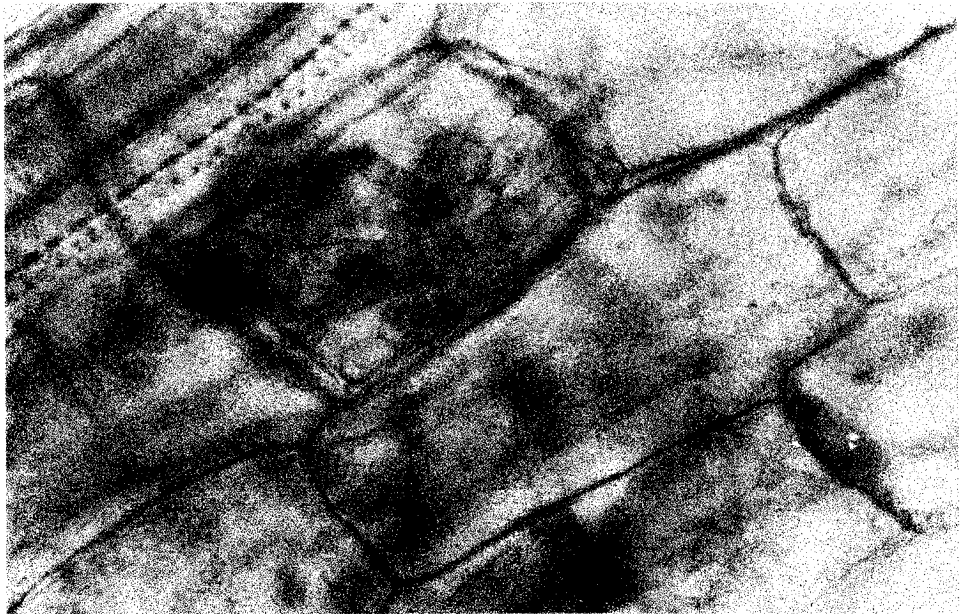


Figura 4.3. Microfotografía tomada a 40X de un a raíz de papa micorrizada, teñida con azul de tripano, en la que se puede apreciar el micelio dentro de la célula.



Figura 4.4. Microfotografía tomada a 100X del micelio de una endomicorriza de papa dentro de una célula, teñida con azul de tripano.



Figura 4.5. Microfotografía tomada a 40X de una raíz de nogal micorrizada, teñida en una tinción simple, con azul de tripano, en la que se observan las hifas del hongo dentro de la raíz.



Figura 4.6. Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15μ , de una raíz de manzano micorrizada.



Figura 4.7. Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15μ de una micorriza vesículo-arbuscular en manzano en la que se observan puntos de entrada del hongo y arbusculos.

