

1992-B

085098748

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



EFFECTO DE ALGUNAS PLANTAS CON POTENCIAL ALELOPATICO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE LA MICORRIZA VESICULO ARBUSCULAR EN SUELO CALCIMAGNESICOS

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
ALEJANDRO AREVALO BARAJAS
GUADALAJARA, JALISCO ABRIL DE 1997



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

1455/95

**C. ALEJANDRO AREVALO BARAJAS
P R E S E N T E . -**

Manifetamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTO DE ALGUNOS ALELOQUIMICOS EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA MOCORRIZA ARBUSCULAR, EN SUELOS CALCIMAGNESICOS Y DERIVADOS DE CENIZAS VOLCANICAS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el Ing. Agr. Javier Alvarez Díaz.

**A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan, Jal., 29 de Noviembre de 1995
EL DIRECTOR


M.C. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ

EL SECRETARIO


OCEAN. SALVADOR VELAZQUEZ MAGAÑA

c.c.p.-Dra. Ana Luisa Anaya Lang.-Director de Tesis.-pte.
c.c.p.-El expediente del alumno.

AEIR/SVM/mahs*

C. U. C. B. A.



DIV. DE CS.
BIOLÓGICAS Y
AMBIENTALES



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSTARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**C. ALEJANDRO AREVALO BARAJAS
P R E S E N T E.**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTOS DE ALGUNAS PLANTAS CON POTENCIAL ALELOPÁTICO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE LA MICORRIZA VESÍCULO-ARBUSCULAR EN SUELO CALCIMAGNÉSICOS" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis al DRA. ANA LUISA ANAYA LANG.

A T E N T A M E N T E
" PIENSA Y TRABAJA "
Las Aguas, Zapopan, Jal., Febrero 10 de 1997


M. EN C. ARTURO OROZCO BAROCIO
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


M. EN C. JOSE LUIS NAVARRETE HEREDIA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

c.c.p. DRA. ANA LUISA ANAYA LANG.- Director de Tesis.
c.c.p. El expediente del alumno.
AOB/JLNH/memn*

AGROPECUARIO

C. Dr. ALFONSO E. ISLAS RODRIGUEZ.
DIRECTOR DE LA DIVISION DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el pasante:

Alejandro Arévalo Barajas
código 85098748 Con el título:

EFFECTO DE ALGUNAS PLANTAS CON POTENCIAL ALELOPATICO SOBRE EL ESTABLECIMIENTO DE LA MICORRIZA VESICULO ARBUSCULAR EN SUELO CALCIMAGNESICOS.

consideramos que ha quedado debidamente concluído, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fecha de exámenes de tesis y profesionales respectivos.

Sin otro particular,agradecemos de antemano la atención que se sirva dar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E,


Las Aguas, Nextipac, Zapopan, Jal. 13 de Noviembre de 1996.

EL DIRECTOR DE TESIS



Dra. ANA LUISA ANAYA LANG.

EL ASESOR



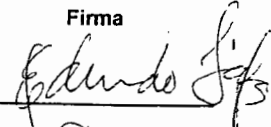
M.C. SERGIO PALACIOS MAYORGA

SINODALES

Fecha

Firma

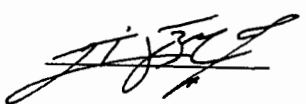
1.-DR. EDUARDO LOPEZ ALCOCER



2.-M.C. ARTURO CURIEL BALLESTEROS



3.-ING. ROBERTO MACIEL FLORES



El presente trabajo fue realizado en la Universidad Nacional Autónoma de México, en el laboratorio de Ecología Química del Departamento de Biología Celular en el Instituto de Fisiología Celular y en el laboratorio de Biología de Suelos del Departamento de Edafología en el Instituto de Geología.

En el Conjunto E de la Facultad de Química se realizaron los experimentos bajo condiciones de invernadero.

AGRADECIMIENTOS

- A Jose Leopoldo Arévalo Canizal, Aurora Barajas Gutierrez, Leopoldo, Jose Robin, Juan Enrique y Luis Oscar por el camino recorrido.
- A la Dra. Ana Luisa Anaya Lang, por la disponibilidad, accesibilidad y paciente dirección del presente trabajo.
- Al M. en C. Sergio Palacios Mayorga, por su entusiasta asesoría y por las facilidades otorgadas en la realización del trabajo.
- A la M. en C. Andrea Torres Barragan, por su valioso apoyo en el análisis estadístico.
- A la Q. A. Blanca E. Hernandez Bautista, por su tolerancia y sugerencias en la realización de los experimentos.
- Al Biól. Sergio Eduardo Alatorre Gomez, porque hizo posible iniciar y finalizar el presente trabajo con su valiosa ayuda siempre incondicional.
- A la M. en C. Marcelina García Aguilar, por facilitar bibliografía indispensable para la discusión del presente trabajo.
- Al Dr. Eduardo Lopez Alcocer, M. en C. Arturo Curiel Ballesteros, y Ing. Roberto Maciel Flores, Por contribuir en la finalización de este escrito.
- A Bertha Arévalo Canizal, Maria de la Luz Arévalo Canizal y Maria Concepción Arévalo Canizal, por hacer posible este trabajo.
- A la UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.
- A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

DEDICATORIAS

A las siguientes personas, por su presencia o recuerdo.

Porque la vida es un instante...

A mi Madre y a mi Padre.

A mis Hermanos.

A mis Tías y Tíos.

A mis Abuelas.

A mis Primas y Primos.

A los omitidos.

A ellos, por su amistad.

La que no se olvida.

Ernesto, Marcos, Aurelio, Carlitos, Mota, Nava, Camacho, Javier, Sandra, Jaime, Zammer, Julio, Tom, Pedro, Blanca, Andrea, Rocío, Carmen, Lupita, Ana Luisa, Laura, Ricardo, Raul, Andres, May, Juan Luis, Octavio, Gabriel, Maria Elena, Nash, Jacobo, Chimbo, Felipe, Angel, Marcos, Fausto, Javier, Marce, y Sergio.

Esther, Marsha, Guadalupe, Alejandra, Diana, Patricia, Magda, Ruth, Fabiola, Zaira, Susana, Yesmy, Cecilia, Rosa Maria, Eva, Carolina, Carlos, Genaro, Lorenzo, Jorge, Apolonio, Francisco, Ramon, Adan, Casildo, Mario, Rogelio, Norma, Gonzalo, Valentín, Sandro, Paty, Esteban, Brenda, Gregorio, Juan y Luis.

CONTENIDO.

	Pág.
RESUMEN	X
INTRODUCCION.	1
1.1. Las micorrizas.	1
1.1.1. Historia.	1
1.1.2. Origen del término micorriza.	1
1.1.3. Concepto actual de las micorrizas.	3
1.1.4. Tipos de micorrizas.	4
1.1.4.1. Ectomicorrizas.	4
1.1.4.2. Endomicorrizas vesículo arbusculares (MVA).	5
1.1.4.3. Ericoide.	5
1.1.4.4. Orquidáceo.	5
1.1.5. Características de la micorriza vesículo arbuscular.	6
1.1.6. Hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular.	3
1.1.7. Fisiología y estructura de la micorriza vesículo arbuscular.	6
1.1.8. Beneficios que aporta la asociación micorrízica.	7
1.1.8.1. Beneficios para la planta.	7
1.1.8.2. Beneficios para los hongos.	9
1.1.9. Desarrollo de la colonización de un hongo micorrízico vesículo arbuscular.	9
1.1.10. El fenómeno de las micorrizas en las familias de las plantas vasculares.	10
1.1.11. Factores abióticos que afectan la distribución y actividad de los hongos MVA.	11
ANTECEDENTES.	13
2.1. Interacciones químicas entre plantas y hongos.	13
2.1.1. Alelopatía.	13
2.1.2. Historia.	13
2.1.3. Definición de alelopatía.	14
2.1.4. Aleloquímicos.	14
2.1.5. Importancia.	15
2.1.6. La participación de los exudados radicales en el desarrollo de la micorriza.	16

	Pág.
2.1.7. Participación de lípidos, aminoácidos y azúcares en el desarrollo de la micorriza.	18
2.2. Selección de las plantas alelopáticas.	19
2.3. Selección del suelo.	22
2.3.1. Características de los suelos calcimagnésicos y la importancia de sus contenidos en fósforo para la formación de micorrizas.	22
 HIPOTESIS.	 25
 OBJETIVOS.	 26
 MATERIALES Y METODOS.	 27
5.1. Bioensayos en el laboratorio.	27
5.1.1. Origen del inoculo micorrízico	27
5.1.2. Bioensayos con esporas y lixiviados.	29
5.1.2.1. Obtención del material vegetal para los lixiviados.	29
5.1.2.2. Elaboración de los lixiviados acuosos de las plantas alelopáticas.	30
5.1.3. Preparación y realización de los bioensayos con esporas.	30
5.2. Selección y análisis del suelo.	31
5.2.1. Selección del suelo para los experimentos en macetas.	31
5.2.2. Pruebas físico-químicas del suelo.	32
5.3. Pruebas para evaluar el potencial de colonización de los propágulos de hongos MVA presentes en el suelo.	33
5.4. Experimento en el invernadero.	35
 RESULTADO Y DISCUSION.	 41
6.1. Experimento <i>in vitro</i> con los lixiviados acuosos de <i>Ipomoea purpurea</i> , <i>Amaranthus hypochondriacus</i> y <i>Chenopodium ambrosioides</i> , sobre la germinación de <i>Glomus sp.</i>	41
6.1.1. Selección de esporas.	41

	Pág.
6.1.2. Efecto de los lixiviados de las partes aéreas secas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	42
6.1.3. Efecto de los lixiviados de las raíces secas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	44
6.1.4. Efecto de los lixiviados de las raíces frescas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	48
6.2. Características físico químicas del suelo calcimagnésico utilizado en el experimento en el invernadero.	53
6.3. Potencial micorrízico del suelo calcimagnésico evaluado en función de la micorriza sobre el tomate verde, <i>Physalis ixocarpa</i> , Brot. (Solanaceae).	54
6.4. Experimento en el invernadero para observar la influencia de las plantas alelopáticas sobre el movimiento de los hongos MVA y la colonización de las raíces.	56
CONCLUSIONES.	60
BIBLIOGRAFIA.	61
APENDICE.	77

INDICE DE CUADROS

	Pág.
1.- Efecto de los lixiviados de las partes aéreas secas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	43
2.- Efecto de los lixiviados de las raíces secas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	44
3.- Efecto de los lixiviados de las raíces frescas de <i>I. purpurea</i> , <i>A. hypochondriacus</i> y <i>C. ambrosioides</i> , sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	48
4.- Resultados de los análisis físico-químicos del suelo de la localidad de Alpuyeca, Morelos.	54
5.- Evaluación del potencial de colonización de los propágulos micorrízicos en tomate verde (<i>Physalis ixocarpa</i> L) en diferentes diluciones de suelo calcimagnésico.	55
6.- Porcentaje de colonización micorrízica en las plantas de los 3 compartimentos determinado, por el método de intersección de Newman (1966)..	56
7.- Porcentaje de colonización micorrízica en las plantas de los 3 compartimentos determinado, por el método de Phillips y Hayman (1970).	57

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
1.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro <i>Ipomoea purpurea</i> y a los lados <i>Physalis ixocarpa</i> .	38
2.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro <i>Amaranthus hypochondriacus</i> y a los lados <i>Physalis ixocarpa</i> .	39
3.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro <i>Chenopodium ambrosioides</i> y a los lados <i>Physalis ixocarpa</i> .	40
4.- Efecto del lixiviado de las raíces secas de <i>Ipomoea purpurea</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	45
5.- Efecto del lixiviado de las raíces secas de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	45
6.- Efecto del lixiviado de las raíces secas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	46
7.- Efecto del lixiviado de las raíces frescas de <i>Ipomoea purpurea</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	49
8 - Efecto del lixiviado de las raíces frescas de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	49
9.- Efecto del lixiviado de las raíces frescas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre la germinación de esporas de <i>Glomus sp.</i>	50

RESUMEN

La sobrevivencia de las especies dentro de los ecosistemas, depende de múltiples factores ambientales, bióticos y abióticos, y además, de diversos factores intrínsecos de cada individuo, relacionados con su capacidad de adaptación al medio y de sus mecanismos de defensa, entre otros.

Las interacciones bióticas dentro de una comunidad, constituyen uno de los factores de mayor trascendencia para la dinámica del ecosistema en general, y para la vida de las poblaciones en particular. Las interacciones bióticas, como la depredación, la competencia, la simbiosis, el mutualismo, el parasitismo, el comensalismo, etc., muchas veces están determinadas por la producción y liberación de diversos compuestos químicos que los organismos utilizan como señales químicas, las cuales, por ejemplo, los guían hacia sus presas, simbiontes o comensales, les permiten repeler a sus enemigos, atraer a la pareja, defenderse de patógenos, etc. A través de la evolución, los metabolitos secundarios seleccionados como mensajeros químicos entre los organismos, han dado ventajas adaptativas a unas especies sobre otras y han modulado el amplio abanico de interacciones bióticas que se dan entre todos los seres vivos. Estos compuestos químicos son de naturaleza diversa, se producen, generalmente, a través de las vías del metabolismo primario, y reciben nombres diferentes según el campo de estudio y el enfoque de las investigaciones: infoquímicos, metabolitos secundarios, productos naturales, aleloquímicos y feromonas, entre otros.

Las micorrizas vesículo arbusculares constituyen un tipo de asociación mutualista que se presenta entre los hongos de los generos **Acaulospora**, **Entrophospora**, **Gigaspora**, **Glomus**, **Sclerocystis** y **Scutellospora**, y las raíces de la mayoría de las plantas vasculares. Sin embargo, existen diversas familias de plantas que no están asociadas con este tipo de hongos, por ejemplo: *Chenopodiaceae* y *Amaranthaceae*. Las razones por las cuales estas plantas no producen micorrizas, son aun desconocidas, aunque se han propuesto diversas

hipótesis, muchas de las cuales afirman que los metabolitos secundarios excretados por las raíces, son factores determinantes para impedir la colonización de los hongos.

En el presente trabajo, se manejó como hipótesis que algunas plantas que producen metabolitos secundarios, y en particular los exudan a través de las raíces, son capaces de inhibir el crecimiento de los hongos MVA y la germinación de sus esporas. Las especies seleccionadas para este estudio fueron: *Ipomoea purpurea* (Convolvulaceae), *Amaranthus hypochondriacus* (Amaranthaceae) y *Chenopodium ambrosioides* (Chenopodiaceae). Estas tres especies tienen potencial alelopático, es decir, producen diversos metabolitos secundarios bio-activos, que liberan al medio y son capaces de afectar el desarrollo de otras plantas y microorganismos.

Se evaluó el efecto de los metabolitos secundarios de estas tres especies de plantas sobre la germinación de esporas de *Glomus sp. in vitro*. Por otro lado, por medio de un experimento en macetas en el invernadero, se observó el movimiento de este hongo en el suelo, evaluando su capacidad de trasladarse, alcanzar las raíces de una planta micorrizable, como *Physalis ixocarpa* (tomate) y colonizarlas, pasando primero a través de la barrera física y química constituida por las raíces de las plantas alelopáticas.

En los bioensayos *in vitro*, los lixiviados de las raíces de las especies alelopáticas tuvieron efectos inhibitorios significativos sobre la germinación de las esporas de *Glomus sp.*

En el experimento en el invernadero, pudo observarse que *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, efectivamente constituyeron una barrera química infranqueable para el micelio de *Glomus*, debido a los metabolitos secundarios excretados por sus raíces. En cambio las raíces de *I. purpurea* no impidieron el paso del hongo, el cual pudo colonizar a las raíces de tomate, y además colonizar a la propia *Ipomoea*.

INTRODUCCION.

1.1.- Las micorrizas.

1.1.1.- Historia.

Con base en diversas observaciones Vittadini, propuso en 1842 (Trappe y Fogel, 1977) que las raíces de los árboles servían para albergar a ciertos hongos en donde el micelio cubría la superficie de las radículas. Las primeras descripciones de las asociaciones raíz-hongo, las hizo Harting en 1851; años después, fueron varios los trabajos que señalaron la presencia de hongos en las raíces, los cuales provocan el necrosamiento de los tejidos radicales. Por años, se pensó que el papel que desarrollaba el hongo micorrízico era el de un patógeno formador de una asociación parásita con las raíces.

Pero en 1885, Frank, basado en estudios sistemáticos y más profundos, descubre que ciertas asociaciones entre hongos y raíces no son patógenas y utiliza, por primera vez, el término micorriza para identificarlas (Peyronel *et al.*, 1969).

1.1.2.- Origen del término micorriza.

La palabra micorriza tiene su origen en los vocablos griego *mykes* que significa hongo y del latín *rhiza* que significa raíz; entendiendo esta expresión como una asociación hongo-raíz.

En 1900 hubo una mayor aceptación entre los investigadores interesados en las relaciones planta-hongo, respecto a la existencia de ciertas asociaciones mutualistas benéficas. Así, los trabajos se enfocaron al campo de la taxonomía con el fin de identificar a los hongos formadores de micorrizas como miembros de los ficomicetos, ascomicetos y basidiomicetos.

Entre los años de 1925 a 1950, los estudios se abocaron principalmente a la evaluación y crecimiento de la ectomicorriza. Algunos experimentos donde se

utilizaron pinos como plantas hospederas y en los cuales no se obtuvieron los resultados esperados, provocaron que decreciera el interés por este tipo de micorrizas (Schenck, 1982).

En la década de los 50, se incrementaron los estudios con endomicorrizas, particularmente sobre aspectos biológicos, como son la fisiología y las respuestas de crecimiento en las diferentes plantas formadoras de micorrizas. Los resultados de estos estudios fueron exitosos y motivaron a seguir con las investigaciones, especialmente en el sentido de la posible aplicación de las endomicorrizas para el aumento de la productividad en los campos agrícolas y forestal (Schenck, 1982 ; Ferrera-Cerrato, 1989).

Beniamino Peyronel, en 1923 (Trappe y Schenck, 1982), fue el primero en identificar el hongo formador de micorriza vesículo-arbuscular (MVA), como miembro del género *Endogonales*, y le encontró un cierto parecido a *Phytium sp.* Con tal descubrimiento, se investigaron más especies sin obtener resultados positivos. En los siguientes años, se realizaron estudios para conocer la distribución de las micorrizas en las plantas. Schlicht y Stahl 1962, examinaron plantas de diferentes hábitats aportando datos sobre la distribución de las plantas micotróficas que se asocian con hongos micorrízicos en los ecosistemas. En el año de 1963, Gerdmann y Nicolson presentaron una colección de esporas que permitieron determinar una cantidad considerable de especies nuevas y avanzar en la clasificación de las especies de los hongos vesículo arbusculares. Ellos mismo, sugirieron que la clasificación era muy compleja, debido a que se encuentran en todos los suelos y climas, y a que las especies de plantas que micorrizan, pertenecen a diferentes grupos taxonómicos. En 1975 se modifica la clasificación de los hongos endomicorrízicos y se divide el género *Endogonales* en 6 géneros: Acaulospora, Endogone, Entrophospora Gigaspora, Glomus, y Sclerocystis (Gerdermann y Trappe, 1975).

