

Proc. T. 6-58

T
12
32

FACULTAD DE CIENCIAS

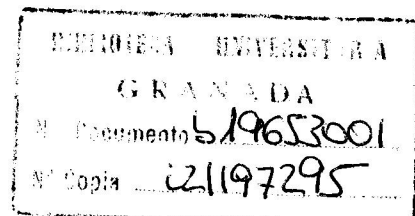
MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES EN CULTIVOS
INTENSIVOS SOBRE SUSTRATOS ORGANICOS:
INTERACCIONES CON HONGOS SAPROFITOS
Y PATOGENOS DE LA RIZOSFERA.

M^a Cinta Calvet Pinos

Tesis Doctoral

UNIVERSIDAD DE GRANADA

1989



**MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES EN CULTIVOS
INTENSIVOS SOBRE SUSTRATOS ORGANICOS:
INTERACCIONES CON HONGOS SAPROFITOS
Y PATOGENOS DE LA RIZOSFERA.**

M^a Cinta Calvet Pinos
Tesis Doctoral

**MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES
EN CULTIVOS INTENSIVOS SOBRE
SUBSTRATOS ORGANICOS: INTERACCIONES
CON HONGOS SAPROFITOS Y PATOGENOS
DE LA RIZOSFERA**

**Memoria presentada para
optar al grado de
Doctora en Ciencias Biológicas.**



**Fdo. M^a Cinta Calvet Pinos
Lcda. en Biología.**

El Director de Tesis



**Fdo. Dr. José Miguel Barea Navarro
Profesor de Investigación del CSIC.**

INDICE

PAG

I	<u>OBJETIVOS</u>	1
II	<u>INTRODUCCION</u>	4
	1 <u>Micorrizas</u>	
	1.1. Taxonomía y morfología. Tipos de micorrizas	5
	1.1.1. Ectomicorrizas	6
	1.1.2. Endomicorrizas	7
	1.1.3. Ectendomicorrizas	12
	1.2. Formación de las micorrizas vesículo-arbusculares	12
	1.2.1. Secuencia de formación de la infección VA y morfología interna	12
	1.2.2. Factores que afectan a la formación de las MVA	14
	1.3. Fisiología de la simbiosis MVA	17
	1.3.1. Fisiología del endófito VA y funcionamiento de la infección MVA	17
	1.3.2. Efectos sobre el crecimiento	19
	1.3.3. Efectos hormonales	23
	1.3.4. Efectos sobre las relaciones hídricas	25
	1.4. Ecología de las MVA	26
	1.5. Aplicaciones de las MVA en producción agraria	28
	1.5.1. Producción de inóculo y tecnología	29
	1.5.2. Respuestas en campo	31
	1.5.3. Importancia potencial en cultivos intensivos: frutales, hortícolas y ornamentales	33
	2 <u>Sustratos de cultivo</u>	37
	2.1. Características generales de turbas y composts	39
	2.2. Conceptos de conductividad y supresividad de los sustratos	40
	2.2.1. Ausencia de patógenos durante el compostage	41
	2.2.2. Factores que afectan a la supresividad de los composts	42
	2.2.3. Microflora y fauna asociada con composts supresivos	45
	2.3. MVA en sustratos orgánicos	46

3	<u>Control biológico de patógenos</u>	48
3.1.	Detección y caracterización de sistemas de biocontrol	49
3.1.1.	Suelos supresivos	49
3.1.2.	Manejo de microorganismos implicados en sistemas de biocontrol	51
3.2.	Introducción de antagonistas para biocontrol	57
3.2.1.	Introducción de hiperparásitos	58
3.2.2.	Introducción de saprófitos para la colonización de suelos o sustratos tratados	59
3.2.3.	Antagonistas aplicados junto con el material vegetal	60
3.2.4.	Inoculación con hongos micorrícicos	62
3.3.	Control bilógico integrado	62
4	<u>Interacciones microbianas en la rizosfera</u>	65
4.1.	Relaciones entre micorrizas y otros organismos del suelo	66
4.1.1.	El efecto "micorrizosfera"	67
4.1.2.	Función de la raíz	69
4.1.3.	Asociaciones microbianas	70
4.1.4.	Micorrizas y microbiota general	73
4.2.	Interacciones micorriza-patógeno	73
4.2.1.	Interacciones con Nemátodos fitoparásitos	74
4.2.2.	Interacciones con hongos patógenos del suelo	75
4.2.3.	Mecanismos de interacción micorriza-patógeno	75
4.3.	Interacciones micorriza-otros grupos de microorganismos con funciones específicas	78
4.3.1.	Sinergismo	79
4.3.2.	Mecanismos de acción de los microorganismos funcionales	81
4.3.3.	Interacciones específicas en la micorrizosfera VA	83
III	<u>DESARROLLO DE LA INFECCION VESICULO-ARBUSCULAR EN SUSTRATOS ORGANICOS</u>	87
1.	<u>Objetivo</u>	87
2.	<u>Materiales y métodos</u>	87
2.1.	Sistema de crecimiento	87
2.2.	Especies hospedadoras	88
2.3.	Hongos VA e inoculación	89
2.4.	Diseño experimental	91

	2.5. Efecto de la desinfección de los sustratos	91
	3. <u>Resultados</u>	92
IV	<u>GERMINACION Y DESARROLLO DE <i>GLOMUS MOSSEAE</i> EN CONDICIONES AXENICAS: EFECTO DE LOS EXTRACTOS DE SUSTRATO Y DE LA MICROBIOTA SOBRE LA TASA DE GERMINACION DE LAS ESPORAS Y EL DESARROLLO DE MICELIO EN PLACA</u>	95
	1. <u>Objetivo</u>	95
	2. <u>Materiales y métodos</u>	95
	2.1. Metodología de desinfección y siembra de esporas de <i>Glomus mosseae</i> "in vitro"	95
	2.2. Obtención de extractos de sustratos orgánicos estériles	96
	2.3. Microbiota de los sustratos orgánicos. Recuento e identificación	97
	2.4. Germinación de <i>Glomus mosseae</i> y desarrollo de micelio	99
	3. <u>Resultados</u>	104
V	<u>GERMINACION DE <i>GLOMUS MOSSEAE</i> Y DESARROLLO DE MICELIO EN LOS SUSTRATOS ORGANICOS: CRECIMIENTO SAPROFITICO Y POTENCIAL INFECTIVO DEL HONGO</u>	111
	1. <u>Objetivo</u>	111
	2. <u>Materiales y métodos</u>	111
	2.1. Germinación de <i>G. mosseae</i> en sustratos orgánicos	112
	2.2. Infectividad de <i>G. mosseae</i> : crecimiento saprofítico	113
	3. <u>Resultados</u>	118
VI	<u>INTERACCIONES "IN VITRO" ENTRE HONGOS SAPROFITOS Y HONGOS PATOGENOS DEL SUELO</u>	118
	1. <u>Objetivo</u>	118
	2. <u>Materiales y métodos</u>	119
	2.1. Patógenos radicales	119
	2.2. Pruebas de antagonismo "in vitro"	120
	2.2.1. Micoparasitismo	120
	2.2.2. Confrontación directa en placa	120
	2.2.3. Difusión de sustancias antagonistas no volátiles al medio de crecimiento	123
	3. <u>Resultados</u>	125

VII	<u>RESPUESTA DE TAGETES ERECTA A LA INTERACCION ENTRE GLOMUS MOSSEAE Y PYTHIUM ULTIMUM VAR. ULTIMUM</u>	131
	1. <u>Objetivo</u>	131
	2. <u>Materiales y métodos</u>	131
	2.1. Evolución poblacional de los hongos saprófitos	132
	2.2. Patogenicidad de <i>Pythium</i> spp.	134
	2.3. Preparación de inóculos	136
	2.4. Diseño experimental	137
	3. <u>Resultados</u>	139
VIII	<u>DISCUSION</u>	143
IX	<u>CONCLUSIONES</u>	153
X	<u>BIBLIOGRAFIA</u>	159

I OBJETIVOS

La simbiosis micorrízica vesículo-arbuscular (MVA) es común en las raíces de casi todas las plantas y provoca en ellas cambios fisiológicos que afectan a su crecimiento y a su supervivencia.

La relación beneficio-coste que la inoculación con hongos vesículo-arbusculares pueda aportar a un cultivo determinado, dependerá de varios factores, entre los que cabe mencionar, la respuesta de la planta hospedadora, la falta de inóculo natural en el suelo o medio de crecimiento y el coste y disponibilidad de un inóculo adecuado al sistema.

Cultivos de alto valor económico, como muchas especies hortofrutícolas, especialmente las que se someten a trasplante, podrían justificar el coste de la inoculación con hongos VA. Estos cultivos se desarrollan totalmente o al menos en su primera fase de crecimiento, en contenedores con medios de crecimiento carentes de suelo y preparados con sustratos orgánicos en mezclas con acondicionadores inorgánicos. Estos sustratos carecen de micorrizas VA si no se han inoculado previamente. Con la utilización de la simbiosis VA se conseguiría, por un lado, el aprovechamiento más eficaz de los nutrientes por parte de estas plantas, con lo que podríamos evitar el acúmulo de sales provocado por la excesiva fertilización de estos cultivos, y por otro lado, restaurar la productividad en viveros que hayan sido fumigados para

eliminar patógenos de raíz, en los que las plantas micorrizadas tienen sin duda una ventaja para sobrevivir y desarrollarse.

En cultivos controlados de plantas ornamentales y hortofrutícolas, las micorrizas pueden aplicarse con facilidad debido a la pequeña cantidad de inóculo necesaria para micorrizar plántulas, plantones, u otro tipo de material vegetal joven como esquejes o estacas enraizadas.

La información acerca del desarrollo de las micorrizas VA en medios de cultivo en contenedor es contradictoria. Prácticamente se desconoce el efecto de la composición química y biológica de los sustratos sobre la simbiosis VA. Algunas de las características físico-químicas de estos sustratos orgánicos son potencialmente adversas para el desarrollo de las MVA, como la elevada fertilidad de algunas turbas. Además, las propiedades supresivas de algunos composts frente a la infección por organismos patógenos, puede inducirnos a pensar que también los haga incompatibles con el establecimiento de la infección MVA.

Los objetivos finales de esta Tesis fueron : el esclarecimiento de las relaciones existentes entre sustratos orgánicos y hongos formadores de micorrizas VA, y el estudio de las interacciones entre la microbiota de los sustratos, los hongos formadores de micorrizas VA y los hongos patógenos de raíz en el crecimiento de plantas de interés en hortofruticultura. A ello se llegó a través de los siguientes

objetivos intermedios:

- Establecer la formación de la simbiosis MVA en distintas combinaciones hongo-planta-sustrato.
- Evaluar el efecto de las propiedades químicas y biológicas de los sustratos orgánicos sobre el desarrollo de los hongos VA "in vitro". Teniendo en cuenta la naturaleza y la actividad de la microflora presente.
- Evaluar la influencia de los sustratos en el desarrollo saprofítico del hongo VA.
- Estudiar las influencias entre la microbiota de los sustratos y hongos patógenos de raíz.
- Investigar las interacciones en un sistema de cultivo con planta entre hongos MVA, patógenos y microorganismos de los sustratos, para aprender a manipular las poblaciones microbianas en beneficio de la planta.

Cada uno de estos objetivos corresponden en esencia a cada una de las partes experimentales que constituyen esta Tesis.

II INTRODUCCION

1 Micorrizas

Las raíces de las plantas forman en su mayoría una asociación simbiótica con hongos del suelo específicos llamada "micorriza". Su existencia es conocida desde hace más de 100 años (Frank, 1885), y su contribución al crecimiento y al desarrollo de las plantas se ha estudiado durante los últimos 50 años. Actualmente se acepta que las micorrizas son componentes clave de la raíz y por lo tanto de la rizosfera, y que cumplen un papel significativo en el funcionamiento de la raíz y en el establecimiento de las poblaciones microbianas en el suelo o sustrato que la rodea.

Los hongos que forman micorrizas viven en el suelo pero son simbioses obligados: no desarrollan plenamente su ciclo de vida si no es en presencia de la planta hospedadora con la que se asocian. El hongo invade el tejido del córtex radical de la planta, y le proporciona nutrientes minerales y agua, mientras que la planta, a través de la fotosíntesis, es la fuente de carbohidratos para el hongo, además de proporcionarle un nicho ecológico.

Las hifas del hongo, elementos filamentosos del aparato vegetativo o micelio, crecen a partir de la raíz hacia el suelo que la rodea. Aumentan notablemente la capacidad de captación de nutrientes más allá de las zonas de agotamiento rizosférico que afectan a los iones relativamente inmóviles

en el suelo: P, Cu, Zn. Las hifas exploran un volumen de suelo superior que las raíces no micorrizadas, y de hecho, las plantas responden mejor a la presencia de micorrizas en suelos o sustratos deficientes en nutrientes o con problemas de estrés, dónde éstas tienen un papel de supervivencia en la nutrición de la planta.