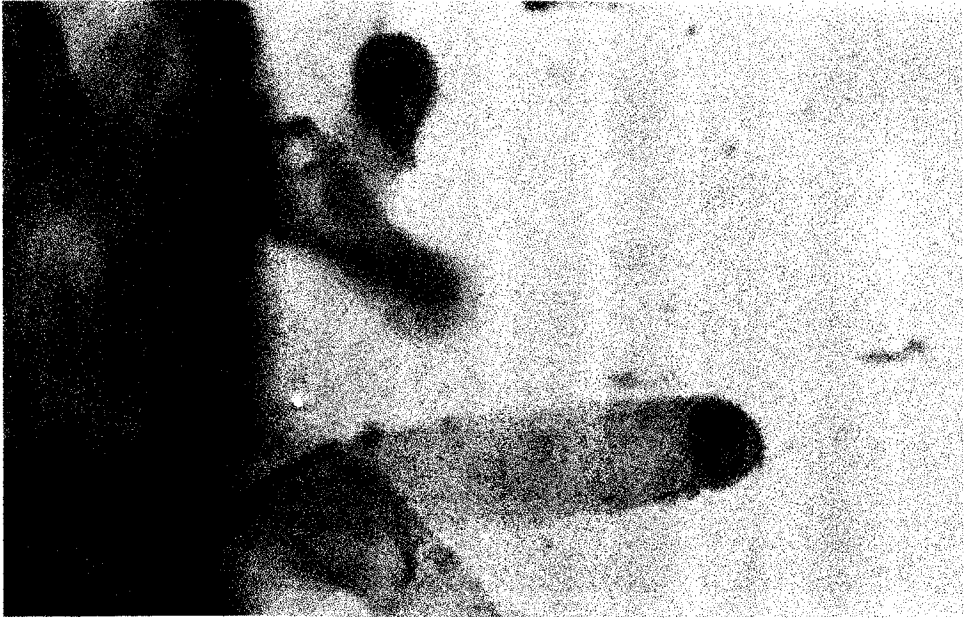


Figura 4.8. Microfotografía tomada a 100X de un corte en microtomo a 15μ de una raíz micorrizada de manzano en la que se aprecian puntos de entrada de las hifas infectivas y esporas del hongo.



Figura 4.9. Microfotografía tomada a 40X de un corte en microtomo a 15μ de una micorriza vesículo-arbuscular en papa. Se observan hifas y algunas vesículas.

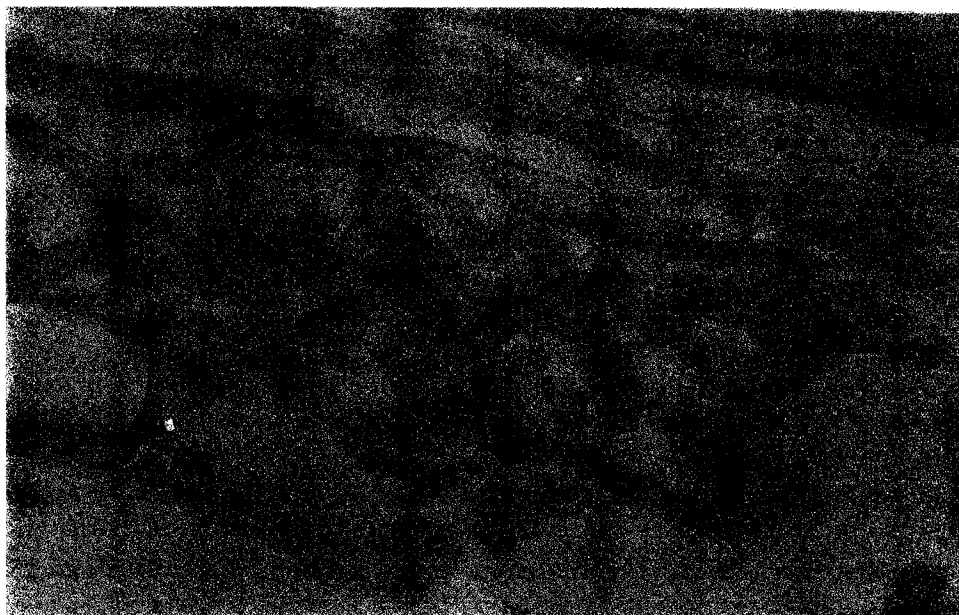


Figura 4.10. Microfotografía tomada de un corte en microtomo a 15μ de una raíz de papa micorrizada con un hongo MVA. Se aprecian las hifas dentro de las células.

Sanders *et al* (1975) menciona que algunas de las características de las MVA es que penetran en la planta formando grandes vesículas hinchadas y arbusculos intrincados ramificados dentro de las células individuales, como se puede apreciar claramente en las Figuras 4.1 y 4.2 en las cuales se observan las vesículas, mientras que la Figura 4.7 nos presenta los arbusculos dentro de las células, además de los puntos de entrada del hongo.

La Figura 4.3 proporciona un panorama de las células de las raíz de papa en las que se observa perfectamente como se aloja el hongo dentro de las mismas. La Figura 4.4 es una toma con mayor aumento (100X) de la misma preparación.