En años recientes se ha comprobado el valor biológico y ecológico de las asociaciones micorrízicas en diversos tipos de plantas. Aquellas que han sido inoculadas con hongos MVA presentan mayor crecimiento que las que no fueron inoculadas (Smith, 1980). Las plantas con micorriza MVA aceleran la aparición de los órganos reproductores (Koide, 1982). En relación a la adaptación de las plantas a regiones áridas, aquellas que cuentan con micorriza vesículo arbuscular, presentan una mayor tolerancia a las condiciones ambientales extremas (Nelsen y Safir, 1982).

Además las plantas micorrizables tienen una mayor resistencia contra el ataque de patógenos (Dehne, 1982).

Un ejemplo de la importancia de los hongos MVA en el desarrollo de las plantas superiores, fue evidenciado por los cultivadores de orquídeas, ellos encontraron que las semillas de estas plantas, inoculadas con hongos MVA, al germinar, forman un protocormo, y en caso de no estar inoculadas, las plantas no crecen más allá de esta etapa. Esto se observó en semillas que germinaron en medios nutritivos y que después fueron trasplantadas a un suelo sin un inoculo micorrízico; cuando llegaban a la etapa de protocormo ya no se desarrollaban y con el tiempo morían por falta de nutrimentos, a pesar de que el análisis del suelo revelaba abundante cantidad de éstos. En cambio, si al suelo que rodeaba a las raíces de las plántulas se le agregaba una pequeña cantidad de suelo forestal conteniendo hongos micorrízicos, las orquídeas crecían con rapidez y con naturalidad. La evaluación realizada a las plantas que sobrevivieron demostró que sus raíces estaban colonizadas por micorrizas (Jackson y Mason, 1984).

1.1.3.- Concepto actual de las micorrizas.

Se emplea la palabra micorriza para designar una asociación entre estructuras fúngicas, como hifas, manto, vesículas o arbusculos, con ciertas raíces de plantas superiores.

Una asociación micorrizica existe cuando las raíces de las plantas vasculares están asociadas con algunos hongos, de tal forma que existe un beneficio mutuo, de tipo nutricional, estructural o funcional. (Bevege *et al.*, 1975 ; Sieverding, 1991 ; Azcon-Aguilar *et al.*, 1991).

Esta simbiosis se establece entre algún Endogoneo, Basidiomiceto o Ascomiceto con la raíces de plantas superiores.

En la actualidad existe la tendencia a denominar a la micorriza vesículo arbuscular, solo, como micorriza arbuscular, ya que en ciertas ocasiones no se evidencia la presencia de vesículas.

1.1.4.- Tipos de micorrizas.

Fue Frank (1885) quien estableció la primera clasificación de las micorrizas en 2 grupos: 1) ectotróficas, cuando el micelio del hongo crece rodeando a la raíz y en el interior de la corteza las hifas se desarrollan en los espacios intercelulares formando una red. 2) endotróficas, cuando el hongo se encuentra dentro de las células epidérmicas y corticales de la raíz. (Jaen y Ferrera-Cerrato, 1989).

Posteriormente se agrega una categoría más, la ectoendomicorriza cuando el hongo forma un manto externo y penetra al interior de la raíz.

La clasificación de las micorrizas se fundamenta actualmente en las características morfológicas del hongo y la raíz. Desde este punto de vista, se distinguen cuatro asociaciones micorrízicas (Lewis, 1973).

- 1) Ectomicorrizas.
- 2) Endomicorrizas vesículo arbusculares.
- 3) Ericoide.
- 4) Orquidáceo.

1.1.4.1.- Ectomicorrizas.

Esta micorriza está constituida por un micelio con hifas septadas, donde la mayor parte forma una densa cubierta que envuelve la superficie de las raíces; esta estructura es conocida como manto, que funciona como zona de almacenamiento de nutrientes y que permite a la planta hospedera contar con fósforo asimilable cerca de su sistema radicular.

Además, este tipo de micorrizas penetran por los espacios intercelulares de la corteza de la raíz, sin llegar a penetrar las células del hospedero, formando una red conocida como red de Harting; esta estructura se considera de importancia porque permite la transferencia de nutrientes que se dan en este tipo de micorriza.

Este tipo de asociación se encuentra en el 3% del total de las plantas que son capaces de ser micorrizables. Las plantas que forman ectomicorrizas pertenecen a algunas especies forestales, frutícolas y ornamentales. Las ectomicorrizas predominan en las coníferas que habitan en lugares de climas fríos. Los hongos que participan en esta asociación pertenecen a los basidiomicetos y ascomicetos.

1.1.4.2.- Endomicorrizas vesículo arbusculares (MVA).

El hongo de estas micorrizas presenta las siguientes características: sus hifas no están septadas y tienen un crecimiento dicotómico donde gran parte del hongo se encuentra dentro de la raíz. Las hifas penetran a las células corticales de la raíz, y durante la colonización, se forman las estructuras características de esta micorriza como son las **vesículas** (estructuras de reserva formadas por el ensanchamiento de las hifas terminales) y los **arbusculos** (estructuras intracelulares parecidas a haustorios, que desempeñan la función de intercambio de nutrimentos con las células radicales). Por otro lado, el micelio externo es el encargado de la producción de la esporas. Los hongos que forman este tipo de micorriza pertenecen a los Zygomycetos.

1.1.4.3.- Ericoide.

Se llaman así, porque son características de la familia Ericaceae de las Fanerogamas. En esta micorrizas el hongo forma un manto rudimentario en el exterior de la raíz y las hifas se desarrollan en los espacios inter e intracelulares de las raíces de las ericaceas, sin llegar a formar una red como la de Harting. Las hifas que se encuentran en la raíz de manera intracelular, se compactan sin lograr formar arbusculos y vesículas. Además, se observa que las hifas compactadas son digeridas o lisadas por las células de la raíz, más rápido que otras micorrizas.

Los hongos formadores de estas micorrizas son Ascomycetos y Basidiomicetos.

1.1.4.4.- Orquideáceo.

Son características de las orquidaceae. Los hongos que constituyen este tipo de micorriza son Basidiomicetos con hifas septadas.

La asociación presenta dos fases en relación con el ciclo de vida de las orquídeas. Es conocido que las plántulas de las orquídeas deben asociarse con algún basidiomiceto formador de micorrizas para satisfacer su necesidad de nutrición. Como ya se mencionó existe una alta dependencia por la transferencia de nutrimentos de la micorriza a la plántula a tal grado que en caso de no estar

micorrizada, la orquídea muere. En cambio las orquídeas adultas, no requieren de este tipo de asociación con el hongo micorrízico; por tal motivo cambia el papel del hongo de mutualista a parásito.

1.1.5.- Características de la micorriza vesículo arbuscular.

La micorriza vesículo arbuscular es el tipo de micorriza más extendida entre las plantas; se considera que en un 90 % de las especies vegetales la presentan (Azcon y Barea, 1990), y que se encuentra distribuida en diversidad de hábitats, desde la región del ártico hasta el trópico. Además está presente en la mayoría de los ambientes áridos, húmedos, en comunidades estables y en ecosistemas perturbados (Mosse, 1981). Las plantas con micorriza VA, presentan amplia adaptabilidad a los diferentes cambios de tipo químico, físico y ecológico que ocurren en el ambiente.

1.1.6.- Hongos formadores de micorriza vesículo arbuscular.

Los hongos endomicorrízicos pertenecen a la clase Zygomycetos, Orden Endogonales, Familia Endogonaceae; esta última representada por 6 géneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, y *Scutellospora* (Morton, 1988).

1.1.7.- Fisiología y estructura de la micorriza vesículo-arbuscular.

Generalmente, el hongo endomicorrízico vesículo arbuscular coloniza las raíces secundarias funcionales, debido a que estas no se encuentran lignificadas o suberificadas, y no impiden la penetración.

La forma estructural del hongo endomicorrízico vesículo arbuscular se compone de hifas no septadas que forman un micelio en donde la porción mayor se encuentra en el interior de la raíz y el resto fuera, formando el micelio externo.

El micelio externo se extiende de tal forma que incrementa el volumen del suelo disponible, a tal grado, que una raíz con micorriza tiene a su disposición un volumen de suelo 8 veces mayor, lo que le permite un incremento en la asimilación y

translocación de los nutrimentos del suelo, principalmente el fósforo asimilable que generalmente se encuentra en bajas concentraciones en el suelo.

Por su parte, el micelio interno desarrolla estructuras importantes, desde el punto de vista funcional, como son los arbuscúlos, que se forman de bifurcaciones consecutivas de una hifa terminal y que penetran la pared de las células epidérmicas de la raíz mediante un plasmolema o invaginación. Aquí se llevará a cabo la conexión con la raíz de la planta y se formará el sitio funcional de la micorriza en donde se incrementa la transferencia bidireccional de nutrimentos. Algunos días después, los arbuscúlos son digeridos por las células epidérmicas para restablecer el estado anterior de las mismas, donde se encontraban los arbuscúlos. En términos generales, ésta es la dinámica en la formación y desaparición de los arbuscúlos en el tejido epidérmico de la raíz.

Otras estructuras de importancia funcional son las vesículas; éstas se forman por un engrosamiento de la hifa debido a la acumulación de lípidos; lo cual hace suponer que las vesículas desempeñan una función como estructuras de reserva para el hongo. Esto se deduce de las observaciones realizadas en plantas que fueron sometidas a condiciones de estrés; en ellas el hongo micorrízico recurre a esta fuente de reserva para sobrevivir y por lo tanto, desaparecieron las vesículas.

1.1.8.- Beneficios que aporta la asociación micorrízica.

1.1.8.1.- Beneficios para la planta.

La planta se beneficia de muchas maneras con la asociación del hongo; por ejemplo, logra adquirir mayor resistencia a los suelos secos y húmedos; es más rápida su adaptación a los suelos con bajos niveles de nutrimentos, debido a que el hongo puede movilizar aquellos que se encuentran en áreas inaccesibles para el sistema radical.

En el caso del elemento fósforo, que se desplaza en el suelo en forma lenta, encontramos que una planta cuyo sistema radical no está colonizado por micorrizas, agotaría este elemento del área de suelo que rodea la raíz, antes de que fuera repuesto por el fósforo más alejado, que se mueve lentamente, lo que ocasiona una zona de deficiencia. En cambio si la raíz se encuentra micorrizada, el micelio externo

del hongo MVA se sitúa en sitios más alejados y extensos que las raíces secundarias, y pueden llevar a cabo una captación del fósforo del suelo más eficiente. Este elemento entra en el interior de la hifa mediante transporte activo, así se puede desplazar a una velocidad 1000 veces más rápida que lo que normalmente ocurre en el suelo, hasta llegar a los arúsculos donde ocurrirá la translocación del fósforo al interior de la planta. Este suministro de fósforo favorece a la planta micorrizada; en cambio las plantas que se encuentran alrededor, si no tienen micorrizas pueden afectarse por la deficiencia de fósforo en el suelo, entrando en una mayor competencia entre ellas.

La micorriza también permite la asimilación de otros elementos de poca solubilidad y movilidad en el suelo, como el zinc (Tinker y Gildon, 1983) y el cobre (Le Tacon, 1985). Existen reportes sobre el aumento en la absorción de azufre (Gray y Gerdemann, 1975) y potasio (Powell, 1975). También se logra un aumento en la asimilación de nitratos; aunque en relación con el nitrógeno, la micorriza no juega un papel importante en su captación. No obstante, el hongo micorrizable logra desarrollarse adecuadamente en la raíz, si crece junto a bacterias fijadoras de nitrógeno, lo que resulta en un mayor desarrollo para la planta, en comparación con plantas que solo crecieron con micorriza o con bacterias fijadoras de nitrógeno.

Las plantas con micorrizas que crecen en suelos con abundancia de cadmio, estroncio y cobalto, son capaces de adaptarse a estas condiciones tóxicas y habitar en los suelos con exceso de estos elementos; de esta forma obtienen ventajas para sobrevivir sobre otros miembros de la comunidad.

Las plantas con micorrizas pueden aumentar su productividad debido a que la simbiosis representa una ventaja competitiva con respecto a otras especies que no micorrizan, en el aprovechamiento adecuado de minerales, y les permite habitar en suelos pobres que no podrían ser ocupados de otra manera.

La micorriza pueden proporcionar también una mayor resistencia a la sequía, a las modificaciones del pH en el suelo, a la salinidad, a la toxicidad y a las variaciones en la temperatura, lo que hace posible la vida de las plantas en ciertos suelos, que de otra manera, serían inadecuados para éstas.

Por otro lado, los hongos micorrízicos representan un aliado que permite a la planta tener mayor control contra algunos agentes causantes de enfermedades en la raíz. Esto se debe principalmente a que los hongos micorrízicos producen antibióticos que forman una barrera química que impide el establecimiento de los patógenos.

1.1.8.2.- Beneficio para los hongos.

Los hongos se benefician de su asociación con la planta. Por una parte, la raíz es su hábitat particular, que les permite desenvolverse para desempeñar su papel ecológico dentro de la rizosfera.

Por otro lado, los hongos obtienen diversos productos elaborados por las plantas; estos compuestos son transportados del sitio de síntesis, por medio del floema, hasta la raíz, de donde pasarán hasta la zona de unión entre las células epidérmicas y los arbusculos, llegando al interior del hongo, así, éste obtendrá su fuente de energía. El hongo puede consumir hasta el 17 % de los carbohidratos elaborados por la planta. Los aminoácidos y otras sustancias orgánicas son proporcionadas, también, por la planta hospedera.

Los hongos micorrízicos VA presentan una desventaja respecto a las plantas, en el sentido de que ellos no pueden vivir en forma independiente, sino que deben habitar en una planta para desarrollar su ciclo de vida.

1.1.9.- Desarrollo de la colonización de un hongo micorrízico vesículo arbuscular.

Preinfección. La germinación de las esporas comienza por la formación del tubo de germinación. Esta etapa puede estar afectada por las condiciones del suelo como: cantidad de oxígeno y bióxido de carbono; temperatura y cantidad de agua; pH, concentración de nutrientes y presencia de diversos compuestos fungistáticos. Otro factor muy importante es la presencia de una raíz que puede ser micorrizable. Es importante considerar los tiempos de sobrevivencia de las hifas o micelios, que varía entre algunos días hasta varias semanas, para poder iniciar la colonización de la raíz.

En el momento del contacto entre el tubo de germinación y la raíz, se inicia una fase de reconocimiento químico.

Colonización. La hifa que entra en contacto con la planta forma un apresorio en el sitio de contacto; y una hifa de penetración que entra entre las células corticales en forma similar a como lo hace un haustorio, hasta llegar al tejido epidérmico.

Extensión del hongo en el suelo. Al tiempo que el hongo crece internamente formando vesículas y arbuscúlos, también está creciendo fuera de la raíz formando el micelio externo que amplía la zona de interacción en la rizosfera. Además, el hongo explora nuevos puntos de colonización en la misma raíz o en otras.

Reproducción. El micelio externo del hongo micorrízico comúnmente es la parte de la micorriza formadora de esporas. En condiciones ambientales y bióticas óptimas; el periodo reproductivo se inicia a las 3 o 4 semanas después de la colonización. Las hifas externas formarán esporocarpos, donde se llevará a cabo la producción de esporas ocurriendo después, la liberación de éstas. En condiciones adecuadas, las nuevas esporas viables germinarán para iniciar un nuevo ciclo. En caso de que no existan las condiciones óptimas para la germinación de las esporas, éstas pueden permanecer en estado de latencia durante varios años. Las esporas germinadas y el micelio morirán si no encuentran una raíz en un periodo máximo de 3 o 4 semanas.

1.1.10.- El fenómeno de las micorrizas en las familias de las plantas vasculares.

Existe un grupo de familias como: Betulaceae, Fagaceae, Hymenophyllaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Salicaceae, y Dipterocarpaceae, que presentan un alto porcentaje de micorrizas. Estas familias tienen un índice de 100 % de presencia de micorrizas en las especies que las constituyen (Newman y Reddell, 1987). Existen otras familias que se consideran no micorrizables, estas son: Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Cruciferae, Cyperaceae, Commelinaceae, Brassicaceae, Proteaceae, Lecithidaceae, Zygophyllaceae, Portulacaceae, Restionaceae, Caryophyllaceae, y en las Leguminosae, el género *Lupinus* es reconocido como no micorrizable.

Algunas investigaciones han demostrado que en las familias no micorrizables, no todas las especies cumplen con tal característica. Un ejemplo es *Atriplex gardneri*, especie perteneciente a las Chenopodiaceae, durante el mes de abril, muestra colonización micorrízica, calculada hasta en 78 % con la presencia de arbuscúlos (Allen, 1983).

Otro caso es el de *Salsola kali*, también Chenopodiáceae, que es capaz de formar micorrizas en suelos perturbados, aunque por breves periodos de tiempo (Reeves *et al.*, 1979). En suelos arenosos, *Salsola kali*, presenta micorrizas donde se aprecian hifas externas, sin vesículas ni arbuscúlos; aunque en ciertas condiciones la planta puede formar arbuscúlos (Allen y Allen, 1988 ; Allen *et al.*, 1989).

1.1.11.- Factores abióticos que afectan la distribución y actividad de los hongos MVA.

Entre los factores químicos que influyen en la colonización de las planta por los hongos MVA, se encuentran el pH. Los hongos responden en forma diversa a este factor; algunos están adaptados a los suelos ácidos; otros a los suelos alcalinos; y otros son indiferentes al pH del suelo (Le Tacon, 1985).

En relación con la humedad, se encontró que los hongos micorrízicos son sensibles a condiciones de estrés hídrico, en donde se registra una disminución en la colonización de las raíces en comparación con las plantas que no crecen en condiciones de estrés (Reid y Bowen, 1977). Se encontró, también, que en condiciones de saturación de agua, disminuye la colonización de la raíz, ya que en estas condiciones la superficie de la raíz responde con una barrera física, por la suberización de la misma que hace impermeable a la corteza de la raíz o modifica la producción de los estímulos que no permiten el establecimiento de los hongos. Además, la saturación de agua ocasiona que las esporas se colapsen y no germinen (Reid y Bowen, 1977).

La temperatura del suelo puede afectar la actividad de los hongos endomicorrízicos, en especial la germinación de las esporas. En el caso de la germinación de esporas de *Glomus sp* la temperatura óptima es de 20 °C a 25 °C, la temperatura mínima es de 10 °C y la máxima es de 30 °C.

La intensidad de la luz es, también, un factor importante en el grado de colonización micorrízica. En el caso del tabaco, una reducción del 50 % de la intensidad de la luz, se ve reflejada en la disminución en un 25 a 31 % de la colonización. Esto se debe probablemente a que el suministro de carbohidratos se reduce al disminuir la fotosíntesis de éstas (Mosse, 1981). Bajo condiciones de intenso sombreado la endomicorriza también es afectada; puede haber hasta un 20 %

de decremento en la formación de esporas, con respecto a las plantas que crecen a mayores intensidades de luz. En las plantas con periodos prolongados de exposición a la luz, se encontró que se estimulaba la formación de arbusculos (Hayman, 1974).

También las prácticas de cultivo agrícola afectan la sobrevivencia de los hongos endomicorrízicos. La acción mecánica de remover la superficie del suelo, así como, la roza tumba y quema, ocasionan la disminución en el número de propágulos de la micorriza vesículo arbuscular. Así, la actividad de labranza contribuye a la destrucción de las esporas. En cambio la rotación y el descanso de suelos, participan en la conservación de las esporas que se manifestarán en futuros cultivos (Abbott y Robson, 1991).