En condiciones naturales, la presencia de micorrizas está generalizada en casi todas las plantas que se explotan en producción agrícola y forestal. Su incorporación a los sistemas de cultivo significa un acercamiento a la forma de crecimiento real de estas especies, en equilibrio con nuestros recursos y compatible con el medio ambiente, que puede constituir una necesidad cuando la planta presenta una elevada dependencia de la micorrización para alcanzar su crecimiento óptimo.

1.1 Taxonomía y morfología. Tipos de micorrizas

Las micorrizas son asociaciones tan prevalentes que resulta más sencillo enumerar los grupos de plantas que no las forman o en los que todavía no se han observado: el orden Centrospermales y las familias Cruciferae, Cyperaceae, Fumariaceae, Commelinaceae, Urticaceae y Polygonaceae (Gerdemann, 1968). Dentro de estos grupos se han citado algunas excepciones, como miembros de la familia Chenopodiaceae, orden Centrospermales (Williams et al., 1974) y varias especies de las familias Cyperaceae (Mejstrick, 1972) y Cruciferae (Ross y Harper, 1973). Hirrel et al. (1978), y Ocampo et al. (1980),

encontraron que varias especies de Chenopodiaceae y Cruciferae, se infectaban de forma limitada en presencia de una planta micorrizada, pero no si crecían en solitario.

Por su anatomía, las micorrizas pueden dividirse en tres tipos: ectotróficas, endotróficas y ectendotróficas, siendo las ecto- y las endomicorrizas los dos grupos dominantes. La característica común de los tres tipos de asociaciones micorrícicas es que la invasión fúngica queda limitada a la región cortical de las raíces no suberificadas de la planta hospedadora.

1.1.1. Ectomicorrizas

Las ectomicorrizas son comunes entre especies forestales y ornamentales arbóreas de las familias Pinaceae, Salicaceae, Betulaceae, Fagaceae y Tiliaceae, así como en algunas especies de Rosaceae, Leguminoseae, Ericaceae y Juglandaceae (Trappe,1962; Meyer,1973). Los hongos que las forman son generalmente Basidiomycotina (Marx,1972), como especies de *Rhizopogon*, *Pisolithus* y *Lactarius*; aunque algunas especies de Ascomycotina también forman ectomicorrizas, por ejemplo los géneros *Tuber*, *Elaphomyces* y *Helvella* (Trappe,1969).

Por su estructura, las ectomicorrizas se distinguen porque forman un conglomerado grueso de hifas compacto: el manto, que rodea las raíces nutricias de la planta hospedadora. El manto reemplaza a los pelos radicales por hifas o cordones miceliares que incrementan notablemente la superficie de absorción radical, ya que a partir de la raíz pueden explorar

regiones de suelo más apartadas a las que no pueden acceder los pelos radicales. Las hifas del hongo también penetran a través de la epidermis a los espacios intercelulares de las células corticales, reemplazando a la lámina media y formando una red de hifas tridimensional: la red de Hartig. Las raíces ectomicorrícicas se reconocen fácilmente por su aspecto: raíces engrosadas y cortas, de crecimiento limitado, y sus colores distintivos que varían según la interacción entre la especie vegetal y sobretodo el asociado fúngico. Las ectomicorrizas se caracterizan también por el patrón específico de ramificación que siguen, desde monopódico a ramiforme o coraloide, dependiendo de la especie vegetal implicada.

Los hongos ectomicorrícicos viven en el suelo en forma de esporas, esclerocios y rizomorfos, o grupos de cordones miceliares que se extienden desde la ectomicorriza hacia o cerca de la superficie del suelo, formando cuerpos fructíferos que contienen esporas. Estas pueden diseminarse por varios medios, como viento, agua, o vectores animales. Los hongos ectomicorrícicos son dependientes de sus hospedadores en hábitats naturales para obtener compuestos de carbono reducidos, pero muchas especies se pueden reproducir en ausencia del hospedador utilizando técnicas de cultivo puro (Marx et al., 1970).

1.1.2. Endomicorrizas

La mayoría de las especies fúngicas endomicorrícicas

pertenecen al orden Mucorales, y concretamente a la familia Endogonaceae, un grupo primitivo de hongos que cuenta con representantes del Devónico (Rosendhal,1943). Seis de sus géneros: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Sclerocystis*, *Scutellospora* y *Entrophospora*, forman la clase más común e universal de micorrizas: las vesículo-arbusculares (MVA) (Gerdemann y Trappe,1975 ; Walker y Sanders,1986). Algunos miembros de otro género: *Endogone sensu stricta* forman ectomicorrizas (Gerdemann y Trappe,1974). La capacidad de formar micorrizas del resto de las especies de *Endogone* y de los otros tres géneros incluidos en la familia Endogonaceae: *Glaziella*, *Modicella* y *Complexipes* se desconoce en la actualidad.

Las Endogonaceae se han situado definitivamente, después de muchas conjeturas sobre su posición taxonómica y gracias a técnicas bioquímicas (Weijman y Menzelaar,1979) en Zigomycotina.

Algunas endomicorrizas se forman en asociación con Basidiomycotina, y se distinguen en su estructura morfológica celular por tener hifas septadas. Ese tipo de micorrizas se encuentra en Orquidaceae, Gentianaceae y Ericaceae.

Las endomicorrizas difieren de las ectomicorrizas en que esencialmente no se observan cambios morfológicos en la estructura externa de la raíz del hospedador. No hay manto, pero sí una red de hifas laxa que se propaga desde la raíz y hasta varios centímetros desde su superficie. Las hifas de los

hongos endomicorrícicos penetran a través de la epidermis y de los pelos radicales hacia el interior de las células corticales.

La forma más común de micorrizas endotróficas es la vesículo- arbuscular. Esta simbiosis se encuentra en todos los climas y condiciones edáficas conocidas, desde ecosistemas acuáticos a desérticos. La forman la mayoría de las familias de Angiospermas, lo que incluye a casi todas las plantas cultivadas salvo excepciones como Cariofilaceae , Cruciferae, Chenopodiaceae y Cyperaceae, dónde son raras o ausentes. La ausencia de manto externo dificulta el reconocimiento de las MVA, pero utilizando técnicas de clarificación y tinción histológicas (Phillips y Hayman, 1970), se pueden observar fácilmente al microscopio óptico las estructuras especializadas que los hongos formadores de MVA constituyen en el córtex radical de la planta hospedadora: vesículas y arbuscúlos. Estos hongos son simbioses obligados, no desarrollan su ciclo de vida plenamente si no es en presencia de la planta hospedadora con la que se asocian, y no se han podido cultivar en medios nutritivos. Los endófitos VA no son específicos en cuanto al hospedador aunque existe cierta evidencia de que algunos endófitos forman asociaciones preferenciales con algunas plantas hospedadoras.

Las esporas de los hongos formadores de MVA se encuentran en el suelo agrupadas en esporocarpos, libres o asociadas al micelio extraradical. Son globosas u ovaladas y casi siempre

se forman en posición terminal o en ramas laterales cortas del micelio. Miden de 20 a 150 μ m de diámetro en general, aunque pueden alcanzar hasta 400 μ m. Tienen una pared externa gruesa y un contenido citoplasmático denso y rico en gotas lipídicas. Con la edad aparecen vacuoladas. Los géneros de hongos formadores de MVA se distinguen precisamente entre ellos por las características morfológicas de sus esporas de resistencia y esporocarpos, que constituyen la base de las claves de clasificación (Gerdemann y Trappe, 1974 ; Hall y Fish, 1979), junto con la anatomía interna de la infección VA (Abbott, 1982). A continuación se resumen las características morfológicas básicas de los seis géneros que forman MVA.

Glomus: clamidosporas formadas en esporocarpos hipogeos o epigeos, libres en el suelo o dentro del parénquima cortical de la planta hospedadora infectada. Tienen desde una a muchas paredes, raramente ornamentadas. La germinación suele producirse a partir de una hifa de sustentación a través de la pared. La infección interna está formada por arbuscúlos y vesículas.

Gigaspora: azigosporas ectocárpicas formadas sobre una hifa de sustentación de base bulbosa engrosada, con una o más proyecciones laterales de función desconocida. La pared puede tener de una a veinte capas en un solo grupo, con la más externa a menudo ornamentada. Uno o más tubos germinativos se forman directamente a través de la pared cerca de la base. Al mayoría de las especies

forma arbuscúlos pero no vesículas en el parénquima cortical. Vesículas externas, en solitario o agrupadas en racimos se forman en el suelo. Su forma y ornamentación son criterio taxonómico de clasificación de especies.

Acaulospora: las zigosporas se forman en solitario y ectocárpicamente en el suelo. La formación de la espora empieza por la de una vesícula de pared delgada al final de una hifa gruesa. El contenido de esta vesícula emigra hacia la hifa de nuevo y se vacía en una espora de resistencia sésil. Tienen dos o más paredes y a menudo ornamentación externa. La infección interna se caracteriza por la presencia de vesículas lobuladas.

Sclerocystis: clamidosporas similares a las de *Glomus*, pero siempre agrupadas en esporocarpos muy densos, donde las esporas se ordenan en una capa alrededor de un plexo central. Algunas especies tienen peridio. Infección interna con vesículas y arbuscúlos.

Scutellospora: género de creación reciente procedente de *Gigaspora* (Walker y Sanders, 1986). Se distingue por tener dos o más grupos de paredes, con una o más paredes flexibles membranosas o coriáceas en el grupo o grupos internos. Germinación por uno o más tubos producidos cerca de la base de la espora, a partir de una concha de germinación formada sobre o dentro de una pared flexible.

Entrophospora: género descrito por Ames y Schneider en 1979 recientemente confirmado como formador de MVA (Morton, 1988).

Algunas plantas son capaces de formar asociaciones ecto- y endomicorrícicas: las familias Salicaceae, Juglandaceae, Tiliaceae y Mirtaceae, así como algunas especies de *Juniperus* y *Chamaecyparis* (Gerdemann, 1975).

1.1.3. Ectendomicorrizas

Un tercer tipo de micorrizas con características ecto- y endomicorrícicas se han clasificado como ectendomicorrizas. Se ha realizado su síntesis en cultivo puro en condiciones asépticas (Wilcox y Gunmore-Neuman, 1974). Los hongos que las forman tienen una distribución limitada en suelos forestales, son mal conocidos, y se han asociado con especies de vivero que generalmente forman ectomicorrizas (Mikola, 1965). Las características de las ectendomicorrizas podrían venir determinadas por la planta hospedadora (Zak, 1976).

Tras esta breve introducción general sobre los distintos tipos de micorrizas existentes, nuestro interés se centrará en las micorrizas endotróficas del tipo vesículo-arbuscular, las de más amplia distribución geográfica, y formadas por plantas cultivadas para producción agraria, incluyendo horticultura y cultivos ornamentales.

1.2. Formación de las micorrizas vesículo-arbusculares

1.2.1. Secuencia de formación de la infección MVA y morfología

El ciclo de vida de un hongo formador de micorrizas VA empieza con la germinación de las esporas de resistencia que se encuentran en el suelo, cuando las condiciones ambientales son favorables, o por las hifas que crecen a partir de otros

propágulos, como raíces pre-infectadas. El tubo o tubos germinativos emitidos penetran por los espacios intercelulares en el tejido de la raíz a través de la epidermis, formando un aprensorio en su superficie o por los pelos radicales. A partir de ahí se forman unidades de infección. Las hifas internas se ramifican en el córtex constituyendo una red distributiva. En la parte externa del parénquima cortical, el endófito forma espirales de micelio intracelulares ("coils"), mientras que en la parte interna crea hifas intercelulares y arbuscúlos. Las vesículas se forman a lo largo de toda la raíz, entre las células corticales o dentro de ellas, sujetas a las hifas internas en posición generalmente terminal. Se supone que actúan como órganos de almacenamiento o reserva de lípidos. La cantidad de vesículas dentro de una raíz dependerá de su edad fisiológica. Los arbuscúlos nacen de ramas laterales de las hifas distributivas que crecen paralelamente al cilindro vascular, ocupando gran parte del córtex primario. Se desarrollan a los pocos días del inicio de la infección, ramificándose dicotómicamente a partir de un tronco por el que el hongo invade la célula cortical. Las ramificaciones son cada vez más finas, hasta alcanzar 1 μ m de diámetro. Dentro de una célula cortical hospedadora se forma un único arbuscúlo, sin quebrar el plasmalema de la misma, sino acoplándose a él por invaginación. Tras una vida corta de 2 o 3 semanas, los arbuscúlos degeneran dejando en la célula una masa de material fúngico desorganizado. Un nuevo arbuscúlo

puede sustituir en la célula al que ha degenerado. La magnitud de la infección interna estaría controlada por el hospedador (Buwalda et al., 1984).

Las hifas del hongo VA crecen externamente desde la raíz hacia el suelo o sustrato que la rodea, formando el micelio extraradical, capaz de explorar un volumen de suelo adicional al que no acceden las raíces no micorrizadas: de esta forma aumenta notablemente la capacidad de captación de nutrientes, más allá de las zonas de agotamiento rizosférico de nutrientes inmóviles.