A partir de las observaciones microscópicas, de las laminillas y de las esporas se hizo la caracterización de los hongos micorrícicos con base a las claves taxonómicas (Gerdeman y Trappe, 1993) y claves taxonómicas pictóricas (página del Internet, vea materiales y métodos) encontrándose esporas y esporocarpos de dos géneros de micorrizas, *Sclerocystis* y *Glomus*.

En la Figura 4.11 se aprecian dos esporas encontradas en las preparaciones de los cultivos de manzano y nogal y que fueron utilizadas para la caracterización. Estas esporas corresponden al género *Glomus*, y fueron tomadas a 40X en un microscopio compuesto.

Por otro lado, la Figura 4.12 corresponde a un esporocarpo del género *Sclerocystis* encontrado en las tinciones de las raíces de papa y en la que se observan las esporas acomodadas de forma radial y el peridio del esporocarpo.

La caracterización de los hongos micorrícicos se hizo de cada cultivo por separado, detectando la presencia de *Glomus* y *Sclerocystis* en manzano (*Pyrus malus*), de *Glomus* en nogal (*Carya illinoensi*) y de *Sclerocystis* en papa (*Solanum tuberosum*).

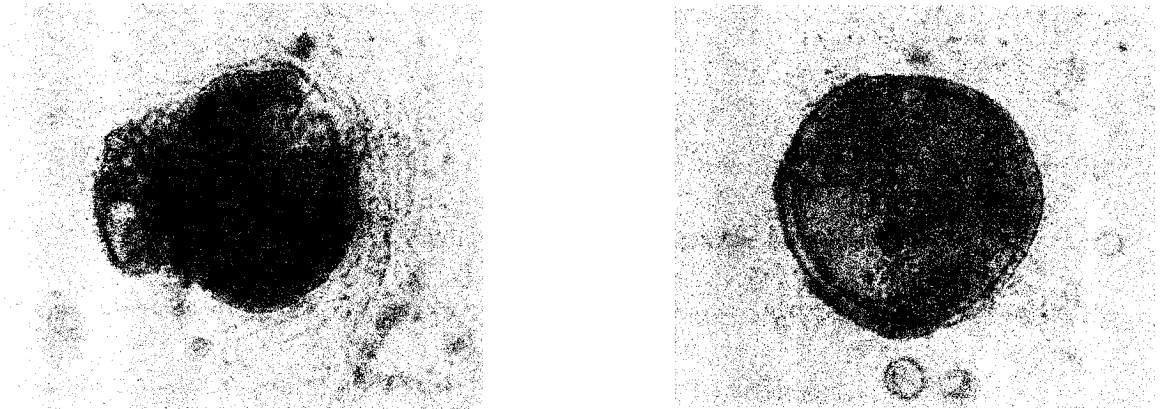


Figura 4.11. Microfotografías tomadas a 40X de esporas de *Glomus sp*

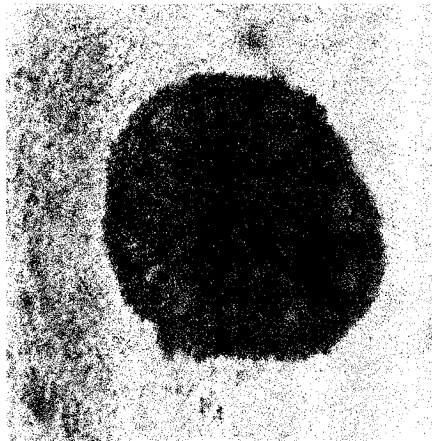


Figura 4.12 Microfotografía tomada a 40X de un esporocarpo de *Sclerocystis*

Cabe señalar que no obstante el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) presentó el número más bajo de plantas micorrizadas, el porcentaje sigue siendo alto tomando en cuenta que el cultivo es de ciclo anual, en comparación de los frutales que su raíz permanece en el suelo durante períodos más largos. Este patrón de crecimiento así

como el gran uso de agroquímicos aplicados al cultivo probablemente puedan explicar el posible número más bajo de plantas micorrizadas en papa con respecto del nogal.