La fertilización de los suelos con materia orgánica conduce a un mejor desarrollo de las micorrizas. En cambio, cuando existe una adición elevada de fósforo y nitrógeno en el suelo, las micorrizas disminuyen en forma considerable. Azcon y Barea (1980) consideran que cuando la planta se encuentra en una etapa de máximo rendimiento, emplea la producción de glúcidos para la elaboración de compuestos protéicos y fosforados; por lo tanto disminuye la cantidad de carbohidratos exudados por la raíz, y por ello el hongo micorrízico tiende a formar niveles bajos de colonización o desaparece.

CENTRO C...

CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUATEMALA

ANTECEDENTES

2.1.- Interacciones químicas entre plantas y hongos.

2.1.1.- Alelopatía.

El conocimiento de la función que desempeñan los metabolitos secundarios: fenoles, quinonas, terpenoides, esteroides y alcaloides, entre otros compuestos, que los seres vivos producen y liberan al ambiente, permitió establecer la importancia de estos metabolitos en los procesos biológicos y ecológicos que regulan el equilibrio en las comunidades, como, por ejemplo la competencia y la herbivoría, los cuales determinan la dinámica, sobrevivencia, dominancia y sucesión de los individuos en un ecosistema. Las interacciones químicas entre los organismos son objeto de estudio de la Ecología Química. Una parte de ésta ciencia, es la alelopatía, que se refiere a las interacciones químicas planta-planta y planta-microorganismo.

2.1.2.- Historia.

El estudio de ciertas interacciones químicas entre plantas se inicia hace mucho tiempo. Teofrasto (300 años A C) reportó que el garbanzo (*Cicer arietinum*) es capaz de agotar los suelos donde se cultiva y este fenómeno, también, se observa en tierras donde se cultivan leguminosas; en ambos casos, el agotamiento del suelo es temporal. Teofrasto, también, señaló que el garbanzo es capaz de matar a las malezas. Plinio reportó (100 años A C) que como el garbanzo, la cebada (*Hordeum vulgare*), el fenogreco (*Trigonella foenum-graecum*) y la arveja agria (*Vicia ervilla*) pueden afectar negativamente los suelos (Rizvi et al., 1992).

A pesar de estos antecedentes históricos, la alelopatía como una ciencia surge hasta el presente siglo.

2.1.3.- Definición de alelopatía.

Molisch (1937) fue el primero que define la palabra alelopatía para referirse a las interacciones bioquímicas entre todo tipo de plantas, incluyendo a los microorganismos, y que estas interacciones pueden ser perjudiciales o benéficas.

Rice, (1974) la define como el efecto provocado por unas plantas sobre otras, mediante la producción de compuestos químicos que son liberados al medio. Rice coincide en que las interacciones se pueden dar, también, entre las plantas y los microorganismos y que el efecto puede ocurrir de manera directa o indirecta.

La alelopatía es el efecto perjudicial directo o indirecto de una planta o microorganismos sobre otras plantas y microorganismos, a través de la producción de compuestos químicos que son liberados al ambiente mediante exudados, lixiviados, volatilización o la descomposición de la materia orgánica.

También se puede definir como el efecto inhibitorio o estimulante de diversos metabolitos secundarios liberados al medio por los organismos, que actúan sobre el crecimiento, metabolismo y desarrollo de otros organismos.

2.1.4.- Aleloquímicos.

Los compuestos químicos que median las interacciones químicas entre los organismos de diferente especie, se llaman aleloquímicos y son producto de las vías metabólicas secundarias del organismo. Por eso también son llamados metabolitos secundarios o compuestos secundarios. Como ya se mencionó, su naturaleza química es diversa (Anaya, 1981).

Por la naturaleza tóxica de muchos de ellos la misma planta debe inactivarlos o neutralizarlos mediante diversos mecanismos; almacenarlos en sitios alejados de donde se producen y en donde no ocurren procesos fisiológicos importantes para la planta; cristalizarlos; polimerizarlos (lignina, resinas o hule); depositarlos en tejidos muertos como el duramen o entre los espacios intercelulares; almacenarlos en vacuolas; descargarlos al exterior mediante exudación, volatilización y lixiviación a través (lluvia, niebla y rocío) de la raíz, y partes aéreas (Anaya, 1981).

2.1.5.- Importancia.

En el medio terrestre el suelo es el depósito en donde se acumulan muchos aleloquímicos, los cuales llegan por diferentes vías: la exudación, la volatilización, la lixiviación de las raíces y de las parte aéreas de las plantas, y la descomposición de la materia orgánica, como se había mencionado (Whittaker y Feeny, 1971).

Los microorganismos participan en la acumulación de los aleloquímicos especialmente en la zona de la rizosfera, porque son los encargados de la descomposición de la materia orgánica y de todos los compuestos que son liberados o depositados en el suelo por plantas, animales y otros microorganismos. Durante este proceso se producen compuestos que pueden tener un efecto tóxico o estimulante, o no tener efecto alguno dependiendo del tipo de organismo receptor (Whittaker y Feeny, 1971).

En la rizosfera los efectos de los aleloquímicos son determinantes para la distribución de los microorganismos, como bacterias, hongos y nemátodos entre otros. La distribución de los microorganismos desde la superficie de las raíces hasta las zonas más alejadas de la rizosfera, está determinado por el gradiente bioquímico y ecológico (Ferrera-Cerrato, 1989).

Muchos organismos emplean aleloquímicos para limitar la distribución de otros individuos y así obtener ventajas competitivas por el agua, luz, nutrientes y espacio. Esto les facilita su adaptación y dominio en el hábitat.

En el campo de la agricultura la utilización de algunos aleloquímicos para controlar ciertas malezas de los cultivos con importancia económica, y que no tengan un efecto perjudicial sobre los cultivos, es de gran trascendencia para evitar la utilización de herbicidas sintéticos. El uso de aleloquímicos en el manejo de los cultivos no solo busca el control de las malezas, sino que también se encamina a encontrar compuestos secundarios que aumenten la producción general de los agroecosistemas. El empleo de aleloquímicos como plaguicidas, es una alternativa para evitar el uso de agroquímicos muy dañinos al ambiente (Anaya, 1989).

La alelopatía es una herramienta que puede generar técnicas de cultivo eficientes para aprovechar los recursos en los agroecosistemas y así poder lograr el tan esperado beneficio ecológico, económico y cultural de una agricultura ecológica y sostenible.

2.1.6.- La participación de los exudados radicales en el desarrollo de la micorriza.

Los compuestos que forman parte de los exudados de las raíces se consideran determinantes en el desarrollo de las micorrizas. Para explicar la presencia de micorriza en las plantas, se considera que el bioxido de carbono que se desprende de la respiración de las raíces puede participar en el establecimiento o carencia de las micorrizas (Becard y Piché, 1989).

También, son varios los hallazgos de compuestos que estimulan al hongo MVA y que provienen de los exudados radicales. Elías y Safir (1987) encontró que los exudados de *Trifolium repens*, estimulan la elongación de las hifas del hongo MVA.

De las semillas de alfalfa, se ha aislado quercetina 3-O-galactosido como parte de los exudados de la plántula que promueve la germinación de las esporas del hongo MVA, la elongación de las hifas y su bifurcación. Otro de los compuesto con este mismo efecto es la 4,7 dihydroxiflavona encontrada en los exudados radicales de la zanahoria (Tsai y Phillips, 1991). Este compuesto, también, fue identificado en los exudados de la raíz del trébol (Redmond *et al.*, 1986). Por otra parte la quercetina y el kampferol presentes en los exudados radicales de plántulas de alfalfa, estimulan el crecimiento de hifas de *Gigaspora margarita* (Poulin *et al.*, 1993).

Giovannetti *et al.*, (1993) suponen que las plantas micorrizables producen compuestos que estimulan el reconocimiento de las raíces de la planta por parte del hongo MVA y que, además, permiten al hongo penetrar en la raíz. En el caso de las plantas no micorrizables, este factor debe estar ausente de sus exudados. Además, ellos mismos, encontraron que los exudados radicales de *Lupinus albus* no estimulan la formación del apesorio sobre sus raíces.

Morley y Mosse (1976) encontraron que cuando *Lupinus consentinii* se cultiva junto al trébol puede influir en la formación anormal de la micorriza en las raíces de éste. Estas anomalías consisten en claras deformaciones en la morfología de las hifas, algunas bifurcaciones de las hifas que se hinchan en forma considerable, apesorios abultados, con prolongaciones deformadas y abultadas. Estos autores señalan que este efecto posiblemente se deba a una sustancia tóxica proveniente de los exudados radicales de *Lupinus consentinii*. El efecto persiste en las raíces de

trébol, a pesar de que se remuevan las plantas de lupinos del suelo y se inoculen con *Glomus mosseae* y *Glomus fasciculatum*.

Por otra parte, para explicar la falta de micorriza en las plantas se, argumenta que los exudados de la raíz pueden contener algún compuesto inhibidor del hongo endomicorrízico que no permite su establecimiento en la raíces de las plantas no hospederas (Hirrel *et al.*, 1978 ; Ocampo, 1980 *et al.* ; Ocampo y Hayman, 1981 ; Tester *et al.*, 1987), en similitud, como lo encontró en los exudados de la raíz de *Calluna vulgaris* que contienen un elemento tóxico capaz de inhibir el desarrollo de algunos hongos ectomicorrízicos (Robinson, 1972).

La falta de micorrizas por efecto de supresión alelopática proveniente de los pinos, ha sido observada en especies de pino ponderosa y pino rojo. En un bosque donde predomina el pino ponderosa se encontró un alto porcentaje de plantas no micorrizables, debido a que el pino es capaz de producir un compuesto supresor de la micorriza (Kováč *et al.*, 1984). Los pinos rojos cuentan con compuestos aleloquímicos que suprimen la formación de micorrizas en plantas de maple rojo y plántulas de pino Hardwood. También se encontró que plántulas de pino rojo sufren daños. Los aleloquímicos responsables no fueron identificados (Tobiesen y Werner, 1980 ; St John y Coleman, 1983 ; Perry y Choquette, 1987).

Asparagus officinalis contiene ácido ferúlico en sus exudados radicales. No obstante este metabolito no afecta la germinación de las esporas de *Glomus fasciculatum*. Sin embargo, si se aumenta la concentración de ácido ferúlico se inhibe la elongación de la hifa de germinación de este hongo micorrízico y la colonización en la raíz de esta misma planta, *in vitro* (Wacker *et al.*, 1990).

Los compuestos volátiles provenientes de Las Cruciferae, disminuyen el porcentaje de germinación de esporas del hongo *Glomus mosseae* que es formador de micorriza vesículo arbuscular (El-Atrach *et al.*, 1989 ; Vierheilig y Ocampo, 1990).

Los extractos de raíz de col y rabano, inhiben la infección de los hongos MVA en plantas de alfalfa creciendo en recipientes que contienen arena y vermiculita (Ocampo *et al.*, 1986). El porcentaje de germinación de las esporas de hongos MVA, disminuye en forma significativa cuando éstas se encuentran en un medio de cultivo que contiene extractos de raíz de col (Ocampo *et al.*, 1986). Según El-Atrach *et al.*, (1989) los compuestos volátiles de las raíces de la col son los que decrecen el porcentaje de germinación de las esporas.

La familia Cruciferae contiene gran cantidad de compuestos que inhiben la germinación de hongos patógenos (Angus, 1994). Las plantas de esta familia producen Isotiocianatos con gran actividad antifúngica (Drobnica *et al.*, 1967). En los extractos de raíz de *Brassica oleracea*, se encontraron inhibidores de la germinación de esporas de *Glomus mosseae*. Sin embargo, estos compuestos son afectados por cambios en la temperatura, de tal forma que su efecto depende de este factor (Vierheilig y Ocampo, 1990). Las raíces frescas de *Brassica kaber* y *Brassica nigra* inhiben la germinación de esporas de *Glomus intraradices*; los compuestos antifúngicos son derivados de glucosinatos: 4-hidroxibenzil isothiocianato e Isotiocianato. Asimismo, los extractos de *Brassica kaber* reducen la germinación de *Glomus etunicatum* en un 33 %, en comparación con el 84 % de el control (Schreiner y Koide, 1993).

En cambio, Glenn *et al.*, (1988) demostraron que el crecimiento del tubo de germinación de las esporas MVA, no se ve afectado por la presencia o proximidad de plantas no hospederas. Además, encontraron que la micorriza de una planta hospedera no se afecta por la proximidad de una planta del género *Brassica*. Las raíces de *Brassica* en condiciones naturales no son colonizadas por hongos MVA, asimismo los glucosinatos no estimula la formación de las micorrizas.

2.1.7.- Participación de lípidos, aminoácidos y azúcares en el desarrollo de la micorriza.

Se ha encontrado que los niveles bajos de fósforo en las plantas, pueden ocasionar la reducción de los fosfolípidos que determinan la permeabilidad de la membrana; esto provoca un aumento en la cantidad de aminoácidos y azúcares reducidos en los exudados de las raíces lo que favorece el establecimiento del hongo MVA (Ratnayake *et al.*, 1978 ; Graham y Menge, 1982). En un cultivo de naranja agria en suelo inoculado con *Glomus mosseae*, y con bajo nivel de fósforo, se encontró un aumento en la cantidad de azúcares reducidos en los exudados radicales (Nemec y Guy, 1982). La presencia de los azúcares en los exudados se considera un factor importante en la formación de micorrizas en las plantas hospederas (Mada y Bagyaraj, 1993).

Ciertas variedades de trigo, presentan en sus exudados bajas concentraciones de azúcares reducidos; esto explicaría la falta de infección en sus raíces (Azcon y Ocampo, 1981). Plantas como la col y el rabano, presentan en sus exudados una concentración baja de azúcares reducidos, lo cual debe afectar la germinación de las esporas y la falta de micorrizas en sus raíces (Azcon y Ocampo, 1984).

En algunos casos en que la germinación de esporas de MVA ha sido inhibida por exudados de *Brassica*, se encontró que los aminoácidos lisina y arginina restablecen la germinación. Los aminoácidos glicina, y principalmente, la lisina, estimulan el crecimiento de las esporas de hongos MVA (Hepper, 1983).

2.2 Selección de las plantas alelopáticas.

Las plantas con potencial alelopático, que fueron seleccionadas para evaluar su efecto sobre los hongos micorrízicos, son las siguientes.

Chenopodium ambrosioides, L. (Chenopodiaceae), " epazote ".

La familia de las Chenopodiaceae está integrada por 100 géneros y 1,400 especies. Esta familia esta reportada como no micorrizable. Las plantas son herbáceas, arbustivas, y en ocasiones, suculentas. Presentan flores hermafroditas o unisexuales. En esta familia, encontramos especies de uso alimenticio como la espinaca, *Spinaca oleracea*, L.

El epazote, es una planta herbácea común en todo México, de ciclo de vida anual o perenne; sus hojas son lanceoladas, dentadas y muy olorosas, tiene un tallo simple y una inflorescencia en forma de espiga con numerosas flores.

El epazote es una planta nativa de América Tropical (Munz, 1975). En México se cultiva ampliamente en los estados de Chihuahua, Durango, Jalisco, Oaxaca, Queretaro y Veracruz.

En la cocina mexicana se emplea como condimento y algunas personas lo utilizan como purgante y vermífugo.

El epazote es considerado como una planta que interfiere con el crecimiento de otras plantas (Jimenez-Osornio, 1991). Además puede afectar a algunos virus (Verma y Baranwal, 1983), nemátodos (Garcia-Espinoza, 1980), hongos (Dubey *et al.*, 1987) e insectos (Petersen *et al.*, 1989).

Chenopodium ambrosioides es una planta con un alto potencial alelopático; el principal componente del aceite de plantas frescas en floración y fructificación de *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminticum*, es el ascaridol, monoterpenoide con actividad antihelmíntica que es tóxico para los mamíferos (Harborne y Baxter, 1993). Este compuesto actúa, también como aleloquímico y disminuye la germinación de *Amaranthus hypochondriacus* en un 50 %, respecto al control (Jiménez-Osornio, 1991).

Amaranthus hypochondriacus L. (Amaranthaceae), "amaranto".

La familia de las Amaranthaceae esta formada por 60 géneros y 800 especies (Feine *et al.*, 1979). Esta familia se considera no micorrizable y está constituida por plantas herbáceas de ciclo de vida anual que poseen una inflorescencia compuesta en la parte terminal. Las especies del género *Amaranthus* poseen brácteas escariosas, un perianto y flores muy aglomeradas en una espiga. Entre las especies comestibles se encuentran *Amaranthus hypochondriacus*, *A. caudatus* y *A. cruentus*.

A. hypochondriacus es una planta herbácea anual con hojas enteras lanceoladas, pecioladas y ovaladas, con un matiz rojizo apreciable desde la plántula. La inflorescencia es terminal de 50 cm de largo con flores pequeñas, que al ser polinizadas desarrollan un pequeño fruto en forma de cápsula.

Se piensa que el cultivo de amaranto, se inicia desde hace 7000 a 9000 años (Del Amo *et al.*, 1988). Semillas de este género fueron encontradas en zonas arqueológicas de Estados Unidos de América, México y Perú.

El amaranto es originario del suroeste de Estados Unidos y norte de México, y por migraciones se trasladó a la Meseta Central y hasta el sureste de México. En épocas prehispánicas, los mayas, también, cultivaban amaranto y lo adoptaron en su alimentación.

En la region central de México, *A. hypochondriacus* era uno de los cultivos básicos y una de las fuentes principales de alimento. También se utilizaba en las ceremonias religiosas para elaborar figuras que representaban a dioses. Esta planta era utilizada en las ofrendas a Huitzilopochtli.

Durante la conquista su cultivo fue suprimido por la iglesia católica con el objeto de erradicar las ceremonias donde el amaranto cumplía una función religiosa importante.

En la actualidad los campos de cultivo mas importantes se encuentran en el Distrito Federal, Morelos, Oaxaca y Puebla (Alejandre, 1986).

Ipomoea purpurea, L. (Convolvulacea) " manto ".

La familia de las Convolvulacea esta compuesta por 53 géneros y 1,100 especies. Esta familia esta considerada como micorrizable. Las plantas pueden ser herbáceas, arbustos o rastreras, con ciclos de vida anual o perenne. Las flores son hermafroditas actinomorfas, solitarias, axiales y con brácteas. En esta familia se encuentra la especie *Ipomoea batatas* (camote) planta alimenticia muy cultivada en México.

Ipomoea purpurea es una planta enredadora anual, ramificada, de tallos y ramas pubescentes, con hojas ovaladas enteras con ápice agudo. La flor solitaria con una corola infundibuliforme de color azul a rosada. El fruto es una cápsula indehisciente.

Los aztecas consideraban a algunas plantas del género *Ipomoea* como medicinales y eran utilizadas como purgante (Martinez, 1979). *I. purga* contiene un poderoso catártico. *I. purpurea* es empleada para la diabetes. Además se le han encontrado propiedades antihelmínticas, antihistamínicas y diuréticas (González Elizondo, 1984).