1.2.2. Factores que afectan a la formación de las MVA

La formación de las MVA comporta un sistema de interacciones entre suelo, planta y hongo. El hongo confiere agregación al suelo o sustrato, mientras capta P y otros nutrientes, que transloca hacia la planta hospedadora. La planta libera exudados radicales y restos orgánicos al suelo mientras absorbe agua y nutrientes minerales, ya sea directamente o a través del hongo que forma la micorriza, al que aporta hidratos de carbono.

Grado de dependencia de la planta hospedadora

Las plantas dependen en mayor o menor grado de la micorrización para alcanzar un crecimiento óptimo. La micotrofia parece ligada en primer lugar a la geometría de la raíz: las plantas con un sistema radical tipo magnoloide, poco ramificado, grueso y sin pelos radicales, responden positivamente a la infección por un hongo VA. Entre los

ejemplos más claros de este tipo de planta se encuentran cítricos y cebolla. El genotipo de la planta hospedadora condiciona la eficacia de la simbiosis (Azcón y Ocampo, 1981; Estaún et al., 1987).

Fertilidad del sustrato

La infección MVA es prácticamente inexistente en suelos de cultivo altamente fertilizados, y se ha demostrado que existe una relación inversamente proporcional entre la cantidad de P asimilable en un suelo y la medida de respuesta a la micorriza en el crecimiento de la planta (Hayman y Mosse, 1971; Stribley, 1980). La aplicación de fertilizantes fosfatados al suelo, como el superfosfato, disminuye la infección MVA y el número de propágulos. Esta aplicación a menudo no contribuye a la nutrición fosfatada de la planta, ya que el fósforo puede ser retenido por los coloides arcillosos o precipita formando compuestos de baja solubilidad. Actualmente se admite que deficiencias de micronutrientes inducidas por un exceso de fósforo pueden atribuirse en parte a la reducción de la infección micorrícica por el uso de fertilizantes fosfatados. La raíz poco o no micorrizada absorbería con menos eficiencia algunos nutrientes que podrían pasar a ser limitantes, como Cu y Zn.

Especificidad relativa del hongo

No existe una especificidad hongo-planta en cuanto a colonización de la raíz hospedadora por el hongo VA, pero sí se conoce especificidad en lo que afecta a efectividad de la

simbiosis, ligada a las características físico-químicas del sustrato o suelo. El pH por ejemplo, es un factor determinante de la presencia y de la efectividad de algunas especies de hongos VA. La efectividad simbiótica de estos hongos depende de su habilidad para estimular el crecimiento. Los mejores endófitos deberían ser los que producen más micelio externo para captar nutrientes. No existe una relación directa entre magnitud de infección interna y su repercusión en el crecimiento de la planta (Clarke y Mosse, 1981).

Factores ambientales

La cantidad de luz que llega a la planta hospedadora afecta a la interacción hongo-planta-suelo. Cuando la intensidad de luz o el fotoperíodo se acortan, se atenúa la respuesta a la micorrización (Hayman, 1974). La capacidad fotosintética es menor, el hongo recibe menos carbohidratos, y esto se traduce en una reducción de energía disponible para captar nutrientes.

Humedad y temperatura afectan directamente a la germinación de las esporas de resistencia, y por lo tanto al establecimiento de la simbiosis. Las bajas temperaturas pueden variar el comportamiento del endófito, desde una forma beneficiosa hasta parasitaria (Furlan y Fortin, 1973).

Tecnología agrícola

El funcionamiento de las MVA también se ve afectado por las prácticas de cultivo, como desinfección del suelo, distorsión del perfil edáfico y aplicación de pesticidas. Los fungicidas

pueden reducir la infección micorrícica y la esporulación del hongo (Spokes et al.,1981). Las poblaciones autóctonas de hongos VA son bajas o inexistentes en suelos y sustratos de cultivo sometidos a fumigación para controlar químicamente el establecimiento de organismos patógenos. En algunos casos de desinfección de suelos de vivero con Bromuro de Metilo, la reinoculación del suelo se hace imprescindible para el desarrollo óptimo de las plantas (Schenck y Tucker,1974).

La erosión es otro factor a tener en cuenta, puesto que afecta negativamente al desarrollo normal de las MVA.

1.3. Fisiología de la simbiosis MVA

Los conocimientos sobre la fisiología de los hongos VA están limitados por no poder reproducirlos en cultivo puro, de forma que la información obtenida en investigación se refiere al hongo simbiótico, cuya fisiología está modificada por interacciones con la planta hospedadora.

1.3.1. Fisiología del endófito VA y funcionamiento de la infección

Las esporas de resistencia del hongo VA germinan en agar-agua *in vitro*, pero el desarrollo de las hifas a partir del tubo germinativo se restringe a unos pocos centímetros. El crecimiento del micelio es estimulado por varios compuestos, como sustratos orgánicos, vitaminas y compuestos de azufre (Hepper,1984), así como por raíces o suspensiones celulares en el medio y por microorganismos puntuales (Carr et al.,1985). Mediante técnicas de citoquímica y electroforesis, se han determinado actividades enzimáticas

que prueban que los ciclos glucolítico, de los ácidos tricarboxílicos, y la ruta de las pentosas-fosfato operan en las esporas de los hongos VA (Macdonald y Lewis, 1978 ; Hepper et al., 1986), así como las rutas de síntesis de aminoácidos (Beilby, 1983).

Las esporas contienen una elevada reserva de lípidos, la maquinaria metabólica y la información genética necesarias para iniciar el crecimiento de las hifas (Beilby y Kidby, 1980). Esporas e hifas producen auxinas, giberelinas y citoquininas endógenas que deben poder inducir cambios si se secretan durante la formación de la micorriza (Barea, 1986). Los tubos germinativos absorben fósforo por un proceso termolábil, pero los mecanismos de captación se desconocen. Existe un flujo citoplasmático rápido y bidireccional en las hifas que se forman a partir de la espora (Pons y Gianinazzi, 1984).

En la parte externa del córtex radical, la penetración del hongo puede ser intra- o intercelular. A este nivel, la membrana plasmática del hospedador y la pared fúngica están siempre separadas por material de la pared del hospedador. La actividad ATPásica ligada a la membrana del hospedador es baja en esta interfase (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1987), sin embargo, sí hay actividad ATPásica en las membranas plasmáticas de las hifas en espiral ("coils") y de las hifas intercelulares. A medida que la infección se dispersa por el parénquima cortical, la formación de arbusculos crea una gran

superficie de contacto entre las células de los dos organismos. Los intercambios de nutrientes entre hongo y hospedador tienen lugar en la interfase de los arbusculos con el citoplasma de la célula cortical, entre la pared celular del hongo y la membrana plasmática de la célula vegetal. La membrana plasmática se pliega alrededor de las hifas ramificadas del hongo (Toth y Miller, 1984). La pared fúngica de los arbusculos es mucho más fina, simple y no es quitinosa como la pared de las hifas del micelio externo. En los arbusculos, ambas membranas plasmáticas, del hongo y del hospedador, tienen actividad ATPásica (Marx C. et al., 1982), que no se detecta en los arbusculos degenerados, indicando la existencia de una modificación especializada de la membrana del hospedador alrededor del arbusculo. Esta interfase intracelular dónde se reduce al mínimo el material de pared y dónde los sistemas enzimáticos capaces de generar gradientes de energía para el transporte activo existen en ambos simbioses, es propia de las MVA y denota un alto grado de especialización. No se encuentra en otras interacciones tipo haustorio hospedador-parásito dónde el transporte de nutrientes es unidireccional.

1.3.2. Efectos sobre el crecimiento y la nutrición mineral de las plantas

Las plantas micorrizadas tienen una mayor tasa de crecimiento que las no micorrizadas en suelos con bajo contenido en fósforo asimilable, y la relación raíz/parte

aérea en peso seco, disminuye tras la infección VA. La nutrición fosforada es el aspecto de la fisiología de las MVA que ha recibido mayor atención. La captación de P es más rápida en raíces micorrizadas (Smith ,1982), lo que implica un incremento en la tasa de crecimiento de la planta así como una mayor concentración de P total en sus tejidos. La influencia de las micorrizas en la captación de P depende de cuatro procesos básicos:

Desarrollo de la red de hifas: varía según la especie de hongo, el nivel de desarrollo de la simbiosis, y las condiciones ambientales (Graham et al.,1982). El desarrollo del hongo dentro de la raíz es también importante, ya que determina el área de transferencia de nutrientes.

Absorción de fósforo en las hifas: existe un gradiente de P_i ortofosfato de 1000:1 entre hifas y solución del suelo, que indica que el P debe ser absorbido activamente (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi,1986). Puede que las hifas absorban P inmobilizado en suelos altamente fijadores, pero ha sido imposible por el momento distinguir una actividad directa del hongo de una actividad incrementada en la superficie radical o en la rizosfera tras la infección MVA, en la que puede intervenir una producción localizada de sideróforos, protones, y enzimas (Young et al.,1986).

Translocación de P a través de las hifas: tras la captación de P, se acumula polifosfato en las vacuolas de los hongos VA, actuando como reserva y como sistema de translocación de P por

las hifas (Cox et al.,1980). Su síntesis podría hacerse mediante una fosfatoquinasa y su rotura por polifosfatasas o polifosfatoquinasa inversa, presentes en raíces infectadas (Capaccio y Callow,1982). El sistema sería una forma de regular la concentración de Pi en el citoplasma. En las vacuolas se encuentra también una fosfatasa alcalina (Gianinazzi et al.,1979), que se relaciona con la infección activa, pero se desconoce cuál es con seguridad su función en el metabolismo del P.

Los nutrientes translocados por las micorrizas son Zn, S, Ca y N además de P (Cooper ,1984), dependiendo la tasa de translocación de la combinación hongo-planta. La síntesis y rotura de compuestos de fósforo en las vacuolas afecta directamente al metabolismo del N en la micorriza, puesto que la arginina y también el Ca, son constituyentes secundarios del polifosfato (White y Brown,1979).

Transferencia bidireccional de nutrientes entre simbiosis: La interfase entre ambos organismos es de estructura compleja, y la transferencia de nutrientes se hace en los dos sentidos, como prueba la distribución de ATPasas en las membranas plasmáticas de células radicales y arbusculos, que actuarían como bombas de protones afectando al movimiento de otros iones como el K. Existe un transporte bidireccional de Pi y carbohidratos solubles, además de un transporte de N inorgánico del hongo a la raíz, aunque se desconoce la naturaleza de las moléculas transferidas.

La micorrización tiene efectos importantes sobre el metabolismo de la planta hospedadora. La tasa de fotosíntesis es superior en plantas micorrizadas (Snellgrove et al., 1986). La disponibilidad de Pi limita la tasa fotosintética "in vivo", y puesto que los mecanismos fotosintetizadores de las plantas varían en su sensibilidad a la deficiencia de P, ésta podría ser una base que explique las diferencias en respuesta a la infección MVA en distintas especies.

El aporte de P afecta a otras actividades enzimáticas: hay una demanda de N superior cuando se ha aliviado el estrés fosfórico, que puede satisfacerse en parte por una mayor actividad enzimática en la asimilación de N-amoniaco y N-nítrico. Se ha comprobado además un incremento significativo en fijación de nitrógeno y en la captación de N del suelo en leguminosas micorrizadas (Barea et al., 1987), y se han descrito incrementos en la captación de otros nutrientes, como K y S, y de micronutrientes como Cu y Zn, (Cooper, 1984), debido a una mejor nutrición fosforada, o sencillamente por efecto directo del hongo. Las interacciones pueden ser complejas, por ejemplo, la concentración de Na y la fuente de N (NH_4 o NO_3) influyen fuertemente en el requerimiento de K (Cooper, 1984).

Los requerimientos de C del hongo VA los proporciona la fotosíntesis de la planta hospedadora. Los hongos transforman los metabolitos del hospedador en compuestos típicamente fúngicos. Los lípidos abundan en arbusculos, vesículas, e

hifas maduros, y gránulos de glucógeno asociados a estas estructuras se encuentran en hifas jóvenes, vacuolas y en las ramas más finas de los arbusculos (Bonfante-Fasolo y Grippiolo,1984). En el micelio externo se han detectado polioles y trehalosa (Cooper,1984).

Las raíces micorrizadas tienen una actividad respiratoria más alta que las no infectadas (Harley y Smith,1983). Su actividad metabólica debe ser más elevada, ya que el volumen citoplasmático de las células infectadas es superior, el número de mitocondrias es mayor, así como el contenido proteico y la actividad enzimática (Dehne,1986). Cuando el fósforo es limitante, se incrementan el gasto de C y la fotosíntesis. Las plantas micorrizadas deben gastar el C de la parte aérea con más efectividad, y por tanto tendrán un % de materia seca superior, si se comparan plantas con idéntico peso fresco de hojas, tasa fotosintética y tasa de crecimiento relativo (Smith S.E. et al.,1986).