El cultivo del manzano fue el que presentó mayor número de plantas micorrizadas, probablemente debido a que en este cultivo se encontró la presencia de los dos géneros fúngicos. Esto contrasta con el por ciento de plantas micorrizadas en papa y nogal en los cuales sólo se detectó un género en cada uno.

CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo y como conclusiones se menciona:

- ◆ Existen microorganismos asociados a las raíces de las plantas, conocidos como micorrizas, en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum*), nogal (*Carya illinoense*) y manzano (*Pyrus malus*) en el área de influencia citada en el trabajo.
- ◆ Las micorrizas encontradas corresponden a los géneros de *Glomus* y *Sclerocystis*, encontrándose ambos en manzano, *Glomus* en nogal y *Sclerocystis* en papa.
- ◆ El presente trabajo es sólo el inicio para seguir con una línea de investigación al respecto. Con los datos obtenidos se pueden seguir trabajos con el aislamiento y propagación del inóculo inicial y una serie de tratamientos, buscando los efectos sobre la reducción de la fertilización fosfórica, ya que se cita que el fósforo es el elemento que mejor es tomado por las plantas micorrizadas.

Recomendaciones

Una recomendación importante, para un trabajo posterior es que se cuantifique el porcentaje de micorrización en las raíces de cada cultivo, para obtener datos más precisos.

Se recomienda además, aislar cada género de micorriza encontrado y realizar ensayos inoculándolos en plantas para determinar cuál tipo de micorriza es el que proporciona más beneficios al cultivo.

LITERATURA CITADA

Allen, M.F. y M.G. Boosalis. 1983. Effects of two Species of VA Micorrhizal Fungi on Drought Tolerance of Winter Wheat. *New Phytol* 93: 67-76.

Alexopoulos, C.J. y C.W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*, John Wiley and Sons. New York USA.

Azcón-Aguilar, C. y J.M. Barea, 1983. *Monografías*, Academia de Ciencias de Granada.

Barea, J.M. 1991. Vesicular Arbuscular Mycorrhizae as Modifiers of Soil Fertility . En *Advances in Soil Science*. Stewart, B. A. Ed. 5: 1-40.

Barea, J.M. y C. Azcón-Aguilar, 1983. Mycorrhizas and Significance in Nodulating Nitrogen Fixing Plants. *Adv. Agron* 36 pp 1-54.

Bethlenfalvay, G.J., M.G., Reyes-Solís, S.B. Camel y Ferrara-Cerrato, R. 1991. Nutrient Transfer Between the Root Zones of Soybean and Maize Plants Connected by a Common Mycorrhizal Mycellium. *Physiol Plant* 82 pp 423-432.

Bonfante-Fasolo, P. y S. Perotto. 1994. Plants and Endomycorrhizal Fungi: The Cellular and Molecular Basis of their Interaction pp 445-470. En Verma, D.P.S. (Ed). *Molecular Signals in Plant Microbe Communications*. Boca Raton London 521p.

Bowen, G.D. 1981. En *FAO/IAEA Consult Meeting in Use Isotopes and Study Nutrient Availability Food Crops Endomycorrhizal*. Viena pp 18.

Castellano, M.A. y R. Molina. 1989. Micorrhizae. En: *The Container Tree Nursery Manual, Volume 5*. Landis, T., R.W. Tinus; S.E. McDonald y J.P. Barnett (Ed). *USDA For Serv. Agric. Handbook 674*. Washington D.C. pp 101-167.

19921
*página

*Castillo, T.J. 1987. *Micología Mexicana General*, Ed. Limusa México.

Daft, M.J. y A.A. El-Giahmi. 1976. Studies on Nodulated and Mycorrhizal Peanuts. *Annals of Applied Biology* 83, 273-276.

Ferrera-Cerrato, R., M.C González y M.N. Rodríguez. 1993. *Manual de Agromicrobiología*, Trillas, México, D.F. 142 p.