Las semillas de *I. tricolor* poseen efectos alucinógenos, pues contienen, alcaloides del ergot o indol con estas propiedades. Como otras especies del género *Ipomoea*, *I. tricolor* posee una mezcla de resinas glicosídicas (con efectos purgantes), que en el caso de *I. tricolor*, tiene como compuesto mayoritario a la Tricolorina A, que inhibe la germinación y el crecimiento de diversas plantas como *Amaranthus leucocarpus* y *Echinochloa crusgalli*. Este aleloquímico es capaz, también, de afectar a las larvas del crustáceo *Artemia salina* y tiene efectos bactericidas sobre *Staphylococcus aureus* (Pereda, 1994). *I. tricolor* y otras especies de *Ipomoea* son utilizadas por algunos campesinos en el trópico de México para proteger el suelo en la época de descanso de éste, ya que controla el crecimiento de malezas y enriquece de materia orgánica el suelo.

2.3.- Selección del suelo.

Se seleccionó un suelo calcimagnésico como sustrato para el crecimiento de las plantas alelopáticas y para los experimentos realizados.

2.3.1.- Características de los suelos calcimagnésicos y la importancia de su contenido en fósforo para la formación de micorrizas.

Los suelos calcimagnésicos comprenden los suelos esmectíticos formados por la hidrólisis y la desilicatación moderada de materiales calcáreos, cálcicos y rocas básicas como el basalto.

Estos suelos presentan un adecuado abastecimiento de iones alcalinoterreos Ca^{++} - Mg^{++} o hierro, además presentan un elevado contenido de arcilla, con un pH mayor de 6 en el horizonte superficial y un decremento en la cantidad de materia orgánica a medida que aumenta la profundidad.

Los suelos del municipio de Xochitepec, en Morelos, de donde se obtuvieron las muestras para los experimentos, se han clasificado como Foezem eútricos calcarios y leptosoles rendzínicos de acuerdo a la clasificación de la FAO-UNESCO (1988). Parte del suelo de la zona de Alpuyeca, Morelos pertenece a la clase de suelos calcimagnésicos de la subclase sialíticos carbonatados del grupo de las rendzinas (Gama, 1996).

Los suelos presentan una profundidad variable de 20 cm a 2 m, y una gama de coloraciones que van del negro al gris claro. Teóricamente estos suelos presentan una alta capacidad de retención de fósforo.

La retención de fósforo se refiere a la conversión del fósforo soluble en una forma insoluble, de tal manera que se aumenta la concentración de fósforo en el suelo.

Existen diferentes formas de transformación del fósforo soluble a insoluble; en ellas influyen directamente los factores físicos y químicos del suelo. Los suelos con textura fina se caracterizan por retener más el fósforo, que los suelos de textura gruesa. En suelos con pH de 6 a 7, las arcillas y cationes Ca^{++} - Mg^{++} presentes en

el suelo, se combinan con el fósforo, siendo estos dos los factores más importantes en la retención de fósforo (Ortiz y Ortiz, 1984).

En el suelo el pH es un factor que influye en la retención del fósforo; en condiciones de pH menores a 5.5, los iones de aluminio y hierro se vuelven más solubles, combinándose con iones fosfato y produciendo compuestos con poca solubilidad. En suelos alcalinos, los carbonatos de calcio participan en la retención del fósforo. Además los cationes de Ca^{++} y Mg^{++} tienen una gran afinidad por los iones PO_4^- ; en caso de reaccionar con el fósforo se forman fosfatos insolubles que se precipitan con facilidad (Buckman y Brady, 1966).

En el suelo el 95 o 99 % del fósforo se encuentra en forma de compuestos orgánicos o inorgánicos insolubles (Azcón y Barea, 1980), de tal forma que el suelo contiene bajos niveles de concentración de fósforo asimilable; los suelos agrícolas de este tipo requieren de un aporte de fósforo a través de los fertilizantes.

El fósforo asimilable es aquel fósforo presente en el suelo que es aprovechado por las plantas para su nutrición. El fósforo es un elemento importante para las plantas debido a que participa en procesos fisiológicos fundamentales, como la captación, almacenamiento y transferencia de energía mediante el ATP, y los mecanismos de regulación metabólicas donde interviene el AMP cíclico; el fósforo es un elemento estructural y funcional de los ácidos nucleicos.

Las limitaciones que presentan las plantas en la asimilación del fósforo del suelo son:

- A. El fósforo es poco soluble y su desplazamiento es lento en el suelo.
- B. La demanda de fósforo por parte de la raíz es mayor a la movilidad del fósforo en el suelo, lo que provoca una zona deficiente de fósforo alrededor del sistema radical.
- C. La intervención de los microorganismos en la solubilización y mineralización del fósforo, no es suficiente para equilibrar la velocidad de conversión de fosfatos insolubles a solubles.
- D. El fósforo es retenido por cationes, arcillas y coloides en el suelo.
- E. Un pobre sistema radical afecta la asimilación de fósforo, por ello, como en el caso de *Paspalum notatum* presenta largos pelos radicales, su absorción es deficiente, es necesario que las plantas se asocien con hongos micorrízicos.

Las raíces han logrado satisfacer su necesidad de fósforo por medio de la asociación con los hongos micorrízicos, de tal manera que pueden vivir en condiciones de baja concentración de este importante elemento.

El hongo micorrízico facilita la conversión del fósforo insoluble a soluble, como lo demostraron Mosse, (1981); en sus experimentos; donde las plantas crecieron en forma aceptable, a pesar de que la fuente de fósforo que se puso a disposición era fosfato de hierro que es poco soluble.

La Micorriza VA tiene un papel importante en la conversión química de compuestos insolubles de fósforo en compuestos solubles. El hongo forma oxalatos que tienden a unirse con iones de calcio, magnesio, fierro y aluminio, disminuyendo las uniones de los cationes con el fósforo (Allen y Allen, 1990).

El hongo micorrízico es más eficiente en el aprovechamiento del fósforo que otros microorganismos de la rizosfera y la misma raíz. El mecanismo de asimilación consiste en convertir el fósforo soluble en polifosfatos de dos maneras: el polifosfato presenta gran movilidad debido a su solubilidad y se desplazaría hasta el sistema radical de la planta; la unión de polifosfato con aminoácidos y cationes hace que se forme un gránulo metacromico menos soluble, con baja movilidad.

HIPOTESIS.

En base en los anteriores antecedentes, la hipótesis planteada para el presente trabajo fué la siguiente:

1.- Los lixiviados de las partes aéreas y los exudados radicales de las plantas alelopáticas, contienen compuestos secundarios que son capaces de inhibir la germinación de las esporas de los hongos micorrízicos vesículo arbusculares, e impedir la colonización de las raíces.

OBJETIVOS

Con base en la hipótesis, se fijaron los siguientes objetivos para el presente trabajo:

1.- Determinar el efecto de los lixiviados acuosos de raíces y parte aérea de algunas plantas alelopáticas, con importancia económica como: *Ipomoea purpurea*, L. (Convolvulacea), *Amaranthus hypochondriacus*, L. (Amaranthaceae) y *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), sobre la germinación de esporas de hongos micorrízicos vesículo arbusculares.

2.- Investigar si la falta de micorrizas en las raíces de estas plantas no micorrizables como: *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides*, está determinada por la inhibición de la colonización de hongos micorrízicos vesículo arbusculares, provocada por los compuestos lixiviados de partes aéreas y exudados por las raíces de estas plantas.

3.- Investigar si las plantas con potencial alelopático, *Ipomoea purpurea*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides*, son capaces de interferir con el movimiento de los hongos MVA en el suelo e impedir con ello que las raíces de las plantas vecinas se formen micorrizas.

MATERIALES Y METODOS

5.1- Bioensayos en el laboratorio.

5.1.1.- Origen del inóculo micorrízico.

Para la realización de los bioensayos *in vitro*, se recurrió a diferentes fuentes para obtener las esporas de los hongos MVA.

La primera fuente de inóculo se trataba de un cultivo monósporicos (cultivo que se obtiene a partir de una spora) de una cepa de *Glomus fasciculatum* originaria de Rothamsted, U. K., que fue donada por la Dra. Barbara Mosse. Esta cepa ha sido conservada y propagada por el M. en C. Sergio Palacios Mayorga jefe del Departamento de Edafología del Instituto de Geología, en plantas de *Allium porrum*, L., en el invernadero del mismo Instituto. Las plantas con el inóculo se encuentran en macetas con capacidad de 3 kg de suelo; éste consiste en una mezcla de arena sílica y suelo calcimagnésico en proporción 1 :1. Para conocer la calidad del inóculo se realizaron dos tipos de pruebas: cuantificación de esporas y viabilidad.

Las esporas se extrajeron del suelo mediante el método propuesto por Jenkins (1964), que consistió en lo siguiente: Se colectaron 100 g de suelo con raíces de la maceta donde creció el hospedero y se guardaron en un vaso de precipitado de 1,000 ml; se agregaron 500 ml de agua potable y 10 ml de una solución de hexametáfosfato al 5 % (agente dispersante); se homogenizó mediante un agitador mecánico durante 5 minutos. Después se decantó la mezcla durante 3 minutos, se vertió la suspensión del suelo a través de una columna de tamices colocados en orden decreciente al diámetro de abertura (.800, .250, .074 mm). Se recuperó el suelo del tamiz de menor abertura y el contenido se pasó a tubos de centrifugación de 50 ml; se adicionó agua potable en los tubos y se centrifugaron durante 2 minutos a 1500 rpm; el sobrenadante fue eliminado. Al residuo se le agregó una solución de sacarosa al 50 % se volvió a centrifugar en las condiciones ya mencionadas; se pasó el sobrenadante por un tamiz (.044 mm), para recuperar las esporas; éstas se lavaron

con agua potable, se pasaron a una caja de Petri (10 X 2 cm) y se añadió agua destilada. La cuantificación de las esporas se realizó por medio de un microscopio estereoscópico.

Las esporas enteras y turgentes se registraron como probablemente viables.

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{No. esporas enteras y turgentes}}{\text{No. total de esporas}} \times 100$$

Para conocer la viabilidad de las esporas se les añadió 5 ml de una solución de bromuro de tetrazolio al .05 %; se dejaron en esta solución durante 72 horas en la obscuridad total, y después se determinó la viabilidad por la coloración que presentaron las esporas. Si las esporas adquirieron un color rojo, violeta o azul se registraron como viables. El porcentaje de viabilidad se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{No. esporas teñidas}}{\text{No. total de esporas}} \times 100$$

La segunda fuente de inóculo consistió en un cultivo monósporico de una cepa de *Glomus mosseae* originaria también de Rothamsted, U.K., y donada igualmente por la Dra. Barbara Mosse. Asimismo esta cepa ha sido conservada y propagada por el M. en C. Sergio Palacios Mayorga, como anteriormente se mencionó. La producción del inóculo consistió en lo siguiente: semillas de tomate, *Physalis ixocarpa* Brot., y maíz, *Zea mays* L., (previamente desinfectadas con hipoclorito de calcio 7.5 %) germinaron en arena sílica estéril dentro de tubos de PVC y en cajas de Petri en una cámara de ambiente controlado. Se prepararon 40 macetas que se desinfectaron con alcohol de 96%; cada una con capacidad de 250 g de suelo; en éstas, se adicionaron 200 g de suelo formado por una mezcla 1:1 de suelo calcimagnésico y arena sílica, ambos esterilizados; las macetas se cubrieron con bolsa de plástico para evitar contaminación. Al tercer día de que emergieron las plántulas, se extrajeron esporas de la cepa del cultivo monósporico de *G. mosseae* (utilizando el método ya mencionado) que se conservaron en cajas de Petri con agua destilada. Para iniciar la inoculación se sacaron 20 plántulas de tomate o 2 de maíz de los tubos de PVC o de las cajas de Petri y se colocaron en una caja de Petri estéril. Las esporas mantenidas en cajas de Petri con agua, se separaron en grupos de 25, con la ayuda de una aguja entomológica, al microscopio estereoscópico; se absorbieron con una pipeta Pasteur y

se colocaron directamente en las raíces de las plántulas recién sacadas. Estas se transplantaron a las macetas con suelo estéril, se regaron y se cubrieron con un recipiente transparente. Las condiciones de temperatura del invernadero fueron de una mínima de 25 °C promedio y una máxima de 30 °C promedio. Cada 15 días, se adicionó a las plántulas una solución nutritiva (Long Ashton).

La evaluación de la colonización se realizó cuando las plantas empezaron la etapa de floración. Se tomaron 20g de suelo de cada maceta, se extrajeron las esporas con el método ya mencionado, se contaron y se evaluó su viabilidad con los procedimientos ya señalados.

La tercera fuente de esporas fue un cultivo tradicional de *Allium cepa*, L. sembrado en una chinampa en Xochimilco D. F. Las esporas se extrajeron del suelo mediante el método de Jenkins (1964) y se les evaluó la viabilidad, y la cantidad de esporas, como ya se mencionó.

5.1.2.- Bioensayo con esporas y lixiviados.

5.1.2.1.- Obtención del material vegetal para los lixiviados.

Semillas de las plantas alelopáticas que se emplearon para los lixiviados fueron sembradas en un bancal con las siguientes medidas 4.5 m de largo, 1 m de ancho y 0.5 m de profundidad.

El bancal se dividió en tres partes iguales, separadas con barreras de plástico para evitar la mezcla de las raíces de unas especies con otras. Se sembraron semillas de *Chenopodium ambrosioides*, *Ipomoea purpurea* y *Amaranthus hypochondriacus* en cada compartimento.

En cada compartimento se hicieron 3 surcos. La forma de sembrar consistió en colocar una hilera de semillas en el hueco que se encuentra a lo largo del surco. Los surcos fueron sembrados a diferentes tiempos. El primer surco se sembró el 8 de noviembre de 1995. El segundo, 15 días después y el tercero, 30 días después. Para evitar la evaporación del suelo el bancal fue cubierto con una malla de sombra del número 60.

Cuando las plantas se encontraban en etapa de floración, se retiraron del bancal, se pusieron a secar y se guardaron en bolsas de papel. En el bancal se conservó siempre un lote de plantas.

5.1.2.2.- Elaboración de los lixiviados acuosos de las plantas alelopáticas.

Para la elaboración de los lixiviados acuosos de las raíces y partes aéreas de las plantas alelopáticas (*Ipomoea purpurea*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides*), frescas y secadas al aire, se siguió el procedimiento que se describe a continuación.

En un matraz Erlenmeyer de 125 ml, se colocaron 2 g de planta seca o 20 g de planta fresca y 100 ml agua destilada; se tapó el recipiente y se dejó remojando el material durante 3 horas con el fin de extraer los compuestos hidrosolubles; el matraz se agitó vigorosamente cada hora. La solución obtenida se filtró con papel filtro Whatman número 1. A cada lixiviado se le midió la presión osmótica en un osmómetro de punto de congelación - 0.186 °C. Modelo Osmette A 500 Precision Sistem Inc. La medición de la presión osmótica de los lixiviados es muy importante, pues éstos no deben rebasar los límites de tolerancia a la presión osmótica de las esporas de los hongos MVA. Se considera en general que una presión osmótica menor a 30 mosm/l es adecuada para cualquier bioensayo (Kelly y Budd, 1990).

Los tratamientos aplicados *in vitro* sobre las esporas de *Glomus sp.*, fueron los siguientes:

Lixiviados acuosos de las raíces frescas y secas de *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*.

Lixiviados acuosos de las partes aéreas secas de estas tres especies.

5.1.3.- Preparación y realización de los bioensayo con esporas.

El material de vidrio, el agua y el agar se esterilizaron a 121 °C durante 20 minutos, un día antes del bioensayo.

Los siguientes pasos del bioensayo se realizaron en una campana de flujo laminar para mantener el material en condiciones estériles y evitar la contaminación durante los procedimientos metodológicos.

Las esporas de los hongos VAM extraídas por el método de Jenkins (1964) se desinfectaron colocándolas en una solución con cloramina T (20 mg) y 400 ml de una solución detergente (una gota de Tween 80 en 1000 ml de agua destilada estéril) durante 20 minutos; Las esporas se lavaron después durante 5 ocasiones con agua destilada estéril y se colocaron en una caja de Petri esterilizada.

Por otro lado, los lixiviado se filtraron a través de millipore para esterilizarlos. A cada 25 ml del lixiviado se le adicionó una mezcla de antibióticos (Clortetraclina 10 mg y Estreptimicina 20 mg) y se les agregó 25 ml de agar al 2 %. Seis ml de ésta mezcla se vacían en una caja de Petri (60 X 15 mm), y se dejan solidificar. El control consistió en una mezcla 1:1 de agar al 2 % y agua potable esterilizada. En cada caja de Petri se colocaron 10 esporas; cada tratamiento se realizó con 5 repeticiones en un diseño de bloques al azar. Las cajas fueron selladas con parafilm y se incubaron a 28 °C, que según Safir *et al.*, (1990) es la temperatura donde los hongos MVA incrementan la germinación y elongación de la hifa germinativa, esto durante 15 días. La evaluación de la germinación se realizó cada tercer día.

El porcentaje de germinación de las esporas se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{No. esporas germinadas.}}{\text{No. Total de esporas.}} \times 100.$$

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza.

5.2 Selección y análisis del suelo

5.2.1.- Selección del suelo para los experimentos en macetas.

Para los experimentos en macetas se seleccionó un suelo calcimagnésico con una concentración baja de fósforo, ya que en suelos deficientes de este elemento, las plantas están obligadas a formar micorriza para satisfacer sus necesidades de

fósforo, como lo reportan Azcon *et al.*, 1978 ; Black y Thinker, 1978 ; Reeves *et al.*, 1979 ; Graham y Menge, 1982 ; Jean y Ferrera-Cerrato, 1989.

El suelo seleccionado es calcimagnésico, unidad rendzinas (FAO UNESCO 1988), y se colectó en la localidad de Alpuyea, Municipio de Xochitepec, Morelos; Alpuyea se localiza entre los paralelos 18° 59' de latitud norte y 99° 59' de longitud oeste; a una altitud de 1054 m.

Esta región presenta las siguientes características, su clima es de tipo subtropical húmedo caluroso; con una temperatura anual de 22.5 °C, con un precipitación medía de 1,109 milímetros al año, con un periodo de lluvias entre los meses de junio y octubre, y una evaporación media de 2203.5 milímetros por año.

Se eligió un terreno agrícola plano utilizado como lote experimental, propiedad del ingeniero Raymundo Mérida Rivera en el ejido de " Campo Ameyalco" en Alpuyea. De ahí se colectaron muestras en cuatro puntos escogidos al azar, en forma de zig-zag, hasta una profundidad de 30 cm. El suelo colectado se guardó en costales y se transportó al invernadero del Instituto de Geología. Se homogeneizó, se pasó por un tamiz (2 < mm) y se dejó secar durante 3 días, después, se almacenó en bolsas de plástico blancas translúcidas.

5.2.2.- Pruebas físico-químicas del suelo.

Los análisis del suelo se realizaron en el Departamento de Edafología del Instituto de Geología , UNAM.

El pH del suelo se determinó, potenciométricamente, en una relación de 1 : 2.5 de suelo calcimagnésico y agua destilada.

Para calcular la cantidad de fósforo asimilable en el suelo, se utilizó el método de Olsen y Somers (1982).

Para determinar el peso seco se calentó un terrón a 60 °C, hasta que se presentó un peso constante.