1.3.3. Efectos hormonales

Los hongos formadores de micorrizas pueden influir en el crecimiento de la planta hospedadora a través de compuestos hormonales. Se sabe desde hace tiempo que hongos ectomicorrícicos creciendo en cultivo puro producen auxinas, giberelinas, citoquininas y vitaminas (Slankis,1973). En el caso de infección por endofitos VA, respuestas del hospedador atribuidas a efectos hormonales no pueden distinguirse de diferencias en crecimiento y desarrollo (Schultz et al.,1979),

que son debidas a que las plantas comparadas, infectadas y no infectadas tienen una distinta edad fisiológica (Smith,1980).

La producción de hormonas por hongos micorrícicos se ha considerado también implicada en un incremento en el enraizamiento de estaquillado. Esto ha sido probado para hongos ecto- y estacas leñosas (Linderman y Call,1977). La inoculación con endofitos VA también promueve el inicio y el desarrollo de raíces en ausencia de hormona de enraizamiento y antes de que se produzca la infección (Cooper,1983 ; Roldán-Fajardo,1985). La formación de arbusculos se incrementa al aplicar AIA (ácido indolacético) en raíces de garbanzo (Gunze y Hennessy,1980), sugiriendo que las auxinas podían estar implicadas en su formación. También se ha comprobado que la infección micorrícica puede aumentar notablemente el nivel de citoquininas en hojas y raíces de plantas micorrizadas (Allen et al.,1980). Los niveles más altos de citoquininas en las raíces micorrícicas podrían atribuirse a un incremento en la captación de fósforo, o simplemente reflejar un incremento debido a una mayor masa radical. Allen et al. detectaron el incremento en condiciones estériles, de forma que los efectos hormonales atribuibles a suelos, exudados radicales, o a otros organismos de la rizosfera se eliminaron .

No existe todavía ninguna evidencia de que los hongos VA produzcan hormonas. En caso de que las produzcan, se desconoce si podrán ser transferidas al hospedador. Tampoco se puede afirmar que la asociación simbiótica estimule la producción

de hormonas por el hospedador.

La infección micorrícica afecta a la acumulación de hormonas en los tejidos del hospedador, produciendo cambios en los niveles de citoquininas, ácido abscísico y sustancias tipo giberelinas (Barea ,1986). Se desconoce por el momento si ésta influencia está o no ligada al mejor estado nutritivo del hospedador micorrizado, y parece poco probable que la síntesis de fitohormonas por el hongo fuese responsable de los incrementos en su totalidad.

1.3.4. Efectos sobre las relaciones hídricas

Existe la posibilidad de que las plantas micorrizadas tengan una mayor resistencia a la sequía, pero ha sido difícil hasta ahora distinguir entre efectos directos de la micorriza y aquellos efectos mediados por una mejor nutrición mineral. Los efectos indirectos se pueden reproducir incrementando el aporte de P. Las plantas micorrizadas tienen conductividades eléctricas más elevadas (o menor resistencia al flujo de agua), especialmente cuando es baja la disponibilidad de P. Las resistencias del tallo son inferiores, especialmente en los estomas, de forma que el movimiento de CO_2 y H_2O se vé afectado y se incrementan las tasas de respiración y de fotosíntesis (Levy y Krikun,1980 ; Nelson y Safir,1982) .

Las MVA se desarrollan en hábitats diversos, desde zonas áridas hasta ambientes acuáticos. En suelos secos, la baja humedad relativa reduce la tasa de difusión de P, de forma que la infección MVA podría mejorar la nutrición fosfatada incluso

en suelos con un alto contenido en P.

También debe considerarse la posibilidad de que las micorrizas mejoren directamente las relaciones hídricas de la planta hospedadora. Las hifas del hongo que se ramifican en el suelo formando el micelio externo, podrían mantener una continuidad líquida a través de la interfase suelo-raíz, como hacen los pelos radicales, pero incrementando la zona de absorción de agua, y también podrían ser capaces de atravesar las zonas secas que rodean a las raíces de crecimiento lento en periodos de sequía. Las plantas con MVA la soportan mejor (Nelson C.E., 1987), debido directa o indirectamente a un incremento en la captación de P, aunque otros factores fisiológicos, independientes de la concentración de P en los tejidos, están implicados en la respuesta al estrés que ofrecen las MVA (Auge R.M. et al., 1986), así como la presencia de hifas externas, cuya eliminación afecta directamente a las relaciones hídricas de la planta (Hardie K., 1985).

1.4. Ecología de las MVA

La presencia de micorrizas VA es general en ecosistemas naturales o agrícolas, en todos los climas que permiten el desarrollo vegetal, ya sea en zonas tropicales, templadas o desérticas, independientemente de las plantas o del cultivo. Parece evidente que su papel en la supervivencia de las plantas y en la diversidad de especies es crítico en muchos ecosistemas (Reeves, 1979).

Cualquier factor que afecte a la estabilidad del ecosistema

varía el potencial que tienen las MVA para apoyar la comunidad vegetal, y puede tener como consecuencia directa una disminución drástica de productividad y mantenimiento del ecosistema. Un cambio brusco en las condiciones edáficas puede provocar que los hongos formadores de MVA nativos, adaptados al medio anterior, dejen de ser efectivos y no funcionen en un proceso de repoblación, o funcionen peor que un hongo introducido (Lambert et al., 1980). Este sería el caso de la implantación de vegetación en zonas desertizadas y de la recuperación de escombreras en minería, en que las plantas dependientes de las micorrizas no pueden sobrevivir, debido a la escasez de propágulos MVA en el suelo y el ecosistema puede que sea repoblado de forma dominante por plantas no micorrícicas. Entre los factores edáficos que pueden influir en la formación de las MVA, están el pH, la humedad, la fertilidad, las propiedades físicas, el contenido en materia orgánica, la aplicación de pesticidas y los microorganismos del suelo.

Las plantas en comunidades naturales llegan a compartir el hongo VA simbiote, y la supervivencia de algunas especies depende del aporte de nutrientes de otras plantas a través de las hifas del micelio externo que las interconectan (Francis et al., 1986).

Las condiciones ambientales extremas son las que imponen un estrés fisiológico sobre las plantas. En caso de deficiencia de nutrientes debido a bajas concentraciones iniciales en un

suelo, o a su elevada capacidad fijadora para nutrientes inmóviles, las plantas provistas de MVA pueden continuar creciendo debido a que absorben P a través de sus hifas externas a partir de un mayor volumen de suelo. La sequía es otro tipo de estrés muy común en ecosistemas naturales.

Las MVA aumentan la tolerancia de la planta a la sequía y también a la sal, ya sea en suelos salinos o en zonas irrigadas con agua de elevada salinidad. Se ha demostrado que el efecto más importante de las MVA en esas condiciones es también un incremento en la captación de fósforo (Poss et al., 1985), pero los efectos secundarios, como un incremento en los potenciales hídricos de la planta, un mayor aporte de K o una alteración en los niveles de fitohormonas también podrían ser importantes en la interacción MVA-salinidad (Estaún, 1988).

La ecología de las MVA está ligada a su interacción con otros microorganismos del suelo de la rizosfera. Las MVA inducen cambios cualitativos y cuantitativos en las poblaciones de la microbiota (Linderman, 1988b), y los grupos de microorganismos específicos pueden funcionar sinérgicamente con las MVA incrementando el crecimiento de la planta (Bagyaraj, 1984). Los efectos que se atribuyen a las MVA sobre el crecimiento de las plantas y su desarrollo, probablemente sean efectos combinados de las MVA con sus microorganismos asociados.

1.5. Aplicaciones de las MVA en producción agraria

Se considera que la infección MVA puede incrementar el crecimiento de las plantas en suelos estériles o no, debido a una mejor nutrición de la planta, como un principio general para muchos suelos de distintas características, especies de plantas hospedadoras y endofitos fúngicos. En este capítulo se discutirá la aplicación de los hongos VA en producción agrícola, enumerando situaciones específicas en campo o en cultivos bajo invernadero, así como los factores que limitan en la actualidad su potencial en explotaciones comerciales.

1.5.1. Producción de inóculo y tecnología

La producción de un inóculo adecuado debe empezar por una selección específica del hongo inoculante, según su eficiencia o habilidad en estimular el crecimiento de la planta hospedadora que se desea micorrizar. Esta prueba debería ser previa a la inoculación masiva de un cultivo (Powell et al., 1982 ; Azcón y Ocampo, 1981), para evitar que se haga de forma arbitraria, según presencia y número de esporas en un suelo, sin tener en cuenta la influencia de la especie hospedadora y del inóculo MVA en la respuesta micorrícica.

En la actualidad, el mayor inconveniente para la inoculación de cultivos en campo con hongos MVA es la cantidad de inóculo requerido, limitada por la imposibilidad de obtener cultivos puros de hongos VA. En las pruebas de campo realizadas hasta ahora, la inoculación ha consistido en colocar suelo pre-infectado con propágulos MVA bajo las semillas (Powell y Bagyaraj, 1982), práctica no factible para grandes extensiones.

La cantidad de inóculo deja de ser un problema cuando se pre-inoculan plántulas, estacas, o esquejes antes de su transplante a campo, de forma localizada en semillero o cama. Este es un caso ideal, puesto que cientos de plantas se infectan con un pequeño volumen de inóculo bruto, esporas o esporocarpos aislados o también raíces micorrizadas troceadas (Maronek et al.,1980 ; Plenchette et al.,1981).

El inóculo bruto se mantiene en plantas hospedadoras creciendo en maceta bajo condiciones controladas, y consiste en esporas, hifas, porciones de raíces infectadas y suelo adherido. Resulta impracticable utilizarlo a escala agronómica. El principal problema que presenta este inóculo bruto es el control de su calidad (contaminaciones, plagas, potencial infectivo). Se han estudiado métodos alternativos de concentración de inóculo, como raíces micorrizadas de plantas hospedadoras creciendo en cultivos hidropónicos (N.F.T.) (Elmes y Mosse,1980), pero estas raíces pierden rápidamente su viabilidad tras un periodo de almacenamiento y secado, o bien la producción de pellets conteniendo inóculo bruto y semillas en una envoltura de sulfato cálcico (Hayman et al. ,1981). Recientemente se ha establecido un sistema de planta "stock" en que las plantas inoculadas crecen en un medio artificial de arcilla expandida fertilizada (Dehne y Backhaus,1986). El hongo VA esporula en los finos poros superficiales de las partículas de arcilla, que se separan y desinfectan fácilmente, y pueden almacenarse en seco durante

años sin que las esporas pierdan viabilidad ni poder infectivo.

El sistema más reciente de producción de inóculo MVA, en desarrollo todavía, se basa en la utilización de raíces creciendo en condiciones asépticas e inoculadas con un hongo VA no contaminado (Mosse y Hepper, 1975). Se obtienen por este sistema, una colonización de las raíces y una esporulación típicas, y el sistema garantiza pureza de inóculo y subcultivo. El uso de raíces transformadas por inoculación con *Agrobacterium rhizogenes* puede incrementar el crecimiento del cultivo de raíces (Mugnier y Mosse, 1987).

1.5.2. Respuestas en campo

En pruebas de campo, con cultivos extensivos, es preciso calcular el beneficio de la inoculación en comparación con los costes que representa. Los hongos deben ser seleccionados por su adaptación al medio, ya que no todas las especies ni aislados tienen las mismas posibilidades en situaciones específicas.

Cereales: es necesario establecer la respuesta a la micorrización en contraste con una curva de respuesta a distintas dosis de P, y sólo será útil la micorrización si se obtiene el crecimiento óptimo de una planta a una dosis muy baja de fertilizante (Clarke y Mosse, 1981). Casi todos los ensayos de campo se han llevado a cabo con cebada, algunos con trigo y con maíz (Khan, 1972; 1975).

Leguminosas: las MVA estimulan indirectamente la nodulación

y la fijación de nitrógeno a través de una mayor captación de P. Respuestas positivas a la inoculación con hongos VA se han descrito en soja, garbanzo, guisante, tuya y leguminosas arbóreas entre otras . La bibliografía ha sido recientemente revisada (Barea et al.,1988).

Pastizales: la inoculación con hongos VA puede incrementar sobremanera el establecimiento de pastizales en suelos distorsionados, con poblaciones muy bajas de hongos nativos.

Otros cultivos: se han descrito incrementos significativos en producción de varios cultivos en suelo fértil de grandes extensiones, como cassava y cebolla (Powell y Bagyaraj,1982), y también en cosecha de tubérculo de patata (Black y Tinker,1977).

Las situaciones en que debe de considerarse la inoculación artificial con hongos VA de cultivos en suelos no esterilizados serían básicamente tres:

- bajo nivel de hongos VA nativos en un suelo dónde han crecido plantas hospedadoras no micorrícicas.
- conversión de suelos no agrícolas en zonas de cultivo o repoblación.
- baja efectividad de los endofitos nativos.