- Frank, A.B. 1885. Über Die Auf Urselsymbiose Berunde Ernährung Gewisser Bäumedruch Unterirdische Pilze Ver dt Bot. Gas. 3 pp 128-145.
- George, E., K-U. Hausler, D. Vetterlein, E. Gorgus y H. Marschener. 1992. Water and Nutrient Translocation by Hyphae of *Glomus mosseae*. Can. J. Bot 70: 2130-2137.
- Gerdeman, J.W. 1975. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in the Development and Function of Root. J.G. Torrey and D. T. Clarkson. (Ed) Academic. Press. New York pp 575-591.
- Gerdeman, J.W. y T.N. Nicolson. 1963. Spores of Mycorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46 pp 235-244.
- Gerdeman, J.W. y J.M. Trppe. 1993. Taxonomy of Endogonaceae. Mycologia, 8, 75p.
- Gianinazzi-Person, V. 1989. Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizae as Determinants for Plant Growth and Survival. En Interrelationships Vancura V. and F. Kunck Eds. Elsevier pp69-73.
- Hall, I.R. 1976. Response of *Coprosma robusta* of Endomycorrhizal Inoculum. Trans. Br. Mycol. Soc. 67 pp 409-411.
- Harley, J.W. 1969. The Biology of Mycorrhiza. 2nd Ed. Leonard Hill London 334 p.
- Harley, J.W. y S.E Smith. 1983. Mycorrhizal Simbiosis. Academic. Press. Inc. London. 483 p.
- Hatting, M.J., L.E. Gray y J.W. Gerdeman. 1973. Uptake and Translocation of ³²P-Labelled Phosphato to Onion Roots by Endomycorrhizal Fungi. Soil. Sci 116 pp 7-383.
- Hayman, D.S. 1983. The Physiology of Vesicular-Arbuscular Endomycorrhizal Symbiosis. Can. J. Bot. 61 pp 944-963.
- Koske, R.E. 1981. Multiple Germination of *Gigaspora gigantea*. Trans Br. Mycol. Soc.. 76 pp 328.
- Lewis, D. H. 1973. Concepts in Fungal Nutrition and the Origen of Biotrophy. Biol. Rev. 48 pp 261-278.
- Marks, G.C. y T.T. Kozlowski, 1973. Ectimycorrhizae: Their Ecology and Phisiology. Academic. Press. London 444 p.

- Marx, D.H. 1991. Forest Application of the Ectomycorrhizal Fungus *Pisolithus tinctorius*. The Marcus Wallenberg Priza, Stockholm 34 p.
- Morton, J.B. y G.L. Benny. 1990. Revised Clasification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Zygomycetes): A New Order, Glomales, two New Suborders, Glomineae and Gigasporineae and two New Families, Acaulosporaceae y Gigasporaceae with Amendation of Glomaceae. Mycotaxon 37:471-190.
- Mosse, B. 1963. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza and Extreme Form of Fungal Adaptation in Symbiotic Associations. Ed P.S. Nutman and B Mosse, Cambridge University pp 146-170.
- Mosse, B. 1981. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae Research for Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawaii, Honolulu pp 5-82.
- Mosse, B. y C.M. Hepper. 1975. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Infection in Root Organ Cultures. Physiol Plant. Pathology 5 pp 215-222.
- Mukerji, K.G., R.Jagpal, M. Bali y R. Rani. 1988. The Importance of Micorrhizae for Roots and Plant Roots and Their Environment. Proceeding of an ISRR, Iupsala Symposium. Agust 21st-26th sweden. Michael and H. Pearson Amsterdan Elsevier 249 p.
- Nelsen, C.E G.R. Safir. 1982 Increased Drought Tolerance of Mycorrhizal Onions Plants Caused by Improved Phosphorous Nutrition. Planta 154: 407-413.
- Nicolson, T.H. 1975. Evolution of VAM in Endomycorrhizae. F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker. Academic. Press. London 444 p.
- Paul, E.A. y F.A. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic. Press. Inc. New York, USA 273 p.
- Peyronel, B., B. Fassi, A. Fontana y J.M. Trappe. 1969. Terminology of Mycorrhizae. Mycology 61 pp 410-411.
- Phillips, J., y D. Hayman. 1970. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesiculo-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Assesment of Infection. Trans. Brit. Mycol. Suc. 55 pp 158-162.
- Pirozynsky, K.A. y Y. Dalpe. 1989. Geological History of the Glomaceae with Particular Reference to Mycorrhizal Simbiosis. Symbiosis 7: 1-36.
- Powell, C. Ll. 1976. Mycorrhizal Fungi Stimulate Clover Growth in New Zeland Hill Country Soils. Nature 264 pp 436-438.