Para la determinación de la densidad aparente, se siguió el método de la probeta, modificado por Blake (1965).

Para la determinación del nitrógeno total, se utilizó el procedimiento Kjeldhal (1970).

En la determinación de materia orgánica, se siguió el método de Walkey y Black, (1974).

La capacidad de retención de fósforo en el suelo, se determinó según el método de Fitts y Waugh (1960).

La capacidad de intercambio catiónico se determinó por el método de percolación y filtración, saturando con acetato de amonio 1N pH 7 (Jackson, 1964).

5.3.- Pruebas para evaluar el potencial de colonización de los propágulos de hongos MVA presentes en el suelo.

Para conocer la viabilidad de los propágulos MVA nativos del suelo, se realizó un experimento, utilizando como recipiente un almácigo que contenía 100 conos con una capacidad de 25 g de suelo cada uno.

Para esta valoración se utilizó el método de " diluciones " (variante de la metodología de Sieverding para determinar el número más probable de propágulos micorrízicos viables, en Sieverding, 1991) que consistió en reducir el número de propágulos presentes en el suelo, mediante su mezcla con suelo estéril iniciándose con la proporción, 10 g de suelo con propágulos: 90 g de suelo estéril para obtener la dilución 10^{-1} . Se manejó hasta la dilución 10^{-5} , debido a que es la última dilución en la que se reporta la presencia de propágulos.

La dilución más alta 10^{-1} se formó mezclando homogéneamente 15 g de suelo seco con propágulos nativos y 135 g de suelo estéril, así se obtuvo la dilución 10^{-1} . A partir de esta dilución se prepararon las demás. La dilución 10^{-2} se preparó mezclando 15 g de suelo de la dilución 10^{-1} y 135 g de suelo estéril; este procedimiento se repitió hasta lograr la dilución 10^{-5} . El testigo contenía exclusivamente suelo estéril. En el almácigo se utilizaron 5 conos por tratamiento.

En cada cono se colocaron 20 g de suelo del tratamiento, respectivo. La forma de sembrar consistió en adicionar 10 g de suelo en el cono, después se colocaron 20 semillas de tomate dentro del cono (con un porcentaje de germinación de 90 %), previamente desinfectadas con hipoclorito de calcio al 7.5 % (concentración necesaria para eliminar esporas de hongos), y por último, se cubrieron con otros 10 g de suelo. Cuando se terminó de sembrar, se humedeció el suelo, se cubrió el almácigo con una bolsa de plástico para conservar la humedad y se trasladó al invernadero.

Al emerger las plántulas, se retiró la bolsa de plástico y se colocó un domo transparente sobre el almácigo durante una semana, para evitar que se etiolaran las plántulas y se siguiera conservando la humedad para la germinación de las semillas.

La duración del experimento fue de dos meses a partir de la emergencia de las primeras plántulas. Al transcurrir una semana de haber aparecido las primeras plantas se dejaron 10 plántulas por cada cono. El rango de temperatura dentro del invernadero fue de una mínima promedio de 25 ° C y una máxima promedio de 30 ° C. Las plántulas se regaron diariamente.

Para evaluar la presencia de colonización micorrízica se tiñeron las raíces por medio de la técnica de clareo y tinción propuesta por Kormanik *et al.*, (1980), que consistió en lo siguiente: Al término del experimento, las plantas se extrajeron del cono, se lavaron las raíces para retirar el suelo que estaba adherido a ellas. Se cortaron las raíces y se colocaron en un frasco esterilizado. Se cubrieron con KOH 10 % y se tapo el frasco con papel aluminio; se calentó durante 10 minutos a 10 Lb en una autoclave (con la finalidad de aclarar las raíces), se retiró el exceso de KOH y se lavó con agua destilada. Después se agregó peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 10 % durante 3 minutos (para contrastar la estructura del hongo); se retiró el H₂O₂ y se lavó con agua destilada. Se acidificó con HCl al 10 % durante 6 minutos para neutralizar el KOH; se retiró el ácido sin lavar las raíces. Estas se sumergieron en una solución de azul de tripano al .05 % (como colorante), se cubrió el frasco con papel aluminio, se calentó en la autoclave durante 10 minutos a 10 Lb de presión. Por último se retiró el colorante y para eliminar el exceso de éste se añadió lactoglicerol, que además nos permitió conservar las raíces teñidas.

El método que se utilizó para estimar el grado de colonización en las raíces consistió en observar a las raíces al microscopio estereoscópico colocadas en una caja de Petri.

Los campos microscópicos de una raíz que mostraban colonización, se registraron como positivos, y los que no la mostraban, como negativos.

5.4.- Experimento en el invernadero.

Para este experimento, se utilizaron recipientes rectangulares de plástico (45 X 15 cm) con una capacidad de 4 kg de suelo. Cada recipiente se dividió en 3 compartimentos independientes e iguales. Para ello se utilizó tela de nylon, la cual se pegó, con resistol al fondo y las paredes laterales del recipiente. De esta manera se impidió que las raíces de las plantas de cada compartimento invadieran los compartimentos continuos.

El diseño experimental de este experimento en el invernadero consistió en lo siguiente:

Cada compartimento se llenó con el mismo tipo de suelo, el suelo calcimagnésico. En el compartimento de enmedio, se sembró la planta alelopática correspondiente en 1 kg de suelo esterilizado; en uno de los compartimentos laterales se sembraron 60 plantas de tomate verde (*Physalis ixocarpa* Brot., Solanaceae., que es micorrizable) en 900 g de suelo estéril más 100 g de suelo no estéril que contenía el inóculo de MVA nativo, y en el otro compartimento lateral, se sembraron otras 60 plantas de tomate verde en 1 kg de suelo estéril (Figura 1, 2 y 3).

Los compartimentos con suelo estéril, recibieron un riego cada 15 días con una solución acuosa de suelo (1:1) no estéril, previamente filtrada con papel Whatman No. 4. Esta solución de suelo no estéril llevaba las bacterias nativas del suelo, pero no el micelio ni las esporas de los hongos MVA, ya que el papel filtro las detiene. Se adicionaron estas bacterias al suelo estéril, ya que se ha señalado la importancia de su presencia, como un factor que promueve la colonización de las raíces por los hongos MVA.

Todas las semillas utilizadas en este experimento, las de tomate y las de plantas alelopáticas, se desinfectaron previamente con una solución de hipoclorito de calcio al 7.5 %.

El objetivo de este experimento fue el de observar la influencia de la planta alelopática situada en el compartimento central (en suelo estéril), sobre el movimiento del micelio de los hongos MVA de las raíces de las plantas de tomate inoculadas, situadas en uno de los compartimentos laterales, a través del suelo del recipiente, pasando inclusive por las raíces de la planta alelopática, hasta las raíces de las plantas de tomate, situadas en el compartimento lateral contrario (en suelo estéril). La

hipótesis de este experimento fue que los lixiviados de las partes aéreas y los exudados radicales de la planta alelopática interferirían con el movimiento del micelio del hongo micorrízico VA y no permitirían su paso hasta las plantas de tomate en suelo estéril, y por lo tanto impedirían la colonización de las raíces de éstas últimas.

Para este experimento se utilizaron 3 especies de plantas alelopáticas:

Ipomoea purpurea (Convolvulacea), considerada micorrizable.

Amaranthus hypochondriacus (Amaranthaceae), considerada no micorrizable.

Chenopodium ambrosioides (Chenopodiaceae), considerada no micorrizable.

Se realizaron 3 repeticiones para cada planta alelopática. De esta manera se tenían 3 recipientes con *Ipomoea purpurea*, 3 con *Amaranthus hypochondriacus* y 3 con *Chenopodium ambrosioides*.

Los 9 recipientes se mantuvieron en el invernadero en un rango de temperatura de 25 °C mínima y 30 °C máxima. El experimento tuvo una duración de 9 semanas.

Al finalizar el experimento, las plantas de cada compartimento se extrajeron, se cortaron las raíces, se colocaron en un frasco con la clave correspondiente y el suelo de cada compartimento se almacenó en una bolsa de plástico con la misma clave.

Para cuantificar la cantidad de esporas formadas en la micorriza, se homogenizó el suelo recolectado de cada compartimento, después se tomó una muestra de 100 g para la extracción de esporas mediante el método de centrifugado de Jenkins (1964) ya mencionado.

Para la evaluación del porcentaje de colonización de las raíces, éstas son teñidas con el método Kormanik (1980). Después son fragmentadas en segmentos de 1.5 cm para obtener muestras homogéneas.

Para conocer el porcentaje de colonización micorrízica se emplearon dos métodos: El primero llamado de intersección (Newman, 1966), consistió en colocar una muestra de los segmentos de las raíces, en una caja de Petri de plástico (100 X 15 mm) que fué cuadrículada con 7 líneas verticales y 7 líneas horizontales. Se empleó el microscopio estereoscópico para las observaciones. Para evaluar la colonización se consideró punto positivo cuando una raíz colonizada o varias de ellas se encuentran sobre cualquier línea y de no encontrarse ninguna raíz colonizada sobre las líneas, se consideró punto negativo. El total de líneas evaluadas fue de 200. El porcentaje de colonización micorrízica se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{No.de puntos positivos.}}{\text{No. total de puntos.}} \times 100.$$

Otro método empleado fue el de Hayman y Phillips 1970. Las raíces coloreadas son montadas con lactoglicerol en un portaobjetos en una área de 4 cm de largo por 1.5 cm de ancho; se coloca un cubreobjetos y se sella con esmalte. Después se observaron estas preparaciones al microscopio óptico con un aumento de 40 X. Se hizo un recorrido de los campos microscopicos siguiendo 6 pasajes equidistantes a través de la placa, registrando todos los campos observados, así como los campos colonizados donde se observaron vesículas, independiente de la cantidad. El porcentaje de colonización micorrízica se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{No.de campos colonizados con vesículas.}}{\text{No. total de campos observados.}} \times 100.$$

Los resultados de ambos métodos se sometieron a un análisis de varianza.

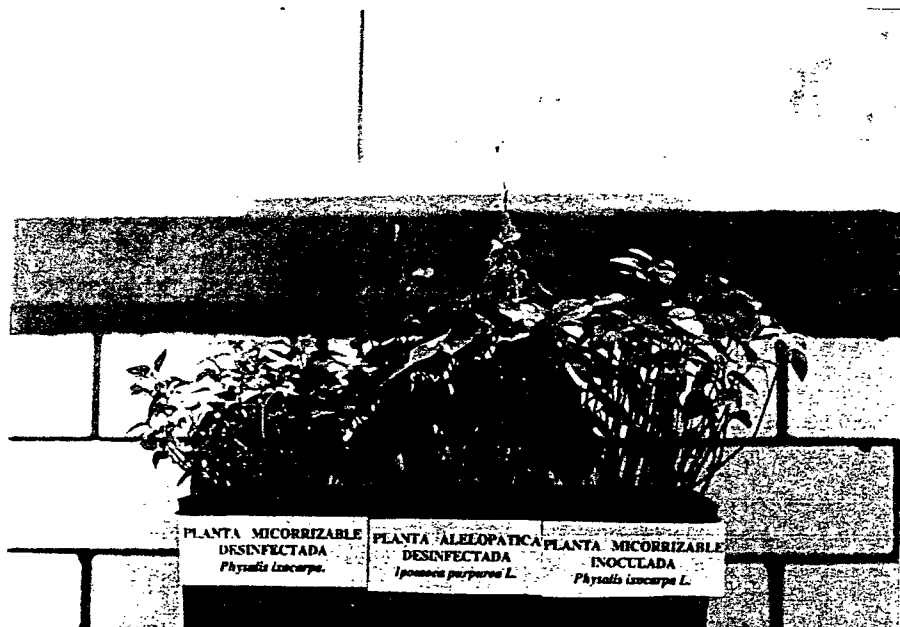


FIGURA 1.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro *Ipomoea purpurea* y a los lados *Physalis ixocarpa*.



FIGURA 2.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro *Amaranthus hypochondriacus* y a los lados *Physalis ixocarpa*.



FIGURA 3.- Modelo de la maceta utilizada mostrando los 3 compartimentos, en el centro *Chenopodium ambrosioides* y a los lados *Physalis ixocarpa*.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1.- Experimento *in vitro* con los lixiviados acuosos de *Ipomoea purpurea*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

6.1.1.- Selección de las esporas.

En un principio se pensó evaluar el efecto de las plantas alelopáticas (*Ipomoea purpurea*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides*) sobre la germinación de esporas de *Glomus mosseae*, sin embargo, esta cepa tuvo que ser descartada, por que la cantidad de esporas que contenía no era suficiente para los bioensayos; entonces se decidió extraer esporas de un suelo agrícola, utilizado para el cultivo de cebolla en la zona chinampera de Xochimilco D. F. Las esporas utilizadas en los bioensayos presentaban las mismas características morfológicas del género *Glomus* y se clasificaron como *Glomus sp.*

Las esporas fueron extraídas del suelo por el método de centrifugación Jenkins (1964). Apartir de 100 g de suelo se extrajeron en promedio 250 esporas de *Glomus sp*, cantidad suficiente para realizar un bioensayo completo y tener esporas para examinar la madurez. Las pruebas elaboradas con bromuro de tetrazolio indicaron que las esporas empleadas en los bioensayos no tenían una madurez confiable (solo 20 %), en cambio, cuando se consideraron más características (la forma, el tamaño, la resistencia, la presencia de vacuolas, la coloración y su turbidez) se llegó a la conclusión de que la viabilidad era aceptable (80 %) según lo afirmado por Altman (1974): si en las esporas no se observa un cambio de coloración con la prueba de bromuro, esto no debe interpretarse como falta de viabilidad.

En contraste Tommerup (1983) señala que para tener un menor rango de error en los experimentos donde se manejan esporas de hongos MVA, se debe proceder a identificar su viabilidad mediante la prueba de bromuro de tetrazolio, porque el cambio de coloración es un indicar positivo de madurez de las esporas y confirma que no se encuentran en estado latente.

6.1.2.- Efecto de los lixiviados de las partes aéreas secas de *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

El medio de cultivo resultante de la mezcla 1 : 1 de agar al 2 % y el lixiviado respectivo tenía en general un pH ligeramente alcalino, conveniente para la germinación de esporas del genero *Glomus* de acuerdo con Daniels y Trappe (1980), y Siquiera *et al.*, (1984). Watrup (1984) afirma que un rango de pH de 5 a 8, representa las condiciones más convenientes para la germinación de las esporas, *in vitro*.

La adición de los antibióticos estreptomocina (20 mg) y clortetraciclina (10 mg) a los medios de cultivo para evitar la contaminación por bacterias, dió resultado en los medios que contenían lixiviados de las plantas secas, sin embargo, no dió resultado cuando se utilizaron lixiviados de las plantas frescas. En este caso, la contaminación interfirió con la evaluación del bioensayo a apartir del noveno día de iniciado éste. El empleo de antibióticos es indispensables debido a que el simple lavado de las esporas no elimina a todos los microorganismos, y éstos pueden contaminar el medio y producir compuestos estimuladores o inhibidores de la germinación de las esporas MVA, lo que puede interferir con el resultado (Hetrick 1984). Por otro lado Mayo *et al.*, (1986) encontraron que los antibióticos tienen un efecto negativo en la germinación de las esporas en cultivos *in vitro*, cuando se utiliza en altas concentraciones.

Los resultados de la germinación de esporas de *Glomus sp* tratadas con los lixiviados acuosos de las partes aéreas secas de las 3 plantas alelopáticas se pueden apreciar en el cuadro 1.

CUADRO 1. Efecto de los lixiviados de las partes aéreas secas de, *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de las esporas de *Glomus sp.*

T R A T A M I E N T O S						
TIEMPO	<i>Ipomoea</i>	<i>Amaranthus</i>	<i>Chenopodium</i>			
	<i>purpurea</i>	<i>hypochondriacus</i>	<i>ambrosioides</i>			
Porcentaje de esporas germinadas.						
Días	Control	lixiviado	Control	lixiviado	Control	lixiviado
3	1.0 ± 1.0	1.2 ± 0.83	0.4 ± 0.54	0.8 ± 1.3	2.8 ± 0.83	2.0 ± 1.22
9	1.2 ± 1.3	1.4 ± 1.4	0.4 ± 0.54	0.8 ± 1.3	2.8 ± 1.09	1.6 ± 1.14
15	2.6 ± 1.94	1.8 ± 0.83	0.6 ± 0.54	0.8 ± 1.3	2.8 ± 1.09	1.6 ± 1.14

Cada valor indica el promedio de 5 repeticiones.

Los análisis estadísticos indicaron que no hay diferencias significativas entre los tratamientos en este bioensayo. Esto probablemente fue resultado de que el error experimental alcanzó valores muy altos por la baja proporción de esporas germinadas. A pesar de esto, en el caso del lixiviado de *I. purpurea* la germinación de las esporas sufre un decremento a los 15 días de iniciado el experimento. También, se puede apreciar que el lixiviado acuoso de las partes aéreas secas de *A. hypochondriacus* tiende a estimular ligeramente la germinación de las esporas de *Glomus*. Este resultado coincide con lo afirmado por Blakeman y Atkinson (1981) quienes afirman que los lixiviados de ciertas hojas estimulan la germinación de algunas esporas en el suelo. Pero no coinciden con lo encontrado por Pereda (1994) quien reportó los efectos inhibitorios de las partes aéreas de *Ipomoea tricolor* L, sobre hongos patógenos y otros organismos, aunque no considera a los hongos MVA. Tampoco coincide con lo reportado por Ocampo *et al.*, (1986) quien encontró que extractos acuosos de una planta no micorrizable, inhiben la germinación de esporas de hongos MVA.

También es posible que la cantidad de nutrimentos que lleva el lixiviado sea la causa del incremento de la germinación de las esporas (Daniels y Trappe, 1980).

Los lixiviados de *C. ambrosioides* tienden a inhibir la germinación de las esporas de *Glomus sp.*, aunque al igual que en los casos anteriores, estas diferencias no son estadísticamente significativas. Holley y Jones, (1985) ; Mithen *et al.*, (1986) no encontraron un factor inhibitorio en los extractos acuosos de plantas no micorrizables. Por otro lado, St John y Coleman, (1982) reportaron que ciertos microorganismos pueden producir compuestos estimuladores o inhibitorios para los hongos micorrizicos, a partir de restos de plantas.

6.1.3.-Efecto de los lixiviados de las raíces secas de *I. purpurea*, y *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

En el Cuadro 2 se indican los resultados de estos bioensayos.

CUADRO 2. Efecto de los lixiviados de raíces secas de *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

TIEMPO	T R A T A M I E N T O S					
	<i>Ipomoea</i>		<i>Amaranthus</i>		<i>Chenopodium</i>	
	<i>purpurea</i>		<i>hypochondriacus</i>		<i>ambrosioides</i>	
Porcentaje de esporas germinadas.						
Días	Control	lixiviado	Control	lixiviado	Control	lixiviado
3	1.2 ± 0.83	0.0 * ± 0.0	1.2 ± 0.83	0.4 ± 0.54	1.4 ± 0.89	0.4 * ± 0.54
9	1.6 ± 1.14	0.6 ± 0.89	1.4 ± 0.89	0.4 ± 0.54	1.6 ± 1.4	0.4 * ± 0.54
15	2.4 ± 0.89	0.8 ± 0.83	2.6 ± 0.54	1.2 * ± 0.83	1.6 ± 1.4	0.6 ± 0.54

Cada valor indica el promedio de 5 repeticiones * ≥ significativo $\alpha = 0.05$ con respecto a su control.