La inoculación artificial será probablemente de máxima utilidad cuando los simbiontes endofitos normalmente presentes en un suelo hayan sido eliminados o reducidos por esterilización al vapor, fumigación o aplicación de pesticidas, y el balance entre el coste y la disponibilidad

de un inóculo efectivo lo aconsejen.

1.5.3. Importancia potencial en cultivos intensivos; frutales, hortícolas y ornamentales

El alto valor comercial de los cultivos hortícolas, especialmente de los que se someten a transplante, justifica el coste de la inoculación. Los cultivos que crecen en sustratos distintos del suelo en contenedores carecen sin duda de MVA, y las prácticas de fertilización se cuestionan por la acumulación excesiva de sales del fertilizante, que alteran negativamente las características del sustrato, al liberarse del medio durante el periodo de crecimiento polucionando las aguas y aumentando el pH. La utilización más eficiente del fertilizante por estas plantas justificaría por sí sola su inoculación con hongos VA.

Se citan a menudo ejemplos de plantones de árboles enanos, deficientes en P, creciendo en camas de vivero fumigadas para eliminar patógenos del suelo. Estos síntomas se han correlacionado con la falta de hongos VA eliminados también del medio por la esterilización. La colonización de estos suelos por endofitos nativos es posible pero lenta, dada la relativa inmovilidad de las grandes esporas VA, y por eso se aconsejaría inocular para reestablecer la productividad del vivero (Kough et al., 1985), en cítricos, pies de frutales y ornamentales leñosas entre otros.

Una forma eficaz de introducción de las MVA es la inoculación de semillas, esquejes o plántulas en contenedores,

antes del trasplante, con la ventaja de que las plántulas pequeñas se micorrizan con gran facilidad utilizando una cantidad mínima de inóculo por planta, y el simbionte coloniza las raíces a medida que van creciendo, una vez introducido en su interior. Las plantas micorrizadas a este nivel, resisten mejor el trasplante (Biermann y Linderman, 1983).

Parece ser que las especies en cultivos intensivos son las que más podrían beneficiarse de la inoculación con hongos VA cuando están sujetas a condiciones de estrés durante el trasplante, o cuando crecen en suelos de baja fertilidad o tratados con pesticidas. Son necesarios más estudios con plantas creciendo en contenedor, fácilmente inoculables, sobre todo perennes, en que la infección tiene mucho tiempo para establecerse. En viveros de especies forestales, la inoculación con hongos ectomicorrícicos es práctica habitual y se está incorporando rápidamente a viveros de frutales para las MVA.

La inoculación con hongos VA puede incrementar la supervivencia de los cítricos en suelos de vivero esterilizados (Kleinschmidt y Gerdemann, 1972). En este primer trabajo, la micorrización de los árboles resultó en incrementos de crecimiento del 10 al 142%. Los resultados han sido corroborados por otros autores y actualmente, la inoculación se utiliza comercialmente en viveros de cítricos de E.U. (Schenck y Tucker, 1974 ; Menge et al., 1977). Efectos positivos de la inoculación se han descrito también en otros

frutales: aguacate, con incrementos de crecimiento entre 49 y 254% y mayor resistencia al transplante (Menge et al.,1980) ; melocotonero, en el que se detectó un incremento del 79% en la altura de árboles creciendo en suelos estériles (La Rue et al.,1975) ; kiwi, con una respuesta a la fertilización con P y resistencia al transplante (Powell y Santhanakrishnan,1986). Son necesarios ensayos de campo para saber si los efectos de la micorriza persisten tras el transplante de vivero a campo. Plenchette et al. en 1981, lograron un incremento del 142% en longitud de tallos de plántones de manzano micorrizados a los 3 meses de su transplante a campo, a pesar de la elevada población de hongos VA nativos.

La utilización de las MVA en la industria de la planta ornamental puede tener una aplicación inmediata, especialmente por el uso de sustratos distintos del suelo y por la producción en contenedor (Johnson,1984). Las ventajas de los contenedores son varias: tasa de producción rápida, menor superficie, facilidad en el transporte y control de los niveles de riego y fertilización.

La utilización de las MVA podría aliviar algunos problemas causados por técnicas culturales, como la acumulación de sales debido a la elevada fertilización, ya mencionada, el coste de fertilizante y de su aplicación.

Se han descrito beneficios de las MVA en algunas ornamentales herbáceas: geranio (Biermann y Linderman,1983), en que las plantas micorrizadas superaron mejor el transplante

a suelo o a sustratos de turba y vermiculita; en poinsettia, la pre-inoculación con hongos VA redujo el aporte de fertilizante y suministró a la planta protección frente a *Pythium* y *Rhizoctonia* (Stewart y Pflieger, 1977); mejor crecimiento en crisantemo (Johnson y Menge, 1982). También en ornamentales arbóreas: *Magnolia* (Maronek et al., 1980); *Rhododendron*, *Pittosporum* y *Viburnum* (Crews et al., 1978 ; Johnson, 1984).

El sistema de propagación vegetativa de ornamentales leñosas difiere del de los cítricos o árboles forestales en que las estacas se enraizan antes del transplante en camas de vivero. Durante la fase de enraizamiento de la propagación, tiene lugar la infección micorrícica. Si los medios de enraizamiento están esterilizados o se preparan con medios artificiales, carentes de propágulos MVA, las estacas enraizadas listas para el transplante, no tendrán micorrizas. Si se transplantan a un suelo no fumigado, se infectarán probablemente con hongos VA nativos, y las plantas crecerán normalmente si son cepas eficaces, pero si se transplantan a un suelo fumigado, no habrá infección MVA, y las plantas no crecerán o morirán eventualmente. Se han descrito en la bibliografía numerosas inoculaciones de material vegetativo con hongos MVA que apuntan en esta dirección: olivo (Roldán-Fajardo, 1985); kiwi (Calvet et al., 1989); rosal (Davies, 1987); e incluso con plantas propagadas axénicamente e inoculadas *in vitro* con hongos VA (Pons et al., 1983). En todos los casos, la

inoculación con hongos VA fué favorable para el crecimiento de las plantas, y es evidente que las micorrizas pueden ser útiles bajo condiciones de mínima aportación de agua y fertilizantes, especialmente en la producción de plantas en contenedor.

2. Sustratos de cultivo

El cultivo de plantas en contenedor es práctica habitual en horticultura y requiere la utilización de sustratos de cultivo distintos del suelo natural, ya sea separados de su lugar de origen o producidos artificialmente. Las propiedades físico-químicas del sustrato afectan muy directamente al desarrollo radical de la planta, puesto que su ciclo de vida se desarrolla en un recipiente, con limitación de volumen a explorar. Desde el punto de vista físico, el sustrato confiere un soporte mecánico a la planta, y una cantidad de agua y aire que depende de su porosidad y de su capacidad de retención de agua. Sus características químicas afectarán a la nutrición de la planta, y se requiere un control riguroso de la fertilización y del riego para su crecimiento óptimo.

Los sustratos de cultivo son generalmente mezclas a distintas proporciones de sustratos orgánicos con materiales inertes o minerales para obtener una buena estabilidad estructural. Los más utilizados son: perlita, un silicato de Al de origen volcánico, expandido a alta temperatura y con baja capacidad de intercambio catiónico; vermiculita, silicato

de Al, Fe y Mg, obtenido también a alta temperatura, con buena capacidad de intercambio catiónico; tierra volcánica porosa; y porexpan, plástico de poliestireno inerte. Todos ellos mejoran las propiedades físicas del sustrato, siendo además perlita y vermiculita materiales estériles. Estas mezclas suelen tener buena aireación, buen drenaje, permiten el crecimiento rápido de la planta, y son más ligeros en peso y más uniformes que las mezclas hechas con tierra. Sus propiedades físicas incluyen: capacidad de retención de agua y aire, y densidades real y aparente. Determinan la disponibilidad de oxígeno y de agua para el crecimiento vegetal. Entre las propiedades químicas hay que controlar: la relación C/N, el pH, la conductividad eléctrica, la capacidad de intercambio catiónico, el contenido en materia orgánica, Ntotal, NH₄, NO₃, Ptotal, otros macro- y microelementos. Estas propiedades están tabuladas para muchas mezclas o sustratos de cultivo artificiales.

La mayoría de las mezclas contienen una proporción de sustrato orgánico del 40 al 50%. Entre los más utilizados actualmente se encuentran turbas, cortezas de árbol y desechos agrícolas compostados. Tanto corteza como residuos agrícolas, han reemplazado parcialmente la utilización de la turba en medios de crecimiento en contenedor (Cappaert et al., 1976 ; Hoitink et al., 1980; Calvet et al., 1985). Las razones que apoyan el reciclado de estos materiales son varias: el coste de los composts puede ser inferior al de las

turbas, y los costes de producción de planta pueden reducirse, ya que algunos medios con composts son supresivos para los patógenos del suelo, disminuyendo pérdidas de planta (Chef et al.,1983 ; Stephens y Stebbins,1985 ; Pera y Calvet,1989). Esta característica puede eliminar la necesidad de esterilizar al vapor o fumigar estos medios, y ha reducido el uso de fungicidas (Daft et al.,1979). Actualmente se han identificado factores bióticos, físicos y químicos que afectan a la supresividad.

2.1. Características generales de turbas y composts

Las turbas son materiales de origen geológico, formados por plantas descompuestas en condiciones anaerobias. Sus características varían según su grado de descomposición o mineralización: desde turbas rubias o de sphagnum, con un 80 a un 96% de materia orgánica, hasta turbas negras, con un 50 a un 100%, más descompuestas, de pH superior.

Los composts de corteza suelen ser de pino, y pueden utilizarse directamente o tras someterlos a un proceso de compostage o descomposición aeróbica. Su contenido en materia orgánica es del 63 al 76%. Otros composts se obtienen siguiendo el mismo proceso a partir de residuos agrícolas o incluso industriales. Entre ellos cabe mencionar a los orujos de uva y aceituna.

El proceso de compostage consiste en la descomposición biológica de constituyentes orgánicos en residuos bajo condiciones controladas, por parte de microorganismos

termofílicos y mesofílicos. Se han realizado algunos trabajos sobre la microbiota presente en las distintas fases del compostaje: inicial, termofílica, y de estabilización, pero se sabe poco sobre su actividad específica (Pera et al., 1986). Los grados de actividad microbiana son mayores cuando el compost se mantiene a temperaturas moderadas (38-55°C). A temperaturas superiores, los más activos componentes de la microbiota desaparecen. Los composts producidos para medios de crecimiento en contenedor deben prepararse en condiciones aeróbicas. El nivel de madurez se controla antes de la utilización del compost midiendo: el contenido en celulosa, la capacidad de intercambio catiónico, la relación C/N, y haciendo bioensayos con plantas para detectar toxicidad (Calvet et al., 1985). La estabilidad apropiada del compost es también esencial para inducir supresividad de enfermedades. Los materiales inmaduros pueden causar deficiencia de oxígeno en la zona de la raíz debido a su elevada tasa de descomposición. Los composts excesivamente curados pueden carecer de propiedades supresivas (Hoitink, 1980), tener un contenido en sales excesivamente alto, y una estructura física deficiente.

2.2. Conceptos de conductividad y supresividad de los

sustratos El tipo de compost, su nivel de madurez, y el proceso de compostaje seguido, afectan a la supresión de enfermedades. El control de enfermedades a través del compostaje, incluye eliminar patógenos vegetales presentes en

los residuos durante y después del proceso a alta temperatura. Propiedades específicas de los composts: físicas, químicas y biológicas, pueden tener una gran influencia en su supresividad. La actividad de antagonistas implicados en control biológico, está afectada por los nutrientes del compost, por ejemplo la materia orgánica altamente estabilizada, como la turba de sphagnum, no mantiene una biomasa activamente supresiva (Hoitink,1986). Por otro lado, composts bien estabilizados sí mantienen dicha actividad.

Algunas de las primeras enfermedades controladas por composts han sido: *Phytophthora* spp en fresa, suprimida por corteza compostada (Vaughn et al.,1954), al igual que un gran número de nemátodos, como *Meloidogyne hapla*, *M. incognita*, *Pratylenchus penetrans* (Malek y Gartner,1975).El desarrollo de poblaciones de estos mismos nemátodos fué estimulado en medio con turba.

2.2.1. Ausencia de patógenos durante el compostage

La erradicación de los patógenos durante el compostage puede ser debida a varios factores (Bollen,1985): la exposición a una temperatura elevada, la liberación de productos tóxicos durante el calentamiento, y el antagonismo microbiano. La mayoría de los patógenos del suelo se eliminan por una exposición de 30 min. a 55°C. Esta inactivación térmica se alcanza generalmente durante el compostage, y cuando la T_Q es más baja, el sistema se asemeja a la solarización,

incrementando el tiempo de exposición a esa T_Q (Katan, 1981). Aparentemente, el antagonismo elimina patógenos de suelo en zonas de las pilas de compostaje con baja T_Q durante la estabilización. Por ejemplo, los esclerocios de *Sclerotinia rolfsii*, pierden viabilidad en zonas de T_Q subletal (Yuen et al., 1984). Bacterias y nemátodos son más sensibles al calor que la mayoría de los patógenos fúngicos, y los virus que sólo se inactivan a alta T_Q pueden ser difíciles de erradicar de residuos agrícolas infestados.