- Read, D.J., H.K. Koucheki, y J. Hodgson, 1976. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza in Natural Vegetation Systems in the Occurrence of Infection. *The New Phytologist*, 77 pp 641-653.
- Rhodes, L.H. y J.W. Gerdemann, 1975. Phosphate Uptake Zones of Mycorrhizal and Non-mycorrhizal onions. *New Phytol.* 75: 555-561.
- Rhodes, L.H. y J.W. Gerdemann, 1980. Cellular Interactions in Symbiosis and Parasitism. C.B. Cook, P.W. Pappas and E.D Rudolph Eds. Ohio State University Press Columbus. pp 173-198.
- Runjin, L. 1989. Effects of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae and Phosphorus on Water Status and Growth of Apple. *J Plant Nutrition* 12: 997-1017.
- Sanders, F.E., B., Mosse y P.B. Tinker, 1975. *Endomycorrhizae*. Academic Press. London and New York.
- Shenck, N.C. y Y., Pérez. 1988. Manual for Identification of VA Micorrhizal Fungi. 2nd Edition in VAM. University of Florida Gainesville.
- Siqueira, J.O. 1988. *Biotecnología do Solo: Fundamentos e Perspectivas-MEC*. Ministerio de Educao, ABEAS; Laura ESAL, FAEPE, Brasilia 235 p
- Smith, S.E. 1982. Inflow of Phosphate into Mycorrhizal Plants of *Trifolium subterraneum* at Different Levels of Soil Phosphate. *New. Phytol.* 90: 293-303.
- Stribley, D.P. 1987. Mineral Nutrition G.R. Safir *Ecophysiology of VA Mycorrhiza*. CRC Press. Inc. Boca Raton Fla USA pp 59-67.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology* Cummings Publishing Co. Inc. California 541p.
- Tommerup, J.C. y D.K, Kidby 1979. Preservation of Spores of Vesicular Arbuscular Endophytes. *App. Environ. Microbiol.* 37: 831-835.
- Trappe, J.M. 1987. Phylogenetic and Ecologic Aspects of Mycotrophy in the Angiosperm from Evolutionary Stand Point pp 525. En *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. G.R Safir (Ed) CRC. Press. Inc. Boca Raton Florida, USA.
- Trappe, J.M. y N.C. Schenck. 1982. Taxonomy of the Fungi Forming Endomycorrhizae. En: *Methods and Principles of Micorrhizal Research*. Schenck, N-C. Ed. The Amer. Phytopatol. Soc. St. Paul, Minnesota, USA pp 1-9.
- Vosatka, M, Gryndler, M. 1999. Treatment with culture fractions from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the

response of potato and maize plants to inoculation. *Appl. Soil Ecol.* 11(2-3): 245-251.

Waterer, D.R. y R.R. Colman. 1989. Response of Mycorrhizal Bell Peppers to Inoculation Timing Phosphorus and Water Stress. *Hort. Sci.* 24: 688-690.

Wilcox, H.E. 1990. Mycorrhizal Associations. *Biotechnology of Plant Microbe Interactions*. Nakas, J.P. y Ch. Hagedorn (Ed). McGraw Hill Inc. USA pp227-255