En las Figuras 4, 5 y 6 se observan los efectos de los lixiviados de las raíces secas de las 3 plantas alelopáticas por separado, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

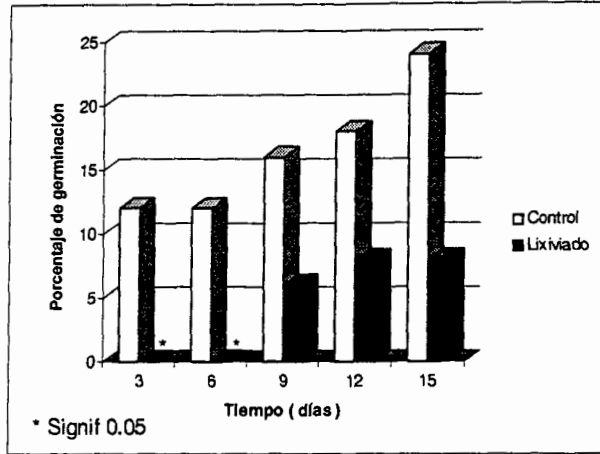


FIG 4. Efecto del lixiviado de las raíces secas de *Ipomoea purpurea* sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

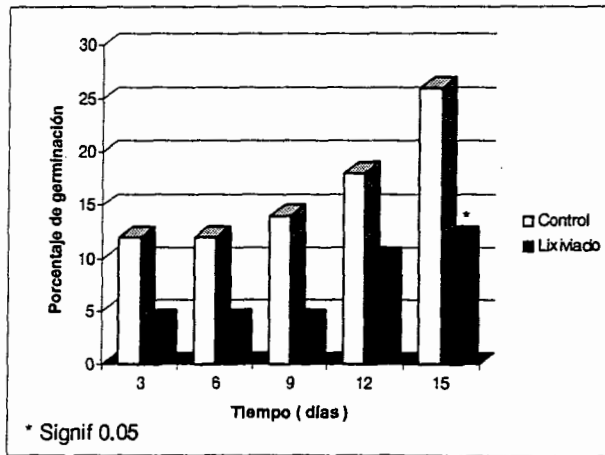


FIG 5. Efecto del lixiviado de las raíces secas de *Amaranthus hypochondriacus* sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

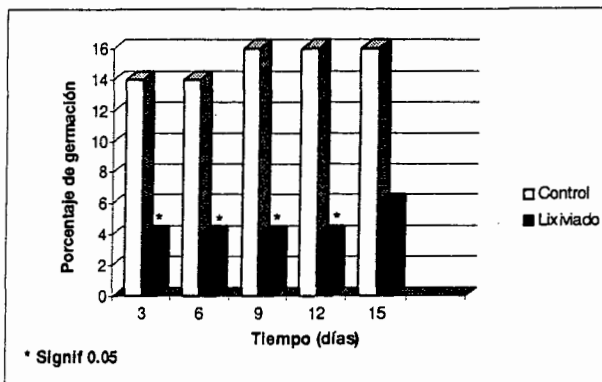


FIG 6. Efecto del lixiviado de las raíces secas de *Chenopodium ambrosioides* sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

Como en el bioensayo anterior, el análisis estadístico mostró altos valores de desviación estandar, lo cual enmascaró la significancia del efecto de algunos lixiviados. Sin embargo la tendencia de los efectos inhibitorios de los lixiviados de las raíces secas de las 3 plantas sobre la germinación de esporas de *Glomus*, es muy clara. A los 15 días, la germinación de las esporas en el lixiviado de *A. hypochondriacus* muestra una tendencia a la recuperación, aunque a estas alturas del experimento es de esperarse que los compuestos contenidos en los lixiviados empiezan a descomponerse.

Al comparar los resultados de estos dos bioensayos, se puede ver claramente la diferencia entre los efectos de las partes aéreas de las plantas alelopáticas y los efectos de las raíces secas de las mismas. Al respecto, la raíz es el órgano de las plantas que se encuentra inmersa en el suelo y en contacto directo con las esporas y micelios de los hongos micorrízicos, y de muchos otros organismos que viven en el sustrato; por lo tanto, es de esperarse que en las raíces residan ciertos compuestos secundarios cuya función está relacionada con la defensa, la inhibición o la estimulación de ciertos microorganismos del suelo. Los metabolitos secundarios de las plantas, que se producen o se almacenan en los distintos órganos de éstas, están relacionados con las adaptaciones de las plantas al tipo de organismos que entran en contacto con estos órganos. Así, las partes aéreas contendrán metabolitos secundarios resultado de la adaptación, por ejemplo, a ciertos herbívoros o

polinizadores. En cambio las raíces, tendrán compuestos secundarios que les confieren la propiedad de defenderse de microorganismos patógenos o bien, de atraer a microorganismos benéficos (Anaya, en prensa).

Lo anterior coincide con los resultados de estos experimentos. Los compuestos contenidos en los lixiviados de las partes aéreas de las tres plantas alelopáticas probadas, no tienen ningún efecto significativo sobre las esporas de *Glomus*, probablemente porque los compuestos secundarios que contienen no son activos sobre este tipo de microorganismo, en cambio los lixiviados de las raíces, muestran un claro efecto inhibitorio sobre la germinación de las esporas, demostrando que están dotadas de aleloquímicos capaces de impedir la germinación de ciertos microorganismos en el suelo. Newman y Watson (1977) afirman que los microorganismos son los encargados de inactivar o activar algunos metabolitos secundarios provenientes de las plantas, de tal forma, que debe considerarse su participación en la dinámica de la ecología química del suelo, y por ende, en los resultados de la presencia o ausencia de ciertos compuestos secundarios y de su efecto sobre la germinación de los hongos MVA y otros organismos, en condiciones naturales.

Numerosos trabajos sobre los efectos de los extractos acuosos de raíces de plantas no micorrizables, sobre la germinación de esporas de hongos MVA, establecen una polémica que aun no ha sido posible aclarar, y muestran resultados contradictorios, por ejemplo, Ocampo *et al.*, (1986) ; Vierheilig y Ocampo (1990), afirman que la germinación de esporas es inhibida por los extractos acuosos de plantas no micorrizables. En cambio Elías y Safir (1987) consideran que las plantas no micorrizables no producen compuestos inhibitorios, pero tampoco estimulatorios. Por otro lado, Fitter *et al.*, (1993) piensan que la germinación de las esporas no está determinada solamente por factores químicos.

En trabajos realizados en suelos, Tobiessen y Werner (1980) encontraron que restos de raíces de *Pinus ponderosa* en el suelo, inhiben significativamente la germinación de esporas de *Glomus*. En cambio Ocampo y Hayman (1981) encontraron que restos de plantas no micorrizables, no afectan la germinación de las esporas.

En el presente trabajo, en todos los experimentos con los lixiviados, se observa que disminuye el efecto de éstos en los últimos días del bioensayo. Este comportamiento, fue también reportado por Ocampo *et al.*, (1986) ; Schreiner y Koide (1993) quienes encontraron que el efecto inhibitorio de plantas no micorrizables sobre los hongos es mayor a los 7 días, que a los 14 días, cuando se incrementa la germinación de las esporas, aunque los porcentajes de germinación obtenidos por ellos fueron superiores al logrado en los bioensayos del presente trabajo.

La pérdida del efecto probablemente se puede explicar por un cambio en la composición química de los lixiviados, como ya se había mencionado. Algunos autores sugieren que la inhibición de las esporas se debe a compuestos volátiles presentes en las plantas no hospederas (El Atrach *et al.*, 1989 ; Vierheilg y Ocampo 1990).

6.1.4.- Efecto de los lixiviados de las raíces frescas de *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

Los efectos de los extractos acuosos de las raíces frescas de las diferentes plantas, sobre germinación de las esporas se muestran en el cuadro 3.

CUADRO 3. Efecto de los lixiviados de las raíces frescas de *I. purpurea*, *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

T R A T A M I E N T O S						
TIEMPO	<i>Ipomoea</i>		<i>Amaranthus</i>		<i>Chenopodium</i>	
	<i>purpurea</i>		<i>hypochondriacus</i>		<i>ambrosioides</i>	
Porcentaje de esporas germinadas.						
días	control	lixiviado	control	lixiviado	control	lixiviado
3	1.0 ± 0.7	0.6 ± 0.54	0.4 ± 0.54	0.2 ± 0.44	1.6 ± 0.54	0.2* ± 0.44
6	1.2 ± 0.83	1.0 ± 0.0	0.6 ± 0.54	0.2 ± 0.44	1.6 ± 0.54	0.2* ± 0.44

Cada valor indica el promedio de 5 repeticiones * ≥ significativo $\alpha = 0.05$ con respecto a su control.

En las Figuras 7, 8 y 9. se observan los efectos de los lixiviados de raíz fresca de plantas alelopáticas no micorrizables por separado sobre la germinación de las esporas de *Glomus sp.*

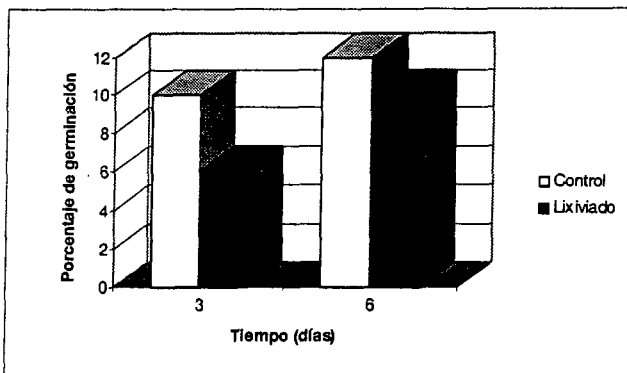


FIG 7. Efecto del lixiviado de las raíces frescas de *Ipomoea purpurea* sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

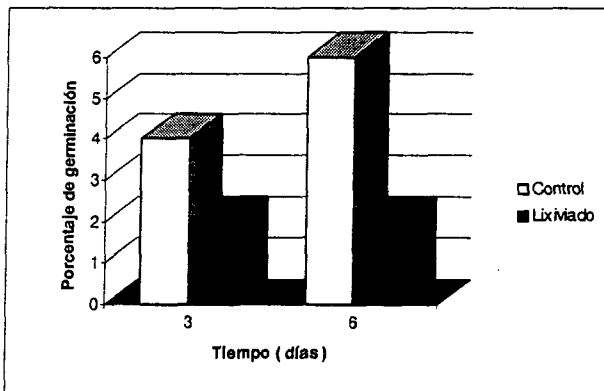


FIG 8. Efecto del lixiviado de las raíces frescas de *Amaranthus hypochondriacus*, sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

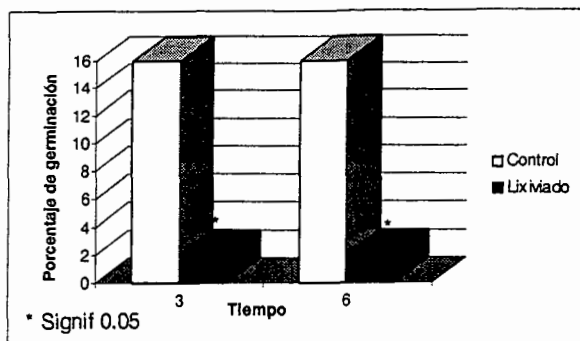


FIG 9. Efecto del lixiviado de las raíces frescas de *Chenopodium ambrosioides* sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*

Cabe aclarar que en la mayoría de las repeticiones de cada tratamiento se presentó un alto índice de contaminación, por lo que las mediciones de germinación sin interferencia se realizaron en el tercero y sexto días.

Al igual que los lixiviados de las raíces secas, los de las raíces frescas, tuvieron también un efecto inhibitorio sobre la germinación de las esporas de *Glomus sp.*, aunque este efecto inhibitorio es menos acentuado.

Los lixiviados de la raíz fresca de *Ipomoea purpurea* producen un 40 % de inhibición de la germinación de las esporas a los 3 días, en comparación con el control. Pero a los 6 días, este efecto inhibitorio ha disminuído y sólo alcanza el 16 %. Al parecer, las esporas logran recuperarse más rápidamente en presencia de los metabolitos secundarios de las raíces vivas de *I. purpurea*. En cambio con los lixiviados de raíces secas, la inhibición de 100 % a los 3 días, disminuye alrededor de 30 % a los 9 días y 15 días, y parece mantenerse más tiempo, lo que no sucede con el de raíces frescas. Esta diferencia probablemente se debe a que la concentración de aleloquímicos en los lixiviados de las raíces secas es mayor que la de los lixiviados de raíces frescas. Estos resultados deben tomarse con cierta reserva, puesto que las especies del género *Ipomoea* son micorrizables, lo que indica que es necesario considerar otros factores ambientales en condiciones naturales, para explicar este potencial fungitóxico que poseen las raíces de *I. purpurea*.

Los lixiviados de las raíces frescas de *A. hypochondriacus* tiene un efecto inhibitorio similar al de los lixiviados de raíces secas, y además este efecto se mantiene por varios días. Esto se debe probablemente a que los aleloquímicos responsables de este efecto inhibitorio no parecen sufrir cambios por el secado de las raíces. Schreiner y Koide (1993) encuentran que los lixiviados de raíces frescas de *A. retroflexus* no inhiben la germinación de esporas de *Glomus etunicatum*. Esto pueda deberse a que se trata de otra especie de *Amaranthus* y probablemente a que también se trata de otra especie de hongo micorrízico; en este sentido debe señalarse que la sensibilidad del organismo receptor (en nuestro caso, las esporas de *Glomus*) cambia de especie a especie, e incluso, cuando las condiciones del medio varían, o los exudados radicales de las plantas cambian de composición química por razones extrínsecas o intrínsecas, lo que no nos permite la mayoría de las veces, generalizar, comparar o extrapolar resultados. Posiblemente el potencial fungitóxico de los aleloquímicos contenidos en las raíces de *Amaranthus*, contribuye a impedir la penetración de las hifas de hongos micorrízicos al interior de los pelos radicales de esta planta; aunque no deben descartarse otros factores que pudieran ser importantes en la carencia de micorrizas en las especies de este género.

El caso de *C. ambrosioides* es contrario al de *I. purpurea* donde la mayor actividad la tenemos en los lixiviados de raíces secas. Los lixiviados de las raíces frescas de *C. ambrosioides*, tienen efectos inhibitorios más acentuados (87.5%) que los de las secas (alrededor de 70%). Probablemente los compuestos más activos se producen cuando la planta está viva y la secreción de las raíces es muy activa, o bien en el proceso de sacado de las raíces, la composición química de los metabolitos secundarios sufre un cambio que resulta en esta diferencia de efectos. El epazote es una planta no micorrizable y estos resultados parecen reforzar la hipótesis de que las raíces vivas de esta planta secretan agentes aleloquímicos que impiden que el micelio del hongo crezca cerca de ellas y que las esporas germinen, dando como resultado que el hongo no pueda penetrar dentro de los tejidos radicales. Schreiner y Koide (1993) investigaron los efectos de extractos acuosos de raíces frescas de otra *Chenopodiaceae*, y no encontraron efectos inhibitorios sobre la germinación de *Glomus*.

Los resultados generales de inhibición de la germinación de esporas de *Glomus sp.*, por los lixiviados de las plantas alelopáticas, coinciden con los de

Ocampo *et al.*, (1986); Vierheilig y Ocampo (1990) ; Schreiner y Koide (1993) quienes encontraron que exudados o extractos de raíces frescas de plantas no micorrizables, inhiben significativamente la germinación de esporas de *Glomus*; por otro lado, exudados o extractos de raíces frescas de ciertas plantas micorrizables estimulan la germinación de esporas del mismo hongo MVA. También, estos resultados coinciden con los presentados por Vierheilig (1980) ; Ocampo *et al.*, (1986) ; El Atrach *et al.*, (1989) ; Vierheilig y Ocampo (1990) quienes encontraron que los extractos acuosos de *Brassica oleracea* planta no micorrizable provocan un efecto inhibitorio en la germinación de las esporas del genero *Glomus*, *in vitro*. Por otro lado, Elias *et al.*, (1987) ; Tsai y Phillips (1991) ; Poulin *et al.*, (1991)) no están de acuerdo en que la inhibición de la germinación de las esporas de hongos MVA, se deba a compuestos inhibidores; ellos sugieren que se debe a la ausencia de un agente promotor de esta germinación en los exudados radicales. Este agente promotor se encuentra presente en las plantas hospederas. Schwab *et al.*, (1983) no encontraron relación entre la cantidad de compuestos exudados por la raíz de *Chenopodium quinona* y su falta de micorriza.

Un caso similar al de *I. purpurea*, de una planta que forma micorriza y afecta a los hongos MVA, es el *Asparagus officinalis*; esta planta exuda ácido ferúlico que disminuye la elongación de la hifa *in vitro*, pero no afecta la germinación y colonización del hongo micorrízico (Wacker *et al.*, 1990). Por su parte, Blaide *et al.*, (1984) encontraron que las plantas de *Asparagus officinalis* con micorriza, en condiciones naturales crecen mejor que las plantas no micorrizadas.

En relación a la germinación de las esporas obtenidas en estos bioensayos, observamos que la germinación en los controles fue de 17 %, un porcentaje bajo si se compara con el 40 % de germinación obtenido por Schreiner y Koide (1993), y el 54 % de germinación logrado por El Atrach *et al.*, (1989) ambos en 15 días. La baja viabilidad de las esporas en los bioensayos *in vitro* (fig. 4, 5, 6, 7, 8 y 9) tuvo un efecto importante en los resultados obtenidos y es algo que debe tomarse en cuenta para estudios posteriores. Sin duda, una mejor germinación de las esporas de *Glomus sp.* hubiera permitido determinar con mas precision el efecto estimulador o inhibitorio de los lixiviados de *Ipomoea purpurea*, *Amaranthus hypochondriacus* y *Chenopodium ambrosioides* (cuadro 2 y 3).

Aunque se trata de experimentos *in vitro*, los resultados obtenidos en los bioensayos con lixiviados de las 3 plantas alelopáticas sobre la germinación de esporas de *Glomus sp.*, nos demuestra que cada planta debe estudiarse de manera particular, ya que su comportamiento es distinto al de otras especies. Allen *et al.*, (1979) afirman que para descubrir un efecto específico de un lixiviado sobre hongos, se deben eliminar en lo posible, las variables asociadas al medio.

Es muy importante subrayar que en el medio natural, dentro del suelo, las condiciones son totalmente diferentes, ya que muchos otros factores, bióticos y abióticos, entran en juego; en este caso, los efectos de los lixiviados y las secreciones radicales de las plantas, pueden cambiar totalmente, en comparación con las pruebas *in vitro*, lo cual convierte a las interacciones químicas entre organismos en un asunto de enorme complejidad.

6.2 Características físico-químicas del suelo calcimagnésico utilizado en el experimento en el invernadero.

Los análisis físico-químicos del suelo calcimagnésico utilizado en el experimento fueron realizados en colaboración con Miguel Angel Jaime Hernandez (1996) y los resultados se presentan en el Cuadro 4.