2.2.2. Factores que afectan a la supresividad de los composts

Los físico-químicos, como tamaño de partículas, contenido en N, contenido en celulosa y lignina, conductividad eléctrica (cont. en sales solubles), pH e inhibidores liberados por los composts, afectan a la incidencia de enfermedades causadas por patógenos del suelo. La fertilidad en N afecta al desarrollo de *Phytophthora* spp. y *Fusarium* spp. (Schmitthener y Canaday, 1983). Extractos preparados a partir de corteza de conífera fresca inhiben a *Phytophthora* spp., pero no si es compostada (Sivasithamparam, 1981). Los inhibidores en cortezas no siempre afectan a los patógenos por igual, y por ejemplo en el compost fresco de corteza dura, no se suprime el crecimiento de *Rhizoctonia solani*, mientras sí es tóxico para *Phytophthora* spp. (Nelson y Hoitink, 1982). En composts de corteza maduros, los propágulos de *R. solani* sí son eliminados por acción de los antagonistas (Nelson et al., 1983). El bajo pH de las turbas de sphagnum y de algunos composts

teóricamente podría tener efectos colaterales beneficiosos para algunas plantas. Por ejemplo, la podredumbre en rododendro causada por *P. cinnamomi*, es suprimida a pH inferior a 4, que reduce la formación de esporangios, la liberación de zoosporas, y la motilidad (Blaker y Macdonald, 1983). Es un control de enfermedad impracticable, puesto que muy pocas plantas tienen un crecimiento óptimo a pH 4.

La posibilidad de utilizar un compost para el crecimiento de plantas en contenedor viene determinada de alguna manera por su efecto sobre la conductividad hidráulica, la retención de agua, la capacidad de aire, que ejercen una influencia directa en los niveles de oxígeno del entorno de la raíz. Los medios de cultivo con cortezas, supresores de podredumbres, tienen una capacidad de aire generalmente superior al 25% (Hoitink, 1980), y niveles de percolación superiores a 2.5 cm/min. El efecto supresivo del compost de corteza de conífera, puede suprimirse si se mezcla con arena silícica que disminuye la capacidad de aire del medio (Spencer y Benson, 1982). Los composts en vía de descomposición promueven un descenso de la tensión de O₂ y pueden reducir el crecimiento vegetal, el tamaño de las partículas, y por tanto, la capacidad de aire del medio en contenedor.

Cada tipo de compost debe ser probado para adecuar su utilización con éxito. Por ejemplo, la corteza de conífera se mezcla con turba de sphagnum, para mejorar la retención de

agua.

Las turbas se utilizan como componente de los medios de cultivo debido a sus propiedades físicas muy satisfactorias, y a sus propiedades biológicas, relativamente inertes. El inconveniente que siempre se menciona en la bibliografía es que son conductoras del desarrollo de enfermedades, especialmente si han sido esterilizadas antes. En la práctica, el medio se recontamina rápidamente y requiere algún tipo de control fitopatológico (Stephens et al., 1983). Algunas enfermedades no suprimidas en medios con turba son: *Phytophthora* spp. (Hoitink et al., 1977); *Pythium* spp., *R. solani* (Stephens y Stebbins, 1985); *Fusarium* spp. (Pera y Calvet, 1989), y nemátodos.

Se han descrito algunas fuentes de turba de sphagnum supresiva (Tahvonen, 1982), pero no dejan de ser la excepción. Su supresividad temporal (6 meses), parece relacionada con el grado de descomposición y con la microflora que contiene. El bajo pH de la turba de sphagnum limita seriamente la diversidad de su población microbiana (Kavanagh y Herlihy, 1975), que tras la preparación del medio de cultivo con una subida de pH, puede dejar un vacío biológico.

Existe cada vez más información sobre las interacciones de los antagonistas con materia orgánica en medios de contenedor sin suelo, y se han realizado varios tratamientos para convertirlos en supresivos para patógenos: desinfección al vapor e inoculación con antagonistas específicos, abonado con

suelo supresivo, y abonado con compost supresivo. Antagonistas aislados de suelos supresivos o composts, se han utilizado para inocular medios de cultivo con turba en contenedor. En una mezcla de turba-arena esterilizada, *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp. indujeron supresividad ante *Pythium* spp. y *Rhizoctonia* spp., causantes de damping-off (Broadbent y Baker, 1971). La inducción de supresividad por abonado con suelos supresivos presenta algunas desventajas. Estos suelos generalmente afectan sólo a un patógeno, y pueden mantener a otros no suprimidos. Residuos de herbicidas en los suelos, pueden causar problemas de producción. La densidad real suele ser demasiado elevada en medios con suelo y las partículas de arcilla pueden bloquear el drenaje. La adición de composts a los medios con turba, ha controlado con efectividad una gran gama de patógenos del suelo, y para muchos composts, calentar a 60°C destruye la supresividad a *Rhizoctonia*, *Pythium*, y *Fusarium* (Chef et al., 1983; Nelson et al., 1983).

2.2.3. Microflora y fauna asociada con composts supresivos

Los microorganismos aislados son similares a los que se han asociado con control biológico en suelos. En los composts de corteza dura predominan *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp., efectivos en supresividad contra "damping-off" causado por *Rhizoctonia* (Nelson et al., 1983). Cepas de *Trichoderma* spp. se han encontrado como hongos dominantes en composts de corteza de conífera y en orujo de aceituna supresores para *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Pera y Calvet, 1989).

Existe poca información acerca del papel de los antagonistas bacterianos en los composts. Se han recuperado al azar en composts de corteza, aislados de *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* y *Flavobacterium*. Algunas de estas cepas son muy eficaces para inducir supresión de *Rhizoctonia* (Kuter y Hoitink, 1985). Las combinaciones de antagonistas pueden ser más efectivas que los antagonistas aislados en inducir supresión de "damping-off" causado por *Rhizoctonia* o *Pythium* (Kuter y Hoitink, 1985) y de fusariosis (Trillas-Gay et al., 1986).

La microflora de los composts juega el papel más importante en la supresión de patógenos del suelo y su incorporación al cultivo de las plantas en vivero es primordial. Los antagonistas tienen efectos de larga duración en sustratos abonados con composts maduros y tienen efectos de baja duración o son inefectivos en sustratos preparados con turba de sphagnum como componente orgánico. Los efectos supresivos de los sustratos abonados con compost y causados por factores bióticos son debidos a la recolonización natural por antagonistas tras el pico de calor. Esta recontaminación, ya sea natural o controlada, es necesaria para convertir en supresivos a los composts, siendo las mezclas de antagonistas bacterianos y fúngicos más efectivas que los antagonistas aislados en inducir la supresión (Kuter y Hoitink, 1985).

2.3. MVA en sustratos orgánicos

La mayoría de los cultivos hortícolas en invernadero

incluyendo frutales, crecen en medios sin suelo que son mezclas de turba, corteza, vermiculita y perlita, y se abonan con fertilizantes solubles periódicamente. Los sistemas radicales de estas plantas carecen de MVA cuando se transplantan a campo, y por tanto, la inoculación con hongos VA de cultivos en contenedor puede mejorar la captación de nutrientes, dar uniformidad a las plantas y reducir el estrés debido al transplante (Biermann y Linderman, 1983).

A menudo han fracasado los intentos para establecer micorrizas efectivas en medios de crecimiento distintos del suelo (Graham, 1984). El efecto inhibitorio de algunos sustratos orgánicos sobre el establecimiento de la simbiosis se ha atribuido a su elevado porcentaje en materia orgánica (Menge et al., 1982) y también a la elevada disponibilidad de P en estos medios. Se han observado niveles de colonización MVA moderados y respuestas de crecimiento en la planta cuando se reducen los niveles de P asimilable, o cuando el fosfato de roca se utiliza como una fuente de liberación de P controlada (Graham y Timmer, 1984). Sin embargo, se desconoce por el momento si los componentes del medio de crecimiento, como turbas o composts, inhiben las actividades de los hongos VA, o si el efecto es indirecto y está relacionado con la disponibilidad de P en el sustrato.

Aparentemente, los hongos VA son eficaces en medios con alto contenido en materia orgánica si se controla el P asimilable (Graham y Timmer, 1985), pero algunos autores opinan que

sustratos con propiedades supresivas para patógenos también inhibirían las MVA (Hoitink, comunicación personal). Un estudio sobre la influencia del sustrato en la interacción entre *Glomus intraradices* y *F.o. f.sp. radialis-lycopersici* en tomate, confirmó que distintos sustratos son más o menos conductivos para el desarrollo de un patógeno y que tienen distintos efectos sobre la colonización micorrícica de las raíces y el crecimiento de la planta hospedadora. (Caron et al., 1985).

Los resultados son contradictorios en la bibliografía y es probable que sea necesario conocer el efecto de los sustratos por separado sobre patógenos y hongos VA, tal como se plantea en los objetivos de esta tesis, para optimizar un sistema de crecimiento determinado.

3. Control biológico de patógenos

Puede definirse como una disminución de inóculo o de la actividad productora de enfermedad de un patógeno, a través de uno o más organismos. Durante los últimos 20 años se ha trabajado detalladamente en antagonistas especializados. Parásitos depredadores y hongos nematófagos han recibido mucha atención, y han llevado a planificar el biocontrol de nemátodos formadores de agallas y de los quistes. Se ha venido demostrando la presencia y la importancia de los antibióticos en un suelo (Bruehl et al., 1969), y se ha utilizado la inoculación de semillas con antagonistas, como la

incorporación de *Trichoderma hamatum* en semillas de guisante y rábano, para protegerlas frente a *Pythium* y *Rhizoctonia* (Harman et al., 1981).

Agentes microbianos pueden controlar con efectividad a gran parte de los patógenos del suelo, pero se conocen mal sus mecanismos de acción. Hay que desarrollar los sistemas de producción masiva y de aplicación, a la vez que hace falta integrar el biocontrol con otros métodos de control y con los de producción vegetal, mientras se trabaja mejorando genéticamente las cepas aisladas.

3.1. Detección y caracterización de sistemas de biocontrol

Un pre-requisito para detectar la supresión biológica de una enfermedad es conocer la biología del patógeno y la enfermedad que causa, su distribución, y los factores edáficos que contribuyen a su expresión. La observación de las condiciones y distintas situaciones bajo las que las enfermedades son suprimidas permite detectar y elucidar los sistemas de biocontrol.

3.1.1. Suelos supresivos

Todos los suelos naturales tienen cierto potencial de supresión microbiológica de enfermedades, desde la supresión total pasando por distintos grados de supresividad-conductividad, hasta alcanzar el extremo de supresión nula de la enfermedad. La supresividad puede o no ser transferida a un suelo conductor y se distinguen dos tipos: general o específica. La supresividad general se refiere a la biomasa

total del suelo y a su actividad microbiana, más que a un grupo específico de microorganismos. No es transferible a un suelo conductor. Por ejemplo la supresividad general de los suelos australianos frente a *Phytophthora cinnamomi* que controla la podredumbre en aguacate (Broadbent y Baker, 1975). La supresividad específica es transferible a un suelo conductor y está relacionada con un microorganismo individual o con un grupo específico que afecta a un patógeno determinado. Por ejemplo, la supresividad a las *formae specialis* de *Fusarium oxysporum*, que es inhibidora de todos los patotipos de la especie, pero no de otros *Fusarium* o de *F.o.* no patogénicos (Alabouvette et al., 1986) y la supresividad natural de un suelo para *Rhizoctonia solani* (Chet y Baker, 1981), de dónde se aisló *Trichoderma hamatum* como antagonista activo, causando lisis del micelio del patógeno.

Algunas veces el patógeno está introducido pero no se detecta la enfermedad, como en suelos supresivos para *Fusarium*. A pesar de la presencia del patógeno, de la susceptibilidad de las variedades de plantas utilizadas, y de las condiciones climáticas y culturales que favorecen el desarrollo de la enfermedad, ésta no se detecta. La supresividad es de origen biológico, y el componente arcilloso del suelo no tiene un efecto directo sobre el patógeno, pero favorece el desarrollo de una microflora antagonista que interfiere con las actividades del patógeno. En los suelos

franceses supresores para *Fusarium* en el valle del Ródano, se ha caracterizado el sistema de biocontrol natural: aislados de *Fusarium oxysporum* y de *F.solani* actuando sinérgicamente con bacterias asociadas, regulan el número y la actividad de la población de *F. solani* patogénica (Alabouvette et al.,1979). La supresividad puede ser transferida a medios conductores como mezclas para contenedor. Scher y Baker (1980), probaron que era sensible a la T₂ (54 Ω ,30 min.) y también al pH, y que bacterias asociadas al micelio de *Fusarium* patogénico, del género *Pseudomonas*, inducían supresividad.