Entre las características sobresalientes, podemos observar que el suelo tiene una textura migajón arcillosa, con un pH 7.7 acorde con la conductividad eléctrica, la cual es muy baja, lo que indica un bajo contenido de sales. El suelo tiene una capacidad mediana de intercambio cationico total, lo que está de acuerdo con la proporción y tipo de arcilla del suelo. Asimismo, el suelo es muy pobre en materia orgánica, aun cuando el contenido de nitrógeno tiene valor medio. La capacidad de retención de fósforo es muy baja, contrariamente a lo que se esperaba en un tipo de suelo de esta naturaleza. El contenido de fósforo disponible del suelo es extremadamente pobre; esto se debe al alto nivel de magnesio intercambiable, mayor que el del calcio, lo que da como resultado una relación Ca/Mg muy baja, esto determina que el magnesio, por antagonismo al calcio libre, propicie una fuerte reducción de la capacidad de retención de fósforo. La relación Ca + Mg/K indica que probablemente puede existir deficiencias de potasio. El potasio y el sodio intercambiables presentaron valores medios y bajos respectivamente.

Como ya se había mencionado, los suelos con deficiencia de fósforo determinan que las plantas formen micorrizas, para satisfacer adecuadamente sus necesidades de este elemento.

Cuadro 4. Resultado de los análisis físico-químicos del suelo de la localidad de Alpuyecá, Morelos.

Propiedad.		
Seco		10YR4/1
Color		
Húmedo		10YR3/1
Densidad aparente		01.17
Textura		Migajón arcilloso
pH 1: 2.5 H ₂ O		07.70
Conductividad eléctrica mmhos/cm ³		00.76
Capacidad de intercambio Cationico Total meq/100g		33.00
Materia orgánica (%)		01.16
Nitrógeno total (%)		00.13
Retención de P (%)		11.00
P asimilable ppm		02.30
Ca ⁺⁺ soluble meq/l		27.50
	Ca ⁺⁺	14.50
	Mg ⁺⁺	17.00
Cationes intercambiables meq/l	Na ⁺	00.14
	K ⁺	00.47

6.3. Potencial micorrízico del suelo calcimagnésico evaluado en función de la micorriza sobre raíces de tomate verde, *Physalis ixocarpa*. Brot. (Solanaceae).

Los resultados del experimento donde se emplearon diferentes diluciones de suelo con propágulos hasta la dilución 10⁻⁵ con el fin de evaluar su potencial micorrízico, se presenta en el Cuadro 5.

CUADRO 5. Evaluación del potencial de colonización de los propágulos micorrízicos en tomate verde (*Physalis ixocarpa*. L) en diferentes diluciones de suelo calcimagnésico.

Diluciones	R E P E T I C I O N E S					Total de repeticiones con colonización
	1	2	3	4	5	
testigo suelo estéril	-	-	-	-	-	0
*10 ⁻¹	+	+	+	+	+	5
10 ⁻²	+	+	+	+	+	5
10 ⁻³	+	+	+	-	-	3
10 ⁻⁴	-	-	-	-	-	0
10 ⁻⁵	-	-	-	-	-	0

+ Presencia de micorriza en la raíz.

- Ausencia de micorriza en la raíz.

* Dilución seleccionada para el experimento en invernadero.

Como puede observarse, en las diluciones 10⁻¹ a 10⁻³ del suelo contiene propágulos viables capaces de formar micorriza en las raíces del tomate.

Las diluciones 10⁻¹ y 10⁻² presenta colonización en todas las repeticiones, pero las observaciones de las raíces demostraron que la colonización fue mayor en la dilución 10¹, además de observarse un mayor crecimiento en las plantas de esta dilución. La dilución más alta donde todas las plantas se colonizaron fue 10⁻² resultando, por lo tanto, un número característico de 530. Este número nos da, en las tablas de McCrady (McCrady; 1946), 8.0. Considerando la dilución 10⁻² como factor de la dilución y los 10 g de suelo seco utilizado se tiene, finalmente, que el suelo contiene, con base en el método del NMP (número más probable) 80 propágulos/g en el suelo seco. Este resultado indica que se trata de un suelo rico en propágulos micorrízicos, resultando congruente con su pobreza en fósforo disponible. Por lo tanto, es factible utilizar los propágulos del suelo como inóculo. Lo anterior concuerda con lo encontrado por Abbott and Robson (1991) quienes determinaron que la utilización de suelo nativo como inóculo aumenta la probabilidad de colonización por la presencia de esporas, micelio, y fragmentos de raíces colonizadas en el suelo. Sin

embargo, existen otros reportes que consideran que el uso de propágulos nativos no es útil, por qué es difícil determinar el número de propágulos viables en el suelo capaces de infectar las raíces (Adelman y Morton 1986). Por su parte Ebbers *et al.*, (1987) no encontraron una clara relación entre el número de propágulos presentes en el suelo necesarios para poder colonizar las raíces de las plantas.

6.4 Experimento en el invernadero para observar la influencia de las plantas alelopáticas sobre el movimiento de los hongos MVA y la colonización de las raíces.

En el cuadro 6 se presentan los resultados de la colonización micorrízica según el método de intersección de Newman (1966), en las plantas hospederas y no hospederas.

CUADRO 6. Porcentaje de colonización micorrízica en las plantas de los 3 compartimentos determinado, por el método de intersección de Newman (1966).

		COMPARTIMENTOS		
		S u e l o		
	Inoculado	Estéril	-	Estéril
Esp. de plantas	<i>P. ixocarpa</i>	<i>I. purpurea</i>		<i>P. ixocarpa</i>
	26.48 ± 4.8	14.16 ± 8.02		4.66* ± 3.4
	<i>P. ixocarpa</i>	<i>A. hypochondriacus</i>		<i>P. ixocarpa</i>
	19.50 ± 5.0	00.00 ± 0.00		0.00 ± 0.0
	<i>P. ixocarpa</i>	<i>C. ambrosioides</i>	00.00	<i>P. ixocarpa</i>
	25.50 ± 3.0	± 0.00		0.00 ± 0.0

Cada valor representa el promedio de 4 repeticiones. ≥significativo 0.05.

En el cuadro 7 se presentan los resultados de la colonización micorrízica según el método de Phillips and Hayman (1970), en las plantas hospederas y no hospederas.

CUADRO 7. Porcentaje de colonización micorrizica en las plantas de los 3 compartimentos determinado, por el método de Phillips and Hayman (1970).

Esp. de plantas	COMPARTIMENTOS		
	S u e l o		
	Inoculado	Estéril	Estéril
	<i>P. ixocarpa</i>	<i>I. purpurea</i>	<i>P. ixocarpa</i>
	10.67 ± 4.07	4.45 ± 2.32	2.79* ± 1.59
	<i>P. ixocarpa</i>	<i>A. hypochondriacus</i>	<i>P. ixocarpa</i>
	9.02 ± 1.65	00.00* ± 0.00	0.00* ± 0.0
	<i>P. ixocarpa</i>	<i>C. ambrosioides</i>	<i>P. ixocarpa</i>
	8.84 ± 1.90	00.00* ± 0.00	0.00* ± 0.0

Cada valor representa el promedio de 27 repeticiones. ≥significativo 0.05.

Como se puede observar, en el caso en que *Ipomoea purpurea* se encontraba en el compartimento central, los propágulos micorrízicos fueron capaces de atravesar esta barrera y llegar a colonizar a los tomates que se encuentran en el suelo estéril. La colonización micorrízica en estos tomates, según el método de Newman, fue de un 4.66 % que comparado con la de los tomates en el suelo inoculado (26.48%) resultó significativamente (α 0.05) menor. Lo anterior nos sugiere que los exudados y metabolitos secundarios liberados por la raíces de *Ipomoea* al suelo, no detienen el avance de los propágulos micorrízicos y les permiten atravesar el compartimento donde *Ipomoea* se encuentra y colonizar al tomate del suelo estéril.

Los bajos porcentajes de colonización en los tomates en suelos estéril posiblemente estén relacionados con el bajo número de propágulos que llegaron a sus raíces. Probablemente, si el experimento se hubiera prolongado más tiempo la colonización hubiera sido mayor. Esto coincide con las afirmaciones de Gavito (1988) quien encontró una relación directa entre el número de propágulos nativos del suelo y el total de colonización de MVA. En contraste con Ebbers *et al.*, (1987) quien no encontró una relación entre la colonización de MVA y la disposición de propágulos nativos en el suelo.

Las raíces de *Ipomea purpurea* tuvieron un 14.16 % de colonización en sus raíces, que es mas bajo comparado con el tomate en suelo inoculado, probablemente por la misma razón, quizás había que darles más tiempo al experimento.

Cuando *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides* se utilizaron como tratamientos sembrados en el compartimento central, se observó que no hubo colonización, ni en sus raíces, ni en las raíces de tomates creciendo en suelo estéril. Estos resultados son muy importantes y coinciden con los lixiviados *in vitro*. Es muy probable que los exudados de estas plantas no micorrizables, si interfieran con el establecimiento de las micorrizas y el movimiento de los propágulos en el suelo en condiciones naturales.

Los aleloquímicos que producen, afectan negativamente a los propágulos micorrízicos, y por lo tanto, ni estas plantas alelopáticas son colonizadas, ni permiten el paso de los propágulos para que puedan colonizar las raíces de *Physalis ixocarpa* en suelo estéril. Los resultados coinciden con los de Morley y Mosse (1976) ; Rice (1979) ; Ocampo *et al.*, (1986) los que consideran que los exudados radicales contienen un agente tóxico para los hongos micorrízicos. Aunque en un trabajo anterior realizado por Ocampo (1989) quien manejó macetas con 2 compartimentos donde crecían juntos *Sorghum vulgare*, planta micorrizable y *Brassica oleracea*, planta no micorrizable, este no encontró efectos inhibitorios o estimulatorios, en la formación o ausencia de micorriza en ambas plantas. Por otro lado, Ocampo *et al.*, (1986) encontraron que los extractos de *Brassica napus* y *Raphanus raphanistrum* (plantas no micorrizables) presentes en el suelo disminuyen la colonización micorrizica en las raíces de alfalfa.

Pudiera ser que los propágulos nativos de MVA en el experimento del presente trabajo, no "reconocieron" las raíces de *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides* como plantas micorrizables y por lo tanto, limitaron el volumen del suelo a explorar, como un mecanismo de defensa, por lo que no se desplazaron al compartimento de tomate en suelo estéril, ya que el compartimento central con las plantas alelopáticas, actuó como barrera, formada estas plantas no micorrizables, suceso que estuvo de acuerdo con la hipótesis formulada en el presente trabajo. Sin embargo, esto es algo que merece ser estudiado con mayor detenimiento.

Por su parte Schreiner y Koide (1993) reportan que la liberación de compuestos secundarios por las raíces puede considerarse como un mecanismo de defensa para evitar infecciones de hongos. Schwab *et al.*, (1983) sugieren que las

raíces de las plantas no micorrizables, no exudan compuestos que estimulen la formación de la micorriza, y Glenn (1988) afirma que los compuestos deben ser difusible y compatible con el hongo formador de micorriza. Por otro lado, Sanders y Fitter (1991) no encontraron una relación entre la ausencia o la presencia de micorriza y el diámetro de la corteza. Por lo tanto, aún no es claro el mecanismo por el cual las plantas no micorrizables afectan los propágulos micorrízicos y cualquiera de estas alternativas podría explicar los resultados obtenidos, y actuar de manera aditiva o combinada en el medio natural.

El empleo del método de Phillips y Hayman (1970) reafirmó los resultados obtenidos por el método de Newman (1966). Es decir, los propágulos micorrízicos solo pasaron a través de *Ipomoea purpurea* y lograron colonizar al tomate en suelo estéril, en este caso un 2.79 %.

Los propágulos no colonizaron a las raíces de *A. hypochondriacus* y *C. ambrosioides*, lo que se confirmó con ambos métodos. Son varios los autores que destacan la participación de un efecto de exudados radicales en la disminución de la viabilidad de los propágulos MVA (Tobiessen y Werner 1980 ; Kovicac *et al.*, 1984 ; Schreiner y Koide 1993). Por otro lado, Fitter *et al.*, (1993) no coinciden con la hipótesis de que un factor alelopático sea la causa de la falta de micorrizas, ellos consideran que un factor físico como el diámetro de la corteza es mas importante para impedir la formación de micorrizas.

La falta de micorriza en algunas plantas, puede deberse a multiples factores, que pueden actuar aislados o en conjunto, para impedir la colonización por parte de los hongos micorrízicos, pero en casos particulares es posible la participación de metabolitos secundarios exudados por la raíz de plantas no micorrizables, para explicar este fenómeno.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que:

1.- Los lixiviados y exudados de la raíz de *Chenopodium ambrosioides* tienen un efecto alelopático perjudicial sobre la germinación (*in vitro*) y la colonización (*in vivo*) de hongos micorrízicos vesículo arbusculares. Asimismo, los lixiviados y exudados radicales de *Amaranthus hypochondriacus* exhiben este mismo efecto inhibitorio significativo. Sin embargo, el alto error experimental en los bioensayos con los lixiviados de las plantas alelopáticas determinó la falta de significancia estadística en algunos resultados de la germinación de esporas *in vitro*. Además el bajo porcentaje de germinación logrado no permite aseverar en forma convincente el efecto inhibitorio o estimulador de los compuestos secundarios liberados por lixiviación.

2.- Los lixiviados de la raíz de *Ipomoea purpurea* causan una inhibición significativa sobre la germinación de las esporas de *Glomus sp.*, sin embargo en los experimentos en las macetas con suelo calcimagnésico, las raíces de estas especies son colonizadas por los hongos MVA y no constituyen una barrera para el desplazamiento del micelio en el suelo. Esto demuestra que otros factores abióticos y bióticos del suelo influyen de manera definitiva para que el potencial tóxico de los lixiviados y exudados no alcancen a impedir la colonización en el raíz de la propia *Ipomoea* y la movilización del micelio del suelo.

3.- Las características físico-químicas del suelo calcimagnésico, son propicias para el establecimiento de micorrizas; por los bajos niveles de fósforo disponible que presenta. Por lo tanto, constituye un sustrato adecuado para el establecimiento de micorrizas y para el establecimiento de micorrizas y para el desplazamiento del micelio externo de éstas.

BIBLIOGRAFIA.

- Abbott, L. K. y Robson, A. D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Agriculture Ecosystems and Environment. 35: 121-150.
- Adelman, M. J. y Morton, J. B. 1986. Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization. Soil Biology and Biochemistry. 18: 77-83.
- Alejandro, G. 1986. Cultivo de Amaranto en México. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Allen, M. F., Allen, E. B. y Friese, C. R. 1989. Responses of the non-mycotrophic plant. *Salsola kali* to invasion by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist. 111: 45-49.
- Allen, M. F. y Allen, E. B. 1988. Facilitation of succession by the nonmycotrophic colonizer *Salsola Kali* (Chenopodiaceae) on a harsh site: Effects of mycorrhizal fungi. American Journal of Botany. 75: 257-266.
- Allen, M. F. 1983. Formation of vesicular- arbuscular mycorrhizae in *Atriplex gardneri* (Chenopodiaceae): seasonal response in a cold desert. Mycologia. 75: 773-776.
- Allen, M. F. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. Cambridge University Press, New York.
- Altman, F. P. 1974. Studies on the reduction of tetrazolium salts. III. The products of Chemical and enzymic reduction. Histochemie. 38: 155-171.

- Ames, R. N., Mihara, K. L. y Bayne, H. G. 1989. Chitin-decomposing actinomycetes associated with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus from a calcareous soil. New Phytologist. 111: 67-71.
- Anaya, A.L. 1981. Importancia de la alelopatía dentro de la Ecología Química. Temas Selectos de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma De México. México.
- Anaya, A.L. 1989. Papel de los aleloquímicos en el manejo de los recursos naturales. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 49: 85-99.
- Anaya, A.L. (En prensa). Ecología Química. Libro de Texto. UNAM. CONACyT.
- Azcon-Aguilar, C., Díaz-Rodríguez, R. M. y Barea, J. M. 1986. Effect of soil microorganisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Transactions of the British Mycological Society. 86: 337-340.
- Azcon-Aguilar, C., García, F. y Barea, J. M. 1991. Germinación y crecimiento axénico de los hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares. En: Fijación y movilización biológica de nutrimentos.Vol. II. Fijación de Nitrógeno y micorrizas, Olivares, J y Barea, J. M. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.
- Azcón, R. y Barea, J. A. 1980. Micorrizas. Investigación y Ciencia. 47: 8-16.
- Azcón, R. y Ocampo, J. A. 1981. Factors affecting the vesicular-arbuscular infection and mycorrhizal dependency of thirteen wheat cultivars. New Phytologist. 87: 677-685.
- Azcón, R. y Ocampo, J. A. 1984. Effect of root exudation on VA mycorrhizal infection at early stages of plant growth. Plant and Soil. 82: 133-138.

- Becard, G. y Piche, Y. 1989. Fungal growth stimulation by CO₂ and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Applied and Environment Microbiology . 55: 2320-2335.
- Blaine, R., Peterson, R. L. y Tiessen, H. 1984. Interactions Between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and asparagus. Plant and Soil. 79: 403-416.
- Blake, C. A. 1965. Bulk density. En: Methods of soil Analysis. part 2. Chemical and Microbiological properties. American Society of Agronomy. Inc., Agronomy. Madison, Wisconsin.
- Bouyoucos. 1963. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soil. Agronomy Science. 54: 464-465.
- Bowen, G. D., Bevege, D. I. y Mosse, B. 1975. Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizas. En Endomycorrhizas. Sanders I. F., Mosse, B. y Tinker, T. B. Academic Press. London.
- Brundett, M. C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. Pp 171-271. In: Begon, M., Fitter, A. H. and Mcfadyeen(Eds.). Advances in Ecological Research., A. Academic Press. New York.
- Brundett, M. C. y Juniper, S. 1993. Non-destructive assessment of spore germination and single spore culture isolation of VAM fungi. Poster presented at the 9Th NACOM Guelph. Aug. 1993.
- Buckman, H.O. y Brady, N. C. 1966. The nature and properties of soil. 6a. Macmillan. (ed). New York.
- Del Amo, S., Anaya, A. L., Jimenez Osornio, J. J. M. y Fernandez, E. 1988. Algunos aspectos ecológicos y económicos del amaranto ("alegría"): un cultivo tradicional en México. En: Cuatro estudios sobre sistemas tradicionales. S, Del Amo (ed). Instituto Nacional Indigenista, México

- Daniels, B. A. y Trappe, J. M. 1980. Factor affecting spore germination of the VAM fungus, *Glomus epigaeus*. Mycologia. 72: 456-471.

- Dhene, H. W. 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathology. 72: 1115-1118.

- Drobnica, L., Zemanova, M., Nemeč, P., Antos, K., Kristian, P., Stullerova, A., Knoppova, V. y Nemeč, P., Jr. 1967. Antifungal activity of isothiocyanates and related compounds I. Naturally occurring isothiocyanates and their analogues. Applied Microbiology. 15: 701-709.

- Dubey, N. K., Kishore, N., Srivastava, O. P., Dikhit, A y Singh, K. 1983. Fungitoxicity of some higher plants against *Rhizoctonia solani*. Plant and Soil. 72: 91-94.

- Ebberts, B. C., Andersen, R. C. y Liberta, A. E. 1987. Aspects of the mycorrhizas ecology of prairie dropseed. *Sporobolus heterolepis* (Poaceae). American Journal of Botany. 74: 564-573.

- El-Atrach, F., Vierheilig, H. y Ocampo, J.A. 1989. Influence of host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of host plants and on spore germination. Soil Biology and Biochemistry. 21: 161-163.

- Elias, K.S. y Safir, G. F. 1987. Hyphal elongation of *Glomus fasciculatus* in response to root exudates. Applied and Environmental Microbiology. 53: 1928-1933.

- FAO-UNESCO. 1988. Soil Map of the World Revised Legend. Prepared by Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- Ferrera-Cerrato, R. 1983. La micorriza vesículo-arbuscular en los diferentes agroecosistemas. Simposium La sequia y su impacto. Colegio de Postgraduados. 22-56.

- Ferrera-Cerrato, R. 1989. Rizosfera. En: Ecología de la raíz. Ferrera-Cerrato, R. (ed). Curso de Precongreso Sociedad Mexicana de fitopatología. Colegio de Postgraduado, Montecillos, Edo de México.
- Fitter, A. H. y Merryweather, J. W. (1992). Why are some plants more mycorrhizal than others? a ecological enquiry. En: Mycorrhizas in Ecosystems. D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, and I.J. Alexander (eds.). C-B-A International, Cambridge.
- Fitts, J. M. y Waugh, D. L. 1966. Soil test interpretation studies laboratory and potted plant. N. C. S. U. Agriculture Experiment Station Technology.
- Gama, J. E. 1996. Los suelos tropicales de México. I genesis, dinámica y degradación. Para Doctorado en Ciencias, especialidad Biología. Facultad de Ciencias División de Estudios de Postgrado, México, D. F.
- García-Espinoza, R. 1980. *Chenopodium ambrosioides*, L. planta con uso potencial en el combate de nematodos fitoparasitos. Agricultura Tropical, Colegio Superior de Agricultura. 2: 92-98.
- Gavito, P. 1988. Abundancia y Efectividad de los hongos Micorrízicos Vesículo Arbusculares de suelos Bajo Cultivos de Maíz en el Estado de Morelos. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Gerdemann, J. M. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. Annual Review of Phytopathology. 6: 397-418.
- Gerdemann, J. M. y Trappe, J. M. 1975. Taxonomy of the Endogonaceae. pp. En: Endomycorrhizas. F-E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker, eds.
- Gianinazzi-Pearson, V., Branzanti, B. y Gianinazzi, S. 1990. In vitro enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular micorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. Symbiosis. 7: 243-255.

- Giovannetti, M., Avio, L., Sbrana, C. y Citerinesi, A. S. 1993. Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular micorrhizal fungus *Glomus mosseae*. New Phytologist. 123: 115-122.

- Glenn, M. G., Chew, F. S. y Williams, P. H. 1985. Hyphal penetration of *Brassica* (Cruciferae) roots by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist. 99: 463-472.

- Gonzalez Elizondo, M. 1984. Las Plantas Medicinales de Durango. Inventario Básico. CIDIR-Instituto Politécnico Nacional, México.

- Graham, J. H. y Menge, J. A. 1982. Effect of citrus root exudates on germination of chytrid spores of the vesicular-arbuscular fungus *Glomus epigaeum*. Mycologia. 74: 831-835.

- Gray, L. E. y Gerdemann, J. W. 1975. Uptake of sulphur-35 by vesicular-arbuscular mycorrhizae. Plant and Soil. 39: 687:689.

- Grodzinsky, A. M. 1992. Allelopathic effects of cruciferous plants in crop rotation. En: Allelopathy: basic and applied aspects. S. J. Rizvi and V. Rizvi (eds.). Chapman & Hall, London.

- Harborne, J. H. y Baxter, H. (1993). Phytochemical Dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants. Taylor and Francis (eds). Washington, D. C.

- Hayman; D. S. 1974. Plant growth response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature. New Phytologist 73: 71-80.

- Hayman, D. S., Johnson, A. M y Ruddlesdin, I. 1975. The influence of phosphate and crop species of endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. Plant and Soil. 43: 489-495.

- Hepper, C. M. 1983. Limited independent growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro*. New Phytologist. 93: 537-542.
 - Hepper, C. M. and Jakobsen, I. 1982. Hyphal growth from spores of the mycorrhizal fungus *Glomus caledonius*: effect of amino acids. Soil Biology and Biochemistry. 15: 55-58.
 - Hirrel, M. C. , Mehravaran; H. y Gerdemann, J. M. 1978. Vesicular-arbuscular mycorrhize in the *Chenopodiaceae* and *Cruciferae*: do they occur?. Canadian Journal of Botany. 56: 2813-2817.
 - Jaime, M. A. (En prensa). Respuesta del tomate de cascara *Physalis ixocarpa*, Brot., a la inoculación con Hongos endomicorrízicos arbusculares en un suelo calcimagnésico deficiente en fósforo bajo condiciones de invernadero y campo. Tesis para Maestría en Edafología, UNAM.
 - Jackson, M. L. 1964. *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall. Inc. Madison Wisconsin.
 - Jackson, R. M. y Mason, P. A. 1984. *Mycorrhiza*. Edward Arnold. Great Britain.
- Jaen, C. D. 1989. Ecología y aplicación de los hongos endomicorrízicos en la producción agrícola. En: *Ecología de la raíz*. Ferrera-Cerrato, R. (ed). Curso de Precongreso Sociedad Mexicana de fitopatología. Colegio de Postgraduado, Montecillos, Edo de México.
- Jaen, C. D. Ferrera-Cerrato, R. 1989. Manual de métodos para la investigación y aplicación de los hongos endomicorrízicos en laboratorio y campo. En: *Ecología de la raíz*. Ferrera-Cerrato, R. (ed). Curso de Precongreso Sociedad Mexicana de fitopatología. Colegio de Postgraduado, Montecillos, Edo de México.
 - Jenkins, W. R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease. 48: 692.

- Jimenez-Osornio, J. J. 1991. *Ecological Basic of Weed management in the Chinampa Agroecosystem*. Thesis Doctor of Philosophy, University of California.
- Kelly, D. J. y Budd, K. 1990. Osmotic adjustment in the mycelial ascomycete *Neocosmospora vasinfecta*. Experimental Mycology. 14: 136-144.
- Kjeldhab, A. O. 1970. Association of official Agricultural Chemis, official methods of analysis Washington, D. C. Broad. William and Herwats.
- Kormanik, P. P., Bryant, W. C. y Schultz, R. C. 1980. Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay. Canadian Journal of Botany . 26: 536-538.
- Koviak, D. A., St John, T. V. y Dyer, M. T. 1984 . Lack of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum in a ponderosa pine. Ecology. 65: 1775-1779.
- Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of vascular plants. Lawrence, G. H. M (ed). Macmillan Publishing. New York.
- Le Tacon, F. 1985. Las micorrizas: una cooperación entre plantas y hongos. Mundo Científico. 49: 776-784.
- Lewis, D. H. 1973. Concepts in fungal nutrition and the origen of biotrophy. Biology Review. 48: 262-278.
- McCrady, P. W. 1946. Standard methods of water analysis. American Publish Health and Water. Associate (eds).
- Mada, R. J. and Bagyaraj, D. J. 1993. Root exudation from *Leucaena leucocephala* in relation to mycorrhizal colonization. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 9: 342-344.

- Martinez, M. 1979. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fonfo de Cultura Económica, México.

- Matuda, E. 1980. El género *Ipomoea* en México. En *Anales del Instituto de Biología*. Llamas, R., Vazquez, L., Samano, A., y Herrera, T. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

- Mayo, K., Davis, R. E. y Motta, J. 1986. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore associated bacteria. *Mycologia*. 78: 426-431.

- Medve, R. 1983. The mycorrhizal status of the Cruciferae. *American Midland Naturalist*. 109: 406-408.

- Menge, J. A., Johnson, E. L. y Platt, R. T. 1978. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes. *New Phytologist*. 81: 533-560.

- Meier, R. y Chavart, I. 1993. Reassessment of tetrazolium bromide as a viability stain for spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *American Journal of Botany*. 80: 1007-1114.

- Molisch, H. 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie, Fischer, Jena.

- Morley, C. D y Mosse, B. 1976. Abnormal vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in white clover induced by lupin. *Transactions of the British Mycological Society*. 67: 510-513.

- Morton, J. B. 1988. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and Identification. *Mycotaxonomy*. 32: 267-324.

- Mosse, B. 1981. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza research for tropical Agriculture and Human Resources*, University of Hawaii.

- Munz, P. A. 1975. A California Flora and Supplement. Universidad of California Press.
- Nemeč, S. y Guy, G. 1982. Carbohydrate status of mycorrhizal and nonmycorrhizal citrus root stocks. Journal of the American Society for Horticultural Science. 107: 177-180.
- Newman, E. I. 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. Journal Applied Ecology. 3: 139-145.
- Newman, E. I. 1978. Root microorganisms: their significance in the ecosystem. Biological Reviews. 53: 511-554.
- Newman, E. I. y Reddell, P. 1987 The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. New Phytologist. 106: 745-751.
- Newman, E. I. y Watson, A. 1977. Microbial abundance in the rhizosphere: a computer model. Plant and Soil. 48: 17-56.
- Ocampo, J. A., Cardona, F.L. y El-Atrach; F. 1986. Effect of roots extracts of non host plants on VA mycorrhizal infection and spore germination. En : Gianinazzi -Pearson V, y Gianinazzi S, eds. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Paris: INRA, 721-724.
- Ocampo, J. A. and Hayman, D. C. 1981. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects of non-host plant. New Phytologist. 87: 333-343
- Ocampo, J. A., Martin, J. y Hayman, D. C. 1980. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. I. Host and non-host plants grown together. New Phytologist. 84: 27-35.

- Olsen, C. R. y Somers, L. E. 1982. Phosphorus. En: *Methods of soils analysis*. A. L. Page (ed). Agronomy No. 9 American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.

- Ortíz, B. y Ortíz, C. A. 1984. *Edafología*. 4ta. (ed). Universidad de Chapingo, Chapingo, México.

- Palacios, M. S., Salinas, Ch. C. y Shimada, M. K. 1986. Incremento en el crecimiento y en la absorción de fósforo en cebolla (*Allium cepa*, L), como respuesta a la micorriza V-A en un suelo de origen volcánico. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 29:329-336.

- Palacios, M. S., Salinas, Ch. C. y Shimada, M. K. 1987. Efecto de la inoculación de dos variedades de cebolla (*Allium cepa*, L), con cuatro hongos endomicorrízicos en un suelo muy deficiente en fósforo. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 29:303-311.

- Pellissier, F. 1993. Allelopathic effect of phenolic acids from humic solutions on two spruce mycorrhizal fungi: *Cenococcum graniforme* and *Laccaria laccata*. *Journal of Chemical Ecology*. 19: 2005-2014.

- Pereda, R. G. 1994. Estructura de la tricolorina A, un glicolípido modular de la actividad enzimática de la proteína cinasa C y principal agente alelopático de *Ipomoea tricolor* Cav. (Convolvulaceae). Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM:

- Perry, D. A. y Choquette, C. 1987. Allelopathic effects on mycorrhizae. En: *Allelochemicals: role in agriculture and forestry*. G. R. Waller (ed.). American Chemical Society, Washington.

- Peryonel, B., Fassi, B., Fontana, A. y Trappe, J. M. 1969. Terminology of mycorrhizae. *Mycologia*. 61: 410-411.

- Petersen, G. S. Kandhil, M. A., Abdallah, M. D. y Farag, A. A. 1989. Isolation and characterisation of biologically-active compounds from some plant extracts. Pesticide Science. 25: 343-353.

- 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: 158-161.

- Poulin, M. J., Bel-Rhliid, R., Piché, Y. y Chênevert, R. 1993. Flavonoids released by carrot (*Daucus carota*) seedlings stimulate hyphal development of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of optimal CO₂ enrichment. Journal of Chemical Ecology. 19: 2317-2327.

- Powell, C. L. 1975. Potassium uptake and endotrophic mycorrhiza. En: Endomycorrhizas. F. E. Sanders., B. Mosse and Linker, P. B.(eds.). Academic Press, London.

- 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.

- Redmon, J. W., Batley, M. Djordjevic, M. A., Innes, R. W., Kuempel, P. L. y Rolfe, B. G. 1986. Flavones induce expression of nodulation genes in *Rhizobium*. Nature (London). 323: 632-635.

- Reeves, B. F., Wagner, D. Moorman, R. y Kelly J. 1979. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid West. I. A comparison of incidence of micorrhizae in several disturbed vs natural environments. American Journal of Botany. 66: 6-13.

- Reid, C. P. y Bowen, G. D. 1977. Effects of soils moisture on V-A mycorrhizae formation and root interface. En: the root. J. L. Harley and Scott-Rusell (eds.). Academic Press, London.

- Rice, E. L. 1974. Allelopathy. Academic Press, New York.
- Rizvi, S. J. H., Haque, H., Singh, V. K. y Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy. En: Allelopathy: basic and applied aspects. S. J. H Rizvi and V. Rizvi (eds.). Chapman &Hall, London.
- Robinson, P. K. 1972. The production by roots of *Calluna vulgaris* of a factor inhibitory to growth of some mycorrhizal fungi. Journal Ecology. 60:219-224.
- Rosendahl, C. N y Rosendahl, S. 1991. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus spp.*) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. Environmental and Experimental Botany. 31: 313-318.
- Safir, G. R. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and crop productivity in the biology of crop productivity. (Ed. Carlson, S. P.). Academic Press New York. pp 231-249.
- Safir, G. R., Coley, S. C., Siqueira, J. O. y Carlson, P. S. 1990. Improvement and synchronization of VA mycorrhizal fungal spore germination by short-term cold storage. Soil Biology and Biochemistry. 22: 109-111.
- Sanders, I.R and Fitter A. H. 1991. The ecology and functioning of vesicular-arbuscular in co-existing grassland species. I. Seasonal patterns of mycorrhizal occurrence and morphology. New Phytologist. 120:519-520.
- Schenck, N. C. 1982. Methods and principles of mycorrhizal reseasch. N. C., Schenck, (eds), The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Schreiner, R. P and Koide, R.T. 1993. Antifungal compounds from the roots of mycotrophic and non-mycotrophic plant species. New Phytologist. 123: 99-105.
- Schreiner, R. P and Koide, R.T. 1993. Mustards, mustards oils and mycorrhizas. New Phytologist. 123: 107-113.

- Schwab, S. M., Menge, J.A and Leonard, R. T. 1983. Quantitative and qualitative effects of phosphorus on extracts and exudates of sudan grass roots in relation to vesicular arbuscular mycorrhiza formation. Plant Physiology. 73: 761-765.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular micorrhiza management in tropical agrosystems.(eds.) . Technical cooperation Federal Republic of Germany. pp 27-33.
- Siqueira, J. O., Hubbell, D. H. y Schenck, N. C. 1982. Spore germination and germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular *in vitro*. Mycologia. 74: 952-953.
- Siqueira, J. O., Hubbell, D. H. y Madmud, A. W. 1984. Effect of liming on spore germination, germ tube growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Soil. 76: 115-124.
- Smith, S. E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. Biology Cambridge Philosophy Society. 55: 475-570.
- St. John, T. V. y Coleman, D. C. 1983. The role of mycorrhizae in plant ecology. Canadian Journal of Botany. 65:419-431.
- Tester, M., Smith, S. E and Smith, F. A. The phenomenon of 'nonmycorrhizal' plants. Canadian Journal of Botany. 65: 419-431.
- Tinker, P. B. y Gildon, A. 1983. Mycorrhizal fungi and ion uptake. En: Metals and Micronutriments. Robb, D. A. and Pierpoint, W. S. (eds.). Academic Press, London.
- Tobiessen, P and Werner, M. B. 1980. Hardwood seedling survival under plantations of scotch pine and red pine in central New York. Ecology. 1980: 25-29.
- Tommerup, I. C. 1983. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. Transactions of the British Mycological Society. 81: 37-45.

- Tommerup, I. C. 1984. Development of infection by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in *Brassica napus* L and *Trifolium subterraneum* L. New Phytologist. 98: 487-495.
- Trappe, J. M. 1984. Mycorrhizal reactions to pesticides. Annual Review of Phytopathology. 22: 331-359.
- Trappe, J. M. y Fogel, R. D. 1977. Ecosystem functions of mycorrhizae. En: The belowground ecosystem: a synthesis of plant-associated. Marshall, J. K. (Eds). Colorado State University.
- Trappe, J. M. y Schenck, N. C. 1982. Taxonomy of the fungi forming endomycorrhizae. En: Methods and principles of mycorrhizal research. N. C., Schenck, eds, The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Tsai, S. M and Phillips, D. A. 1991. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus spores*, *in vitro*. Applied and Environment Microbiology. 57: 1485-1488.
- Verma, H. N. y Baranwal, V. K. 1983. Antiviral activity and the physical properties of the leaf extract of *Chenopodium ambrosioides* L. Process Indian Academic Science. 92: 461-465.
- Vierheilig, H and Ocampo, J. A. 1990. Effect of isothiocyanates on germination of spores of *G. mosseae*. Soil Biology and Biochemistry. 22: 1161-1162.
- Whittaker, R. H and Feeny P. P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. Science. 171: 757-767.
- Wacker, T. L., Safir, G. R and Stephens, C. T. 1990. Effects of ferulic acid on *Glomus fasciculatum* and associated effects on phosphorus uptake and growth of asparagus (*Asparagus officinalis* L.). Journal of Chemical Ecology. 16: 901-909.

Walkey, A. 1974. Critical examination for determining organic carbon in soil. Soil Science. 63: 251-264.

Watrud, L. S. 1984. Spore germination and axenic culture of endomycorrhizae. A spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. En: *Methods and Principles of mycorrhizal research*. Schenck (ed). American Phytopathological Society, St Paul.

APENDICE

Calidad del agua potable de la Ciudad Universitaria, México, D. F.

El M.V.Z. Hilarío Canseco Castilla, Jefe del Departamento de Salud Ambiental de la Dirección General de Servicios Médicos de la UNAM nos proporcionó los datos obtenidos del Programa de Saneamiento del Medio en la Universidad Nacional Autónoma de México, en relación a las características del agua potable de la Ciudad Universitaria.

1.- Características físicas.

Turbiedad	Hasta 10 ppm
Color	Incolora
Olor	Inolora

2.- Características químicas.

Nitrógeno amoniacal	Hasta 1 ppm
Nitritos	Indicios
Oxígeno (Gas)	6 a 7 cc por litro
Nitrógeno (Gas)	14 a 15 cc por litro
Acido carbónico (Gas)	15 a 18 cc por litro
Cloruros	Hasta 35 ppm
Residuos minerales	150 a 500 ppm
Dureza	50 a 300 ppm
pH	7 a 8 (neutro)
Hierro	1 a 2.5 ppm
Flúor	1 a 2.5 ppm
Plomo	Hasta 0.3 ppm

3.-Características Biológicas.

Menos de 20 organismos coliformes en un litro de agua.

Menos de 200 colonias bacterianas por cc de muestra en agar incubado a 37 grados durante 24 horas.