En otros casos, la incidencia del patógeno disminuye con el monocultivo, como la podredumbre en trigo causada por *Gaeumannomyces graminis* (Bruehl,1975). El antagonismo se induce cuando inóculo virulento del patógeno infecta al hospedador, y se produce un incremento de antagonistas específicos en las lesiones radicales. La supresividad se elimina por calor húmedo entre 40 y 60 Ω C, así que se supone que son bacterias no esporuladoras, como *Pseudomonas* u hongos. Otro ejemplo de enfermedad que disminuye por monocultivo es el del nemátodo de los quistes en cereales, *Heterodera avenae*, que disminuye a niveles no importantes debido a la parasitización de hembras y huevos por 2 hongos: *Nematophthora gynophila* y *Verticillium chlamydosporium* (Kerry,1981).

3.1.2. Manejo de microorganismos implicados en sistemas de biocontrol

Para probar con éxito un agente de biocontrol potencial, hay algunos factores críticos a tener en cuenta, como el tipo, el contenido en materia orgánica, el pH, el nivel de nutrientes y la humedad del suelo del que fué aislado. Los agentes de biocontrol son organismos vivos con ciertos requerimientos ambientales. El control biológico de un patógeno es el resultado del metabolismo normal de un antagonista, y por lo tanto, es más lento y tiene un potencial inferior al de los agentes químicos para erradicar al patógeno. El mayor potencial del antagonista es su utilización como agente preventivo, de forma que debería aplicarse antes de la introducción del patógeno. Por ejemplo, la aplicación de la cepa antagonista de *Agrobacterium radiobacter* para controlar *A. tumefaciens* después del transplante, no protege a las plantas del agallamiento (Kerr, 1980).

Mejora de los agentes de biocontrol por manipulación genética.

Consiste en selección de mutantes de agentes de biocontrol que sean resistentes a antibióticos o a fungicidas, para ser utilizados en programas integrados con controles químicos (Papavizas y Lewis, 1981). Mediante recombinación genética, genes de producción de antibióticos pueden ser introducidos en organismos que ya crecen y colonizan el lugar de la infección, o por transferencia de plásmidos, como se hizo con *A. radiobacter*.

No existe evidencia clara de que antagonistas aislados puedan producir un biocontrol tan efectivo como el de la

microflora total en el suelo de origen. Posiblemente sea mejor buscar microorganismos naturales con características determinadas que tratar de crearlos por mutación o manipulación genética. El aislado habrá sido seleccionado por su estabilidad, adaptabilidad, y supervivencia en condiciones de campo o de invernadero. La microbiota creada está sujeta a restricciones legales de registro y otros problemas de publicidad. Además, cuanto mayor sea la complejidad de una comunidad biológica, mayor será su estabilidad. Es probablemente mejor tener las características deseadas en distintos aislados, que tratar de obtener un solo organismo por manipulación genética. El control biológico empieza a ser apoyado por intereses comerciales ahora, y su estudio puede ser muy productivo, ya que no ha sido explotado todavía el proceso de biocontrol natural.

Sensibilidad térmica de la microbiota.

En viveros conocidos, el tratamiento con calor a 60°C durante 30 min., se utiliza para matar patógenos, pero deja antagonistas saprofitos con vida, para competir con patógenos contaminantes. La sensibilidad térmica diferencial de los microorganismos permite eliminar selectivamente algunos grupos para determinar cuáles son activos en una situación de biocontrol.

El potencial del control biológico está todavía en vías de explotación. Sus ventajas frente a otros sistemas de control son: su actividad residual más larga, ya que forman parte del

ambiente, su alto grado de especificidad por el patógeno, para el que parece haber poca resistencia, su coste menor.

Rizobiota promotora del crecimiento vegetal.

La eficiencia de la raíz, y por lo tanto el crecimiento de la planta, pueden disminuir a causa de exopatógenos no parásitos que afectan a su sanidad a través de la producción de fitotoxinas y hormonas que incrementan la producción de exudados y predisponen al decaimiento de la raíz. Otros microorganismos, como bacterias, actinomicetes y hongos, pueden dar protección frente a esos exopatógenos, inhibiéndoles o desplazándoles. Pueden producir antibióticos o sideróforos (compuestos producidos bajo condiciones de Fe limitante, que sequestran Fe e inhiben el crecimiento, haciéndolo inasequible para el patógeno, que se debilita), destruir las fitotoxinas producidas por los exopatógenos, o producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal. Algunos de estos efectos son formas de biocontrol. *Trichoderma harzianum* incrementó el crecimiento de la planta a través de la producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (Windham et al., 1986). Cepas de *Pseudomonas* spp. producen sideróforos (Scher y Baker, 1982). Broadbent et al. (1971-77) demostraron que la capacidad de promoción del crecimiento y la producción de antibióticos de amplio espectro estaban relacionadas y que las bacterias pueden incrementar o limitar la respuesta en crecimiento de la planta.

Hongos antagonistas.

Son más fáciles de manejar que bacterias y actinomicetes. *Trichoderma*, *Penicillium* y *Gliocladium*, son productores de antibióticos de amplio espectro. *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Penicillium*, solubilizan fosfatos insolubles en el suelo, mientras que *Pythium* y *Rhizoctonia* no son capaces de hacerlo, crecen con más dificultad y no esporulan. Marx (1972) observó que plantones de pino ectomicorrícicos eran resistentes a la infección por zoosporas de *Phytophthora cinnamomi*. El micelio del patógeno aparecía laxamente ligado a las raíces micorrizadas pero firmemente a las no micorrizadas. La resistencia era mayor cuando las micorrizas formaban mantos completos y un buen desarrollo de la red de Hartig. La densidad del inóculo de *P. cinnamomi* además disminuía en contenedores de pinos ectomicorrícicos. El manto de las ectomicorrizas produce antibióticos y forma una barrera física, además de incrementar la producción de compuestos inhibidores, volátiles y no volátiles, para los patógenos. Las micorrizas vesículo-arbusculares pueden funcionar de igual forma, pero su potencial en control biológico de patógenos no se conoce bien. Se ha probado que disminuyen los efectos del estrés ambiental que predispone a las plantas a la enfermedad, y en algunos casos disminuyen la susceptibilidad de la planta a patógenos radicales

Es posible que los hongos micorrícicos puedan utilizarse con ventaja como antagonistas introducidos o manipulados.

De forma natural puede darse el control biológico por hongos

en mezclas de suelo de invernadero tratadas al calor o químicamente hasta esterilización. *Trichoderma viride*, *Peziza* y *Mucor*, entre otros, colonizan rápidamente y esporulan en suelo tratado a 100°C, y pueden reducir la invasión de patógenos vegetales. Algunos de estos hongos se conocen por ser antagonistas efectivos, pero no se establecen en suelo tratado a 60°C, probablemente porque quedan en el suelo como supervivientes, actinomicetes y bacterias .

Los actinomicetes son excelentes productores de antibióticos, y las bacterias generalmente son efectivas en competencia, mientras que los hongos son efectivos en competencia, hiperparasitismo y algunos en producción de antibióticos. El ejemplo más citado es el de *Trichoderma* spp. Debido a su crecimiento rápido, y a la copiosa producción de esporas, coloniza sustratos con rapidez tras tratamiento químico o térmico del suelo. Entre otras enfermedades radicales, son capaces de controlar: "damping-off" causado por *Rhizoctonia solani* y *Pythium ultimum* y podredumbre vascular causada por especies de *Fusarium*. Los posibles mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. incluyen la producción de antibióticos, el micoparasitismo y la competencia. Se ha observado crecimiento de micelio de *Trichoderma* spp. a lo largo y enrollándose alrededor de las hifas de los hongos hospedadores (Chet et al., 1981 ; Lin y Baker, 1980). Puede haber o no penetración del micelio del hongo hospedador, pero las hifas susceptibles se vuelven vacuoladas, se colapsan y

finalmente se desintegran. El micoparásito crece entonces a expensas del contenido de las hifas. Algunos aislados de *Trichoderma* producen antibióticos, especialmente a pH bajo (Dennis y Webster, 1971). Se ha probado además que *T. harzianum* y *T. hamatum*, que actúan como micoparásitos de *R. solani* y de *Sclerotium rolfsii*, producen una glucanasa y una pectinasa que causan la exolisis de las hifas del hospedador (Chet y Baker, 1980). *T. hamatum* también produce una celulasa (Chet y Baker, 1981), lo que quizás pueda explicar su habilidad para parasitar *Pythium* spp. *T. harzianum* no es celulolítica.

3.2. Introducción de antagonistas para control biológico

Los antagonistas efectivos contra patógenos específicos no residen en todos los suelos, y puede ser necesario introducirlos para conseguir un buen control biológico. Se requieren ahora avances en tecnología para introducir antagonistas y para mejorarles por selección y manipulación genética.

La aplicación directa de antagonistas al suelo tiene el mayor potencial para su uso en operaciones comerciales en invernadero, o métodos de producción vegetal que impliquen la utilización de una cantidad de suelo o tierra limitada. No servirá de nada introducir antagonistas o cualquier otro tipo de control para eliminar a un patógeno en un suelo de vivero si cuando el material vegetal se transfiere a un huerto o a un jardín el patógeno está presente y puede causar la enfermedad. La práctica esencial en viveros es eliminar

patógenos y luego utilizar antagonistas para prevenir su reestablecimiento. A gran escala puede ser factible para cultivos de alto poder económico, como fresa, tomate, y si se desarrolla un método de aplicación efectivo.

Los antagonistas pueden ser aplicados al suelo por varios motivos: destruir el inóculo de patógeno, prevenir la recolonización de suelo tratado por un patógeno, proteger las semillas en germinación y las raíces de la infección. Si el objetivo es la destrucción biológica del inóculo, los antagonistas más efectivos serán probablemente hiperparásitos del patógeno. Si el objetivo es llenar un vacío biológico dejado en el suelo por fumigación o desinfección al vapor, entonces los antagonistas más prometedores serán saprofitos agresivos adaptados al medio físico del suelo. Para este propósito, una mezcla de saprofitos agresivos puede ser más efectiva que una cepa aislada.

3.2.1. Introducción de hiperparásitos

En control de hongos patógenos, la mayoría de los esfuerzos se han dirigido a destruir esclerocios o micelio del patógeno. El hongo más estudiado, *Trichoderma* spp., controla *Sclerotinia minor* en lechuga (Davet et al., 1981), *S. rolfsii* y *Rhizoctonia solani* en judía, fresa y otros cultivos (Elad et al., 1980 ; Henis et al. ., 1979)

Los factores limitantes en el uso de hiperparásitos para la destrucción de inóculo, son en su mayoría logísticos: la cantidad de antagonista requerida, la falta de un método para

su producción en masa y su aplicación. Actualmente se encuentran productos comerciales de *Trichoderma* (Papavizas, 1981 ; Ricard, 1981). En cualquier tipo de control biológico que implique parasitismo o patogénesis de una especie determinada, el agente de biocontrol debe mostrar un grado de especificidad, y algunos agentes serán mejores que otros. Por ejemplo, un aislado de *Trichoderma harzianum* con habilidad para atacar y degradar esclerocios y micelio de *R. solani*, no tenía efecto sobre esclerocios de *Sclerotinia rolfsii*, mientras que otro aislado de la misma especie fué efectivo contra ambos patógenos (Chet et al., 1979).

En control de nemátodos se conoce desde hace tiempo la existencia de hongos parásitos de nemátodos, parásitos de huevos y de nemátodos predadores, en la regulación natural de las poblaciones de nemátodos fitoparásitos. *Pasteuria penetrans* es un buen candidato como antagonista introducido para el control de nemátodos, siendo el parásito obligado más específico que se conoce (Mankau, 1980). Las esporas se pegan a la cutícula del nemátodo que es atravesado por el tubo germinativo. El cuerpo del nemátodo hospedador acaba eventualmente lleno de endosporas. Contribuye, debido a su amplia distribución en suelos agrícolas, de forma significativa al control natural , especialmente de *Meloidogyne* spp.

3.2.2. Introducción de saprofitos para la colonización de suelos tratados

El tratamiento del suelo con vapor o fumigantes es práctica comercial común para eliminar patógenos en cultivos de invernadero o en viveros. La fumigación es también común a nivel de campo para la producción de cultivos ornamentales, hortícolas o frutales. El establecimiento de saprofitos competitivos tras el tratamiento del suelo pero antes de la siembra, es una forma de recolonizar el vacío biológico que dejan los patógenos. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, es un ejemplo de patógeno capaz de incrementar rápidamente su biomasa para atacar al tomate, creciendo a expensas de los nutrientes liberados por el tratamiento del suelo. Los hongos no patógenos también colonizan el suelo a partir de esporas aéreas, y confieren un tampón biológico limitado contra *F. o. radicis-lycopersici*. La introducción en el suelo fumigado de un inóculo compuesto por *Trichoderma harzianum*, *Penicillium fungiculosum* y *Aspergillus ochraceus*, disminuyó el crecimiento del patógeno y la incidencia de la infección (Marois y Mitchell, 1981).

3.2.3. Antagonistas aplicados junto con el material vegetal

La protección biológica de la planta, por protección de semillas en germinación, raíces o tallos emergentes, puede ser un método económico y quizás el de más éxito en control biológico con antagonistas introducidos. El material vegetal puede tratarse con los tres tipos de antagonistas: hongos, bacterias y virus.

La protección de la semilla es esencial para muchos

cultivos, sobre todo si se trata de semillas grandes vulnerables al ataque de *Rhizoctonia*, *Pythium* o *Fusarium* spp. Entre los hongos antagonistas más efectivos se encuentran *Chaetomium*, *Penicillium* y *Trichoderma*. Por ejemplo, *P. oxalicum* aplicado como cubierta de conidios en semillas de guisante, las protegió igual que el captan durante la germinación y el nacimiento de la planta en el campo (Windels y Kommendahl, 1982). *T. hamatum* es muy efectiva al ser aplicada como cubierta de esporas contra *R. solani* en rábano y *Pythium* "damping-off" en semillas de guisante (Harman y et al., 1981). Los antagonistas bacterianos más utilizados en tratamiento de semillas, son *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* spp. y cepas del grupo *Pseudomonas fluorescens-putida*. Los pseudomonadales colonizadores de raíz son habitantes comunes de la rizosfera, y contribuyen a la protección natural de las raíces contra patógenos del suelo. Cuando se introducen en semillas, crecen con la raíz, desplazan a la microflora normal de la rizoplana y constituyen gran parte de la población microbiana especialmente en meristemas apicales (Kloepper y Schroth, 1981 ; Weller y Cook, 1983).

Otra alternativa es la inoculación de estacas, esquejes y plántulas pre-transplante. Los antagonistas pueden establecerse en material vegetal de plantas ornamentales, plántulas de hortícolas, jóvenes plantones de frutales u otras plantas que se desarrollan a dos tiempos: la planta es propagada primero en vivero y luego transplantada a campo.

3.2.4. Inoculación con hongos micorrícicos

Es otro método para obtener control biológico mediante la introducción de microorganismos, ya sea para proteger a las raíces de patógenos, o para incrementar la resistencia general de las plantas a los patógenos. La inoculación se hace durante la producción de plántulas o en el transplante, para que los hongos micorrícicos estén establecidos en las plantas antes de la exposición de la raíz al patógeno.

La infección por hongos formadores de MVA puede conferir indirectamente control biológico, un incremento en la captación de P y otros nutrientes, incrementa la resistencia de la planta a los patógenos. Las MVA también pueden proteger las raíces frente a patógenos utilizando carbohidratos de las raíces, secretando antibióticos, favoreciendo microorganismos protectores en la rizosfera, o induciendo cambios morfogénicos y bioquímicos en el tejido hospedador, no favorables al patógeno. Barea y Azcón-Aguilar (1982), probaron que *Glomus mosseae* sintetiza auxinas y sustancias tipo giberelina-citoquinina que pueden afectar a la interacción hospedador-patógeno.

3.3. Control biológico integrado

Combinaciones de tratamientos del suelo: cambios de pH, secuencia de cultivos/fertilizante, fumigación, esterilización al vapor, con algún agente antagonista, pueden afectar al control biológico. Por ejemplo, el control biológico por *Trichoderma viride* de *Armillaria mellea* se detectó cuando los

suelos de vivero de cítricos se fumigaron. El BrMe previene la formación de un antibiótico protector producido por *Armillaria*, que entonces es parasitada por *Trichoderma* spp. (Munnecke et al., 1981). Otro ejemplo interesante es el efecto indirecto de la esterilización al vapor sobre "damping-off". *Rhizoctonia* causa la enfermedad en clavel en suelos esterilizados, por eliminación de antagonistas a 100°C. La inoculación del suelo con *T. hamatum* induce la supresividad (Chet y Baker, 1981).

Factores ambientales abióticos, pueden afectar directamente al patógeno, debilitándolo y haciéndolo más vulnerable a los antagonistas. La solarización en regiones de intensa radiación solar, mantiene el calor y concentra compuestos volátiles inhibidores de patógenos. Este tratamiento, controla con efectividad patógenos de raíz, incrementando el estrés, y haciéndoles más susceptibles a los antagonistas (Katan, 1981). Pero provocar situaciones de estrés sobre los microorganismos también puede incrementar la enfermedad, como la inundación de campos supresivos para *P. cinnamomi*, que puede hacerles temporalmente conductores.

La introducción de organismos del suelo rizosférico como antagonistas, es difícil si el suelo está ya biológicamente tamponado, o la rizosfera totalmente ocupada. Inocular el antagonista en el suelo inmediatamente después de la fumigación o de la esterilización al vapor, y establecer antagonistas en la rizoplana de la rizosfera durante el

enraizamiento de estacas y esquejes, la germinación de semillas, o el trasplante de plántulas, pueden ser las estrategias útiles para preparar el sitio de infección potencial. Para que el sistema de biocontrol sea eficaz, no hace falta que se trate de uno o más organismos identificados, una mezcla natural transferible puede ser utilizada.

Algunos fungicidas pueden ser utilizados en combinación con antagonistas introducidos en el suelo. Por ejemplo, *Trichoderma harzianum*, combinado con PCNB, dió un mejor control que cualquier componente aislado contra "damping-off" causado por *R. solani* en judía, tomate y berenjena (Hadar et al., 1979). Nuevos biotipos de *T. harzianum* pueden ser seleccionados por su tolerancia o resistencia a fungicidas (Papavizas, 1982), siendo mejores que los parentales en conferir control biológico. La introducción del antagonista en suelos de vivero fumigados para establecerlo en la rizosfera antes del trasplante, sería muy factible y práctico para prevenir la recolonización de suelos comerciales fumigados por patógenos. La facilidad con que el ambiente puede controlarse en cultivos de invernadero, y la práctica habitual de esterilizar al vapor o por tratamiento químico el suelo para estos cultivos, hace que sea una excelente oportunidad para biocontrol por introducción de antagonistas. La integración del control biológico para antagonistas introducidos con tratamientos del suelo, plantas libres de patógenos (material vegetal sano) y técnicas de cultivo con garantías sanitarias,

tiene un gran potencial para estabilizar y mejorar el control biológico de enfermedades en cultivos de invernadero. Que el método no se haya aplicado comercialmente se debe a la necesidad de que el control de la enfermedad sea perfecto en estos cultivos de invernadero de alto valor económico, pero hay que considerar la posibilidad del control integrado. El ambiente controlado que interviene en el crecimiento de muchas ornamentales ofrece oportunidades poco usuales para el control biológico. El suelo desinfectado al vapor o fumigado se puede inocular con microorganismos beneficiosos capaces de proteger a las plantas hospedadoras o de incrementar su crecimiento. Las mezclas de suelo pueden ser abonadas con sustratos que favorezcan a los antagonistas y puedan mantenerse a una temperatura de suelo y humedad favorables para ellos.

4. Interacciones microbianas en la rizosfera

Los microorganismos de la rizosfera están expuestos a una presión selectiva, que favorece a algunos grupos funcionales para que desarrollen poblaciones dominantes, que podrán tener el mayor impacto sobre el crecimiento de la planta. El complejo de microorganismos en la rizosfera incluye tanto organismos beneficiosos como patógenos del suelo en relación con el crecimiento de la planta. Si tratamientos anteriores hubiesen eliminado a los patógenos, y se hubiese inoculado el medio de crecimiento con organismos beneficiosos, el proceso de selección se haría a partir de esta microbiota beneficiosa

o neutral, que llenaría el vacío biológico creado por el tratamiento del suelo.

Entre las interacciones que se pueden favorecer con la manipulación de la microbiota se encuentra la supresión de patógenos por agentes de biocontrol introducidos, tema tratado en el capítulo 3 , que deben establecerse en el lugar de infección antes de la introducción del patógeno (Kommendhal y Windels,1981). 4.1.Relaciones entre micorrizas y otros organismos del suelo

Las raíces de las plantas mantienen el crecimiento de un complejo de microorganismos que interaccionan en la rizosfera, influida por los exudados radicales. Cuando se forman las micorrizas, ocupando el córtex radical, ocurren cambios físicos y químicos en la rizosfera, debido a la alteración fisiológica del hospedador, así como a la presencia de las hifas del hongo en el entorno. Se crea un nuevo ambiente alrededor de la raíz micorrizada que se conoce como "micorrizosfera"(Rambelli,1973).

Debido a su influencia sobre la actividad microbiana en el suelo o medio que rodea a la raíz, las micorrizas tienen que ser consideradas en primer lugar cuando se trata de manipular microorganismos y controlar biológicamente patógenos. Aunque el hongo micorrizico no sea un antagonista por sí mismo, el control biológico requiere que el agente de biocontrol se establezca en la zona de infección, que normalmente será una raíz micorrizada.

La relación existente entre el hongo micorrícico, simbiote obligado, y la raíz hospedadora, sugiere que los hongos pueden interaccionar indirectamente con patógenos radicales, como los nemátodos fitoparásitos, que tienen requerimientos tróficos similares. Existe un potencial de competitividad por el C y otros nutrientes, que puede llevar a la reducción de la infección o de la reproducción del nemátodo.

Las micorrizas en algunos casos han reducido el efecto de los patógenos debido a cambios morfológicos o fisiológicos en la planta (Dehne, 1982). También pueden mejorar la agregación y la estabilidad del suelo alterando su textura (Sutton y Sheppard, 1976). Uno de los cambios más importantes que se producen, debido a un incremento en nutrición fosforada (Ratnayake et al., 1978) es la reducida permeabilidad de membrana en las plantas micorrizadas. Esto induce un cambio en la cantidad y la calidad de los exudados radicales (Schwab et al., 1983), que influirá sin duda en la microbiota de la rizosfera.

4.1.1. El efecto "micorrizosfera"

Las variaciones en los exudados radicales causarán que se establezca un nuevo equilibrio microbiano, hay cambios cuantitativos en las poblaciones de microorganismos como resultado de una interacción metabólica directa entre las hifas del hongo micorrícico y esporas o efectos indirectos mediados por el hospedador. Las hifas externas de hongos MVA exudan sustancias que provocan la agregación del suelo y de

fracciones orgánicas (Sutton y Sheppard,1976). Los microorganismos se desarrollan en los agregados y de ellos se han aislado hongos, bacterias, actinomicetes y algas (Linderman,1988a).

En la micorrizosfera pueden interaccionar una gran variedad de hongos y bacterias con funciones específicas que influyen en el crecimiento de las plantas. Entre ellos habrá anaerobios estrictos o facultativos, productores de quitinasa, solubilizadores de fosfato,productores de sideróforos, productores de antibióticos, productores de hormonas, supresores de patógenos, promotores del crecimiento, exopatógenos, supresores de micorriza, etc. Pero la información que se tiene sobre estos grupos es muy limitada.

Algunos cambios cualitativos en grupos funcionales y taxonómicos de microorganismos de la rizosfera de plantas micorrizadas pueden afectar al comportamiento del patógeno tras el establecimiento de las MVA. Ejemplos: nº de *Streptomyces* productores de antibióticos y de productores de quitinasas inferior en la micorrizosfera. Disminución del nº de esporangios y zoosporas de *P. cinnamomi* formadas y liberadas a extractos acuosos de suelo rizosférico de raíces micorrizadas (Meyer,1985). Las poblaciones de *Pseudomonas* fluorescentes, un grupo diverso de bacterias de la rizosfera que incluye promotores del crecimiento y agentes de biocontrol, también pueden verse afectadas por el

establecimiento de la MVA. Una cepa aislada productora de sideróforo, incrementó el crecimiento de la planta inoculada en suelo no estéril probablemente por ser buena competidora, y también mejoró la nodulación de *Rhizobium* en raíces de trébol. Cuando se añadieron esporas VA al sistema, se observó un efecto aditivo sobre nodulación, crecimiento de la raíz y parte aérea (Meyer y Linderman, 1986). Se puede concluir que efectos aditivos o actividades concertadas probablemente ocurren entre hongos VA y otros microorganismos comunes en la rizosfera que afectan al crecimiento de la planta en condiciones experimentales y naturales. De todos los microorganismos que colonizan la rizosfera, los hongos VA ocupan una posición ecológica única, ya que se encuentran dentro y fuera del hospedador. La fase interna no encuentra competencia ni antagonismo de otros microorganismos del suelo y tiene una fuente de nutrientes asegurada desde el hospedador.

4.1.2. Función de la raíz

Las raíces, aparte de su función estructural, almacenan almidón, producen reguladores del crecimiento, como citoquininas y giberelinas, y proveen de nutrientes a los microorganismos (Curl y Truelove, 1986). Estos nutrientes son materiales orgánicos liberados a la rizosfera como exudados, secreciones (productos metabólicos), mucílagos y productos de la lisis de células muertas.

La rizoplana y el suelo que rodea a la raíz están colonizados

